

**MENDELOVA UNIVERZITA V BRNĚ
AGRONOMICKÁ FAKULTA**

DIPLOMOVÁ PRÁCE

BRNO 2015

Bc. MONIKA MACHÁLKOVÁ



**Průnik obsahu mykotoxinů ze zrna obilovin do hotového
výrobku a dopad na zdraví člověka**
Diplomová práce

Vedoucí práce:
Ing. Viera Šottníková, Ph.D.

Vypracovala:
Bc. Monika Machálková

ZADÁNÍ

ČESTNÉ PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem práci: **Průnik obsahu mykotoxinů ze zrna obilovin do hotového výrobku a dopad na zdraví člověka**, vypracoval/a samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité 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 vědom/a, 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.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity, a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladů spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V Brně dne:.....

.....

podpis

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych poděkovala vedoucí diplomové práce Ing. Vieri Šotníkové, Ph.D. za odborný dozor, věcné rady a připomínky, poskytnutí odborné literatury a přátelské jednání. Děkuji Výzkumnému ústavu pícninářskému v Troubsku a panu řediteli RNDr. Nedělníkovi, Ph.D. za umožnění provedení analýz a Mendelově univerzitě za poskytnutí finančních prostředků.

ABSTRAKT

Diplomová práce se zabývá problematikou mykotoxinů, které jsou významnými patogeny mnoha zemědělských plodin a mohou představovat vysoké zdravotní riziko pro člověka i hospodářská zvířata. Obsahuje přehled nejdůležitějších mykotoxinů, jejich producentů a mykotoxikóz. Práce je zaměřena především na výskyt mykotoxinů v obilovinách a vlivu zpracování na jejich obsah.

Experimentální část se zaměřuje na sledování průniku obsahu deoxynivalenolu a zearalenonu v pšenici ozimé ze zrna až do pečiva. Vyšetřeno bylo celkem 10 vzorků ošetřené a 10 vzorků neošetřené varianty pšenice ozimé. V rámci každého vzorku bylo na obsah DON a ZEA vyšetřeno zrno, mouka a pečivo.

Všechny testované vzorky byly pozitivní na obsah DON i ZEA. Legislativní limit nepřekročil žádný ze zkoumaných vzorků a k limitům se ani nepřiblížili.

Klíčová slova: mykotoxiny, pšenice, deoxynivalenol, zearalenon, ELISA

ABSTRACT

This thesis deals with the issue of mycotoxins, which are important pathogens of many agricultural crops and may pose a high health risk to humans and livestock. It contains an overview of the most important mycotoxins their producers and mycotoxicoses. The main focus of this thesis is the occurrence of mycotoxins in cereals and the effect of processing it on their content.

The experimental part focuses on monitoring the content and the penetration of deoxynivalenol and zearalenone in winter wheat from grain to bread. We examined a total of 10 samples of treated and 10 samples of untreated variants of winter wheat. For each sample grain, flour and bread were examined for DON and ZEA content and all tested samples were positive for DON and ZEA. None of the examined samples exceeded or even approached the legislative limits.

Key words: mycotoxins, wheat, deoxynivalenol, zearalenone, ELISA

1 ÚVOD	10
2 CÍL PRÁCE	11
3 LITERÁRNÍ PŘEHLED.....	12
3.1 Vláknité mikromycety	12
3.1.1 Charakteristika	12
3.1.2 Morfologie a rozmnožování.....	12
3.1.3 Podmínky růstu	13
3.2 Významní producenti mykotoxinů.....	14
3.2.1 Rod <i>Aspergillus</i>	15
3.2.2 Rod <i>Alternaria</i>	16
3.2.3 Rod <i>Fusarium</i>	16
3.2.4 Rod <i>Penicillium</i>	17
3.3 Mykotoxiny.....	18
3.3.1 Historie.....	19
3.3.2 Toxicita mykotoxinů	19
3.3.3 Mykotoxiny v potravinách	20
3.4 Přehled nejdůležitějších mykotoxinů	21
3.4.1 Aflatoxiny	21
3.4.2 Citreoviridin	22
3.4.3 Citrinin	23
3.4.4 Cyklopiazonová kyselina (CPA).....	24
3.4.5 Fumonisin.....	24
3.4.6 Ochratoxiny.....	25
3.4.7 Patulin	26
3.4.8 Sterigmatocystin.....	27
3.4.9 Trichoteceny.....	28
3.5 Maskované mykotoxiny.....	32

3.6 Mykotoxikózy	34
3.6.1 Ergotismus.....	35
3.6.2 Alimentární toxická aleukie	35
3.6.3 Akutní kardiální beri-beri (onemocnění ze žluté rýže)	36
3.6.4 Aflatoxikóza.....	36
3.6.5 Reyův syndrom	37
3.6.6 Primární karcinom jater.....	37
3.6.7 Ochratoxikóza	38
3.6.8 Předčasná puberta (hyperestrogenismus).....	38
3.7 Faktory ovlivňující obsah fusariových mykotoxinů v obilovinách	38
3.7.1 Primární vlivy.....	39
3.7.2 Sekundární vlivy	40
3.8 Současná legislativa	41
3.9 Metody stanovení mykotoxinů.....	43
4 MATERIÁL A METODIKA	45
4.1 Materiál.....	45
4.1.1 Podmínky pěstování	46
4.1.2 Varianty pěstování	47
4.2 Klimatické podmínky	47
4.2.1 Charakteristika sklizňového ročníku 2013.....	49
4.3 Metodika	49
4.3.1 Zpracování a příprava vzorků	49
4.3.2 Stanovení ZEA a DON.....	50
5 VÝSLEDKY A DISKUZE.....	53
5.1 Obsah DON a ZEA ve sledovaných vzorcích	53
5.1.1 Obsah DON v ošetřené a neošetřené variantě.....	53
5.1.2 Obsah ZEA v ošetřené a neošetřené variantě.....	61

5.1.2 Srovnání obsahu DON a ZEA.....	68
5.2 Diskuze.....	70
6 ZÁVĚR.....	74
7 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	76
8 SEZNAM TABULEK A OBRÁZKŮ.....	85
9 PŘÍLOHY	88

1 ÚVOD

Mykotoxiny jsou sekundární metabolity produkované širokou škálou mikroskopických vláknitých hub. Především se jedná o druhy *Alternarium*, *Aspergillus*, *Fusarium* a *Penicillium*. Napadají důležité zemědělské i potravinářské komodity, a to jak v prvovýrobě (při pěstování) tak při nevhodném skladování. Kontaminace zemědělských komodit je významným celosvětovým problémem a jejím vlivem dochází každoročně ke ztrátám krmiv, surovin i potravin. Kromě snížení technologické kvality surovin, je závažným problémem přenos mykotoxinů do potravin, nebo také uvolňování maskovaných forem mykotoxinů při technologickém zpracování.

Mykotoxiny jsou toxiny přírodního původu, nebílkovinné povahy, toxické pro člověka i zvířata. Některé z nich jsou prokázány lidskými karcinogeny, u dalších je karcinogenita předpokládána na základě testů mutagenity a pokusů na zvířatech. Mohou způsobovat neurotoxické účinky, poruchy imunity a další závažné onemocnění, zvaných mykotoxikózy. Kontrolní činnost a dozor nad zdravotní nezávadností krmiv a potravin je proto dnes nezbytnou součástí zdravotní bezpečnosti. Limitní množství mykotoxinů v surovinách a potravních komoditách stanovuje legislativa EU.

Počet mykotoxinů není přesně znám, v současné době je známo přes 300 různých mykotoxinů, ale nadále jsou objevovány nové. Výzkumu mykotoxinů je v poslední době věnována celosvětově značná pozornost a to především fusariovým mykotoxinům, které jsou produkované druhy *F. graminearum* a *F. culmorum*, kde řadíme deoxynivalenol, nivalenol, zearalenon, T-2 toxin a HT-2 toxin a jejich maskované formy (např. deoxynivalenol-3-glukosid). Nejčastěji napadají obiloviny, kde způsobují poškození klasů a následně i zrna a kukuřici, kde mají za následek poškození palic. Jako indikátor mykotoxinové kontaminace je brán deoxynivalenol, jelikož bývá nejčastěji se vyskytujícím trichotecenem. V poslední době se však zjišťuje, že ho často doprovází i nivalenol, T-2 a HT-2 toxin. Běžně bývá detekován v pšenici, ječmeni i kukuřici a způsobuje především zvracení, závratě či bolesti břicha.

V této práci je měřen obsah deoxynivalenolu a zearalenonu v ošetřené a neošetřené variantě pšenice ozimé, pomocí rychlé imunochemické metody ELISA.

2 CÍL PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo prostudovat odbornou literaturu a vypracovat literární rešerši na téma „Průnik obsahu mykotoxinů ze zrna obilovin do hotového výrobku a dopad na zdraví člověka.“ Zaměřit se především na charakteristiku jednotlivých mykotoxinů a jejich producentů, požadavků na jejich obsah v obilovinách a výrobcích z obilovin, vliv podmínek skladování na jejich výskyt a dopad na zdraví člověka při zvýšeném výskytu.

Dále bylo cílem provedení laboratorních analýz mykotoxinů u 10 vzorků pšenice ozimé v ošetřené a neošetřené variantě ELISA testem s následným stanovením deoxynivalenolu a zearalenonu. V rámci každého vzorku vyšetřit zrno, mouku a pečivo. Získané výsledky statisticky a graficky zpracovat a konfrontovat se stávající literaturou a legislativními limity.

3 LITERÁRNÍ PŘEHLED

3.1 Vlákňité mikromycety

Mikroskopické vlákňité mikromycety (plísně) tvoří důležitou část všech organismů, zvláště pak ve vztahu k člověku a zvířatům. Mohou zapříčinit nemoci kůže, sliznic i vnitřních orgánů, souhrnně se jim říká mykózy. Po požití, vdechnutí nebo po kontaktu s toxickými sekundárními metabolity mikroskopických hub vznikají mykotoxikózy. Mikroskopické houby mohou v příznivých podmínkách svou nežádoucí činností kontaminovat a zničit velké množství surovin, potravin a krmiv (TANČINOVÁ ET AL., 2012).

3.1.1 Charakteristika

Vlákňité mikromycety jsou jednobuněčné až mnohobuněčné eukaryotní mikroorganismy, které tvoří na povrchu nebo uvnitř substrátů vlákňité povlaky. Řadíme je do říše hub (Fungi) a podle přítomnosti a typu pohlavního rozmnožování rozdělujeme technicky a potravinářsky důležité plísně do tří skupin:

1. Třída *Zygomycetes* s jednobuněčným nepřehrádkovaným myceliem. Rozmnožují se pohlavně endosporami.
2. Podkmen *Ascomycotina* s přehrádkovým myceliem. Pohlavně se rozmnožují askosporami tvořenými v asku a nepohlavně se rozmnožují exosporami.
3. Podkmen *Deuteromycotina* s přehrádkovým myceliem. Rozmnožují se pouze nepohlavně (CEMPÍRKOVÁ ET AL., 1997).

3.1.2 Morfologie a rozmnožování

Základní morfologickou jednotkou je vlákno (hyfa). Hyfy se opakovaně větví a vytváří spleť vláken zvané mycelium (podhoubí). To můžeme pozorovat na různých površích a plochách v podobě různobarevných nárůstů (PAŘÍKOVÁ ET KUČEROVÁ, 2001). Hyfy jsou buď jednobuněčné (tvořené jedinou buňkou, tzv. coenocytické mycelium), nebo vícebuněčné (rozdělené přepážkami, tzv. septované mycelium). Nová vlákna klíčí ze spor, rostou na konci hyfy a vlákna se tak dále rozvětvují. Mycelium, které slouží

k výživě plísni a zanořuje se do substrátu, nazýváme jako mycelium vegetativní (substrátové). Mycelium rostoucí nad substrátem, tzv. vzdušné mycelium, plní funkci rozmnožovací, a proto ho nazýváme myceliem reprodukčním.

Rozmnožování mikromycet probíhá buď rozrůstáním hyf, nebo sporami. Spory, které vznikají spájením, jsou tzv. pohlavní spory. Spory vznikající vegetativním způsobem jsou nepohlavní spory. Ty se tvoří buď na fruktifikačních orgánech, odkud se dále rozdělují na exospory (vznikající vně fruktifikačních orgánů) a endospory (vznikající uvnitř fruktifikačních orgánů), nebo na vegetativních hyfách (CEMPÍRKOVÁ ET AL., 1997).

3.1.3 Podmínky růstu

Každý druh mikromycet má rozdílné požadavky na podmínky prostředí ve kterém roste, a to platí i mezi druhy toho samého rodu (DIEKMAN ET GREEN, 1992). Můžeme je rozdělit na vnější faktory (teplota, relativní vlhkost, kyslík, doba skladování surovin), vnitřní faktory (aktivita vody, pH, textura, složení surovin, antimikrobiální látky v surovinách) a způsoby zpracování a konzervování surovin (chemické nebo fyzikální ošetření) (TANČINOVÁ ET AL., 2012).

- ***Vnější faktory***

Teplota při které mikromycety rostou, se často shoduje s teplotami, které jsou optimální pro člověka. Nejvhodnější teplota je v rozmezí 18 – 28 °C, ale mohou však žít v rozmezí 0 – 60 °C (PAŘÍKOVÁ ET KUČEROVÁ, 2001). Optimální relativní vlhkost vzduchu pro jejich růst se pohybuje od 80 % výše, avšak některým druhům postačuje i 65 % (ŠILHÁNKOVÁ, 2002). Mikromycety jsou aerobní mikroorganismy, mohou proto růst a rozmnožovat se jen v prostředí s přívodem kyslíku. K poklesu jeho koncentrace však citlivé nejsou (FILTENBORG ET AL., 2002). S dobou skladování se snižuje počet zárodků, které jsou schopné růst a rozmnožovat se. Nejvyšší počet mikromycet je vždy po sklizni a nejvýraznější pokles nastává v prvních měsících skladování (TANČINOVÁ ET AL., 2001).

- **Vnitřní faktory**

Většina mikromycet je schopna růst a množit se v širokém rozmezí hodnot aktivity vody – a_w (0,60 – 0,99). Růstu můžeme předejít sušením surovin na úroveň a_w pod 0,65 a tuto hodnotu udržovat, avšak při nerovnoměrné teplotě skladování může dojít ke zvýšení a_w což vede k růstu mikromycet (FILTENBORG ET AL., 2002). Prostředí vyžadují mírně kyselé až neutrální (pH 5 – 7), nicméně některé druhy se mohou množit v širokém rozmezí pH (1,2 -11) a působením vlastních metabolických produktů jsou schopny si upravovat hodnotu pH dle své potřeby. Světlo k životu nepotřebují (PAŘÍKOVÁ ET KUČEROVÁ, 2001). Na živiny jsou nenáročné a velmi přizpůsobivé. Rozmnožují se a rostou na nejrozličnějších substrátech a to nejen na potravinářských surovinách ale i na papíru, dřevě, plastu a textiliích. Některým mikromycetům postačuje uhlík a dusík z atmosféry, jiné druhy vyžadují pro růst substrát z organických sloučenin bohatý na uhlík a mohou využívat různé druhy bílkovin, sacharidů i tuků (TICHÁ, 1988).

3.2 Významní producenti mykotoxinů

Nejnámější mykotoxiny jsou metabolickými produkty rodů *Alternaria*, *Aspergillus*, *Claviceps*, *Diplodia*, *Fusarium*, *Myrothecium*, *Penicillium*, *Phoma* a *Stachybotrys*. Různé kmeny téhož druhu mohou produkovat více jak jeden typ mykotoxinu (např. *Aspergillus flavus*, který kromě aflatoxinů produkuje také kyselinu α -cyklopiazonovou). Ovšem všichni zástupci toxikogenního druhu nemusí produkovat mykotoxiny (např. jen 22 % kmenů *Fusarium moniliforme* produkuje detekované hladiny moniliforminu). Existují i mykotoxiny, které produkuje více druhů téhož rodu, nebo jsou produkovány druhy z taxonomicky blízkých rodů (např. citrinin, který byl izolovaný z rodů *Aspergillus* a *Penicillium*) (BETINA, 1990).

Vláknité mikromycety rostoucí na obilovinách můžeme rozdělit do dvou skupin. Polní, kde zařazujeme ty, které se rozvíjejí uvnitř nebo na povrchu zrna před jeho uskladněním (nejčastější jsou rody *Alternaria* a *Fusarium*). A skladové, které se v malé míře vyskytují před sklizní, ale svým výskytem a rozvojem dominují hlavně při skladování (*Aspergillus* a *Penicillium*) (LACEY, 1989).

3.2.1 Rod *Aspergillus*

Aspergillus je rod s více než 180 uznanými druhy. Rozmnožuje se nepohlavně pomocí konidií tvořícími se na fialidách. Kolonie tohoto rodu mají nejrůznější barvy, obvykle však černé, hnědé, žluté a bílé. Jsou xerofilní a xerotolerantní. Vyskytují se často v ořeších, obilninách, na sušeném ovoci nebo olejnatých semenech.

Aspergily jsou známé především jako významní producenti mykotoxinů poškozující ledviny a játra. Za neznámější mykotoxin je považován aflatoxin (TANČINOVÁ ET AL, 2012; SLÁDKOVÁ ET HLAVÁČOVÁ, 2011). Nejvíce prozkoumané aflatoxiny jsou produkovány druhy *Aspergillus flavus* a *Aspergillus parasiticus*. Přehled dalších důležitých mykotoxinů je uveden v tabulce č. 1 (BETINA, 1990).

Zapříčiňují řadu systémových mykóz, např. endokarditidy, plicní aspergilózy nebo různě lokalizované abscesy. Léčba aspergilových nákaz není snadná, protože vzdorují většině dostupných antimykotik (SLÁDKOVÁ ET HLAVÁČOVÁ, 2011).

Tabulka č. 1: Mykotoxiny produkované druhy rodu *Aspergillus* (BETINA, 1990)

Mykotoxin	Původně izolován z druhu
Aflatoxiny	<i>A. flavus</i>
Aflatrém	<i>A. flavus</i>
Askladiol	<i>A. clavatus</i>
Citreoviridin	<i>A. terreus</i>
Erythroglaucin	<i>A. glaucus</i>
Fumagilin	<i>A. fumigatus</i>
Fumitremorgin	<i>A. fumigatus</i>
Kyselina aspergilová	<i>A. flavus</i>
Kyselina α -cyklopiazonová	<i>A. flavus</i>
Kyselina kojová	<i>A. fumigatus</i>
Malforminy	<i>A. niger</i>
Ochratoxiny	<i>A. ochraceus</i>
Patulin	<i>A. clavatus</i>
Sterigmatocystin	<i>A. versicolor</i>

3.2.2 Rod *Alternaria*

Rod *Alternaria* zahrnuje plísňe vyznačující se poměrně rychlým růstem. Pro svůj růst vyžadují vlhkost 20 – 25 %. Mají charakteristické hnědě septované hyfy, ze kterých vyrůstají konidiofory, na kterých se tvoří tmavohnědé konidie. Konidie mají elipsovité nebo oválný tvar a vyskytují se buď jednotlivě, nebo jsou uspořádané v řetízích.

Zástupci rodu *Alternaria* patřili na Slovensku v letech 2006 – 2007 mezi nejčastěji izolované plísňe z pšenice. Frekvence výskytu byla 96,7 – 100 %. Z důvodu jejich všudypřítomnosti, velmi efektivnímu rozšiřování a krátkému životního cyklu, je velmi těžké nad nimi získat kontrolu (TANČINOVÁ ET AL., 2001).

Mezi mykotoxiny produkované druhy *Alternaria alternata*, *Alternaria arborescens* a *Alternaria tenuissima* patří hlavně alternariol, altertoxin, altenuen a kyselina tenuazónová (MAŠKOVÁ ET AL., 2011).

3.2.3 Rod *Fusarium*

Pro zástupce rodu *Fusarium* je charakteristická velká variabilita barev jejich kolonií. Většina druhů produkuje malé, okem viditelné a slizovité masy konidií. Konidie mají různou velikost i tvar – větvenovitý, půlměsíčkovitý, oválný, elipsovité nebo kulatý (SAMSON ET AL., 2002). Fusárie se vyskytují ve všech důležitých agroklimatických oblastech světa. Větší kontaminace však bývá v chladnějších a vlhčích lokalitách (BURGESS ET AL., 1988).

Fusariové choroby zrna nejčastěji způsobují druhy *Fusarium culmorum* a *Fusarium graminearum*. V zrnech produkují zejména deoxynivalenol, zearalenon a další trichotecenové mykotoxiny, viz tabulka č. 2 (TANČINOVÁ ET AL., 2012).

Tabulka č. 2: Trichoteceny produkované druhy rodu *Fusarium* (BETINA, 1990)

Mykotoxin	Druh
Diacetoxyscirpenol	<i>Fusarium equiseti</i>
Deoxynivalenol	<i>F. culmorum</i>
Fuzarenon X	<i>F. nivale</i>
Nivalenol	<i>F. nivale</i>
Neosolaniol	<i>F. culmorum</i>

Scripentriol	<i>F. roseum</i>
Sporotrichiol	<i>F. trichioides</i>
T-2 toxin	<i>F. tricinctum</i>
Zearalenon	<i>F. graminearum</i> (= <i>Gibberella zeae</i>)

3.2.4 Rod *Penicillium*

Rod *Penicillium* je považován za příbuzný rodu *Aspergillus*. Rozdíly v utváření rozmnožovacích orgánů jsou velmi malé. Rozmnožují se nepohlavně (TANČINOVÁ ET AL., 2012). Na septovaných a hojně větvených vláknech se tvoří konidiofory s koncovými zašpičatělými fialidy a kulovitými nebo oválnými konidii, které se tvoří v řetězcích. Konidiofor s fialidy a konidii tak vypadá jako štěteček, proto se česky nazývá plíseň štětičková (FRÁGNER, 1967). Podobně jako aspergily vytvářejí také pestré a rozmanitě pigmentované kolonie.

Rovněž tvoří mykotoxiny (ty nejdůležitější uvádí tabulka č. 3) a donedávna nebyl tento rod považován za patogenní pro člověka. Zjistilo se však, že *Penicillium marneffei* patogenní pro člověka je. Postihuje hlavně plíce, kůži, játra a u osob nemocných AIDS je schopen vyvolat infekci. Je známo asi 225 druhů, mezi významné druhy patří např. *Penicillium expansum* a *Penicillium islandicum* (SLÁDKOVÁ ET HLAVÁČOVÁ, 2011).

Tabulka č. 3: Mykotoxiny produkované druhy rodu *Penicillium* (BETINA, 1990)

Mykotoxin	Původně izolován z druhu
Citreoviridin	<i>P. citreo-viride</i>
Citrinin	<i>P. citrinum</i>
Dehydrogliotoxin	<i>P. terlikowski</i>
Emodin	<i>P. islandicum</i>
Chryzofanol	<i>P. islandicum</i>
Grizeofulvin	<i>P. griseofulvum</i>
Kyselina mykofenolová	<i>P. brevicompactum</i>
Kyselina penicilová	<i>P. verrucosum</i>
Luteoskyrin	<i>P. islandicum</i>
Ochratoxin	<i>P. viridicatum</i>

Patulin	<i>P. patulum</i>
Paxilin	<i>P. paxilli</i>
Penitremy	<i>P. crustosum</i>
PR toxin	<i>P. roqueforti</i>
Rubratoxiny	<i>P. rubrum</i>
Skytrin	<i>P. islandicum</i>
Verukulogen	<i>P. simplicissimum</i>
Xantocilin	<i>P. notatum</i>
Xantomegnin	<i>P. viridicatum</i>

3.3 Mykotoxiny

Mykotoxiny jsou sekundární toxické metabolity mikroskopických vláknitých hub (mikromycet, plísní). Jedná se o strukturně odlišné komplexní organické sloučeniny nebílkovinné povahy, o nízké molekulové hmotnosti (do 700 g/mol), toxické pro člověka i zvířata.

V současné době je známo přes 300 různých mykotoxinů a i nadále jsou objevovány a charakterizovány další nové. Patří mezi celosvětově významné a často se vyskytující toxiny přírodního původu, které mohou mít akutní, chronické, nebo i pozdní toxické účinky (MALÍŘ ET OSTRÝ, 2003).

Mykotoxiny jsou produkovány myceliem plísní, odkud jsou vylučovány do okolí, nebo mohou být obsaženy ve sporách a kontaminovat tak životní prostředí člověka. Kontaminované potraviny a krmiva mohou vyvolávat různé toxické syndromy, které souhrnně nazýváme mykotoxikózy. Téměř všudypřítomné mykotoxiny se tak mohou vyskytovat v podstatě na všech úrovních potravního řetězce jak člověka, tak i hospodářských zvířat (VELÍŠEK ET HAJŠLOVÁ, 2009).

Vzhledem k tomu, že je dnes známo přes 300 různých mykotoxinů, které se značně liší svou strukturou, nejde tak popsat jednotnou charakteristiku jejich vlastností. Můžeme však říct, že u většiny z nich se jedná o pevné látky, vykazující značnou stabilitu, dobře rozpustné ve vodě (PATOČKA ET AL., 2004).

3.3.1 Historie

Lidstvo se setkávalo s mykotoxiny a jimi vyvolanými chorobami již od prvopočátků své existence, když se cíleně začala obdělávat půda a na ní pěstovat plodiny. Je téměř jisté, že tehdy lidé se svými znalostmi a technickými možnostmi nemohli účinně bránit kontaminaci skladovaných plodin před toxikogenními plísněmi, nebo si dovolit v době hladomorů vyhodit kontaminované potraviny. S nástupem moderní doby, se zemědělskou nadprodukcí a vědecko-technickou revolucí se však tento nepříznivý stav překonal.

Mykotoxikózy byly popisovány již od starověku, i když mykotoxiny jako jejich původci ještě známy nebyly. Mezi nejstarší popsané mykotoxikózy patří onemocnění ze žluté rýže, ergotismus a alimentární toxická aleukie.

V 50. letech se sice začaly objevovat zprávy o nebezpečnosti zplsnivělých potravin a krmiv, avšak mezníkem se stal rok 1960, když ve Velké Británii došlo k úhynu desítek tisíc krůt na nemoc tehdy zvanou „Turkey X disease“ a z arašídů (které byly součástí krmné směsi) byly objeveni původci otrav, a to aflatoxiny. Od té doby je mykotoxinům a jejich účinkům věnována soustavná pozornost.

V současné době je známo asi 50 mykotoxinů způsobujících mykotoxikózy u lidí a zvířat (MALÍŘ ET OSTRÝ, 2003).

3.3.2 Toxicita mykotoxinů

Mechanismus toxického účinku a specifické účinky jednotlivých mykotoxinů na různé orgány jsou značně rozdílné (jak uvádí tabulka č. 4). S tím souvisí i různé klinické projevy, diagnóza a terapie. Podobně jsou velmi rozdílné i jejich toxicity. Nebezpečí většiny mykotoxinů spočívá spíše v chronickém působení nepatrných množství, než v akutní toxicitě (PATOČKA ET AL., 2004).

Tabulka č. 4: Kvalitativní dělení mykotoxinů podle toxicity (ŠIMŮNEK, 2004)

Dermotoxiny	Psoraleny, sporidesminy, verrucariny, trichoteceny, aj.
Hepatotoxiny	Aflatoxiny, sterigmatocystin, sporidesminy, luteoskyrin, aj.
Genitotoxiny	Zearalenony

Imunotoxiny	Aflatoxiny, ochratoxin A, trichoteceny, aj.
Nefrotoxiny	Ochratoxin , citrinin, aj.
Neurotoxiny a myotoxiny	Tremorgeny, citreoviridin
Toxiny dýchacího traktu	Patulin
Toxiny zažívacího traktu	T-2 toxin, deoxynivalenol, a další trichoteceny

Podle míry akutní toxicity členíme mykotoxiny do tří skupin (viz tabulka č. 5). Míra toxicity platí pro běžná laboratorní zvířata (MALÍŘ ET OSTRÝ, 2003).

Tabulka č. 5: Kvantitativní dělení mykotoxinů podle akutní toxicity (MALÍŘ ET OSTRÝ, 2003)

Slabě toxické (LD ₅₀ je stovky až tisíce mg/kg t. hm.)	Trihotheceny, kyselina mykofenolová, chaetomin, griseofulvin, kyselina kojová, zearalenon
Středně toxické (LD ₅₀ je desítky mg/kg t. hm.)	Citrinin, kyselina penicilová, kyselina cyklopiazonová, sterigmatocystin
Silně toxické (LD ₅₀ je jednotky mg/kg t. hm.)	Aflatoxiny, patulin, luteoskyrin, sporidesminy, ochratoxin A, cyklochlorotin, citreoviridin, rubratoxiny, penitrem A, T-2 toxin, diacetoxyscirpenol

Je-li v přirozených podmínkách současně více mykotoxinů, mohou svými synergickými účinky významně zesílit společné nežádoucí toxické účinky. Například současný výskyt ochratoxinu A a aflatoxinů zesiluje hepatotoxické účinky, výskyt citreoviridinu a kyseliny penicilové zesiluje kardiotoxické účinky (MALÍŘ ET OSTRÝ, 2003).

3.3.3 Mykotoxiny v potravinách

Přítomnost mykotoxinů v potravinách může být zapříčiněno zpracováváním surovin obsahující mykotoxiny, kažením potravin plísněmi (které produkují mykotoxiny), zkrmováním zplsnivělých krmiv (které obsahují mykotoxiny) a které následně mohou přejít až do mléka nebo masa, nebo výrobou potravin pomocí plísní produkujících mykotoxiny.

V potravinách nalézáme hlavně aflatoxin B₁, fumonisin, citrinin, deoxynivalenol a ochratoxin.

Sklízená zelenina a obiloviny obsahuje téměř vždy spóry toxikogenních plísní, ale nízká vodní aktivita správně skladovaných produktů zabraňuje jejich rozvoji. Asi největší riziko otrav mykotoxiny hrozí lidem z přímé konzumace kontaminované zeleniny, luštěnin nebo obilovin. Menší riziko otravy je u potravin živočišného původu, i když byly nalezeny i ve vejcích, mase či mléce. Ovšem pro eliminaci již vytvořených mykotoxinů v potravinách či krmivech zatím není znám spolehlivý postup (VLKOVÁ, 2009).

3.4 Přehled nejdůležitějších mykotoxinů

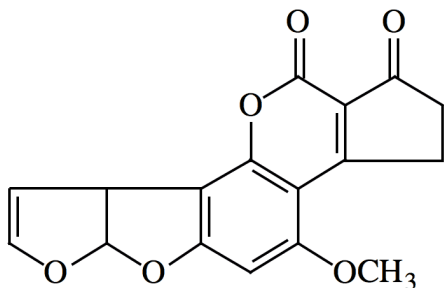
3.4.1 Aflatoxiny

Aflatoxiny patří, vzhledem ke své toxicitě, k nejsledovanějším mykotoxinům. Jsou to prokázané karcinogeny pro člověka. Je to skupina příbuzných látek, jež jsou produkovány toxikogenními kmeny *Aspergillus flavus* a *Aspergillus parasiticus*. Byly objevené, izolované a charakterizované v 60. letech minulého století ve spojitosti s hromadným úhynem mladé drůbeže v Anglii, která byla krmena moučkou z brazilské podzemnice olejné. Jejich název byl odvozen od plísně *Aspergillus flavus* (aflatoxin), kterou byla moučka z podzemnice olejné napadena.

Za hlavní považujeme aflatoxiny B₁, B₂, G₁ a G₂. Označení je dáno jejich fluorescencí pod UV světlem, které je buď modré (B – blue) nebo zelené (G – green). V mléce od krav a ovcí, kmených taktéž podzemnicovou moučkou, byly objeveny obdobné metabolity aflatoxinů nazvané M₁ a M₂. Mezi analogy aflatoxinů, které jsou buď produkty biotransformace aflatoxinů, nebo přírodními metabolity řadíme především aflatoxin B₃ (parazitokol) a aflatoxikol.

Nejvyšší akutní toxicitu má aflatoxin B₁ (viz obrázek č. 1) a dále následují aflatoxiny G₁, B₂ a G₂. Toxicita aflatoxinů spočívá především v poškození jater, vyúsťující v hepatokarcinomy, můžou vyvolat Reyův syndrom, kwashiorkor a stavy útlumu imunity. Nejznámější a nejtoxičtější hepatokarcinogen je právě aflatoxin B₁. Karcinogenní účinky byli potvrzené u myší, potkanů, pstruhů, kachen a opic.

Předpokládá se, že jeho přítomnost v potravě zapříčiňuje častý výskyt rakoviny jater u lidí, a to hlavně v asijských a afrických oblastech. Vysoko toxický a karcinogenní je rovněž aflatoxikol.



Obrázek č. 1: Strukturální vzorec aflatoxinu B₁

Aflatoxin B₁ je účinný až po bioaktivaci, kterou je přeměněn na aflatoxin B₁-2,3-epoxid. Aktivovaný derivát může inhibovat syntézu DNA, RNA i proteinů. Kovalentní vazba na DNA zapříčiňuje inhibici transkripce a replikace a má mutagenní účinky.

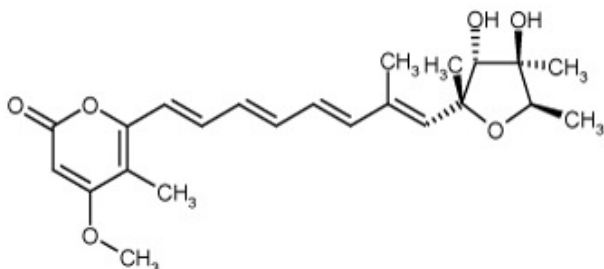
Produkce aflatoxinů velmi závisí na přístupu vzduchu, vlhkosti, teplotě, chemickému složení a struktuře substrátu. Za příznivých podmínek může k jejich rozvoji docházet prakticky kdekoli, avšak nejvyšší nálezy aflatoxinů byly u podzemnice olejné, kukuřice, para ořechů, pistácií a bavlníkových semen. Zvýšená pravděpodobnost napadení příslušnými plísněmi je především po sklizni v subtropických a tropických oblastech. Jsou známy látky (např. kofein), které jsou do určité míry schopny blokovat biosyntézu aflatoxinů. Naopak některá organická rozpouštědla nebo stopové prvky jejich produkci zvyšují (BETINA, 1990; OSTRÝ, 1998; POLSTER, 1971; ŠIMŮNEK, 2004; VELÍŠEK, 2002).

3.4.2 Citreoviridin

Typickým producentem citreoviridinu (viz obrázek č. 2) je *Penicillium citreoverdi*. Byl izolovaný roku 1937 z rýže na Tchaj-wanu. Nalezen byl i v pekanových ořeších či předčasně sklizené kukuřici (VELÍŠEK, 2002).

Je to cukerný derivát pyranonu, má sytě žlutou barvu kvůli které je charakteristická tzv. žlutá rýže. Jeho produkci podporují nízké teploty. Je rozpustný v etanolu a chloroformu a nerozpustný ve vodě (PATOČKA ET AL., 2004).

Je neurotoxický, může vyvolat kardiální beri-beri (křeče, paralýza), které většinou končí smrtí a silně inhibuje aktivitu mitochondriální ATPázy (WEIDENBORNER, 2001).



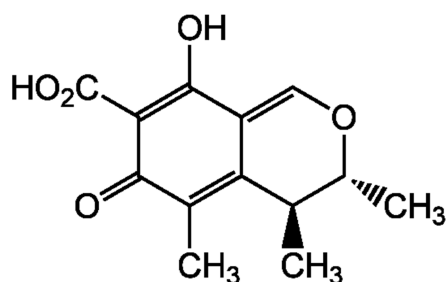
Obrázek č. 2: Strukturní vzorec citreoviridinu

3.4.3 Citrinin

Citrinin je produkován některými druhy rodů *Aspergillus* a *Penicillium*, především plísní *Penicillium citrinum* a *Penicillium verrucosum*. Je to hlavní kontaminant tzv. žluté rýže, ale v podmínkách mírného klimatického pásma se nachází zejména v obilovinách.

Na počátku 30. let minulého století, kdy došlo k jeho objevení, byl nejprve zařazen jako antimikrobiální antibiotikum. Až později v 60. letech byla zjištěna jeho fytotoxicita, silná nefrotoxicita a interference s metabolickými procesy v játrech vedoucí k jejich poškození. Je klasifikován jako silný teratogen. U experimentálních zvířat se projevuje mutagenitou a karcinogenitou a u rostlin inhibuje růst (HAMERSKÝ, 2006).

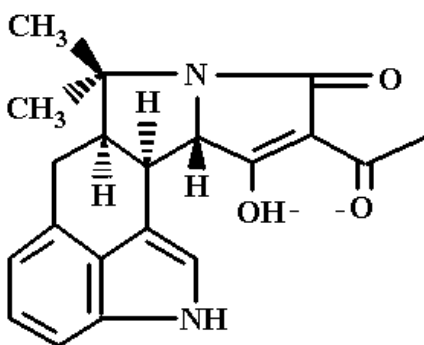
Chemickou strukturu citrininu můžeme vidět na obrázku č. 3. Z fyzikálního hlediska můžeme říct, že je rozpustný v horkém etanolu, etylacetátu, acetonu a chloroformu a nerozpustný ve vodě, dietyléteru, či petroléteru (BETINA, 1990).



Obrázek č. 3: Strukturní vzorec citrininu

3.4.4 Cyklopiazonová kyselina (CPA)

Cyklopiazonová kyselina byla objevena a izolována roku 1968 z *Penicillium cyclopium*. Produkují ji některé druhy rodů *Aspergillus* a *Penicillium*. Nejčastěji je to *P. cammemberti*, *P. Patulum*, *P. crustosum*, *A. flavus* a *A. oryzae* (BETINA, 1990). Je to indolová sloučenina (viz obr. č. 4), která barevně reaguje s Ehrlichovým činidlem, což můžeme použít pro její stanovení (ŠIMŮNEK, 2004). Její přítomnost byla prokázána v různých krmivech, arašíděch, kukuřici a slunečnicových semenech (VELÍŠEK, 2002). V menším množství se pravidelně vyskytuje ve zrajících plísňových sýrech pod pokryvem *Penicillium cammemberti*, nebo v plísňových salámech. Při nedodržení klasické technologie camembertských sýrů, může být její koncentrace v plísňovém pokryvu sýrů až o tři řády vyšší (ŠIMŮNEK, 2004).



Obrázek č. 4: Strukturální vzorec cyklopiazonové kyseliny

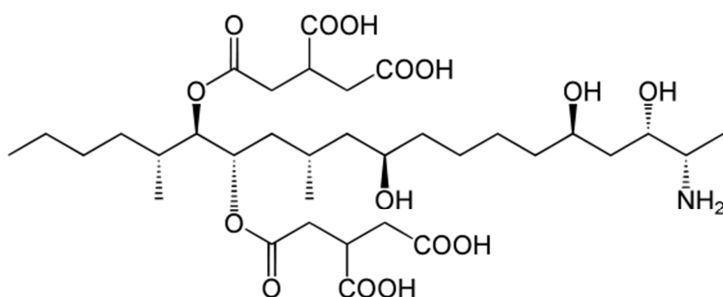
U zvířat při podání per os způsobuje poškození trávicí trubice, nekrózu jater nebo nekrotické změny na svalovině skeletu. Při podání, které obchází jaterní bariéru, byly u hospodářských i laboratorních zvířat pozorovány křeče a úhyn. Je také považována za potenciální karcinogen a zjistila se její mutagenita pro *Salmonella typhimurium* (HAMERSKÝ, 2006).

3.4.5 Fumonisin

Fumonisin byly objeveny až na konci 80. let minulého století a v současné době jsou velmi intenzivně zkoumány. Doposud bylo nalezeno 20 producentů z rodu *Fusarium*. Za hlavní producenty se považují *Fusarium moniliformis* a *Fusarium proliferatum*. Tyto

mykotoxiny se nejčastěji vyskytují v kukuřici a v příslušných produktech (silážích, kukuřičných lupíncích).

Zatím je známo 6 fumonisinů, a to fumonisin A₁, A₂, B₁, B₂, B₃, a B₄. Nejznámější z nich je fumonisin B₁ (viz obr. č. 5). Jsou relativně termostabilní, z povrchu kukuřice je lze odstranit mytím v alkalických roztocích, avšak při vyšším rozsahu kontaminace mohou ve vnitřních částech zrn zůstat rezidua (VELÍŠEK, 2002).

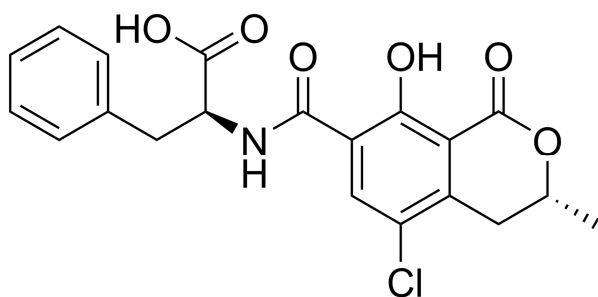


Obrázek č. 5: Strukturální vzorec fumonisinu B₁

Je dokázána jejich hepatotoxicita a nefrotoxicita. Některé studie z Afriky a Číny dokládají zvýšenou tvorbu rakoviny jícnu u obyvatelstva s velkou konzumací kontaminované kukuřice (karcinogenita u zvířat byla prokázána). U hospodářských zvířat vyvolávají několik typů onemocnění, z nichž nejznámější je leukoencefalomalacie koní, edém plic u prasat nebo zhoubné nádory u potkanů. Intoxikace vyššími dávkami může vést k úmrtí zvířat (ŠIMŮNEK, 2004, VELÍŠEK, 2002).

3.4.6 Ochratoxiny

Do skupiny ochratoxinů patří ochratoxin α , A, B, C a 4-hydroxyochratoxin. Nejtoxičtější a nejdůležitější je ochratoxin A (viz obr. č. 6), který je produkován vícero druhy rodů *Aspergillus* a *Penicillium*. Poprvé byl izolovaný v Jihoafrické republice při laboratorním vyšetření zemědělských plodin z druhu *Aspergillus ochraceus*. V chladnějších klimatických pásmech je nejčastější producent ochratoxinu A druh *Penicillium viridicatum* (BETINA, 1990; VELÍŠEK 2002).



Obrázek č. 6: Strukturní vzorec ochratoxinu A

Po chemické stránce můžeme ochratoxiny charakterizovat jako deriváty isokumarinu chlorovaného v poloze 5, propojeného pomocí peptidické vazby s aminokyselinou L- β -fenylalaninem (PATOČKA ET AL., 2004).

Ochratoxin A se nejčastěji vyskytuje na ječmeni, pšenici, kukuřici, rýži či v zelených kávových bobech. Vyskytuje se také v orgánech hospodářských zvířat, a to hlavně v ledvinách či játrech vepřů. U zvířat způsobuje nefrotoxicitu, hepatotoxicitu, genotoxicitu, karcinogenitu a imunotoxicitu. Pro člověka je klasifikován jako možný karcinogen. Je spojován s nádory ledvin a balkánskou endemickou nefropatií (BETINA, 1990; OSTRÝ, 1998; VELÍŠEK, 2002).

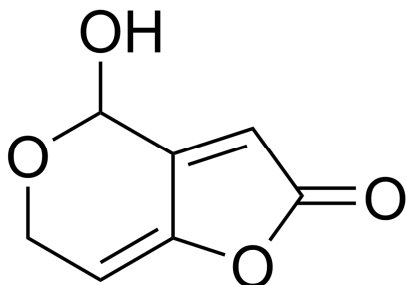
Mechanismus toxického účinku ochratoxinu A spočívá v záměně fenylalaninové části jeho molekuly prostřednictvím t-RNA za fenylalanin. Ten je ale navázán na kumarinovou část bránící jeho navázání do proteinového řetězce a dochází tak k zastavení proteosyntézy (ŠIMŮNEK, 2004).

3.4.7 Patulin

Patulin byl ve 40. letech minulého století původně popsán jako antibiotikum účinné na grampozitivní a gramnegativní bakterie a krátký čas byl i léčebně využíván. Poté co byla objevena jeho karcinogenita vůči zvířatům, byl stažen a dnes je pokládán za významný mykotoxin. Produkuje jej řada druhů plísní rodů *Aspergillus*, *Byssochlamys*, *Penicillium* a *Paecilomyces*. Poprvé byl izolován z *Penicillium patulinum* (odkud je odvozen název) a z *Penicillium claviforme*.

Chemickou strukturou (viz obr. 7) je řazen mezi mykotoxiny laktonového typu. Je rozpustný ve vodě, etanolu, acetonu a chloroformu a nerozpustný v benzenu a petroléteru. V kyselém prostředí je stálý, v alkalickém prostředí ztrácí svou aktivitu.

Reaguje se skupinami -SH, což je podstata jeho detoxikace (BETINA, 1990; ŠIMŮNEK 2004).



Obrázek č. 7: Strukturní vzorec patulinu

Protože *P. patulinum* a *P. expansum* jsou běžné patogeny ovoce a zeleniny, vyskytuje se patulin především v jablkách, hroznech, pomerančích a dalším ovoci. Je to relativně běžný kontaminant džusů a koncentrátů, především pak bylo-li k výrobě použito ovoce přezrálé či poškozené (VELÍŠEK, 2002). Také se může vyskytovat v zaplesnivělých silážích.

U dobytka jsou popsány akutní otravy, kde dominuje poškození plic a edémy. Rovněž byly prokázány negativní účinky na gastrointestinální trakt či účinky neurotoxické a imunotoxické. Inhibuje syntézu RNA a proteosyntézu. Z hlediska možné karcinogenity je požadováno snížení jeho obsahu na minimum. Limit pro patulin navržený WHO je 0,05 mg/kg (PATOČKA ET AL., 2004; ŠIMŮNEK, 2004, VELÍŠEK, 2002).

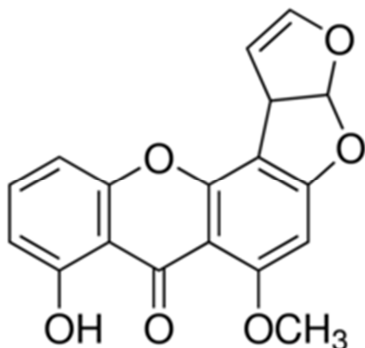
3.4.8 Sterigmatocystin

Sterigmatocystin je mykotoxin příbuzný aflatoxinům. Je považován za jejich prekurzor při biosyntéze. Produkují ho mnohé druhy rodů *Aspergillus*, *Chaetomium* a *Emericella*, nejčastěji však druhy *Aspergillus versicolor*, *A. flavus*, *A. bipolaris*, *Chaetomium thielarioideum* či *C. adagawae*.

Jeho přítomnost spolu s aflatoxiny byla prokázána v kávových zrnech, plesnivých cereáliích, ale i v salámech, šunce a sýrech.

Má velmi silnou akutní toxicitu, předpokládá se obdobná hepatokarcinogenita jako u aflatoxinů, u zvířat způsobuje cirhózy a chronické nemoci jater. V ČR je jeho obsah

limitován, maximální přípustný limit se pohybuje v rozpětí 5 – 20 µg/kg (BETINA, 1990; VELÍŠEK, 2002).



Obrázek č. 8: Strukturální vzorec sterigmatocystinu

3.4.9 Trichoteceny

Trichoteceny jsou skupina strukturně podobných mykotoxinů z rodů *Fusarium*, *Myrothecium*, *Trichothecium*, *Trichoderma*, *Cephalosporium* a *Stachybotrys*. Dnes je známo přes 150 trichotecenových mykotoxinů, ale zhruba jen 10 z nich lze běžně detekovat v zemědělských plodinách. Některé z nich jsou přírodní kontaminanty obilnin a vyvolávají vážné zdravotní problémy zvířat i lidí (BETINA, 1990; VELÍŠEK, 2002).

Z pohledu chemické struktury jde o rozmanitou skupinu sloučenin. Základem jsou tricyklické seskviterpeny s šestičlenným kruhem a dvojnou vazbou mezi uhlíky C-9 a C-10 a epoxyskupinou v poloze C-12 a C-13. Podle chemických vlastností je můžeme dělit na 4 podskupiny:

- A. Trichoteceny bez oxoskupiny na C-8 (např. T-2 toxin, trichodermin).
- B. Trichoteceny obsahující oxoskupinu na C-8 (např. nivalenol, deoxynivalenol).
- C. Trichoteceny obsahující další epoxyskupinu v poloze C-7 a C-8 nebo C-8 a C-9 (např. krotocin).
- D. Trichoteceny obsahující makrocyclický kruh mezi C-4 a C-15 (např. satratoxin, verrucarín).

Největší riziko expozice trichotecenů u lidí představuje kontaminace cereálií (kukuřice, pšenice), sójových bobů, semen olejnin, banánů, ale i piva, kde trichoteceny přecházejí z kontaminovaného ječmene. Napadené plodiny mohou obsahovat i více než jeden trichotecen (VELÍŠEK, 2002).

Nejvíce toxický je T-2 toxin, fusarenon-X a nivalenol, nejvyskytovanější je deoxynivalenol (DON). Trichotecenové mykotoxiny jsou velmi rychle absorbovány z gastrointestinálního traktu a jejich koncentrace také stejně rychle stoupá ve žluči, játrech, střevech a ledvinách. Účinky na člověka byly popsány při epidemii alimentární toxické aleukie (viz kapitola 3.3.2) (PATOČKA ET AL., 2004).

- ***Deoxynivalenol***

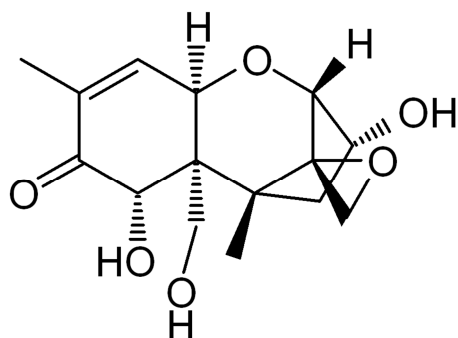
Deoxynivalenol (DON) byl poprvé izolován z kukuřice napadené plísní *Fusarium graminearum* v roce 1973. Dále je produkován toxinogenními kmeny *Fusarium culmorum*, *F. graminearum*, *F. sporotrichioides* a *F. poae*.

DON je pravděpodobně nejznámější a nejběžnější mykotoxin kontaminující krmiva a potraviny z obilovin. Vyskytuje se kdekoliv na světě, kde se pěstují obiloviny. Byl nalezen v řadě dalších potravin, např. v dětské výživě z obilovin, kukuřici, rýži, prosu, otrubách, zázvoru, česneku, pivu, müsli, špagetách a sójových bobech (MALÍŘ ET OSTRÝ, 2003).

Z hlediska distribuce v zrnu je nalézán hlavně v místě růstu mycelia mikromycetů, v jiných místech (uvnitř zrna) se nachází minimálně. Avšak při větší kontaminaci zrna a koncentraci DON vyšší než 50 – 1000 µg/kg je rozvrstvení DON v zrnu homogennější a najdeme ho tak i uvnitř zrna. V mouce připravené z vysoce kontaminovaného zrna jsou koncentrace srovnatelné s koncentracemi v otrubách. Pravděpodobně existuje jistá korelace mezi stupněm zaplísnění zrna a distribucí DON (WEIDENBORNER, 2001).

Příznakem akutní intoxikace DON je bolest břicha, zvracení, průjemy, závratě, bolesti hlavy apod. Kontaminovaná kukuřice podána prasatům jako krmivo způsobila zvracení (vomitus) a na základě toho byl odvozen triviální název vomitoxin. Kromě toho byly u zvířat také prokázány kožní a hematologické změny a imunosupresivní a teratogenní účinky. V roce 1980 a 1987 se v Indii a Číně vyskytly akutní gastrointestinální onemocnění a otravy z červené plísně (tzv. akutní DON toxikóza). Oba typy otrav jsou spojovány s trichoteceny a zvláště pak s deoxynivalenolem (MALÍŘ ET OSTRÝ, 2003; VELÍŠEK, 2002).

Povolené množství pro DON v ČR u obilovin, kukuřice a rýže je 1750 µg/kg a u mouky 750 µg/kg (NAŘÍZENÍ KOMISE (ES) Č. 1126/2007).

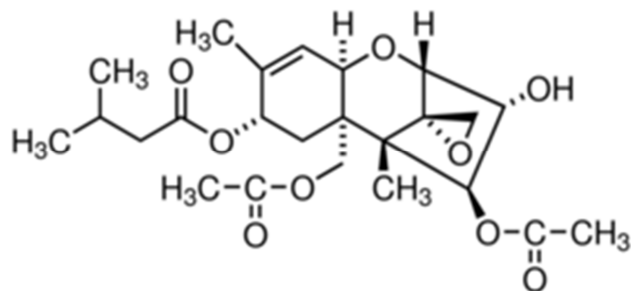


Obrázek č. 9: Strukturální vzorec deoxynivalenolu

- **T-2 toxin**

T-2 toxin byl izolován roku 1968 z plísně *Fusarium sporotrichioides*. Dalšími producenty jsou *Fusarium tricinctum*, *F. nivale*, *F. poae*, *F. culmorum*, *F. solani*, *F. oxysporum*, *Gibberella zeae* a *Trichoderma lignorum*.

Patří mezi zástupce trichotecenových mykotoxinů skupiny A. Je rozpustný v chloroformu, v acetonitrilu a ve směsi chloroformu s metanolem (9:1) a nerozpustný v hexanu a petroléteru. Jeho chemickou strukturu můžeme vidět na obr. č. 10 (HAJŠLOVÁ ET AL., 2009).



Obrázek č. 10: Strukturální vzorec T-2 toxinu

Nejčastěji se vyskytuje v obilovinách (ovsu a ječmeni) současně s HT-2 toxinem. Některé studie uvádějí, že pokud je ve vysokých množstvích obsažen v krmivech podávaným skotu, může se v malém množství vylučovat do mléka.

Je to nejpravděpodobnější původce alimentární toxické aleukie. Má emetické účinky, způsobuje nekrózu kůže, hemoragii, považuje se za potenciální karcinogen,

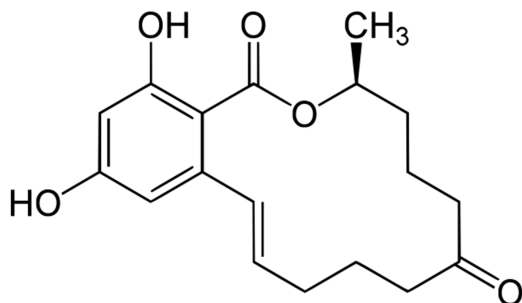
má mutagenní účinky, inhibuje proteosyntézu a funkci mitochondrií, způsobuje imunosupresi a cytotoxicitu (BETINA, 1990).

- **Zearalenon**

Zearalenon (také F-2 toxin) byl poprvé izolován v roce 1964 z kultury *Gibberella zeae* (anamorfa *F. graminearum*) z kukuřice. Je produkován fuzáriemi, mezi nejvýznamnější producenty patří *Fusarium graminearum*, *F. culmorum*, *F. equiseti*, *F. moniliforme* a *F. semitectum*. Pro produkci zearalenonu jsou ideální teploty v rozmezí 12 – 14 °C, ale i teploty nižší než 10 °C. *F. graminearum* je schopna produkovat zearalenon v koncentraci až 1900 µg/kg (MALÍŘ ET OSTRÝ, 2003).

Široce infikuje krmivářské a potravinářské obilniny (pšenice, ječmen, oves, kukuřice, čirok), vyskytuje se v semenech řepky olejné, banánech, kari koření, pepři, oleji. Lze se s ním setkat téměř ve všech klimatických pásmech (VELÍŠEK, 2002).

Je to lipofilní sloučenina, chemicky charakterizována jako lakton kyseliny β -resorcylové (viz obr. č. 11). Je značně termostabilní, po upečení chleba se zachová 60 – 80 % původního množství zearalenonu (MAGAN ET OLSEN, 2004). Nerozkládá se ani při 120 °C po dobu 4 hodin a působením UV světla přechází z přírodního *trans*-isomeru na *cis*-isomer. Je nerozpustný ve vodě, rozpustný je ve vodných alkalických roztocích, v dietyléteru, metanolu, chloroformu. Jeho obsah významně klesá při technologickém zpracování (bílá mouka obsahuje asi 30 – 50 % původního obsahu v kontaminované pšenici). Existuje asi 13 dalších derivátů zearalenonu (např. taleranol, zeranol) (VELÍŠEK, 2002).



Obrázek č. 11: Strukturální vzorec zearalenonu

Zearalenon a jeho deriváty mají anabolické a estrogení účinky. Akutní toxicita je relativně nízká, avšak jeho příjem může vyvolat hyperestrogení syndrom (díky podobnosti jeho struktury s estrogeny). Hyperestrogení projevy se mohou projevit za 4 – 7 dní po konzumaci kontaminovaného krmiva a mizí zpravidla po 3 – 4 týdnech po ukončení konzumace tohoto krmiva. U prasnic způsobuje zduření rodidel. Mezi další příznaky se řadí hyperémie, zvětšené prsní žlázy, atrofie varlat, nebo vaginální a rektální vyhřeznutí. Velmi často následuje neplodnost a potraty. I když intoxikace zearalenonem není fatální, tak zvířata obvykle hynou z důvodu napadení vyhřezlých orgánů bakteriálními infekcemi.

Chronická toxicita se projevuje zvětšením dělohy, otoky vulvy, atrofií vaječníků nebo falešnou říjí. Kromě prasnic jsou postiženy ale i potkani, myši, či opice.

Z hlediska karcinogenity je klasifikován ve 3. kategorii tzn., že není pravděpodobně karcinogenní, ale může se uplatnit jako promotor (MALÍŘ ET OSTRÝ, 2003).

V USA se zearalenon a jeho deriváty používají jako anabolické preparáty podporující růst ovcí a hovězího dobytka. Má také slabé antibakteriální účinky na grampozitivní sporotvorné mikroorganismy (BETINA, 1990).

3.5 Maskované mykotoxiny

První nepřímé důkazy o maskovaných mykotoxinech se objevily již v polovině 80. let 20. století. U zvířat byly ve velké míře pozorovány symptomy typické pro mykotoxikózy, i když množství mykotoxinů stanovených v krmivech tomu neodpovídalo. Vysoká toxicita krmiva byla zřejmě způsobena konjugovanými formami mykotoxinů, které unikaly analytickému stanovení. Také při sledování dynamiky mykotoxinů v cíleně infikované pšenici byl nejprve prokázán nárůst deoxynivalenolu a následně jeho prudký pokles, který byl také nejspíše způsoben přeměnou původního deoxynivalenolu na jeho metabolity (HAJŠLOVÁ ET AL., 2009).

Studie zabývající se transformacemi mykotoxinů prokázaly, že konjugované formy mykotoxinů patrně vznikají při detoxifikačních procesech obilovin. Do dnešní doby byly identifikovány metabolity deoxynivalenolu, zearalenonu, ochratoxinu A a T-2 toxinu (BERTHILLER ET AL., 2013).

V roce 1988 bylo prokázáno, že kukuřice i pšenice jsou schopny transformovat zearalenon na zearalenon-4-glukosid (Z4G), který se vyskytoval spolu se zearalenonem a tvořil 10 – 20 % z celkové kontaminace ZEA. O 3 roky později byl objeven další metabolit, a to zearalenon-4-sulfát (Z4S), který je také produkován spolu se ZEA v poměru 1:2 až 1:12 (HAJŠLOVÁ ET AL., 2010). Je obecně známo, že si rostliny mohou chemickou modifikací snížit toxicitu fyto toxických sloučenin. Tento proces detoxikace zahrnuje konjugaci mykotoxinů do polárních látek, jako jsou aminokyseliny, cukry a sulfáty a následné skladování vzniklých konjugátů v buněčných vakuolách. V roce 2005 byla zveřejněna první zpráva o přirozeném výskytu deoxynivalenol-3- β -D-glukopyranosidu (D3G) ve vzorcích kukuřice a pšenice. Od této doby výzkum maskovaných forem mykotoxinů vzrůstá (SAEGER ET EGMOND, 2012).

Potencionální nebezpečí spočívá v hydrolýze konjugovaných mykotoxinů při průchodu trávicím traktem savců, kdy může dojít k uvolnění původního a více toxického mykotoxinu. K rozkladu a tedy nárůstu volných forem mykotoxinů může také docházet za vhodných podmínek při technologickém zpracování zrna (MALACHOVÁ ET AL., 2010). Jak prokázal YOUNG ET AL. (1984), že při fermentačním zpracování kontaminované pšeničné mouky vzrostla hladina deoxynivalenolu téměř o 100 %. Další studie prokázala, že se zearalenon-14- β -D-glukopyranosid (Z14G) během trávení rozloží na zearalenon. Ten je v těle rychle absorbován a může být metabolizován v intestinálních buňkách, kde je degradován na α -zearalenol (α -ZEL) nebo β -zearalenol (β -ZEL), který je následně konjugován s kyselinou glukuronovou a vyloučen močí. Podle těchto údajů je pravděpodobné, že toxické (estrogenní) účinky Z14G se u savců rovnají účinkům ZEN (BERTHILLER ET AL., 2013).

Běžné analytické metody nejsou pro stanovení konjugovaných forem dostačující. Kvůli vyšší polaritě se v běžných extrakčních činidlech hůře extrahují, v průběhu přečištění dochází k jejich ztrátám a jejich standardy pro kvantitativní analýzu nejsou dostupné. Jediný komerčně dostupný standard je pro deoxynivalenol-3- β -D-glukopyranosidu a dodává ho firma Biopure USA (HAJŠLOVÁ ET AL., 2008).

3.6 Mykotoxikózy

Aby bylo možné objektivně posoudit, zda se daný mykotoxin podílí na vzniku mykotoxikózy u člověka, musí být splněno pět podmínek:

1. Musí být zjištěna přítomnost mykotoxinu v potravíně,
2. Na základě analýzy reziduí mykotoxinů nebo jejich metabolitů ve tkáních, se musí potvrdit, že člověk byl vystaven uvedenému mykotoxinu,
3. Musí se stanovit vztah mezi expozicí a výskytem onemocnění,
4. Musí se zjistit a potvrdit reprodukovatelnost typických příznaků onemocnění u laboratorních zvířat,
5. Musí se potvrdit, že způsob toxického účinku je podobný u laboratorních zvířat i u člověka (MALÍŘ ET OSTRÝ, 2003).

Tabulka č. 6: Onemocnění člověka vyvolaná mykotoxiny (ŠIMŮNEK, 2004)

Jistá, vyvolávaná pouze mykotoxiny:	<ul style="list-style-type: none">- ergotismus- alimentární toxická aleukie- akutní kardiální beri-beri
Multifaktoriální, kde mykotoxiny jsou jedním z možných faktorů:	<ul style="list-style-type: none">- Reyův syndrom- aflatoxikóza- kwashiorkor- toxická hepatitida- hyperestrogenismus- karcinom jícnu- primární karcinom jater- pulmonární mykotoxikóza
Nejistá či nedostatečně prokázaná:	<ul style="list-style-type: none">- pelagra- kardiomyopatie- balkánská endemická nefropatie, ochratoxikóza- další nádory- poruchy imunity

3.6.1 Ergotismus

Mezi první zjištěné mykotoxikózy u člověka patří Ergotismus. Je spojován s požíváním potravin z obilnin a rýže, které byly kontaminovány černým nebo tmavě fialovým námelem mikroskopické polní houby rodu *Claviceps*. Ve střední a severní Evropě byly prokázány epidemie ergotismu, které jsou spojovány s konzumací žita kontaminovaného *Claviceps purpurea* (paličkovice nachová). Popsány jsou 2 typické formy ergotismu: konvulzivní a gangrenózní. Konvulzivní formu vyvolávají námelové alkaloidy produkované druhem *Claviceps fusiformis*. Otrava je nejprve provázena gastrointestinálními příznaky (zvracení, závratě, nauzea), po kterých následují příznaky neurologické (křeče, ospalost, slepota, paralýza). Ke vzniku gangrenózní formy vedou toxické námelové alkaloidy ergocristin a ergotamin s vasokonstrikčními účinky. Příznaky se projevují nejprve edémem končetin, parestéziemi a nakonec gangrénou.

Ergotismus postihoval hlavně venkovské obyvatelstvo, od 18. století se proto nazýval nemocí venkovanů. Dnes je ergotismus díky moderním technologickým postupům vzácný, ale přesto se nadále objevuje v Africe a Asii (MALÍŘ ET OSTRÝ, 2003).

3.6.2 Alimentární toxická aleukie

Nemoc způsobuje T-2 toxin a příbuzné trichoteceny, produkované mikromycety z rodu *Fusarium*. Vyskytovalo se v pásu táhnoucím se od jihu Sibíře, Ruska, Ukrajiny, Balkán, až do jižní Francie. V současné době se vyskytuje už jen minimálně, a to v rozvojových zemích. Onemocnění se projevuje bolestmi hlavy, třesavkou, nauzeou, zvracením, závratěmi a zrakovými poruchami. Mezi první příznaky patřil zánět ústní dutiny, jícnu a akutní gastroenteritida. Tyto symptomy po několika dnech zmizely, pacienti se cítili lépe, ale docházelo k úbytku bílých krvinek a krevních destiček. Dále se objevila nekrotická angína, sepse, poškození kostní dřeně a onemocnění ve většině případů končilo fatálně. Smrt nastávala v souvislosti s krvácením nebo infekcí.

Ve 40. letech v SSSR se vyskytla rozsáhlá epidemie, zapříčiněná válečným hladomorem, kdy lidem nezbylo nic jiného než konzumovat plesnivé obilí, které se nestačilo včas sklídit. Dle oficiálních údajů zemřelo asi 17 000 lidí (MALÍŘ ET OSTRÝ, 2003; ŠIMŮNEK, 2004).

3.6.3 Akutní kardiální beri-beri (onemocnění ze žluté rýže)

Onemocnění vzniká po konzumaci rýže napadené mykotoxiny (např. citrininem, luteoskyrinem, citreoviridinem, islandotoxinem). Ty jsou produkovány mikromycety z rodu *Penicillium*, který je častý kontaminant rýže. Mezi klinické příznaky tohoto onemocnění patří ochrnutí končetin, dušnost a hypotenze. Po 2. světové válce se toto onemocnění provázené vysokou mortalitou projevilo v Japonsku, kdy se konzumovala plesnivá (žlutá) rýže importovaná z jiných asijských, evropských a asijských zemí. Choroba byla provázena zvracením, křečemi, paralýzou a končila respiračním selháním a smrtí. Díky zlepšení techniky sklizně a skladování rýže se v Japonsku podařilo tuto mykotoxikózu téměř eliminovat (MALÍŘ ET OSTRÝ, 2003).

Žlutá rýže napadená citreoviridinem se dá snadno detoxikovat vystavením slunečním paprskům (jelikož citreoviridin je silně fotolabilní). Ovšem jiná žlutá rýže vyvolána přítomností pigmentovaných skyrinů (např. luteoskyrinu, který fotolabilní není) je hepatotoxická a detoxikovat se nedá (ŠIMŮNEK, 2004).

3.6.4 Aflatoxikóza

Jedná se o akutní i chronické onemocnění, které vzniká po konzumaci potravin kontaminovaných aflatoxinem B₁. Akutní forma není u lidí příliš častá. Pokud jí však člověk onemocní, umírá na jaterní selhání s nálezy ložiskových nekróz v játrech. Klinické příznaky aflatoxikózy jsou nažloutlé oční bělmo, křeče v žaludku, zvracení, hubnutí a následné vysílení organismu končící smrtí (MALÍŘ ET OSTRÝ, 2003; MARTOCHOVÁ, 2009).

První epidemie u lidí byla popsána v roce 1974 v Indii. V roce 1988 zemřelo v Malajsii 13 dětí ze 45 osob, které snědly nudle kontaminované aflatoxiny během čínské slavnosti (MALÍŘ ET OSTRÝ, 2003). V roce 2004 byla v Keni zaznamenána jedna z nejhorších akutních aflatoxikóz, při které bylo postiženo 316 lidí, úmrtnost byla 39 % – zemřelo 125 lidí. Způsobena byla požitím kontaminované kukuřice (PROBST ET AL., 2007).

3.6.5 Reyův syndrom

Onemocnění, jehož etiologie je dnes považována za multifaktoriální a multisystémovou. Lze ho vyvolat kyselinou acetylsalicylovou, virovou infekcí, jedy a důležitou úlohu zde taky mají faktory endogenní (genetické) a exogenní (epigenetické). Reyův syndrom postihuje dětskou populaci celého světa. Především pak u řady kojenců do 1 roku (a obzvláště do 6 měsíců), kteří byli krmeni umělou výživou, bylo prokázáno, že je etiologickým faktorem aflatoxin.

Onemocnění má dvě fáze. První začíná jako obyčejné respirační onemocnění, které se po několika hodinách až dnech přesune do fáze druhé, charakteristické zvracením, průjmy, s příznaky encefalopatie. Současně se objevuje hypoglykémie a hyperamoniémie. Neurologické příznaky se projevují kómatem, křečemi a decerebrační rigiditou. V kómatu se současně projeví těžké postižení mozku a jater, které má za následek smrt (MALÍŘ ET OSTRÝ, 2003; ŠIMŮNEK, 2004).

V Československu bylo prokázáno přes 100 případů úmrtí dětí, kdy aflatoxiny byly nalezeny ve výživě nebo ve tkáních dítěte. Byly popsány i dva případy, kdy byl Reyův syndrom vrozený. Dítě se s jeho příznaky narodilo a do 24 hodin zemřelo. V obou případech šlo o matky, které byly ve vysokém stupni těhotenství a pracovaly v živočišné výrobě, kde byly vystaveny aflatoxiny kontaminovanému prachu z krmiv (ŠIMŮNEK, 2004).

3.6.6 Primární karcinom jater

Další onemocnění způsobené aflatoxinem B₁, jehož metabolizovaná forma způsobuje bodovou mutaci na kodonu 249 (ser), dochází ke změně pořadí bází, což následně vede ke vzniku primárního hepatocelulárního karcinomu. Karcinogenní účinky tohoto aflatoxinu byly dokázány u celé řady živočišných druhů a to i opic.

Ve srovnání s dalšími nádorovými onemocněními není primární karcinom jater moc častý. Ročně je v ČR diagnostikováno 2 – 12 případů na 100 000 obyvatel (MALÍŘ ET OSTRÝ, 2003).

3.6.7 Ochratoxikóza

Ochratoxikóza patří mezi celosvětově se vyskytující mykotoxikózu, postihující zvířata i lidi. Způsobuje ji ochratoxin A v potravinách či krmivech. Způsobuje fatální onemocnění ledvin, kdy ledvinové tubuly jsou degenerativně změněny a jsou porušeny renální funkce. Ochratoxin A je prokázaným etiologickým faktorem nefropatie prasat a pravděpodobně se podílí i na vzniku nádorových onemocnění.

Na Balkáně byla později vyzorována velice podobná choroba, a to Balkánská endemická nefropatie. Je to chronické onemocnění s nejasnou etiologií, vyskytující se mezi 30. – 50. rokem života a postihující častěji ženy. Ledviny bývají výrazně zmenšené, s patrnou degenerací tubulů, intersticiální fibrózou, až pozvolnou smrtí (MALÍŘ ET OSTRÝ, 2003).

3.6.8 Předčasná puberta (hyperestrogenismus)

Hyperestrogenní syndrom je vyvolán zearalenonem a jeho deriváty, jež mají estrogení účinky prokázané u mnoha zvířecích druhů a především u dobytka. U samic vyvolává záněty rodidel, infertilitu, hypertrofii mléčných žláz a u samců dochází k neplodnosti, atrofii varlat a zbytnění mléčných žláz.

V Portoriku v roce 1984 byly v krevních vzorcích dětí s předčasnou pubertou prokázány metabolity zearalenonu. Současně u nich byla prokázána konzumace potravy kontaminované právě tímto mykotoxinem. Avšak zda je možno tento mykotoxin hodnotit jako rizikový pro člověka, vyžaduje další studie a zkoumání (MALÍŘ ET OSTRÝ, 2003)

3.7 Faktory ovlivňující obsah fusariových mykotoxinů v obilovinách

Obsah mykotoxinů v obilovinách je možné ovlivnit řadou faktorů. Je potřeba dodržovat správné zásady při pěstování, skladování i transportu obilovin. Zvláště důležité je předcházet vzniku mykotoxinů již na poli v průběhu pěstování, tzn. zabránit napadení mikromycety.

Podmínky ovlivňující obsah mykotoxinů můžeme rozdělit na primární, které se dělí na před sklizňové, v období sklizně a posklizňové a sekundární kam patří třídění, čištění, mletí a pekárenství (HAJŠLOVÁ ET AL., 2008).

3.7.1 Primární vlivy

Rod *Fusarium* řadíme mezi půdní mikromycety. Proto k infekci obilovin a produkci mykotoxinů dochází již v průběhu vegetace. Hlavním faktorem v před sklizňovém období ovlivňující napadení fusárií jsou povětrnostní a klimatické podmínky. Teplota během zimních měsíců ovlivňuje přežití mikromycet na posklizňových zbytcích. Během mírných zim jsou mikromycety schopny sporulace a díky tomu přežijí i v nepříznivých podmínkách. Naopak chladné a suché počasí na podzim a v zimě této tendenci brání. Kvalitu a rozšíření vznikajících spor ovlivňuje jarní klima. Rozsáhlé následky nastávají, když se doba kvetení shoduje s dobou šíření spor. V létě pak dochází k rozrůstání mikromycet a produkci mykotoxinů (MALACHOVÁ ET AL., 2010).

Druhý faktor představuje správná zemědělská praxe, která zahrnuje správné ošetření půdy po sklizni a před novým setím, dobu a hustotu setí, střídání plodin, správné zavlažování a použití umělých hnojiv a pesticidů (CHAMPEIL ET AL., 2004). Ošetření fungicidy je účinné pouze v případě, když jsou použity bezprostředně před napadením patogeny a klasy jsou zcela pokryty přípravkem. Na účinnost má rovněž vliv průběh povětrnostních podmínek během aplikace. Bylo zjištěno, že strobiluriny jsou sice efektivní k potlačení netoxinogenních mikromycet, ale téměř neúčinné k potlačení fusárií. Aplikace fungicidu může navíc vést ke stresu *F. graminearum* nebo *F. culmorum* a produkce mykotoxinů může být mnohem vyšší (MALACHOVÁ ET AL., 2010). Ve studii HRUBOŠOVÉ-HRMOVÉ ET AL. (2011) bylo zjištěno, že nízké koncentrace fungicidů vedou ke zvýšené produkci mykotoxinů. Je proto nezbytné, používat pro ošetření pšenice maximální doporučené koncentrace fungicidů, jelikož jejich efekt může být díky povětrnostním podmínkám snížen a produkce mykotoxinů tak může vzrůstat.

V období sklizně je nejdůležitějším faktorem vlhkost. Pro život fusárií je limitujícím faktorem dostupná voda. K jejich přežití postačuje vlhkost zrna okolo 15 % a aktivita vody vyšší než 0,65. Je také důležité zamezit kontaktu zdravé obiloviny s půdou, kde se vyskytují spory mikroorganismů (SCHRÖDTER, 2004).

Po sklizni je potřeba co nejrychleji oddělit scvrklá či jinak narušená zrna od zdravých, aby se minimalizovalo přenesení mikromycet na zdravou úrodu. Při skladování je také důležitý správný systém sušení, chlazení a provzdušňování zrn v silech a zamezení přístupu hmyzu a jiných škůdců napadajících zrno (HAJŠLOVÁ ET AL., 2008).

3.7.2 Sekundární vlivy

V průběhu pěstování obilovin nelze zcela zabránit tvorbě mykotoxinů, a tak v průběhu technologického zpracování je snaha o snižování jejich obsahu, aby byla výsledná expozice člověka minimální.

Obiloviny vyhrazené k lidské výživě se před dalším zpracováním očistí a vytřídí hrubě kontaminovaná zrna. Avšak rutinními třídícími úkony dochází ke snížení obsahu trichotecenů pouze o 20 %, jelikož kontaminovaná zrna jsou skoro k nerozeznání od zrn zdravých.

Mletím získáme mouku, klíčky, otruby a krmný šrot. V jednotlivých frakcích získaných mletím je distribuce DON závislá na stupni penetrace fusárií do endospermu. Při nízké penetraci jsou vysoké koncentrace DON v otrubách – na povrchu zrna a nízké koncentrace ve finální mouce (HAJŠLOVÁ ET AL., 2008). Obvykle jsou mykotoxiny koncentrovány v otrubách a vnějších obalových vrstvách, v endospermu jsou koncentrace nižší (SCUDAMORE ET PATEL, 2008).

V pekárenských výrobcích závisí obsah mykotoxinů na volbě technologických postupů (intenzita hnětení, použití aditiv, podmínky kynutí) a jakosti použitých surovin. Podle některých studií se u produktů vyráběných z těst obsahujících kvasinky hladina DON zvýšila, což je přisuzováno enzymatické konverzi jeho prekurzorů. Naopak podle jiných studií dochází při fermentaci ke snížení hladiny DON až o 40 % (HAZEL ET PATEL, 2004). Fusariové mykotoxiny jsou však relativně stabilní, významné degradaci v průběhu běžných technologických postupů ve většině případů nepodléhají a mohou tak přecházet do konečných produktů určených k lidské konzumaci (MALACHOVÁ ET AL., 2010).

3.8 Současná legislativa

Vzhledem k vysoké toxicitě mykotoxinů a nezbytnosti jejich sledování platí limity ve většině států světa. V EU je legislativní regulace na obsahy mykotoxinů v potravinách a krmivech prováděna na úrovni nařízení ES. Maximální limity by měly být stanoveny v takové výši, aby jich bylo možno při dodržování správných zemědělských a výrobních postupů dosáhnout (HAJŠLOVÁ ET AL., 2009).

V současné době je jako marker kontaminace obilovin fusariovými mykotoxiny sledován pouze deoxynivalenol a dále zearalenon. Mnoho studií však prokázalo, že ve většině případů je dominujícím trichotecenem nivalenol, T-2 toxin nebo HT-2 toxin. Pokud je však jako jediný analyticky sledovaný reprezentant deoxynivalenol, závažnost kontaminace tak může být podhodnocena (NEDĚLNÍK ET AL., 2005).

Podle Úředního věstníku Evropské unie je za nejnovější nařízení týkající se mykotoxinů považováno Nařízení Komise (ES) č. 1881/2006 ze dne 19. prosince 2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách. Nařízení také zakazuje záměrnou chemickou detoxikaci potravin obsahující mykotoxiny. Nařízení Komise (ES) č. 1126/2007 ze dne 28. září 2007, kterým se mění nařízení (ES) č. 1881/2006 stanovuje maximální limity pro deoxynivalenol, zearalenon a fumonisiny v μg na 1 kg příslušné potraviny a tolerovatelné denní příjmy (TDI) těchto látek na 1 kg tělesné hmotnosti. Nařízení Komise (ES) č. 165/2010 ze dne 26. února 2010, kterým se mění nařízení (ES) č. 1881/2006, pokud jde o aflatoxiny a Nařízení Komise (ES) č. 105/2010 ze dne 5. února 2010, kterým se mění nařízení (ES) č. 1881/2006, pokud jde o ochratoxin A. V souladu s úsilím o maximální zajištění zdraví konzumentů bylo vydáno Doporučení Komise 583/2006 pro Fusariové toxiny v obilovinách a výrobcích z obilovin, upravující postupy prevence a redukce uvedených mykotoxinů v potravinách a Doporučení Komise 576/2006 ze dne 17. srpna 2006 o přítomnosti deoxynivalenolu, zearalenonu, ochratoxinu A, T-2 a HT-2 a fumonisinů v produktech určených ke krmení zvířat. Ve všech členských státech EU jsou nařízení přímo použitelná a závazná v celém rozsahu.

Následující tabulky (č. 7 a 8) uvádějí dle zákona limity zearalenonu a deoxynivalenolu v různých potravinových komoditách. Tabulka č. 9 uvádí jejich tolerovatelný denní příjem.

Tabulka č. 7: Maximální limity pro ZEA ve vybraných potravinách dle (ES) č. 1226/2007

Zearalenon	
Potravinové komodity	Maximální limit [µg/kg]
Nezpracované cereálie jiné než kukuřice	100
Nezpracovaná kukuřice kromě nezpracované kukuřice určené ke zpracování mokrým mletím	350
Obiloviny určené k přímé spotřebě, obilná mouka , otruby a klíčky ve formě konečného výrobku uváděného na trh pro přímou lidskou spotřebu kromě kukuřice určené k přímé spotřebě, kukuřičných svačinek a snídaňových cereálií a obilných a kukuřičných příkrmů určených pro kojenice a malé děti	75
Rafinovaný kukuřičný olej	400
Pečivo , jemné a trvanlivé pečivo, sušenky, svačinky z obilovin a snídaňové cereálie kromě svačinek z kukuřice a kukuřičných snídaňových cereálií	50
Kukuřice určená k přímé lidské spotřebě, svačinky z kukuřice a kukuřičné snídaňové cereálie	100
Obilné příkrmy a ostatní příkrmy určené pro kojenice a malé děti	20
Kukuřičné příkrmy pro kojenice a malé děti	20

Tabulka č. 8: Maximální limity pro DON ve vybraných potravinách dle (ES) č. 1226/2007

Deoxynivalenol	
Potravinové komodity	Maximální limit [µg/kg]
Nezpracované obiloviny jiné než pšenice tvrdá, oves a kukuřice	1250
Nezpracovaná tvrdá pšenice a oves	1750
Nezpracovaná kukuřice, kromě nezpracované kukuřice určené ke zpracování mokrým mletím	1750

Obiloviny určené k přímé spotřebě, obilná mouka , otruby a klíčky ve formě konečného výrobku uváděného na trh pro přímou lidskou spotřebu kromě obilných příkrmů určených pro kojení a malé děti	750
Těstoviny (v suchém stavu)	750
Pečivo , jemné a trvanlivé pečivo, sušenky, svačinky z obilovin a snídaňové cereálie	500
Obilné příkrmly a ostatní příkrmly určené pro kojení a malé děti	200

Tabulka č. 9: Tolerovatelný denní příjem DON a ZEA dle (ES) č. 1226/2007

Mykotoxin	TDI [$\mu\text{g}/\text{kg bw}$]
Deoxynivalenol	1
Zearalenon	0,2

3.9 Metody stanovení mykotoxinů

Ke stanovení mykotoxinů se používají velmi rozmanité analytické metody. Vzhledem k rozdílným strukturám mykotoxinů, je nemožné používat jednu standardní metodu pro analýzu a/nebo detekci (TURNER ET AL., 2009). Důležitou součástí každé z nich je správný odběr vzorků, následná homogenizace, mletí, extrakce, předčištění, zkoncentrování a vlastní detekce mykotoxinu. Každý z těchto kroků na sebe navazuje a rozhoduje o výsledku analýzy. V některých případech mohou být jednotlivé kroky sloučeny či silně redukovány (MRKVICOVÁ, 2007; ŠIMŮNEK, 2004).

Metody stanovení mykotoxinů můžeme rozdělit na biologické – imunochemické (ELISA) a fyzikálně-chemické – chromatografické (TLC, HPTLC, GC, HPLC, GC/MS, LC/MS). V České republice jednotné evropské normy pro stanovení mykotoxinů v krmivech či potravinách nejsou v platnosti. Jednotlivými směrnici ES je umožněno použít jakoukoliv z metod (MRKVICOVÁ, 2007). Metoda však musí splňovat předepsaná kritéria, a to opakovatelnost, reprodukovatelnost a výtěžnost (NAŘÍZENÍ KOMISE ES Č. 401/2006).

Z finančního hlediska a přístrojového vybavení je nejpřístupnější tenkovrstevná chromatografie (TLC), která je vhodná pro rychlou kvalitativní detekci mykotoxinů. Její výhodou je odolnost vůči balastním látkám, vzorek se nemusí tak důkladně předčistit a

tudíž jsou menší ztráty při čištění. Nevýhoda je pak menší přesnost metody. Nověji se však používají metody HPLC s UV a fluorescenční detekcí. Pro těžké toxiny se využívá plynová chromatografie (GC) a velký rozvoj byl zaznamenán u kapalinové chromatografie s hmotnostním spektrometrem (LC/MS), umožňující jednoznačnou identifikaci mykotoxinu (MARTOCHOVÁ, 2009; MRKVICOVÁ, 2007). Chromatografické metody jsou pro stanovení mykotoxinů obecně velmi citlivé a specifické, ale nevhodné pro velká množství analyzovaných vzorků (KREJČOVÁ, 2013).

Z biologických metod je nejčastěji používaná metody ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay), která je založena na imunitní reakci námi sledované látky s protilátkami. Mykotoxiny imunitní odezvu s tvorbou protilátek sice nevyvolávají, ale působí jako hapteny – tzn., že po navázání na vhodný nosič (bílkovina) vyvolají tvorbu specifických protilátek (ŠIMŮNEK, 2004). Princip metody je založen na vysoce specifické interakci protilátky a antigenu, kde na jednoho z těchto partnerů je kovalentně navázán enzym, který katalyzuje chemickou přeměnu substrátu na produkt, který je barevný nebo fluoreskující. Koncentrace produktu je úměrná koncentraci protilátky nebo antigenu ve vzorku. Intenzita zbarvení se stanovuje spektrofotometricky nebo fluorimetricky (SCHNEIDERKA, 2004). Tato metoda je z důvodu jednoduchého provedení, přesnosti a citlivosti využívána poměrně často. Výhodou je snadný odečet výsledků a detekce i velmi malých koncentrací. Pro stanovení nejrůznějších mykotoxinů existují komerčně vyráběné kity (WILD, 2013).

4 MATERIÁL A METODIKA

4.1 Materiál

Pro pokus byly použity vzorky pšenice ozimé ze sklizně v roce 2013 z Ústředního kontrolního a zkušebního ústavu zemědělského, z výzkumné stanice Hradec nad Svitavou. Celkem bylo sledováno 10 odrůd pšenice ozimé, z každé odrůdy pak 2 vzorky – ošetřená a neošetřená varianta a v rámci každého vzorku bylo srovnáno zrna, mouka a pečivo. Sledoval se obsah mykotoxinů DON a ZEA. Přehled odrůd použitých k měření uvádí tabulka č. 10. Následně je ke každé odrůdě uvedena stručná charakteristika.

Tabulka č. 10: Odrůdy pšenice ozimé použité k měření

Číslo vzorku	Odrůda
1	Sultan
2	Cubus
3	Akteur
4	Mulan
5	Seladon
6	Chevalier
7	Evina
8	Hewitt
9	Bohemia
10	Baletka

Použité odrůdy pšenice ozimé:

Akteur je pozdní odrůda elitní jakosti (E). Rostliny jsou středně vysoké až vysoké, středně odnožující a zrna je středně velká. Má nízký výnos, je náchylná k napadení plísní sněžnou a je méně odolná proti napadení padlím travním.

Baletka je poloraná odrůda chlebové jakosti (B). Rostliny jsou nízké až středně vysoké, velmi dobře odnožující, s malým až středně velkým zrnem. Má vysokou objemovou hmotnost, je středně odolná proti vymrzání, středně odolná proti napadení fuzariózami klasů a méně odolná až náchylná k napadení plísní sněžnou.

Bohemia je poloraná odrůda kvalitní jakosti (A). Má vysoké až velmi vysoké méně odnožující rostliny a velké zrno. Je středně odolná proti vymrzání a je náchylná k napadení plísní sněžnou.

Cubus je polopozdní odrůda kvalitní jakosti (A). Má nízké rostliny, středně odnožující a malé až středně velké zrno. Je středně odolná proti vymrzání a napadení plísní sněžnou a je náchylná k napadení fuzariózami klasů.

Evina je polopozdní až pozdní odrůda elitní jakosti (E). Má středně vysoké a středně odnožující rostliny se středně velkým zrnem. Je středně odolná proti napadení fuzariózami klasů, a méně odolná proti vymrzání.

Hewitt je pozdní odrůda nevhodná pro pekařské využití. Rostliny jsou nízké až středně vysoké, středně odnožující s malým až středně velkým zrnem. Je odolná proti napadení rzí pšeničnou a náchylná k napadení fuzariózami klasů a vymrzání.

Chevalier je polopozdní odrůda elitní jakosti (E). Má nízké až středně vysoké rostliny, velmi dobře odnožující a malé zrno. Je odolná proti poléhání, má vysokou objemovou hmotnost a je středně odolná proti napadení fuzariózami klasů.

Mulan je polopozdní odrůda kvalitní jakosti (A). Má středně vysoké a velmi dobře odnožující rostliny se středně velkým zrnem. Je středně odolná proti napadení plísní sněžnou a má nízkou objemovou hmotnost.

Seladon je středně raná odrůda chlebové jakosti (B). Má středně vysoké a středně odnožující rostliny s velkým zrnem. Je středně odolná proti vymrzání a je náchylná k napadení plísní sněžnou a fuzariózami klasů.

Sultan je polopozdní odrůda kvalitní jakosti (A). Má středně vysoké až vysoké rostliny, středně odnožující se středně velkým zrnem. Má vysoký obsah dusíkatých látek a je méně odolná proti poléhání a má nízký výnos (HORÁKOVÁ ET AL., 2014).

4.1.1 Podmínky pěstování

Pro pěstování testovaných odrůd byla aplikována metoda přirozené infekce na polích po předplodině kukuřici, které měly na povrchu půdy definované množství kukuřičných zbytků. Původcem napadení fuzariózami klasů je zde především *F. graminearum*.

Využití přirozené infekce v takto provokačních podmínkách napodobuje přirozený způsob infekce vyskytující se v zemědělské praxi (HORÁKOVÁ ET AL., 2014).

4.1.2 Varianty pěstování

V pokusu se srovnávaly dvě varianty pěstování: ošetřená a neošetřená.

Ošetřená varianta zahrnuje:

- mořidlo (které je účinné proti sněti zakrslé a snětem mazlavým),
- základní dávku dusíku zvýšenou o 40 kg/ha – ta se aplikuje na začátku metání a zahrnuje jarní regenerační hnojení (30 – 70 kg/ha) a produkční hnojení (40 – 60 kg/ha); dávka se upravuje podle obsahu dusíku v půdě, lokality, aktuálního stavu porostu a předplodiny,
- morforegulátor (který se používá ke zkracování obilnin a tím k zesilování stébel, ta jsou pak odolnější vůči polehávání aj. a aplikuje se dle potřeby),
- fungicid proti chorobám pat stébel (aplikace dle potřeby) a proti listovým a klasovým chorobám (první ošetření se provádí do konce sloupkování, druhé na začátku metání až před kvetením) (HORÁKOVÁ ET AL., 2014).

Neošetřená varianta zahrnuje:

- mořidlo (účinné proti sněti zakrslé a snětem mazlavým),
- základní dávku dusíku,
- bez ošetření morforegulátorem a fungicidem (HORÁKOVÁ ET AL., 2014).

4.2 Klimatické podmínky

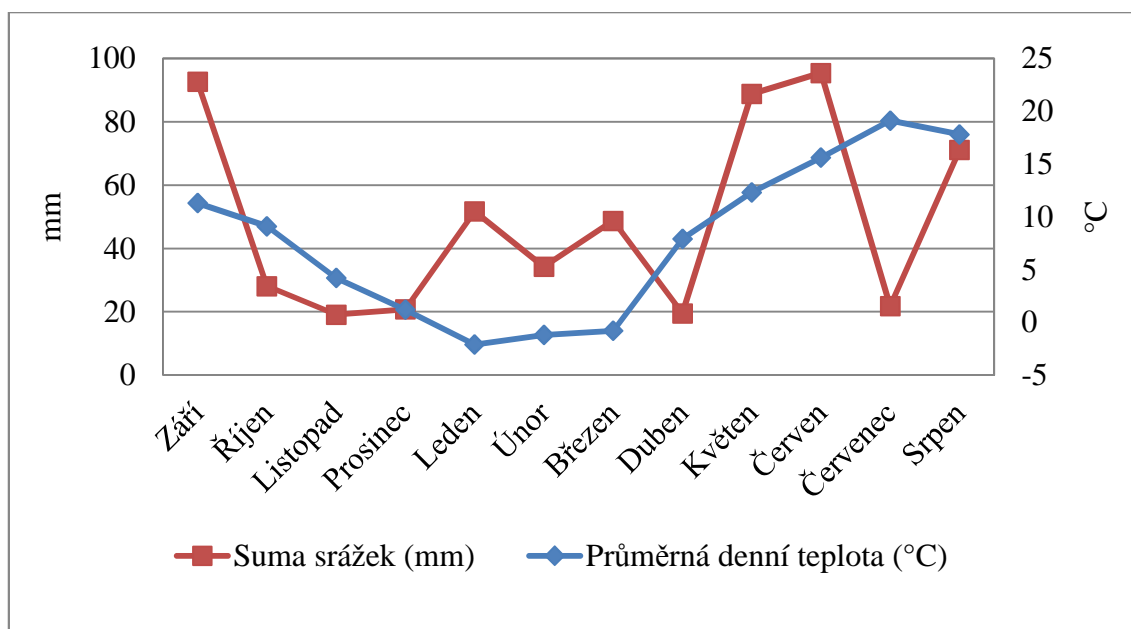
Zkušební stanice ÚKZÚZ Hradec nad Svitavou se řadí do bramborářské zkušební oblasti. Její nadmořská výška je 450 m. Půdní typ je typická hnědozem s jílovitohlinitou (těžkou) půdou. Dlouhodobá průměrná teplota je zde 7,4 °C a dlouhodobý průměrný úhrn srážek je 616 mm (HORÁKOVÁ ET AL., 2014).

Přehled průměrných měsíčních teplot a srážek během pěstování v roce 2013 uvádí tabulka č. 11 a obrázek č. 12.

Tabulka č. 11: Měsíční teploty a srážky během pěstování v roce 2013

Měsíc	Průměrná denní teplota (°C)	Minimální teplota (°C)	Maximální teplota (°C)	Suma srážek (mm)
Září	11,3	-0,5	24,9	92,7
Říjen	9,1	-3,7	20,0	28,1
Listopad	4,2	-8,1	17,3	19,1
Prosinec	1,2	-6,9	8,1	20,8
Leden	-2,1	-15,9	8,9	51,7
Únor	-1,2	-14,9	7,0	34,2
Březen	-0,8	-13,7	12,6	48,7
Duben	7,9	-10,2	25,0	19,5
Květen	12,3	1,0	23,2	88,8
Červen	15,6	2,8	31,8	95,4
Červenec	19,1	5,4	35,5	21,8
Srpen	17,8	4,0	35,1	71,1

Obrázek č. 12: Přehled teplot a srážek během pěstování v roce 2013



4.2.1 Charakteristika sklizňového ročníku 2013

Setí proběhlo v termínu, koncem září až začátkem října. Porosty vzcházely rovnoměrně a v průběhu teplého listopadu začaly odnožovat. První polovina prosince byla chladná, v druhé polovině se oteplilo. Až do poloviny ledna byla zima mírná, pak se změnila na chladnou a dlouhou, která trvala až do konce března. Jarní práce se tak odsunuly až na druhou polovinu dubna. Pšenice přezimovala bez problémů. Pozdní nástup jara a ochlazení na konci května zapříčinilo, že pšenice metaly o 7-10 dnů později, než v předešlém roce. Vysoce nadprůměrné srážky v květnu a červnu ztížily aplikaci pesticidů. Ke zlomu došlo koncem června a v červenci, kdy průměrná teplota byla ve srovnání s normálem o 2-3 °C vyšší. Vysoké teploty tak uspíšily dozrávání pšenice a sklizeň tak proběhla dříve, než se očekávalo. Projevily se také rozdíly v dozrávání zrna a slámy. Zatímco stébla zůstávala ještě živá, tak zrno v klasech bylo už plně zralé. To způsobovalo problémy při sklizni, protože vlhká sláma zahlcovala sklízecí mlátičky.

Infekční tlak chorob byl vyšší než v předchozích letech, a to především listová skvrnitost, rez pšeničná, pat stébel a klasové fuzariózy.

V obou variantách pěstování byly výnosy nadprůměrné, nárůst výnosu byl v průměru více než 20 % (HORÁKOVÁ ET AL, 2014).

4.3 Metodika

4.3.1 Zpracování a příprava vzorků

Od každého vzorku bylo do 100 ml plastových lahvíček odebráno zrno, které bylo následně sešrotováno na laboratorním mlýnu LAB MILL 120 a uchováno pro následné stanovení mykotoxinů.

Dále bylo od každého vzorku do uzavíratelných nádob odváženo 1000 g zrna. Pomocí vlhkoměru obilí byla zjištěna aktuální vlhkost vzorků 13,9 % a pomocí tabulky, která je přiložena k návodu k laboratornímu mlýnu CHOPIN CD1, se k zrnu přidalo 20 ml destilované vody, aby konečná vlhkost zrna byla 15,5 %. Nakropené vzorky se nechaly cca 2 dny odležet a mezitím se několikrát protřepaly, aby se voda rovnoměrně rozdělila a zrno neulpívalo na stěnách nádob.

Nakropené a odleželé vzorky byly namlety na laboratorním mlýnu CHOPIN CD1. Před samotným mletím se vzorky důkladně protřepaly, následně se každý vzorek namlel a získaná krupice se domílala. Část mouky z každého vzorku se odebrala do sáčků pro následné stanovení mykotoxinů a zbytek (cca 400 g) se nechala v uzavřených nádobách necelý měsíc zrát.

V období, kdy mouka zraje, se výrazně mění její reologické vlastnosti. Zlepšuje se jakost lepku, vzrůstá síla mouky a zvyšuje se její vaznost (MORÁVKOVÁ ET AL., 2007).

Poté, co mouka dostatečně vyžrála, bylo z každého vzorku upečeno pečivo podle metody Rapid – Mix – Test. Na přípravu těsta bylo potřeba: 0,3 kg mouky; 4,5 g soli; 15 g kvasnic; 3 g cukru; 2 lžičky tuku (oleje); 180 ml vody. Takto připravené těsto se v rychlohnětači hněte 1 minutu na režim turbo. Poté se nechá zrát v misce z umělé hmoty v kynárně po dobu 20 minut, kde je teplota 32 ± 1 °C a relativní vlhkost vzduchu 80 ± 5 %. Po dokončení zrání se těsto tvaruje na klonky o hmotnosti kolem 80 g, umístí se na plech a opět nechají se kynout v kynárně po dobu 25 minut. Po nakynutí se klonky pečou v peci po dobu 20 minut při teplotě 230 – 240 °C a na začátku pečení se zapaří 50 ml vody. Hotové bulky se hodnotí jednu hodinu po upečení. Fotografie bulek jsou v příloze č. 1.

Zrno, mouka i bulky byly do dalšího zpracování a měření zmrazeny na teplotu -18 °C.

4.3.2 Stanovení ZEA a DON

K vlastnímu stanovení ZEA a DON bylo vyšetřeno od každého vzorku zrno, mouka i pečivo. Zrno bylo sešrotováno a pečivo nahrubo namleto. Vzorkovačem byl od každého vzorku vybrán reprezentativní vzorek o hmotnosti 5 g.

Pro kvantitativní stanovení obsahu mykotoxinů ZEA i DON byly použity kity Veratox od firmy Neogen, jejichž principem je přímá kompetitivní ELISA. Umožňuje přesné stanovení koncentrací v ppb (ZEA) a ppm (DON). Analyzovaný mykotoxin ve vzorku a konjugovaném antigenu soutěží o vazebná místa protilátky, po přidání substrátu, který reaguje s antigenem, dojde ke štěpení chromogenu za vzniku modrého zbarvení. Čím víc mykotoxinu vzorek obsahuje, tím více vazebných míst je obsazeno, tudíž se naváže méně konjugovaného antigenu a výsledná barevná reakce je slabší.

Intenzita zbarvení je měřena u ZEA i DON při vlnové délce 650 nm. Výsledné koncentrace jsou vypočteny na základě srovnání s absorbancí standardních roztoků.

Soupravy obsahují destičku s 48 mikrotitračními směšovacími (červenými) jamkami a s 48 mikrotitračními jamkami s navázanou protilátkou, pět standardních roztoků o známých koncentracích, konjugační roztok (zearalenone-HRP conjugate solution / DON-HRP conjugate solution), substrátový roztok (K-Blue substrate solution) a stop činidlo (Red stop solution). Soupravy kitů se nesmí zmrazovat a musí se uchovávat při teplotě 2 – 8 °C.

- ***Stanovení Deoxynivalenolu***

Ke vzorku o hmotnosti 5 g se přidá 25 ml destilované vody, tato směs se třepe na třepačce po dobu tří minut a následně přefiltruje. Vzniklý extrakt se už neředí ani dále neupravuje. Do červených směšovacích jamek se napipetuje 100 µl konjugačního roztoku deoxynivalenolu, přičemž první jamka se nechává vždy prázdná a slouží jako slepý pokus (blank). Následně se napipetuje 100 µl kontrolních standardů s deoxynivalenolem (o různých známých koncentracích) a 100 µl vzorků. Tato směs se pomocí pipety třikrát promíchá a po 100 µl se přenese do jamek s navázanou protilátkou, kde se nechá 5 minut inkubovat. Následně se jamky pětkrát promyjí destilovanou vodou a zbytky vody se důkladně vytřepou o buničinu. Poté se přidá 100 µl substrátového roztoku, nechá se opět 5 minut reagovat a nakonec se přidá 100 µl stop činidla. Poté se destička vloží do readeru a nejpozději do 20 minut od přidání stop činidla se změří intenzita výsledného zbarvení při vlnové délce 650 nm.

Mezní hodnota detekce (LOD) pro stanovení deoxynivalenolu je dle výrobce udána 0,1 ppm (100 µg/kg) a LOQ (limit of quantification) je 0,25 ppm (250 µg/kg).

- ***Stanovení Zearalenonu***

Ke vzorku o hmotnosti 5 g se přidá 25 ml předem připraveného 70 % roztoku metanolu. Tato směs se třepe na třepačce po dobu tří minut a následně přefiltruje. Vzniklý extrakt se zředí destilovanou vodou v poměru 1:4. Do červených směšovacích jamek se napipetuje 100 µl konjugačního roztoku zearalenonu, přičemž první jamka se nechává vždy prázdná a slouží jako slepý pokus (blank). Následně se napipetuje 100 µl

kontrolních standardů se zearalenonem (o různých známých koncentracích) a 100 μl zředěných vzorků. Tato směs se pomocí pipety třikrát promíchá a po 100 μl se přenese do jamek s navázanou protilátkou, kde se nechá 5 minut inkubovat. Následně se jamky pětkrát promyjí destilovanou vodou a zbytky vody se důkladně vytřepou o buničinu. Poté se přidá 100 μl substrátového roztoku, nechá se opět 5 minut reagovat a nakonec se přidá 100 μl stop činidla. Poté se destička vloží do readeru a nejpozději do 20 minut od přidání stop činidla se změří intenzita výsledného zbarvení při vlnové délce 650 nm.

Mezní hodnota detekce (LOD) pro stanovení zearalenonu je dle výrobce udána 10 ppb (10 $\mu\text{g}/\text{kg}$) a LOQ (limit of quantification) je 25 ppb (25 $\mu\text{g}/\text{kg}$).

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

5.1 Obsah DON a ZEA ve sledovaných vzorcích

5.1.1 Obsah DON v ošetřené a neošetřené variantě

Naměřené výsledky obsahu DON a rozdíly mezi oběma variantami jsou přehledně uvedeny v tabulkách č. 12 – 14 a následně na obrázku č. 13 a 14. Pod nimi jsou na obrázcích č. 15 – 18 graficky znázorněny rozdíly v ošetřené a neošetřené variantě a změny v obsahu DON po mletí a po pečení a v konečném výrobku oproti zrnům.

Tabulka č. 12: Naměřené obsahy DON u ošetřené a neošetřené varianty ve vzorcích zrna

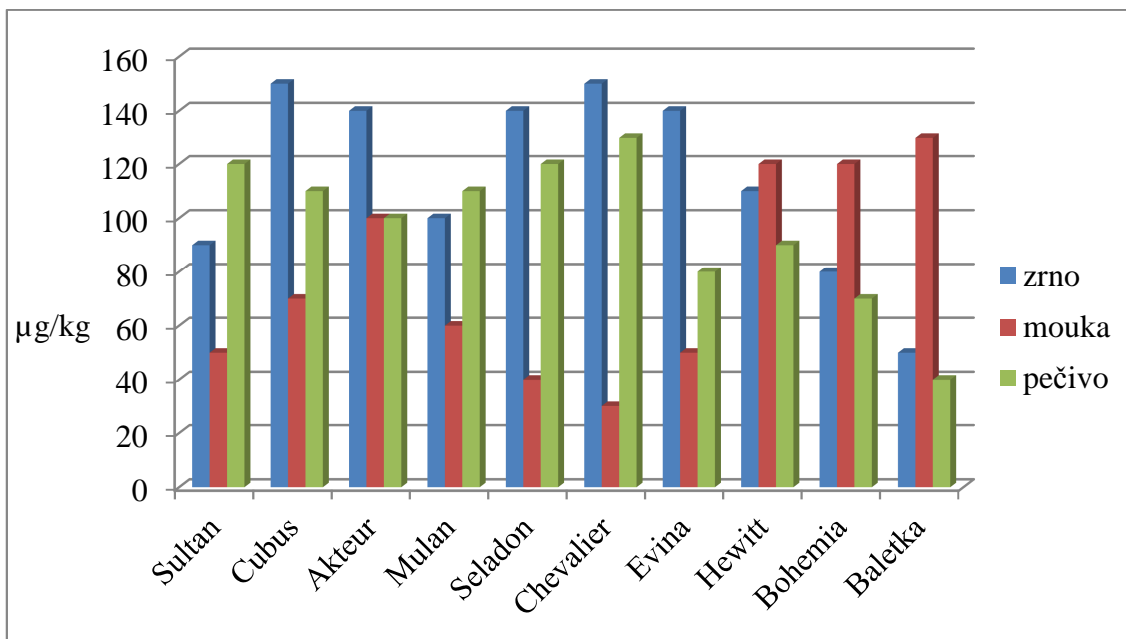
Obsah DON ($\mu\text{g}/\text{kg}$) v zrně				
Číslo vzorku	Odrůda	Ošetřená varianta	Neošetřená varianta	% rozdíl mezi oběma variantami (vztaženo na ošetřenou variantu)
1	Sultan	90	90	0 %
2	Cubus	150	440	193,3 %
3	Akteur	140	50	-64,3 %
4	Mulan	100	160	60 %
5	Seladon	140	150	7,1 %
6	Chevalier	150	100	-33,3 %
7	Evina	140	220	57,1 %
8	Hewitt	110	330	200 %
9	Bohemia	80	360	350 %
10	Baletka	50	180	260 %

Tabulka č. 13: Naměřené obsahy DON u ošetřené a neošetřené varianty ve vzorcích mouky

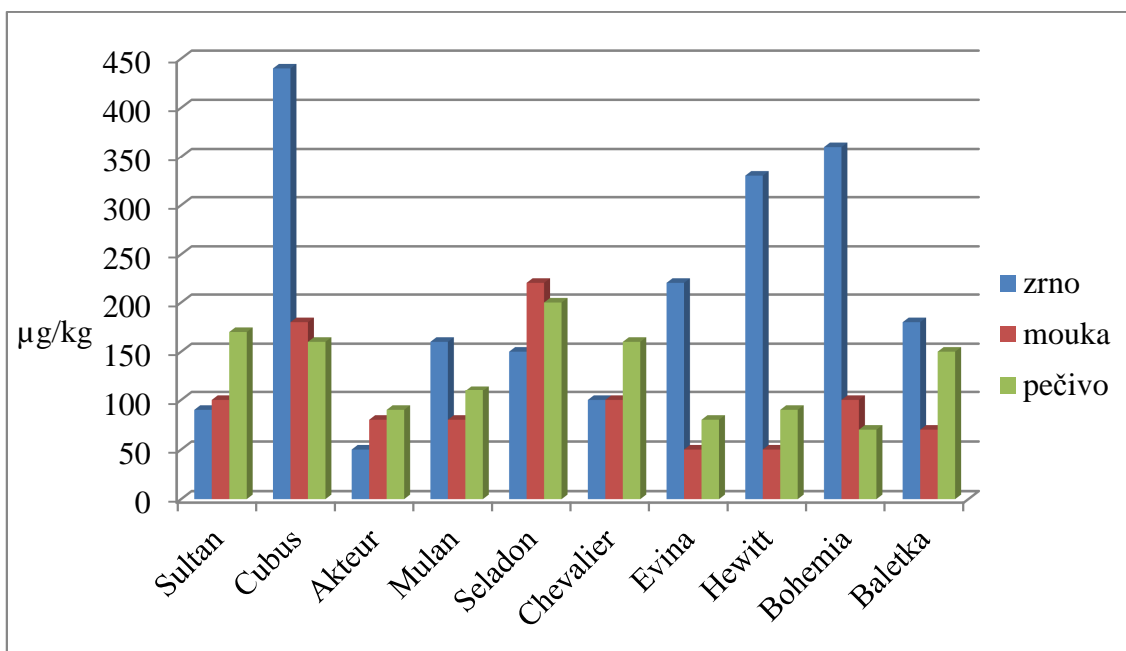
Obsah DON ($\mu\text{g}/\text{kg}$) v mouce				
Číslo vzorku	Odrůda	Ošetřená varianta	Neošetřená varianta	% rozdíl mezi oběma variantami (vztaženo na ošetřenou variantu)
1	Sultan	50	100	100 %
2	Cubus	70	180	157,1 %
3	Akteur	100	80	-20 %
4	Mulan	60	80	33,3 %
5	Seladon	40	220	450 %
6	Chevalier	30	100	233,3 %
7	Evina	50	50	0 %
8	Hewitt	120	50	-58,3 %
9	Bohemia	120	100	-16,7 %
10	Baletka	130	70	-46,2 %

Tabulka č. 14: Naměřené obsahy DON u ošetřené a neošetřené varianty ve vzorcích pečiva

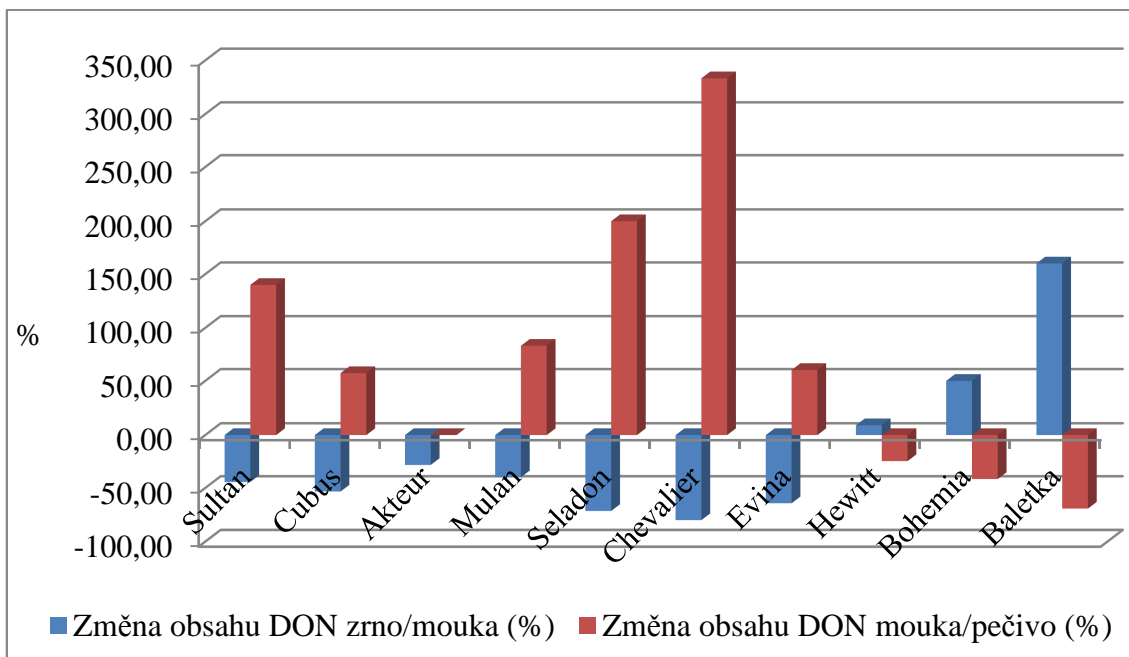
Obsah DON ($\mu\text{g}/\text{kg}$) v pečivu				
Číslo vzorku	Odrůda	Ošetřená varianta	Neošetřená varianta	% rozdíl mezi oběma variantami (vztaženo na ošetřenou variantu)
1	Sultan	120	170	41,7 %
2	Cubus	110	160	45,5 %
3	Akteur	100	90	-10 %
4	Mulan	110	110	0 %
5	Seladon	120	200	66,7 %
6	Chevalier	130	160	23,1 %
7	Evina	80	80	0 %
8	Hewitt	90	90	0 %
9	Bohemia	70	70	0 %
10	Baletka	40	150	275 %



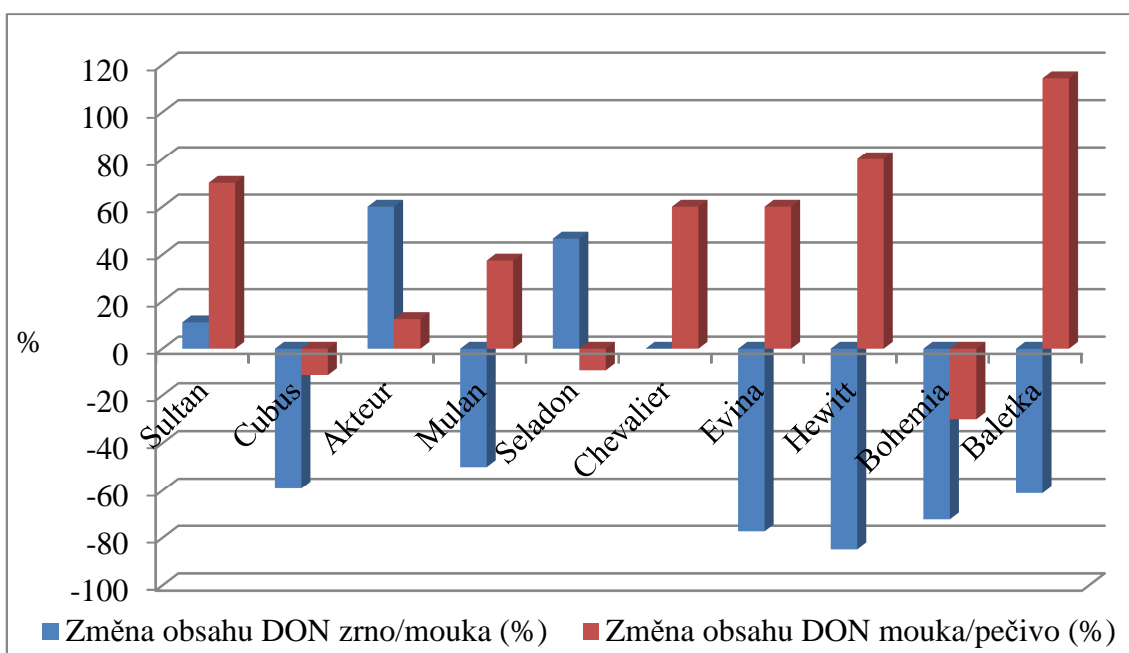
Obrázek č. 13: Obsah DON ve vzorcích zrna, mouky a pečiva u ošetřené varianty



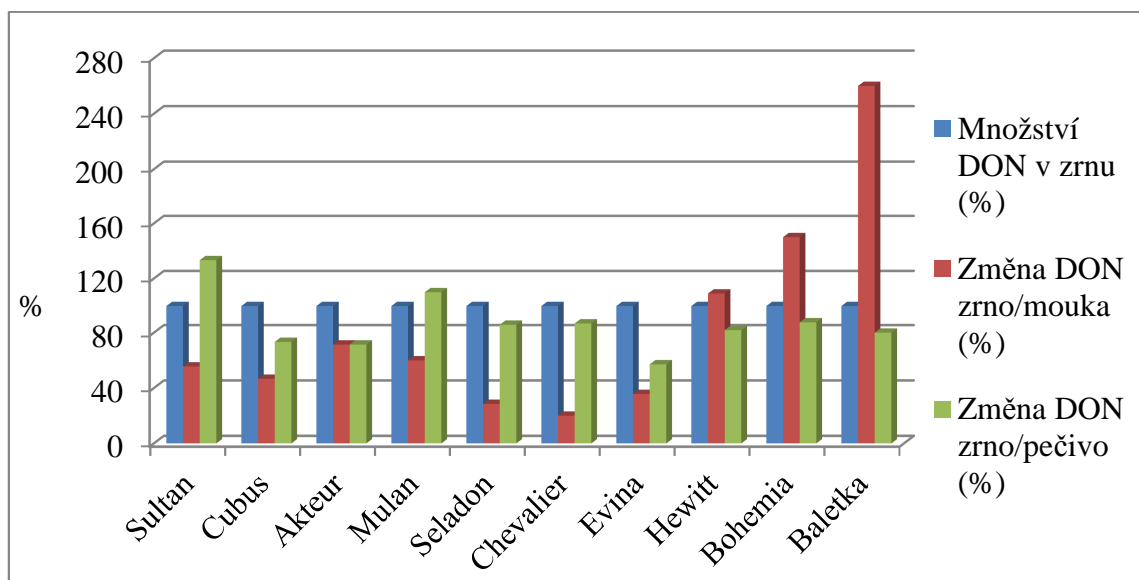
Obrázek č. 14: Obsah DON ve vzorcích zrna, mouky a pečiva u neošetřené varianty



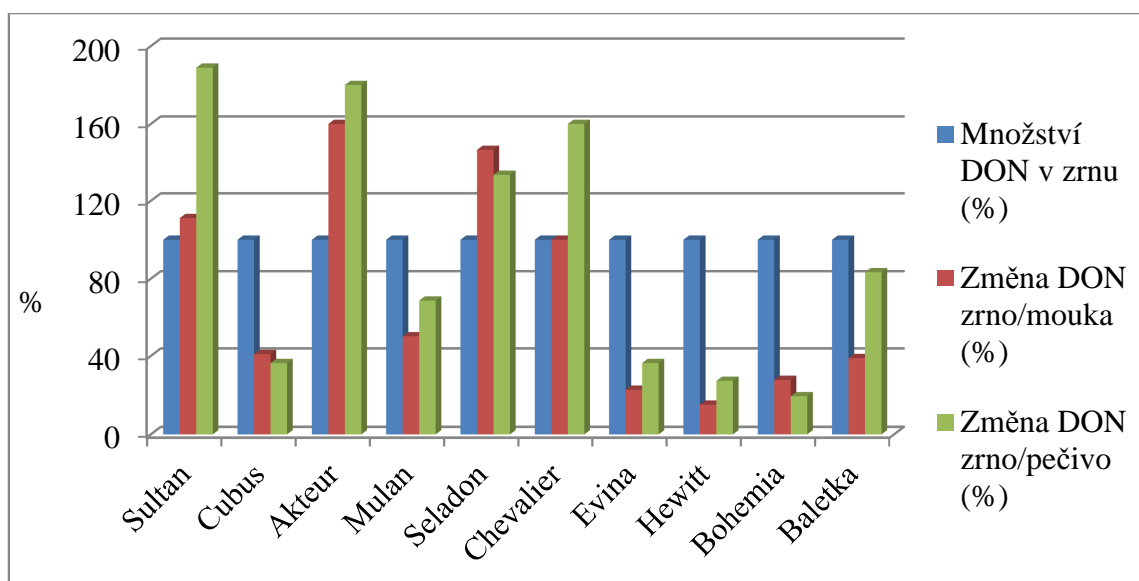
Obrázek č. 15: Procentuální změna obsahu DON po mletí a pečení u ošetřené varianty



Obrázek č. 16: Procentuální změna obsahu DON po mletí a pečení u neošetřené varianty



Obrázek č. 17: Změna obsahu DON po mletí a pečení u ošetřené varianty vztažená na zrně



Obrázek č. 18: Změna obsahu DON po mletí a pečení u neošetřené varianty vztažená na zrně

U ošetřené varianty se DON v mouce oproti zrně průměrně snížil o 33,04 %, v pečivu oproti mouce se zvýšil o 25,97 % a v pečivu oproti zrně se snížil o 15,65 %. U neošetřené varianty se obsah DON v mouce oproti zrně průměrně snížil o 50,48 %, v pečivu oproti mouce se zvýšil o 24,27 % a v pečivu oproti zrně se snížil o 38,46 %. Snížení hodnot u obou variant v mouce oproti zrně si můžeme vysvětlit nízkou

penetrací mykotoxinů do endospermu, tudíž větší obsahy byly soustředěovány do vnějších obalových vrstev, které byly při mletí odstraněny. Nárůst hodnot DON v pečivu u obou variant lze vysvětlit uvolněním maskovaných forem mykotoxinů (derivátů a konjugátů DON) a tedy nárůstu jejich volných forem, což potvrdila i MALACHOVÁ A KOL. (2010). DON je navíc poměrně tepelně stabilní, a tak ztráty při pečení jsou minimální. Prokázal se tedy přechod DON do finálních produktů. Mimoto jsou do receptury přidávány kvasnice, jejichž enzymy dokážou některé prekuzory mykotoxinů obsažené v mouce přeměnit na mykotoxiny a zvýšit tím jejich množství v pečivu, což prokázal i YOUNG A KOL. (1984), že při fermentačním zpracování mouky vzrostla hladina DON téměř o 100 %.

Podle HORÁKOVÉ (2013) patří mezi velmi náchylné odrůdy na obsah DON Cubus, Hewitt a Seladon, což můžeme z naměřených výsledků také potvrdit. Nejnižší obsah DON měla odrůda Akteur, která je podle HORÁKOVÉ (2013) náchylná. Odolné odrůdy dosud nebyly vyšlechtěny.

Všechny testované vzorky pšenice byly u ošetřené i neošetřené varianty pozitivní na obsah DON. Naměřené hodnoty DON byly docela nízké, i přesto že se rok 2013 vykazoval značnými srážkami v době aplikace fungicidů a jejich účinnost tak nemusela být stoprocentní. Žádná z naměřených hodnot nepřekročila legislativní limit. Pokud jde o obilné příkrmy určené pro kojence a malé děti, limit (200 µg/kg) by přesáhlo 5 vzorků u neošetřené varianty.

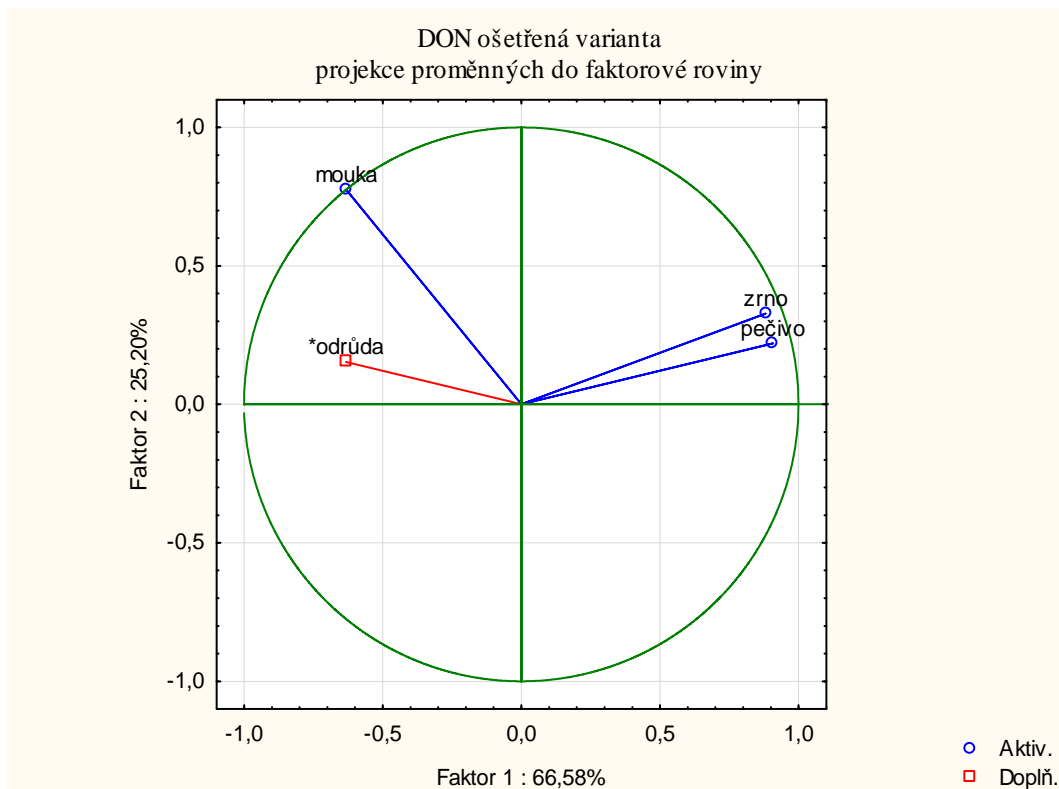
Při srovnání ošetřené a neošetřené varianty byly naměřené hodnoty DON jednoznačně vyšší u varianty neošetřené, a to v průměru o 80,87 % u zrna, 33,77 % u mouky a 31,96 % u pečiva. Můžeme tedy říct, že se prokázal kladný efekt fungicidního ošetření.

Statistické vyhodnocení naměřených hodnot DON jsou uvedeny v tabulce č. 15. Byl použit dvou-výběrový T-test pro soubory o stejném rozsahu. Jako statisticky průkazné se jeví snížení DON v mouce oproti zrnu, a to jak u ošetřené tak u neošetřené varianty a dále rozdíl množství DON v zrnu mezi ošetřenou a neošetřenou variantou.

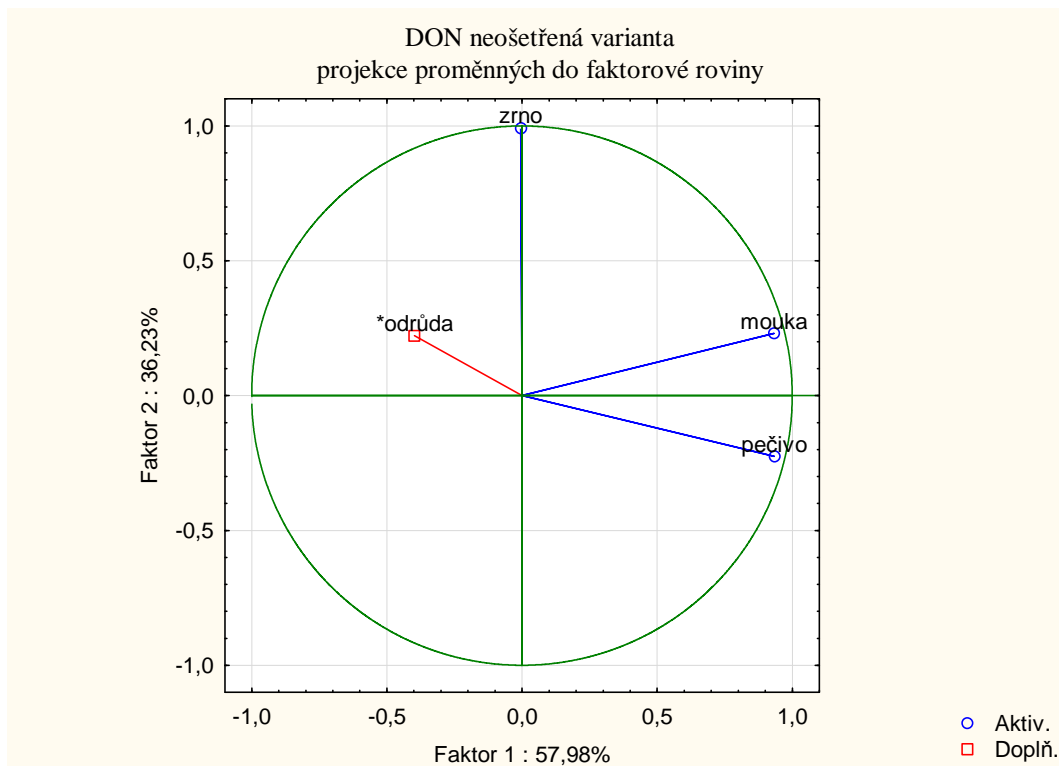
Tabulka č. 15: Vyhodnocení statistické průkaznosti snížení/nárůstu hodnot DON a porovnání ošetřené a neošetřené varianty

		p	Hladina průkaznosti	Statisticky průkazný rozdíl
DON ošetřeno	zrno/mouka	0,028	≤ 0,05	ano
	mouka/pečivo	0,188	≤ 0,05	ne
	zrno/pečivo	0,213	≤ 0,05	ne
DON neošetřeno	zrno/mouka	0,029	≤ 0,05	ano
	mouka/pečivo	0,282	≤ 0,05	ne
	zrno/pečivo	0,079	≤ 0,05	ne
DON ošetřeno/neošetřeno	zrno O/zrno N	0,04	≤ 0,05	ano
	mouka O/mouka N	0,232	≤ 0,05	ne
	pečivo O/pečivo N	0,08	≤ 0,05	ne

Obrázky č. 19 a 20 jsou výstupem zpracování naměřených dat v programu Statistica a znázorňují projekci proměnných (vliv odrůdy na obsah DON v zrnu, mouce a pečivu, zvlášť pro ošetřenou a neošetřenou variantu) do faktorové roviny. Míra závislosti jednotlivých proměnných se zde hodnotí podle velikosti úhlu, který vzájemně svírají. Čím je tento úhel menší, tím je závislost silnější. Zároveň cos úhlu značí přibližnou hodnotu korelačního koeficientu. Pokud jsou šipky vodorovně ve stejném směru, znamená to, že jsou proměnné na sobě kladně závislé. Pokud jsou šipky vodorovně, ale v opačném směru, znamená to, že proměnné jsou na sobě závislé negativně. Pokud jsou šipky na sebe kolmé, proměnné se dají považovat za nezávislé. Délka šipky značí variabilitu naměřených dat.



Obrázek č. 19: Projekce proměnných do faktorové roviny u ošetřené varianty DON



Obrázek č. 20: Projekce proměnných do faktorové roviny u neošetřené varianty DON

Na obrázku č. 19 můžeme vidět, že odrůda má největší vliv na obsah DON v mouce. Úzce spolu souvisí obsah DON v zrně a pečivu. Obsah DON v mouce a zrně se dají považovat za nezávislé. Největší variabilita naměřených hodnot byla zaznamenána u obsahu DON v mouce (nejdelší šipka).

U obrázku č. 20 byla největší variabilita naměřených hodnot zaznamenána u obsahu DON v zrně. Obsahy DON v zrně, mouce i pečivu na sobě závisí pouze minimálně. Odrůda má zde největší vliv na obsah DON v zrně, naopak obsah DON v pečivu je negativně závislý na odrůdě.

5.1.2 Obsah ZEA v ošetřené a neošetřené variantě

Naměřené výsledky obsahu ZEA jsou přehledně uvedeny v tabulkách č. 16 – 18 a následně v obrázku č. 21 a 22. Pod nimi jsou na obrázcích č. 23 – 26 graficky znázorněny rozdíly v ošetřené a neošetřené variantě a změny v obsahu ZEA po mletí a po pečení a v konečném výrobku oproti zrně.

Tabulka č. 16: Naměřené obsahy ZEA u ošetřené a neošetřené varianty ve vzorcích zrna

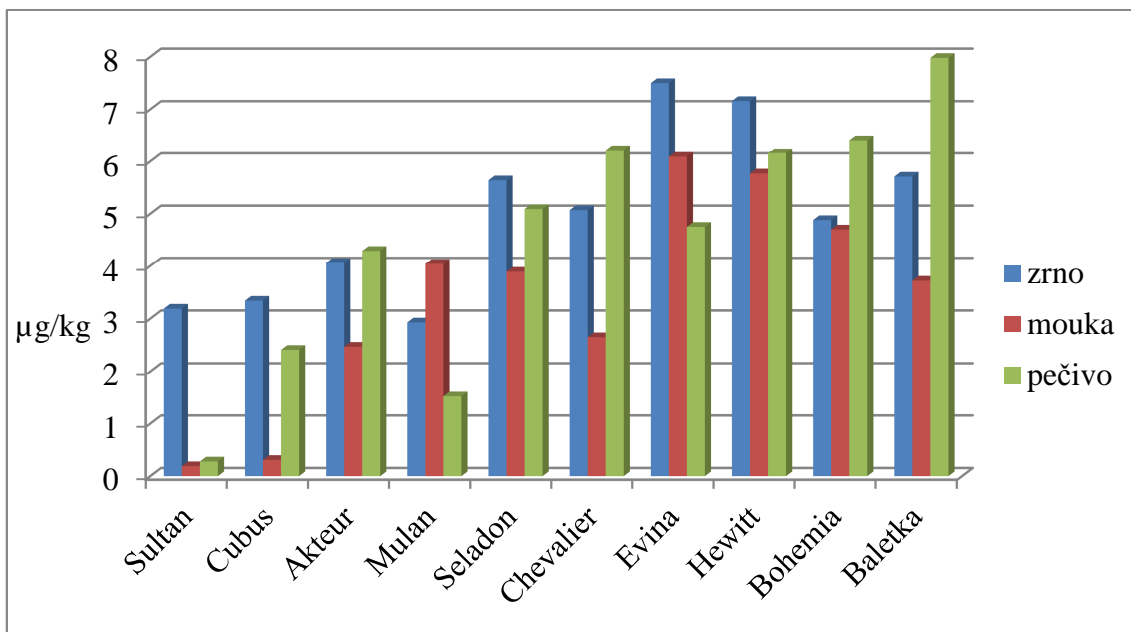
Obsah ZEA (µg/kg) v zrně				
Číslo vzorku	Odrůda	Ošetřená varianta	Neošetřená varianta	% rozdíl mezi oběma variantami (vztaženo na ošetřenou variantu)
1	Sultan	3,19	2,87	-10 %
2	Cubus	3,34	3,86	15,6 %
3	Akteur	4,06	2,02	-50,2 %
4	Mulan	2,93	5,1	74,1 %
5	Seladon	5,64	6,22	10,3 %
6	Chevalier	5,07	3,94	-22,3 %
7	Evina	7,5	1,63	-78,3 %
8	Hewitt	7,16	1,03	-85,6 %
9	Bohemia	4,88	2,07	-57,6 %
10	Baletka	5,71	1,94	-66 %

Tabulka č. 17: Naměřené obsahy ZEA u ošetřené a neošetřené varianty ve vzorcích mouky

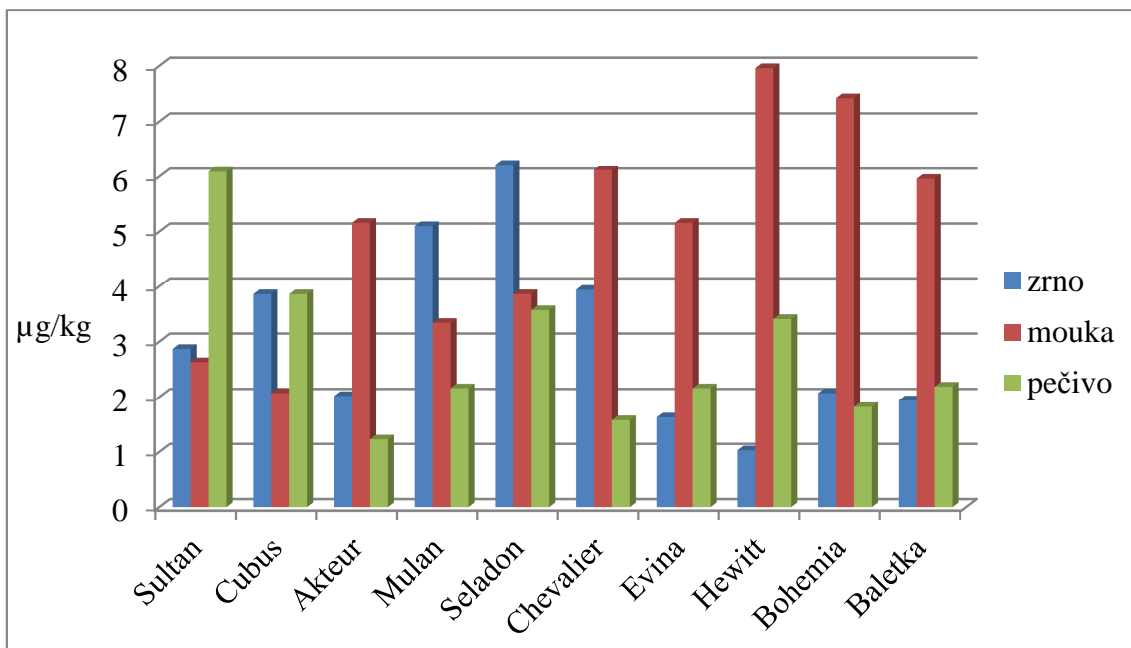
Obsah ZEA (µg/kg) v mouce				
Číslo vzorku	Odrůda	Ošetřená varianta	Neošetřená varianta	% rozdíl mezi oběma variantami (vztaženo na ošetřenou variantu)
1	Sultan	0,19	2,63	1284,2 %
2	Cubus	0,31	2,07	567,7 %
3	Akteur	2,47	5,16	108,9 %
4	Mulan	4,04	3,34	-17,3 %
5	Seladon	3,89	3,86	-0,8 %
6	Chevalier	2,65	6,12	130,9 %
7	Evina	6,09	5,16	-15,3 %
8	Hewitt	5,77	7,96	37,9 %
9	Bohemia	4,7	7,42	57,9 %
10	Baletka	3,72	5,96	60,2 %

Tabulka č. 18: Naměřené obsahy ZEA u ošetřené a neošetřené varianty ve vzorcích pečiva

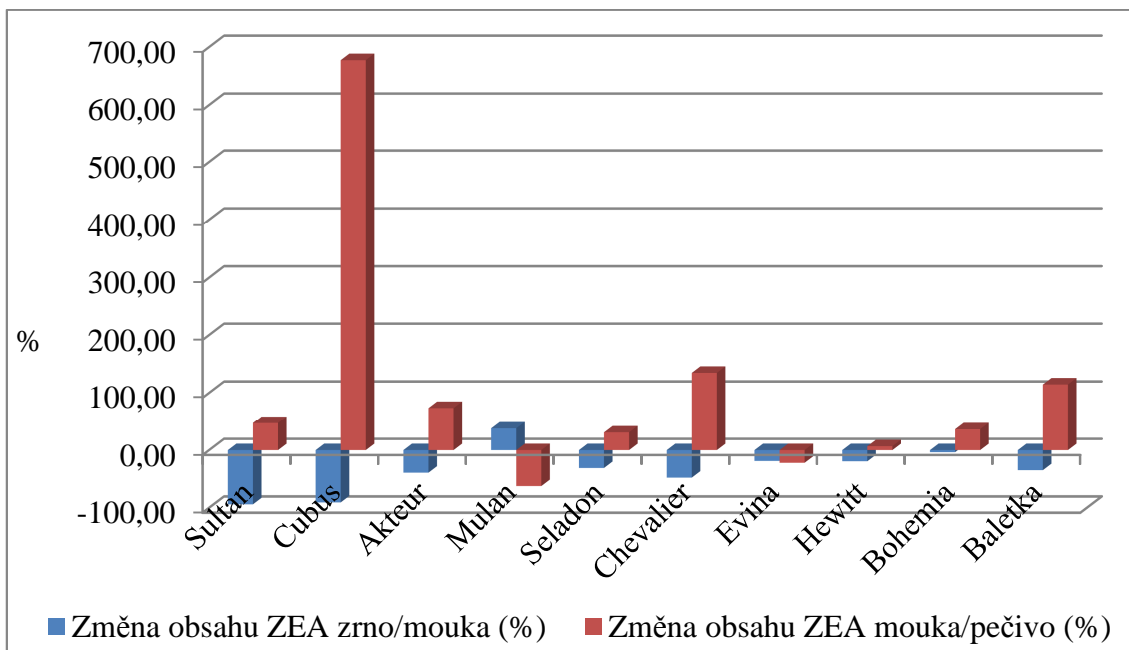
Obsah ZEA (µg/kg) v pečivu				
Číslo vzorku	Odrůda	Ošetřená varianta	Neošetřená varianta	% rozdíl mezi oběma variantami (vztaženo na ošetřenou variantu)
1	Sultan	0,28	6,09	2075 %
2	Cubus	2,41	3,86	60,2 %
3	Akteur	4,29	1,23	-71,3 %
4	Mulan	1,52	2,16	42,1 %
5	Seladon	5,09	3,57	-29,9 %
6	Chevalier	6,22	1,58	-74,6 %
7	Evina	4,75	2,16	-54,5 %
8	Hewitt	6,16	3,41	-44,6 %
9	Bohemia	6,41	1,82	-71,6 %
10	Baletka	7,98	2,19	-72,6 %



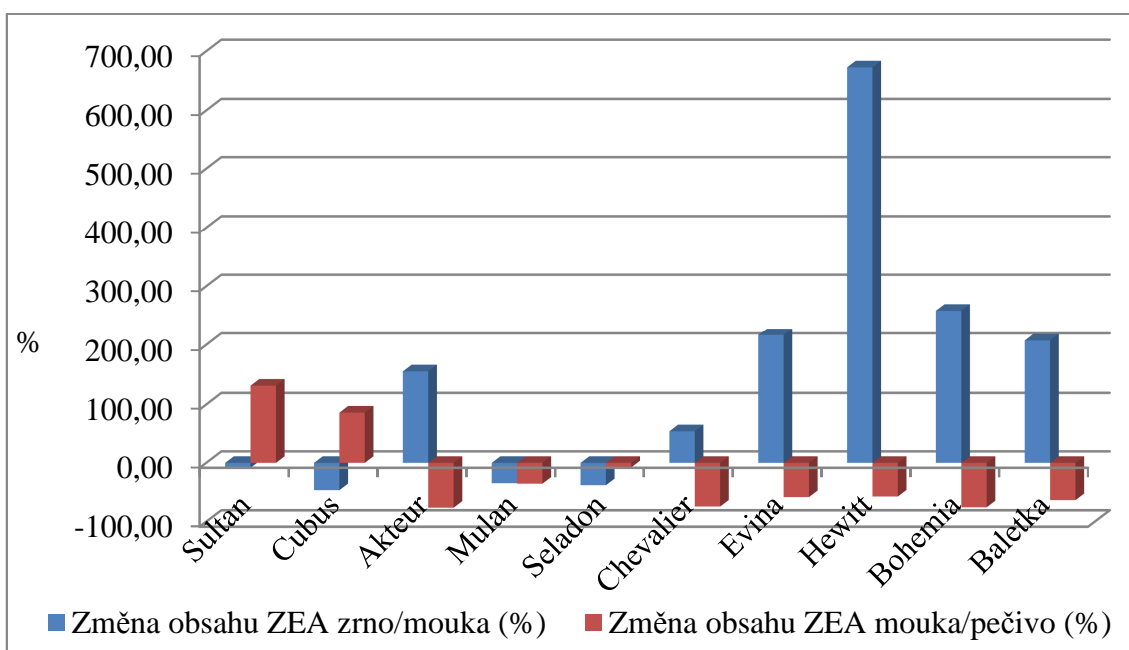
Obrázek č. 21: Obsah ZEA ve vzorcích zrna, mouky a pečiva u ošetřené varianty



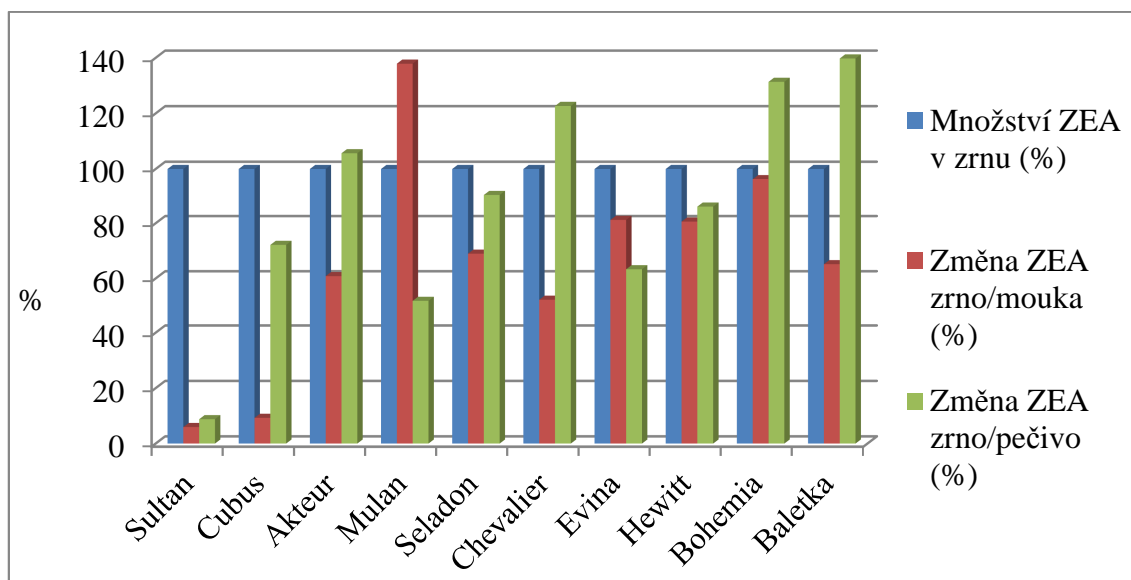
Obrázek č. 22: Obsah ZEA ve vzorcích zrna, mouky a pečiva u neošetřené varianty



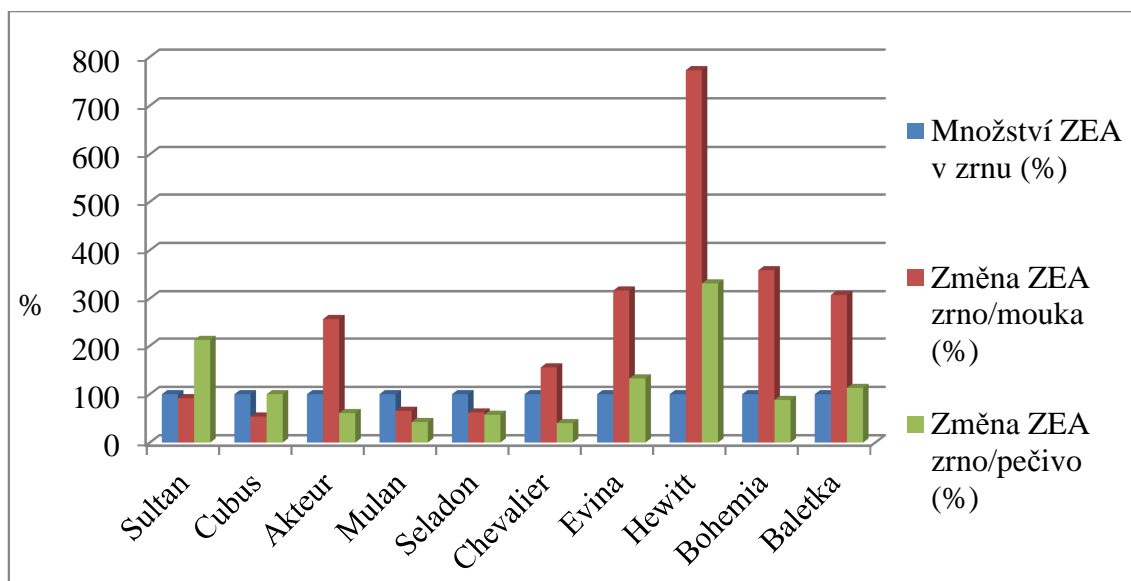
Obrázek č. 23: Procentuální změna obsahu ZEA po mletí a pečení u ošetřené varianty



Obrázek č. 24: Procentuální změna obsahu ZEA po mletí a pečení u neošetřené varianty



Obrázek č. 25: Změna obsahu ZEA po mletí a pečení u ošetřené varianty vztažená na zrna



Obrázek č. 26: Změna obsahu ZEA po mletí a pečení u neošetřené varianty vztažená na zrna

U ošetřené varianty se ZEA v mouce oproti zrně průměrně snížil o 31,63 %, v pečivu oproti mouce se zvýšil o 33,34 % a v pečivu oproti zrně se snížil o 8,83 %. U neošetřené varianty se obsah ZEA v mouce oproti zrně průměrně zvýšil o 61,93 %, v pečivu oproti mouce se snížil o 43,50 % a v pečivu oproti zrně se snížil o 8,51 %.

Snížení hodnot u ošetřené varianty v mouce oproti zrnu můžeme vysvětlit nízkou penetrací mykotoxinů do endospermu, tudíž větší obsahy byly soustředěovány do vnějších obalových vrstev, které byly při mletí odstraněny. Naopak u varianty neošetřené je jednoznačný nárůst v mouce oproti zrnu, což si můžeme vysvětlit opačnou situací, a to že penetrace byla vysoká, tudíž se mykotoxiny soustředěovaly do endospermu zrna. Nárůst hodnot ZEA v pečivu u ošetřené varianty lze stejně jako u DON vysvětlit uvolněním maskovaných forem mykotoxinů. Také ZEA je poměrně tepelně stabilní, a ztráty při pečení jsou malé.

Všechny měřené vzorky pšenice byly pozitivní na obsah ZEA. Žádná z naměřených hodnot ošetřené a neošetřené varianty nepřekročila legislativní limit. Celkově byly hodnoty velmi nízké a na tak nízké úrovni kontaminace nelze dělat jednoznačné závěry.

Při srovnání ošetřené a neošetřené varianty byly naměřené hodnoty ZEA vyšší u varianty ošetřené, a to v průměru o 62,00 % u zrna a 62,23 % u pečiva. U mouky byly hodnoty vyšší u neošetřené varianty, a to v průměru o 46,85 %. V případě ZEA tedy nemělo fungicidní ošetření kladný vliv. Tento fakt mohly také zapříčinit vysoké srážky v době aplikování fungicidů a jejich účinnost tak nemusela být stoprocentní. Podle NEDĚLNÍKA (2015) se běžně stává, že především po ošetření fungicidy (obzvláště strobilurinů) dochází k navýšení mykotoxinů, protože na houbu působí jako stresový faktor, a ta ve snaze se chránit před svým zánikem naprodukuje ještě větší množství mykotoxinů. Což potvrzuje ŠAFRÁNKOVÁ ET AL (2010) i MALACHOVÁ ET AL (2010).

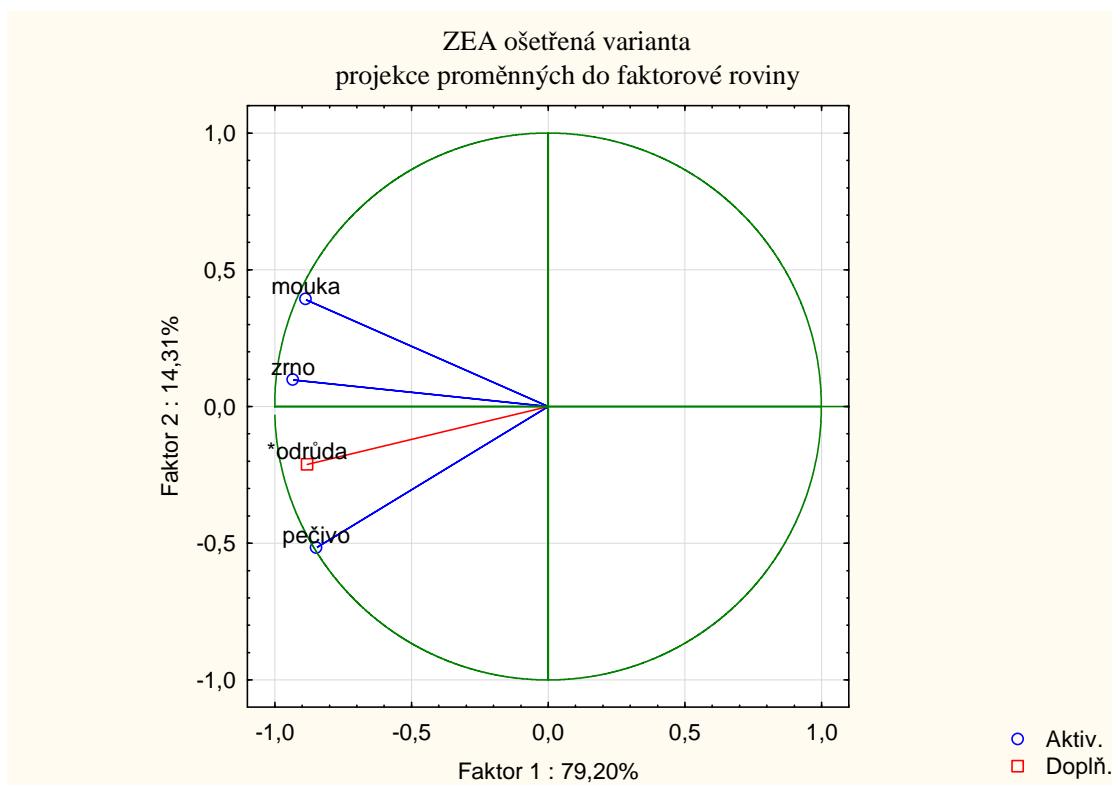
Statistické vyhodnocení naměřených hodnot ZEA jsou uvedeny v tabulce č. 19. Byl použit dvou-výběrový T-test pro soubory o stejném rozsahu. Jako statisticky průkazné se u neošetřené varianty jeví zvýšení ZEA v mouce oproti zrnu a snížení ZEA v pečivu oproti mouce. Dále je statisticky průkazný rozdíl množství ZEA v zrnu mezi ošetřenou a neošetřenou variantou.

Tabulka č. 19: Vyhodnocení statistické průkaznosti snížení/nárůstu hodnot ZEA a porovnání ošetřené a neošetřené varianty

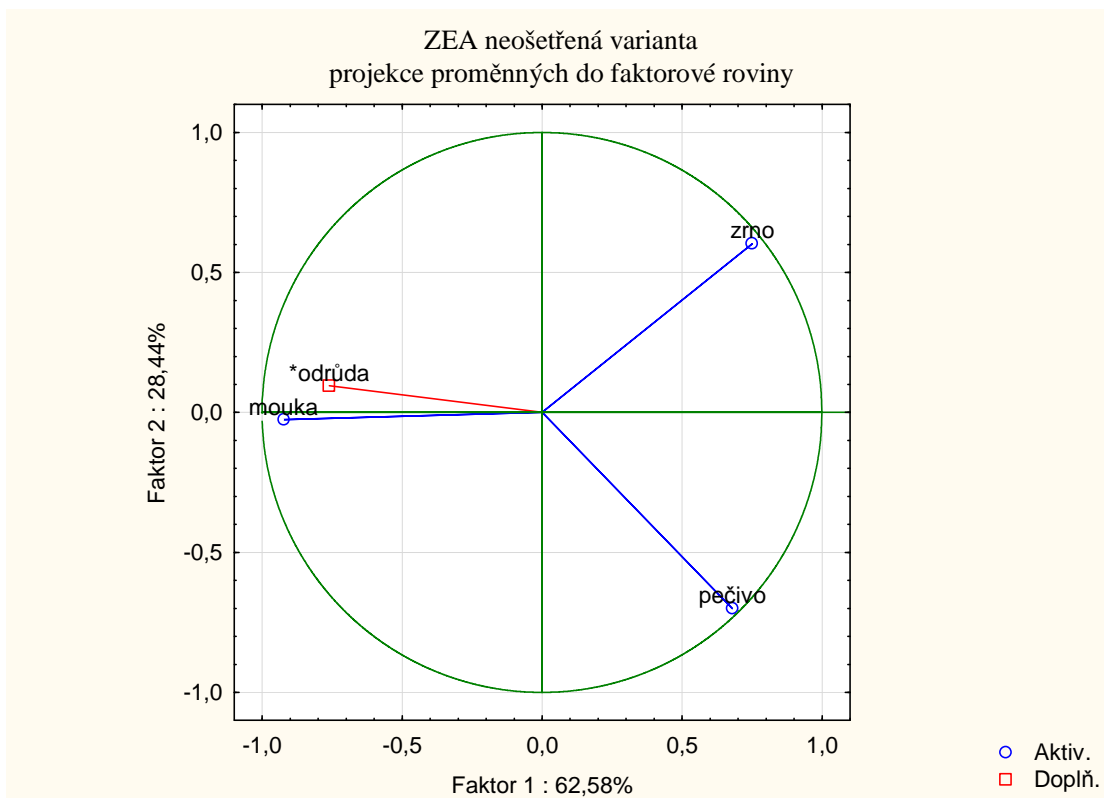
		p	Hladina průkaznosti	Statisticky průkazný rozdíl
ZEA ošetřeno	zrno/mouka	0,07	≤ 0,05	ne
	mouka/pečivo	0,273	≤ 0,05	ne
	zrno/pečivo	0,64	≤ 0,05	ne

ZEA neošetřeno	zrno/mouka	0,032	$\leq 0,05$	ano
	mouka/pečivo	0,012	$\leq 0,05$	ano
	zrno/pečivo	0,713	$\leq 0,05$	ne
ZEA ošetřeno/neošetřeno	zrno O/zrno N	0,019	$\leq 0,05$	ano
	mouka O/mouka N	0,09	$\leq 0,05$	ne
	pečivo O/pečivo N	0,072	$\leq 0,05$	ne

Obrázky č. 27 a 28 jsou výstupem zpracování naměřených dat v programu Statistica a znázorňují projekci proměnných (vliv odrůdy na obsah ZEA v zrnu, mouce a pečivu, zvláště pro ošetřenou a neošetřenou variantu) do faktorové roviny. Míra závislosti jednotlivých proměnných se zde hodnotí podle velikosti úhlu, který vzájemně svírají. Čím je tento úhel menší, tím je závislost silnější. Zároveň \cos úhlu značí přibližnou hodnotu korelačního koeficientu. Pokud jsou šipky vodorovně ve stejném směru, znamená to, že jsou proměnné na sobě kladně závislé. Pokud jsou šipky vodorovně, ale v opačném směru, znamená to, že proměnné jsou na sobě závislé negativně. Pokud jsou šipky na sebe kolmé, proměnné se dají považovat za nezávislé. Délka šipky značí variabilitu naměřených dat.



Obrázek č. 27: Projekce proměnných do faktorové roviny u ošetřené varianty ZEA



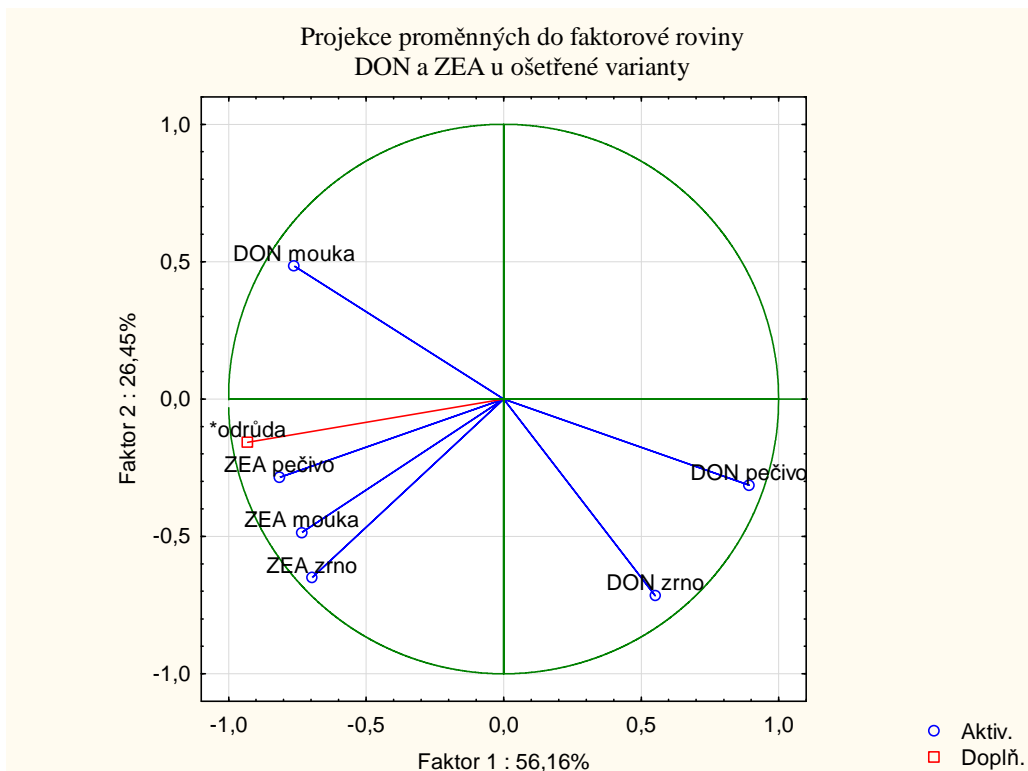
Obrázek č. 28: Projekce proměnných do faktorové roviny u neošetřené varianty ZEA

Na obrázku č. 27 můžeme vidět úzkou souvislost obsahu ZEA ve všech produktech. Odrůda má vliv jak na obsah ZEA v pečivu tak v zrnu. Největší variabilita naměřených hodnot byla zaznamenána v obsahu ZEA u pečiva (nejdelší šipka).

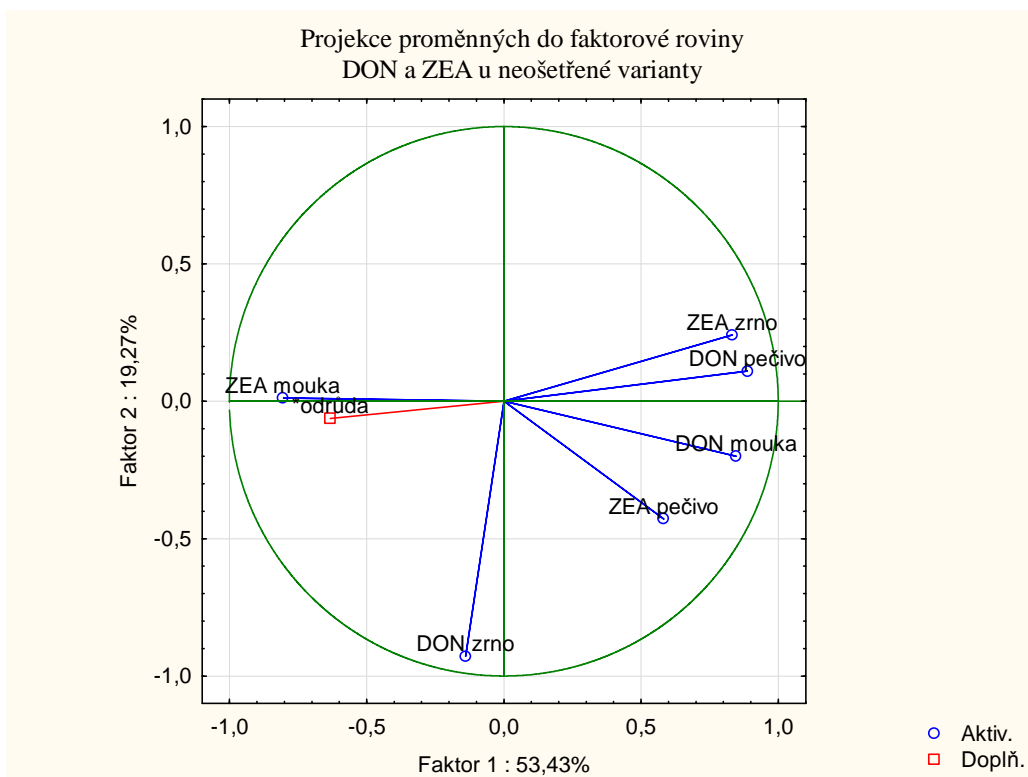
Na obrázku č. 28 vidíme silnou závislost odrůdy na obsah ZEA v mouce. Naopak obsahy ZEA ve všech produktech jsou na sobě nezávislé. Největší variabilita naměřených hodnot byla zaznamenána v obsahu ZEA u pečiva.

5.1.2 Srovnání obsahu DON a ZEA

Obrázky č. 29 a 30 jsou výstupem zpracování naměřených dat v programu Statistica a znázorňují projekci proměnných – vliv odrůdy na obsah DON a ZEA v zrnu, mouce a pečivu, zvláště pro ošetřenou a neošetřenou variantu – do faktorové roviny. Vyhodnocení diagramů je vysvětleno výše.



Obrázek č. 29: Projekce proměnných do faktorové roviny – DON a ZEA u ošetřené varianty



Obrázek č. 30: Projekce proměnných do faktorové roviny – DON a ZEA u neošetřené varianty

Na obrázku č. 29 u ošetřené varianty vidíme, že odrůda ovlivňuje obsah ZEA ve všech produktech a zároveň produkty ZEA spolu značně souvisí. Obsahy DON jsou v jednotlivých produktech na sobě nezávislé. Obsahy DON a ZEA na sobě nezávisí. Největší variabilita naměřených hodnot byla zaznamenána v obsahu ZEA u zrna (nejdelší šipka).

Na obrázku č. 30 u neošetřené varianty můžeme vidět silnou závislost odrůdy na obsah ZEA v mouce. Obsahy DON a ZEA spolu do jisté míry souvisí. Především pak obsah ZEA v zrně a v pečivu a DON v pečivu a mouce. Největší variabilita naměřených hodnot byla taktéž zaznamenána v obsahu DON u zrna.

5.2 Diskuze

Práce se zabývá sledováním obsahu DON a ZEA v ošetřené a neošetřené variantě pšenice ozimé, a to v zrně, mouce a pečivu, pomocí imunochemické metody ELISA. Průměrný obsah DON u ošetřené varianty ve vzorcích zrna byl 115 µg/kg, v mouce 77 µg/kg a v pečivu 97 µg/kg. U neošetřené varianty byl průměrný obsah DON v zrně 208 µg/kg, v mouce 103 µg/kg a v pečivu 128 µg/kg. Průměrný obsah ZEA u ošetřené varianty v zrně byl 4,95 µg/kg, v mouce 3,38 µg/kg a v pečivu 4,51 µg/kg. U neošetřené varianty byl průměrný obsah ZEA v zrně 3,07 µg/kg, v mouce 4,97 µg/kg a v pečivu 2,81 µg/kg. Všechny testované vzorky byly pozitivní na obsah DON i ZEA. U DON byly hodnoty ošetřené varianty nižší než neošetřené, můžeme tedy říct že se prokázal kladný vliv fungicidního ošetření. Rozdíly v hodnotách zrna u ošetřené a neošetřené varianty se ukázaly jako statisticky průkazné. U ZEA jsou naměřené hodnoty na velmi nízké úrovni. Přesto se ukázalo, že hodnoty zrna u ošetřené a neošetřené varianty jsou statisticky průkazné, ale v tomto případě je větší množství ZEA u ošetřené varianty.

Legislativní limity pro obsah DON v jednotlivých potravinových komoditách je dán Nařízením Evropské komise č. 1126/2007. Pro nezpracované obiloviny jiné než pšenice tvrdá, oves a kukuřice je maximální limit DON 1250 µg/kg. Všechny naměřené hodnoty byly hluboko pod tímto limitem. Nejvyšší naměřená hodnota byla 440 µg/kg, a to u neošetřené varianty a odrůdy Cubus. Pro obilné mouky je maximální obsah DON 750 µg/kg. Taktéž ani jeden z analyzovaných vzorků limit nepřekročil. Nejvyšší naměřená hodnota byla 220 µg/kg u neošetřené varianty a odrůdy Seladon. Pro pečivo je

maximální povolený obsah DON 500 µg/kg. K překročení limitu opět nedošlo. Nejvyšší naměřená hodnota byla 200 µg/kg, taktéž u neošetřené varianty a odrůdy Seladon.

Pro legislativní limity obsahu ZEA platí stejné nařízení jako pro DON. Ani jeden analyzovaný vzorek uvedené limity nepřekročil. Nezpracované cereálie jiné než kukuřice mají maximální povolený limit pro ZEA 100 µg/kg. Nejvyšší naměřená hodnota byla pouze 7,50 µg/kg, u ošetřené varianty a odrůdy Evina. Obilné mouky mají maximální povolený limit pro ZEA 75 µg/kg. Nejvyšší naměřená hodnota byla 7,96 µg/kg, u neošetřené varianty a odrůdy Hewitt. V pečivu je maximální limit ZEA 50 g/kg. Nejvyšší naměřená hodnota byla 7,98 µg/kg, u ošetřené varianty a odrůdy Baletka.

Přirozené koncentrace DON a ZEA v pšenici bývají často velmi nízké, vyšší koncentrace můžeme najít např. v kukuřici. SCUDAMORE ET PATEL (2008) ve své studii shrnují, že důkladným čištěním se snížil obsah DON v pšenici o 48 %. Během dalšího zpracování až k hotovému výrobku byli další ztráty minimální. Podobné potvrzuje i SEITZ ET AL (1986), že čištěním se snížil obsah DON o 48 až 86 %, v závislosti na původní koncentraci, nebo VISCONTI ET AL (2004) v jehož studii uvádí snížení obsahu DON po čištění o 33 %. Jelikož DON je distribuován v celém zrně, ale s vyššími koncentracemi ve vnějších vrstvách, tak také mletí bude mít efekt na redukci DON (KUSHIRO, 2008). SEITZ ET AL (1985) uvádí, že po suchém mletí zůstalo v pšenici 90 % DON v porovnání s původním množstvím po čištění. Podle TANAKA ET AL (1986) v pšenici po mletí zůstalo 60 % DON oproti původnímu množství. Studie TIBOLA ET AL (2015) uvádí, že v hotové mouce byla koncentrace DON snížena o 19 % a koncentrace v otrubách vzrostla o 125 %.

Mnoho studií uvádí, že je DON tepelně stabilní, především během pečení. SCOTT ET AL (1983) i LANCOVÁ ET AL (2007) uvádějí, že pečení nemělo žádný vliv na obsah DON. ZHANG ET WANG (2015) v jejich studii uvádějí, že koncentrace DON byly prokazatelně vyšší u upečeného chleba než v mouce. Naopak podle VIDAL ET AL (2014) má pečení prokazatelný vliv na snížení koncentrace DON v chlebu, a to v průměru o 17 až 33 % v porovnání s těstem. Dále poukazuje na to, že čas pečení má na stabilitu DON mnohem větší vliv než teplota pečení. BOYACIOGLU ET AL (1993) uvádějí, že po upečení chleba se snížil obsah DON o 7 %, avšak chléb s přísadkou L-cysteinu jako aditivum do mouky před pečením snížilo obsah DON v chlebu o 38 až 46 %. LEŠNIK ET AL

(2008) ve své studii pekl 6 druhů chleba, z 3 typů různě namletých mouk a ve dvou různých pecích (v průmyslově používané a v klasické keramické). Průměrné snížení koncentrace DON v chlebech byla 47,2 % v průmyslových pecích a 48,7 % v keramických pecích. Použitá mouka byla silně kontaminována DON (průměrné koncentrace byly 850 – 950 µg/kg), avšak po upečení dosahovaly chleby pod 500 µg/kg, a tudíž tak vyhověly legislativním limitům. Můžeme shrnout, že během technologického zpracování dochází k redukci DON, kompletně odstraněný z hotového výrobku není. HAJŠLOVÁ ET AL (2008) potvrzuje, že nejvíce kontaminované bývají odpadní frakce a otruby a nejnižší hladiny bývají ve vymílacích moukách. Dále uvádí, že se zvyšující se dobou zrání těsta postupně dochází k nárůstu volného DON a zároveň k poklesu konjugované formy D3G. Taktéž potvrzuje, že s prodlužující dobou pečení se snižují obsahy DON a to v průměru o 32 % v porovnání s kratší dobou pečení.

Podle ŠAFRÁNKOVÉ ET AL (2010) je přirozený výskyt fusárií v klasech v posledních letech velmi slabý, což můžeme potvrdit i z experimentální části této práce. Jedním z hlavních důvodů jsou nevhodné podmínky pro vznik infekce během kvetení. TRIGOSTOCKLI ET AL (1995) zkoumali výskyt a distribuci DON a ZEA v pšenici z různých částí Kansasu. DON se vyskytoval ve 20 % vzorků v rozpětí 0 – 550 µg/kg a to hlavně ve vzorcích ze severovýchodu, východu a jihovýchodu. ZEA byl ze 116 vzorků detekován pouze v jednom vzorku ze severovýchodu a to v koncentraci 500 µg/kg. Tento vzorek měl také nejvyšší obsah DON a největší napadení *F. graminearum*. Počasí tak má zjevně značný vliv na napadení *F. graminearum* a následnou produkci mykotoxinů. Ve studii ZAIED ET AL (2012) zkoumali výskyt ZEA v pšenici z Tunisu. Výskyt ZEA byl v 75 % vzorků, s hladinou kontaminace od 3 do 560 µg/kg. Takto významné množství ZEN v pšenici lze přičíst tuniskému podnebí, teplým teplotám a dlouhodobé vlhkosti, což jsou ideální podmínky pro růst fusárií a produkci mykotoxinů v průběhu pěstování a zrání pšenice. CHELI ET AL (2013) uvádějí, že při čištění zrn dochází v porovnání s nečištěnými zrnky k snížení ZEA od 7 – 40 %. Podle studie GIMÉNEZ ET AL (2013) zabývající se distribucí DON a ZEA v klíčcích v průběhu mletí pšenice, se DON vyskytoval ve všech testovaných vzorcích, ZEA byl detekován pouze u 2,8 % vzorků. V klíčcích se DON vyskytoval ve 47 % z celkového množství DON v znu, kdežto ZEA byl v klíčcích obsažen v 71 %. Toto poukazuje, že ZEA vykazoval větší afinitu ke klíčkům než DON a jeho koncentrace v samotné mouce jsou tak nižší.

Podobné potvrzuje i ZHENG ET AL (2014), že při mletí mouky dochází k snížení ZEA v mouce na 44 % původní koncentrace, na rozdíl od DON, kde ho zůstalo 72 %. Studie TRIGO-STOCKLI ET AL (1996) také prokázala, že vyšší koncentrace ZEA jsou při mletí mouky směřovány do otrub a odpadních frakcí, které obsahovaly 97 % ZEA, a samotná mouka pak obsahovala zbylé 3 %. Při pečení je podle mnoha studií ZEA stabilní, navíc se mohou uvolňovat jeho maskované formy. Deriváty ZEA např. α -zearalenon, které jsou mnohdy daleko toxičtější, se také mohou uvolňovat při fermentaci, jak uvádí RYU ET AL (2002). Výskyt ZEA a maskované formy ZEA (zearalenon-4- β -D-glukopyranosid) uvádí studie SCHNEWEIS ET AL (2002), kde ZEA byl detekován ve 22 z 24 vzorcích, v koncentracích od 11 do 860 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Zearalenon-4- β -D-glukopyranosid byl nalezen v 10 vzorcích, tj. ve 42 %, v koncentracích od 17 do 104 $\mu\text{g}/\text{kg}$ a koreloval se vzorky pozitivními na ZEA.

6 ZÁVĚR

Práce se zabývala výskytem deoxynivalenolu a zearalenonu ve vzorcích pšenice ozimé z roku 2013 pocházejících ze zkušební stanice ÚKZÚZ Hradec nad Svitavou. Zároveň se zkoumal průnik obou mykotoxinů ze zrna do mouky a do pečiva a porovnávala se ošetřená a neošetřená varianta pšenice ozimé. Bylo vyšetřeno celkem 10 vzorků ošetřené a 10 vzorků neošetřené varianty pšenice ozimé. Všechny vyšetřené vzorky byly pozitivní na obsah DON i ZEA.

Průměrný obsah DON u ošetřené varianty byl v zrně 115 µg/kg, v mouce 77 µg/kg a v pečivu 97 µg/kg, u neošetřené varianty byl průměrný obsah DON v zrně 208 µg/kg, v mouce 103 µg/kg a v pečivu 128 µg/kg. Průměrný obsah ZEA u ošetřené varianty byl v zrně 4,95 µg/kg, v mouce 3,38 µg/kg a v pečivu 4,51 µg/kg, u neošetřené varianty byl průměrný obsah ZEA v zrně 3,07 µg/kg, v mouce 4,97 µg/kg a v pečivu 2,81 µg/kg. Naměřené obsahy ZEA jsou na velmi nízké úrovni kontaminace. Maximální přípustné limity dané platnou legislativou nebyly v žádném analyzovaném vzorku překročeny. Z toho vyplývá, že obilí pěstované v ČR, ať už je ošetřené nebo neošetřené fungicidy, není nebezpečné pro spotřebitele.

Obsah obou mykotoxinů v ošetřené variantě na sobě nezávisí, u neošetřené varianty je závislost DON a ZEA poněkud vyšší. Odrůda měla největší vliv na obsah ZEA, na obsah DON neměla vliv žádný. U ošetřené varianty spolu také úzce souvisel obsah ZEA v zrně, v mouce a v pečivu.

U ošetřené varianty se obsah DON mletím průměrně snížil o 33,04 % oproti zrně, v pečivu se jeho obsah oproti mouce zase zvýšil o 25,97 %. U neošetřené varianty se mletím obsah DON snížil o 50,48 % oproti zrně a pečením se opět oproti mouce zvýšil, a to o 24,27 %. Obsah ZEA u ošetřené varianty se v mouce průměrně snížil o 31,63 % oproti zrně, v pečivu se oproti mouce zvýšil o 33,34 %. U neošetřené varianty se obsah ZEA mletím naopak zvýšil o 61,93 % oproti zrně a při pečení jeho obsah poklesl o 43,50 % oproti mouce. Snížení obsahu mykotoxinů po mletí znamená, že se mykotoxiny soustřeďovaly více do vnějších obalových vrstev a méně do endospermu. Obalové vrstvy jsou při mletí odstraněny a tak se obsahy mykotoxinů v mouce sníží. U neošetřené varianty byl ZEA naopak více soustřeďován do endospermu, a proto došlo v mouce k jeho navýšení. Následné zvýšení mykotoxinů po upečení v pečivu můžeme

vysvětlit uvolněním maskovaných forem mykotoxinů, nebo činností kvasinek při fermentaci, což potvrdila řada výše uvedených studií. Oba mykotoxiny jsou docela tepelně stabilní a tak k jejich degradaci při pečení moc nedochází.

Kladný efekt fungicidní ošetření se prokázal pouze u DON. Prokázal se přechod obou mykotoxinů do hotového výrobku, což je důkaz jejich stability a obtížné odbouratelnosti. Pokud by tedy do potravního řetězce pronikly potraviny či suroviny kontaminované nadlimitními koncentracemi DON nebo ZEA, vystává tak reálné nebezpečí pro konzumenty, že vysoké koncentrace mykotoxinů mohou přejít do finálních výrobků, proniknout tak do organismu a ohrozit zdraví spotřebitelů. Je tedy důležité sledovat koncentrace mykotoxinů nejen v surovinách, ale i potravinářských komoditách a krmivech určených pro hospodářská zvířata, a zároveň dodržovat preventivní opatření proti vzniku mykotoxinů.

7 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

BERTHILLER F., CREWS C., DALL'ASTA CH., SAEGER S., HAESAERT G., KARLOVSKY P., OSWALD I. P., SEEFELDER W., SPEIJERS G. & STROKA J., 2013: *Masked mycotoxins: A review*. In: *Molecular Nutrition & Food Research*. 57, s. 165 – 186.

BETINA V., 1990: *Mykotoxíny chémia-biológia-ekológia*. Vydavateľstvo Alfa, Bratislava, 288 s.

BOYACIOGLU D., HETTIARACHCHY N.S. & D'APPOLONIA B.L., 1993: *Additives affect deoxynivalenol (vomitoxin) flour during breadbaking*. In: *Journal of Food Science*, 58, s. 416-418.

BURGESS L. W., LIDDEL C. M. & SUMMERELL B. A., 1988: *Laboratory manual for Fusarium research*. University of Sydney, Sydney, 156 s.

CEMPÍRKOVÁ R., LUKÁŠOVÁ J. & HEJLOVÁ Š., 1997: *Mikrobiologie potravin*. Jihočeská univerzita, zemědělská fakulta České Budějovice, České Budějovice, 165 s.

DIEKMAN M. A. & GREEN M. L., 1992: *Mycotoxins and reproduction in domestic livestock*. In: *Journal of animal science*, 70, s. 1615-1627.

DOPORUČENÍ KOMISE ze dne 17. srpna 2006 o přítomnosti deoxynivalenolu, zearalenonu, ochratoxinu A, T-2 a HT-2 a fumonisinů v produktech určených ke krmení zvířat (2006/576/ES).

DOPORUČENÍ KOMISE ze dne 17. srpna 2006 k prevenci a snižování fusariových toxinů v obilovinách a výrobcích z obilovin (2006/583/ES).

FRÁGNER P., 1967: *Mykologie pro lékaře*. Státní zdravotnické nakladatelství, Praha, 348 s.

GIMÉNEZ I., HERRERA M., ESCOBAR J., FERRUZ E., LORÁN S., HERRERA A. & ARIÑO A., 2013: *Distribution of deoxynivalenol and zearalenone in milled germ during wheat milling and analysis of toxin levels in wheat germ and wheat germ oil*. In. *Food Control*, 34, s. 286 – 273.

HAIŠLOVÁ J., MALACHOVÁ A., ZACHARIÁŠOVÁ M., KOSTELANSKÁ M., KOCOUREK V. & POUSTKA J., 2008: *Mykotoxiny a jejich konjugáty v potravinářských surovinách a krmivech: trendy, rizika dietární expozice, možnosti prognózy osudu při zpracování*. Výzkumný ústav rostlinné výroby [cit. 2015-03-22]. Dostupné online na: <http://www.phytosanitary.org/?link=cs/projekty/2008/>.

HAIŠLOVÁ J., MALACHOVÁ A., ZACHARIÁŠOVÁ M., KOSTELANSKÁ M. & KOCOUREK V., 2009: *Mykotoxiny*. Výzkumný ústav rostlinné výroby [cit. 2015-03-22]. Dostupné online na: <http://www.phytosanitary.org/?link=cs/projekty/2009/>

HAIŠLOVÁ J., MALACHOVÁ A., ZACHARIÁŠOVÁ M., KOSTELANSKÁ M. & KOCOUREK V., 2010: *Kontaminace vybraných surovin mykotoxiny*. Výzkumný ústav rostlinné výroby [cit. 2015-01-18]. Dostupné online na: <http://www.phytosanitary.org/?link=cs/projekty/2010/>

HAMERSKÝ S., 2006: *Návrh učebního textu „Potravinářská mykotoxikologie“ pro střední odborné školy*. Bakalářská práce. Mendelova univerzita v Brně, Brno, 76s.

HAZEL C. M. & PATEL S., 2004: *Influence of processing on trichothecene levels*. In: *Toxicology Letters*, 153 (1), s. 51 – 59.

HORÁKOVÁ V., 2013: *Fuzariózy mykotoxiny v odrůdách ozimé pšenice*. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský. Sekce rostlinné výroby Brno. Národní odrůdový úřad [cit. 2015-02-20]. Dostupné online na: http://eagri.cz/public/web/file/232495/Horakova_Mykotoxiny_2013.pdf

HORÁKOVÁ V., DVOŘÁČKOVÁ O. & MEZLÍK T., 2014: *Seznam doporučených odrůd 2014, přehled odrůd 2014*. Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Brno. Národní odrůdový úřad, Brno, 202 s.

HRUBOŠOVÁ-HRMOVÁ D., VYTRÁSOVÁ J. & MOŤKOVÁ P., 2011: *Effect of Selected Fungicides on Fusarium Growth and Toxin Production*. In: *Czech Journal of Food Science*, 29 (2011), s. 69 – 75.

CHAMPEIL A., DORÉ T. & FOURBET J. F., 2004: *Fusarium head blight: epidemiological origin of the effects of cultural practices on head blight attacks and the production of mycotoxins by fusarium in wheat grain*. In: *Plant science*, 166 (6), s. 1389 – 1415.

CHELI F., PINOTT L., ROSSI L. & DELL'ORTO V., 2013: *Effect of milling procedures on mycotoxin distribution in wheat fractions: A review*. In: *LWT - Food Science and Technology*, 54, s. 307 – 314.

KREJČOVÁ R., 2013: *Obsah mykotoxinů ve vybraných druzích obilovin*. Diplomová práce. Mendelova univerzita v Brně, Brno 127 s.

KUSHIRO M., 2008: *Effects of Milling and Cooking Processes on the Deoxynivalenol Content in Wheat*. In: *International Journal of Molecular Sciences*, 9, s. 2127 - 2145

LACEY J., 1989: *Pre- and post-harvest ecology of fungi causing spoilage of foods and other stored products*. In: *Journal of applied bacteriology. Symposium supplement*, s. 11 – 25.

LANCOVÁ K., HAJŠLOVÁ J., KOSTELANSKÁ M., KOHOUTKOVÁ J., NEDĚLNÍK J., MORAVCOVÁ H. & VÁŇOVÁ M., 2008: *Fate of trichothecene mycotoxins during the processing: milling and baking*. In: *Food Additives and Contaminants*, 25, s. 650-659.

LEŠNIK M., CENCIČ A., VAJS S. & SIMONČIČ A., 2008: *Milling and bread baking techniques significantly affect the mycotoxin (deoxynivalenon and nivalenon) level in bread.* In: *Acta Alimentaria*, 37 (4), s. 471 – 483.

MAGAN N. & OLSEN M., 2004: *Mycotoxins in food: detection and control.* Woodhead Publishing, Cambridge, 471 s.

MALACHOVÁ A., HAJŠLOVÁ J., EHRENBERGEROVÁ J., KOSTELANSKÁ M., ZACHARIÁŠOVÁ M., URBANOVÁ J., CERKAL R., ŠAFRÁNKOVÁ I., MARKOVÁ J., VACULOVÁ K. & HRSTKOVÁ P., 2010: *Fusariové mykotoxiny v zrně ječmene jarního a jejich přenos do sladu.* In: *Kvasný průmysl*. 56/2010 č. 3, s. 131 – 137.

MALÍŘ F. & OSTRÝ V., 2003: *Vláknité mikromycety (plísňe), mykotoxiny a zdraví člověka.* Národní centrum ošetrovatelství a nelékařských zdravotnických oborů, Brno, 349 s.

MARTOCHOVÁ J., 2009: *Mykotoxiny a zdraví člověka.* Bakalářská práce. Mendelova univerzita v Brně, Brno, 37 s.

MAŠKOVÁ Z., TANČINOVÁ D., BARBORÁKOVÁ Z., & MOKRÝ M., 2011: *Frequented species of field fungi in wheat and their potential production of toxic metabolites.* In: *Potravinářstvo*, 5 (1), s. 43-50.

MORÁVKOVÁ E., POSPÍCHALOVÁ M. & ŠULOVÁ R., 2007: *Příprava pšeničné mouky pro Rapid Mix Test.* In: *Bulletin 2007.* Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Brno. Národní referenční laboratoř. Ročník XI, č. 3/2007, Brno, s. 29 – 48.

MRKVICOVÁ M., 2007: *Stanovení ochratoxinu A, deoxynivalenolu, zearalenonu, aflatoxinů a fumonisinů metodou HPLC nebo LC/MS/MS v krmivech.* In: *Bulletin 2007.* Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Brno. Národní referenční laboratoř. Ročník XI, č. 1/2007, Brno, s. 12 – 46.

NAŘÍZENÍ KOMISE (ES) č. 401/2006 ze dne 23. února 2006, kterým se stanoví metody odběru vzorků a metody analýzy pro úřední kontrolu množství mykotoxinů v potravinách.

NAŘÍZENÍ KOMISE (ES) č. 1881/2006 ze dne 19. prosince 2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách.

NAŘÍZENÍ KOMISE (ES) č. 1126/2007 ze dne 28. září 2007, kterým se mění nařízení (ES) č. 1881/2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách, pokud jde o fusariové toxiny v kukuřici a ve výrobcích z kukuřice.

NAŘÍZENÍ KOMISE (ES) č. 105/2010 ze dne 5. února 2010, kterým se mění nařízení (ES) č. 1881/2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách, pokud jde o ochratoxin A.

NAŘÍZENÍ KOMISE (ES) č. 165/2010 ze dne 26. února 2010, kterým se mění nařízení (ES) č. 1881/2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách, pokud jde o aflatoxiny.

NEDĚLNÍK J., HAJŠLOVÁ J. & SÝKOROVÁ S., 2005: *Validační studie Mykotoxiny – detekce, dynamika a podmínky kontaminace potravin a krmiv*. Výzkumný ústav rostlinné výroby [cit. 2015-02-20]. Dostupné online na: <http://www.phytopsanitary.org/?link=cs/projekty/2005/>.

NEDĚLNÍK J., 2015: *Konzultace výsledků*. Ústní sdělení

OSTRÝ V., 1998: *Vláknité mikroskopické houby (plísňe), mykotoxiny a zdraví člověka*. Státní zdravotní ústav, Praha, 20 s.

PAŘÍKOVÁ J. & KUČEROVÁ I., 2001: *Jak likvidovat plísňe*. Grada Publishing, Praha, 92 s.

PATOČKA J., BAJGAR J., CABAL J., FUSEK J., HERINK J., KASSA J. & ŠTĚTINA R., 2004: *Vojenská toxikologie*. Grada Publishing, Praha, 178 s.

POLSTER M., 1971: *Toxigenní plísně a mykotoxiny v potravinách*. Ústav pro další vzdělávání středních zdravotnických pracovníků, Brno, 84 s.

PROBST C., NJAPAU H. & COTTY J. P., 2007: *Outbreak of an Acute Aflatoxicosis in Kenya in 2004: Identification of the Casual Agent*. In: *Applied and Environmental Microbiology*, 73 (8), American Society for Microbiology, s. 2762 – 2764.

RYU D., JACKSON L. & BULLERMAN L. B., 2002: *Effect of processing on zearalenone*. In: *Advances in experimental medicine and biology*, 504, s. 205 – 216.

SAEGER S. & EGMOND H. P., 2012: *Special issue: Masked mycotoxins*. In: *World Mycotoxin Journal*. 5 (3), s. 203 – 206.

SAMSON R. A., HOEKSTRA E. S., FRISVAD J. C. & FILTENBORG O., 2002: *Introduction to food – and airborne fungi*. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, 389 s.

SCOTT P.M., KANHERE S.R., LAU P.-Y., DEXTER J.E. & GREENHALGH R., 1983: *Effects of Experimental flour milling and breadbaking on retention of deoxynivalenol (vomitoxin) in hard red spring wheat*. In: *Cereal Chemists*, 60, s. 421-424.

SCUDAMORE K. A. & PATEL S., 2008: *The fate of deoxynivalenol and fumonisins in wheat and maize during commercial breakfast cereal production*. In: *World Mycotoxin Journal*. 1 (4), s. 437 – 448.

SCHNEIDERKA P., 2004: *Kapitoly z klinické biochemie*. Karolinum, Praha, 365 s.

SCHNEWEIS I., MEYER K., ENGELHARDT G. & BAUER J., 2002: *Occurrence of Zearalenone-4- β -D-glucopyranoside in Wheat*. In: *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, s. 1736-1738.

SCHRÖDTER R., 2004: *Influence of harvest and storage conditions on trichothecenes levels in various cereals*. In: *Toxicology Letters*, 153 (1), s. 47 – 49.

SEITZ L.M., YAMAZAKI W.T., CLEMENTS R.L., MOHR H.E. & ANDREWS L., 1985: *Distribution of deoxynivalenol in soft wheat mill streams*. In: *Cereal Chemists*, 62, s. 467-469.

SEITZ L.M., EUSTACE W.D., MOHR H.E., SHOGREN M.D. & YAMAZAKI W.T., 1986: *Cleaning, milling and baking tests with hard red winter wheat containing deoxynivalenol*. In: *Cereal Chemists*, 63, s. 146-150.

SLÁDKOVÁ P. & HLAVÁČOVÁ J., 2011: *Speciální mikrobiologie*. Mendelova univerzita v Brně. Agronomická fakulta, Brno, 88 s.

ŠAFRÁNKOVÁ I., MARKOVÁ J. & KMOCH M., 2010: *Mykoflóra zrn sladovnických odrůd a linií ječmene jarního na lokalitách Kroměříž a Žabčice*. In: *Kvasný průmysl*. 56/2010 – č. 3, s. 138 – 144.

ŠILHÁNKOVÁ L., 2002: *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnologii*. Victoria publishing, Praha, 363 s.

ŠIMŮNEK J., 2004: *Plísně a mykotoxiny*. [cit. 2015-03-22] Dostupné online na: http://www.med.muni.cz/dokumenty/pdf/plisne_a_mykotoxiny.pdf

TANAKA T., HASEGAWA A., YAMAMOTO S., MATSUKI Y. & UENO Y., 1986: *Residues of Fusarium mycotoxins, nivalenol, deoxynivalenol and zearalenone, in wheat and processed food after milling and baking*. In: *Journal of the Food Hygienic Society of Japan*, 27, s. 653-655.

TANČINOVÁ D., KAČÁNIOVÁ M. & JAVOREKOVÁ S., 2001: *Natural occurrence of fungi in feeding wheat after harvest and during storage in the agricultural farm facilities*. In: *Biologia*, 56 (3), s. 247 – 250.

TANČINOVÁ D., MAŠKOVÁ Z., DOVIČIČOVÁ M., BARBORÁKOVÁ Z. & FELŠÖCIOVÁ S., 2012: *Mykocenóza pšenice*. Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre, Nitra, 110 s.

Tibola C.S., Fernandes J.M.C., Guarienti E.M. & Nicolau M., 2015: *Distribution of Fusarium mycotoxins in wheat milling proces*. In: *Food Control*, 53, s. 91 – 95.

TICHÁ J., 1988: *Mikroorganismy a jiní škůdci v mlýnskopekárenském průmyslu a ochrana proti nim*. SNTL, Praha, 151 s.

TRIGO-STOCKLI D. M., CURRAN S. P. & PEDERSEN J. R., 1995: *Distribution and Occurrence of Mycotoxins in 1993 Kansas Wheat*. In: *Cereal Chemistry*, 72 (5), s. 470 – 474.

TRIGO-STOCKLI D. M., DEYOE C. W., SATUMBAGA R. F. & PEDERSEN J. R., 1996: *Distribution of Deoxynivalenol and Zearalenone in Milled Fractions of Wheat*. In: *Cereal Chemistry*, 73 (3), s. 388 – 391.

TURNER N. W. SUBRAHMANYAM S. & PILETSKY S. A., 2009: *Analytical methods for determination of mycotoxins: A review*. In: *Analytica Chimica Acta*, 632, s. 168 – 180.

VELÍŠEK J. & HAJŠLOVÁ J., 2009: *Chemie potravin 2*. OSSIS, Havlíčkův Brod, 644 s.

VELÍŠEK J., 2002: *Chemie potravin 3*. OSSIS, Tábor, 343 s.

Vidal A., Morales H., Sanchis V., Ramos A. J. & Marín S., 2014: *Stability of DON and OTA during the breadmaking proces and determination of process and performance criteria*. In: *Food Control*, 40, s. 234 – 242.

VISCONTI A., HAIDUKOWSKI E.M., PASCALE M. & SILVESTRI M., 2004: *Reduction of deoxynivalenol during durum wheat processing and spaghetti cooking*. In: *Toxicology Letters*, 153, s. 181-189.

VLKOVÁ E., 2009: *Potravinářská mikrobiologie*. Česká zemědělská univerzita v Praze, Praha, 168 s.

WEIDENBORNER M., 2001: *Encyclopedia of food mycotoxins*. Springer, Berlin, 294 s.

WILD D. (ed.), 2013: *The immunoassay handbook: Theory and applications of ligand binding, ELISA and related techniques*. Elsevier, Amsterdam, 1036 s.

YOUNG J. C., FULCHER R. G., HAYHOE J. H., SCOTT P. M. & DEXTER J. E., 1984: *Effect of milling and baking on deoxynivalenol (vomitoxin) content of eastern canadian wheats*. In: *Journal of agricultural and food chemistry*. 32 (3), s. 659 – 664.

ZAIED C., ZOUAOUI N., BACHA H. & ABID S., 2012: *Natural occurrence of zearalenone in Tunisian wheat grains*. In: *Food Control*, 25, s. 773 – 777.

ZHANG H. & WANG B., 2015: *Fates of deoxynivalenol and deoxynivalenol-3-glucoside during bread and noodle processing*. In: *Food Control*, 50, s. 754 – 757.

ZHENG Y., HOSSEN S. MD., SAGO Y., YOSHIDA M., NAKAGAWA H., NAGASHIMA H., OKADOME H., NAKAJIMA T. & KUSHIRO M., 2014: *Effect of milling on the content of deoxynivalenol, nivalenol and zearalenone in Japanese wheat*. In: *Food Control*, 40, s. 193 – 197.

8 SEZNAM TABULEK A OBRÁZKŮ

Tabulky:

Tabulka č. 1: Mykotoxiny produkované druhy rodu Aspergillus (BETINA, 1990)

Tabulka č. 2: Trichoteceny produkované druhy rodu Fusarium (BETINA, 1990)

Tabulka č. 3: Mykotoxiny produkované druhy rodu Penicillium (BETINA, 1990)

Tabulka č. 4: Kvalitativní dělení mykotoxinů podle toxicity (ŠIMŮNEK, 2004)

Tabulka č. 5: Kvantitativní dělení mykotoxinů podle akutní toxicity (MALÍŘ ET OSTRÝ, 2003)

Tabulka č. 6: Onemocnění člověka vyvolaná mykotoxiny (ŠIMŮNEK, 2004)

Tabulka č. 7: Maximální limity pro ZEA ve vybraných potravinách dle (ES) č. 1226/2007

Tabulka č. 8: Maximální limity pro DON ve vybraných potravinách dle (ES) č. 1226/2007

Tabulka č. 9: Tolerovatelný denní příjem DON a ZEA dle (ES) č. 1226/2007

Tabulka č. 10: Odrůdy pšenice ozimé použité k měření

Tabulka č. 11: Měsíční teploty a srážky během pěstování v roce 2013

Tabulka č. 12: Naměřené obsahy DON u ošetřené a neošetřené varianty ve vzorcích zrna

Tabulka č. 13: Naměřené obsahy DON u ošetřené a neošetřené varianty ve vzorcích mouky

Tabulka č. 14: Naměřené obsahy DON u ošetřené a neošetřené varianty ve vzorcích pečiva

Tabulka č. 15: Vyhodnocení statistické průkaznosti snížení/nárůstu hodnot DON a porovnání ošetřené a neošetřené varianty

Tabulka č. 16: Naměřené obsahy ZEA u ošetřené a neošetřené varianty ve vzorcích zrna

Tabulka č. 17: Naměřené obsahy ZEA u ošetřené a neošetřené varianty ve vzorcích mouky

Tabulka č. 18: Naměřené obsahy ZEA u ošetřené a neošetřené varianty ve vzorcích pečiva

Tabulka č. 19: Vyhodnocení statistické průkaznosti snížení/nárůstu hodnot ZEA a porovnání ošetřené a neošetřené varianty

Obrázky:

Obrázek č. 1: Strukturní vzorec aflatoxinu B₁

Obrázek č. 2: Strukturní vzorec citreoviridinu

Obrázek č. 3: Strukturní vzorec citrininu

Obrázek č. 4: Strukturní vzorec cyklopiazonové kyseliny

Obrázek č. 5: Strukturní vzorec fumonisinu B₁

Obrázek č. 6: Strukturní vzorec ochratoxinu A

Obrázek č. 7: Strukturní vzorec patulinu

Obrázek č. 8: Strukturní vzorec sterigmatocystinu

Obrázek č. 9: Strukturní vzorec deoxynivalenolu

Obrázek č. 10: Strukturní vzorec T-2 toxinu

Obrázek č. 11: Strukturní vzorec zearalenonu

Obrázek č. 12: Přehled teplot a srážek během pěstování v roce 2013

Obrázek č. 13: Obsah DON ve vzorcích zrna, mouky a pečiva u ošetřené varianty

Obrázek č. 14: Obsah DON ve vzorcích zrna, mouky a pečiva u neošetřené varianty

Obrázek č. 15: Procentuální změna obsahu DON po mletí a pečení u ošetřené varianty

Obrázek č. 16: Procentuální změna obsahu DON po mletí a pečení u neošetřené

Obrázek č. 17: Změna obsahu DON po mletí a pečení u ošetřené varianty vztažená na zrna

Obrázek č. 18: Změna obsahu DON po mletí a pečení u neošetřené varianty vztažená na zrna

Obrázek č. 19: Projekce proměnných do faktorové roviny u ošetřené varianty DON

Obrázek č. 20: Projekce proměnných do faktorové roviny u neošetřené varianty DON

Obrázek č. 21: Obsah ZEA ve vzorcích zrna, mouky a pečiva u ošetřené varianty

Obrázek č. 22: Obsah ZEA ve vzorcích zrna, mouky a pečiva u neošetřené varianty

Obrázek č. 23: Procentuální změna obsahu ZEA po mletí a pečení u ošetřené varianty

Obrázek č. 24: Procentuální změna obsahu ZEA po mletí a pečení u neošetřené varianty

Obrázek č. 25: Změna obsahu ZEA po mletí a pečení u ošetřené varianty vztažená na zrna

Obrázek č. 26: Změna obsahu ZEA po mletí a pečení u neošetřené varianty vztažená na zrna

Obrázek č. 27: Projekce proměnných do faktorové roviny u ošetřené varianty ZEA

Obrázek č. 28: Projekce proměnných do faktorové roviny u neošetřené varianty ZEA

Obrázek č. 29: Projekce proměnných do faktorové roviny – DON a ZEA u ošetřené varianty

Obrázek č. 30: Projekce proměnných do faktorové roviny – DON a ZEA u neošetřené varianty

9 PŘÍLOHY

Příloha č. 1: Fotografie upečených bulek

Číslo vzorku	Odrůda	Číslo bulky neošetřené varianty	Číslo bulky ošetřené varianty
1	Sultan	1	19
2	Cubus	2	20
3	Akteur	3	21
4	Mulan	4	22
5	Seladon	5	23
6	Chevalier	6	24
7	Evina	7	25
8	Hewitt	8	26
9	Bohemia	17	35
10	Baletka	18	36

