

Univerzita Hradec Králové

Přírodovědecká fakulta

Katedra biologie

Vliv plísní na výrobu a kažení potravin živočišného původu

se zaměřením na mléčné výrobky

Bakalářská práce

Autor: **Rejman Lukáš**

Studijní program: **B 1501 Biologie**

Studijní obor: **Systematická biologie a ekologie**

Vedoucí práce: **RNDr. Jakub Toman, Ph.D.**

Hradec Králové

2022

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracoval samostatně a že jsem v seznamu použité literatury uvedl všechny prameny, z kterých jsem vycházel

V Hradci Králové dne 10. 5. 2022

.....
vlastnoruční podpis
Lukáš Rejman

PODĚKOVÁNÍ

Rád bych poděkoval panu RNDr. Jakobovi Tomanovi, Ph. D., za cenné rady, trpělivost, věcné připomínky a vstřícnost při konzultacích, které mi pomohly tuto práci vypracovat.

ANOTACE

REJMAN, L. *Vliv plísní na výrobu a kažení potravin živočišného původu*. Hradec Králové, 2022. Bakalářská práce na Přírodovědecké fakultě Univerzity Hradec Králové. Vedoucí bakalářské práce RNDr. Jakub Toman, Ph. D., 45s.

Ve své rešeršní práci se snažím shromáždit relevantní informace o nejběžnějších mikroskopických plísních, které se využívají při výrobě mléčných potravin a vytvořit jejich přehled. Dále jsem vytvořil přehled nejběžnějších plísní způsobujících kontaminaci a kažení mléčných výrobků s ohledem na produkci mykotoxinů, které mají vliv na zdraví člověka. Práce zahrnuje nejběžnější metody prevence a kontroly výskytu nežádoucích mikroskopických plísní v mléčných produktech a okrajově i legislativní limity.

KLÍČOVÁ SLOVA

mykotoxiny, kontaminace, prevence, mléčný výrobek

ANNOTATION

Rejman, L. *The effect of molds on manufacture and spoiling foodstuffs of animal origin*. Hradec Kralove, 2022. Bachelor Thesis at Faculty of Science University of Hradec Kralove. Thesis supervisor RNDr. Jakub Toman, Ph. D., 45p.

In my research work I tried to collect relevant information about the most common microscopic molds, which are used in manufacturing of dairy products and create their summary. I made an overview of the most common molds that cause contamination and spoiling of dairy products with respect to production of mycotoxins, which have negative effect on human health. Bachelor thesis contains the most common prevention and control methods of occurrence spoilage microscopic molds in dairy products and marginally the legislative limits.

Keywords

mycotoxins, contamination, prevention, dairy product

Obsah

1 ÚVOD	1
2 HISTORIE VYUŽÍVÁNÍ MIKROSKOPICKÝCH HUB V BIOTECHNOLOGIÍCH.....	2
3 ZÁKLADNÍ CHARAKTERISTIKA MIKROSKOPICKÝCH HUB (PLÍSNÍ)	4
3.1 MORFOLOGIE MIKROSKOPICKÝCH HUB	4
3.2 ROZMNOŽOVÁNÍ A VÝŽIVA HUB	5
3.3 FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ RŮST A ROZMNOŽOVÁNÍ PLÍSNÍ	5
4 VYUŽITÍ PLÍSNÍ PŘI VÝROBĚ MLÉČNÝCH VÝROBKŮ	8
4.1 <i>PENICILLIUM CAMEMBERTI</i>	8
4.2 <i>PENICILLIUM ROQUEFORTI</i>	10
5 NEGATIVNÍ PŮSOBNÍ PLÍSNÍ V MLÉČNÝCH VÝROBCÍCH.....	12
5.1 MLÉKO A MLÉČNÝ PRÁŠEK	12
5.2 SÝRY	13
6 ZDROJE KONTAMINACE.....	16
6.1 U CHOVATELE	16
6.2 V MLÉKÁRNĚ.....	16
6.3 U SPOTŘEBITELE	17
7 MYKOTOXINY	18
7.1 AFLATOXINY.....	19
7.2 SEKUNDÁRNÍ METABOLISMUS <i>PENICILLIUM CAMEMBERTI</i>	20
7.3 SEKUNDÁRNÍ METABOLISMUS <i>PENICILLIUM ROQUEFORTI</i>	21
8 PREVENCE VÝSKYTU MIKROSKOPICKÝCH HUB.....	23
8.1 PREVENTIVNÍ METODY	23
8.2 KONTROLNÍ METODY	26
9 DISKUZE.....	31
10 ZÁVĚR	32
11 SEZNAM LITERATURY	33

Terminologický slovník

Acidotolerantní	Odolný vůči nízkému pH
Aerobní	Vyžadující k životu kyslík
Aflatoxin	Jedovatý metabolit plísní, poškozující játra
Anaerobní	Prostředí bez kyslíku
Antagonista	Opačně působící
Antimikrobiální	Působící proti mikroorganismům, tj. bakteriím, virům, houbám
Aseptický	Prostředí, ve kterém se vůbec, nebo jen v minimální míře vyskytují mikroorganismy
Bioprotektivní	Kultura využívaná k potlačení kažení
Dekompozitor	Organismus rozkládající v ekosystémech organickou hmotu na jednodušší látky
Devitalizace	Usmrcení
DNA polymeráza	Enzym účastnící se procesu tvorby kopií deoxyribonukleové kyseliny
Eukaryotní	Mnohobuněčné a jednobuněčné formy života
Exospora	Spora vzniklá vně rozmnožovacího orgánu
Extracelulární	Mimobuněčný
Fakultativní	Volitelný, nepovinný
Fermentace	Rozklad, přeměna organických látek a rostlinných produktů působením enzymů
Fruktifikační	Orgány zajišťující rozmnožování plísně
Fungicid	Chemický prostředek proti houbám a plísním
Inaktivace	Potlačení aktivity
Inhibice	Schopnost pozastavit, nebo zastavit procesy
Interference	Vzájemné ovlivňování, prolínání
Intoxikace	Otrava
Kompetice	Soupeření organismů mezi sebou
Konidie	Výtrus hub
Kosmopolitní	Rozšířen všude ve světě
Laktát	Ester mléčné kyseliny
Lipolytický	Schopnost štěpit tuky
Meioza	Redukční dělení, počet chromozomů se zmenšuje na polovinu
Metabolit	Produkt látkové přeměny metabolismu určité látky
Mitochondrie	Buněčná organela

Mitotické dělení	Typ buněčného dělení, jehož úkolem je zajistit rovnoměrné předání redukované genetické informace dceřiným buňkám
Morfologie	Nauka o tvarech
Mykoalergie	Přecitlivělost k houbám s možností alergické reakce
Mykotoxikóza	Onemocnění vyvolané toxickými produkty metabolismu hub
Mykotoxin	Toxin produkováný plísněmi
Mykóza	Písňové onemocnění
Neurotoxická	Poškozující nervový systém
Obligátní	Nutný, povinný
Organoleptické	Smysly vnímatelné
Oxidační fosforylace	Chemický proces, během kterého dochází k tvorbě a obnově energetického platidla ATP
Parazitismus	Mezidruhový vztah, při němž jeden organismus žije na úkor druhého
Pasterace	Tepelná metoda konzervace mléka sloužící k prodloužení trvanlivosti
Proteolytický	Schopný štěpit bílkoviny
Psychrofilní	Chladnomilný
Ruducha	Řasa
Saprofyt	Organismus, který ke svému životu využívá rozkládající se části jiného organismu nebo jeho výměšků
Sanitace	Preventivní opatření (dezinfekce apod.)
Spora	Výtrus hub, rozmnožovací jednotka
Toxigenita	Schopnost mikroorganismů produkovat toxiny
Xerofilní	Druh žijící v suchém prostředí

Seznam zkratk

a_w	Vodní aktivita
AFB ₁	Aflatoxin B ₁
AFB ₂	Aflatoxin B ₂
AFG ₁	Aflatoxin G ₁
AFM ₁	Aflatoxin M ₁
CFU	Kolonie-tvorná jednotka
CO ₂	Oxid uhličitý
DNA	Deoxiribonukleová kyselina
E304	Askorbylpalmitát
E315	Kyselina erythorbová
HACCP	(Hazard Analysis and Critical Control Points) Systém kritických bodů
O ₂	Kyslík
pH	Hodnota udávající na stupnici (0-14) kyselost, nebo zásaditost
RNA	Ribonukleová kyselina
UHT	(Ultra High Temperature) Ošetření vysokou teplotou

1 ÚVOD

Běžně se vyskytující mikroskopické houby (plísně) jsou vnímány především jako kontaminanty potravin a nežádoucí mikroorganismy v prostředí člověka. Plísně mohou způsobovat kažení potravin a jejich rozklad, znehodnocování krmiv a průmyslových výrobků. Některé z nich produkují tzv. mykotoxiny, které mohou způsobovat alergie, ale i velmi vážné intoxikace. Existuje celá řada druhů plísni, která tyto mykotoxiny produkuje. Jsou to například *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus*, *A. niger*, *A. fumigatus*, *Penicillium chrysogenum*, *P. regulosum*, *P. roqueforti*, *Rhizopus stolonifer*, *Mucor circinelloides*, *M. mucedo*.

Na druhou stranu se však kmeny tzv. „kulturních“ plísni v dnešní době významně uplatňují v moderních biotechnologiích při výrobě potravin. V současnosti se hojně využívají čisté kultury při výrobě fermentovaných sýrů, zrajících sýrů, masových výrobků, piva, vína, sójové omáčky...). Díky fermentaci je u mnohých potravin prodloužena doba trvanlivosti. Plísně dodávají potravinám charakteristické organoleptické vlastnosti jako je aroma, chuť, barva nebo textura. Některé plísňové kmeny jsou také využívány pro své antimikrobiální účinky.

Cílem rešeršní práce je vytvořit ucelený přehled tzv. „kulturních“ plísni a jejich základní charakteristiky a dále plísni, které mají negativní vliv na mléko a mléčné produkty. Vliv plísni na výrobu a kažení potravin není u řady druhů dostatečně probádán a nejsou k nim shromážděné relevantní informace. Proto je velmi důležité věnovat pozornost plísním v mléčných produktech a jejich působení na samotné produkty a zdraví člověka.

2 HISTORIE VYUŽÍVÁNÍ MIKROSKOPICKÝCH HUB V BIOTECHNOLOGIÍCH

Již před 9000 lety v Mezopotámii vyráběli Sumerové pivo zkvašováním cukru. Egypťané před 6000 lety využívaly mikroorganismy k výrobě pekařských produktů a jsou doloženy i záznamy o výrobě sýrů. Plísňové sýry typu Roquefort jsou známe z roku 79 našeho letopočtu z dob Římské říše. V minulosti se nejednalo o biotechnologie jako je známe dnes, ale šlo spíše o řemeslné postupy (Mieslerová et al., 2015). Tradiční výroba fermentovaných potravin je známá především z jihovýchodní a východní Asie, kde jsou kulturní mikroskopické plísně využívány po několik tisíc let. Tímto procesem vznikají tradiční asijské potraviny jako například Miso (fermentovaná pasta), Ragi (rýžové víno), Shoju (sojová omáčka), Tempeh (fermentovaná sója), Saké (rýžové víno). V Evropě a v Severní Americe je významná výroba sýrů s plísní uvnitř a na povrchu (Malíř et al., 2003).

Termín biotechnologie se skládá z řeckých slov βίος (*bios*) = život, živý a τεχνολογία (*technologia*) = proces, dovednost. Jedná se tedy o procesy výroby různých produktů pomocí živých organismů (Mieslerová et al., 2015). Díky znalostem jejich metabolismu jsme schopni tvořit požadované produkty. Biotechnologie jsou využívány v oblasti zemědělství, potravinářském průmyslu, chemickém průmyslu a v posledních letech dochází k velkému rozmachu v oborech medicíny a farmaceutickém průmyslu. V průběhu věků lze biotechnologie rozdělit na klasické a moderní biotechnologie. Klasické biotechnologie mají počátky v empirii a používají se při výrobě potravin odjakživa (kvašené zelí a okurky, mléčné výrobky, víno, pivo). Výrobní procesy byly velmi dobře zvládnuty i bez znalostí mikrobiologie a mykologie potravin. Významný mezník v rozvoji biotechnologií bylo studium fermentačních procesů a také potvrzení, že kvašení způsobují živé mikroorganismy (kvasinky). Moderní biotechnologie jsou využívány od druhé poloviny 20. století díky pokroku v mikrobiologii, genetice, biologii, chemii a technologii (Bennett 1998, Mieslerová et al., 2015, Money 2016).

V Českých zemích na přelomu 19. a 20. století docházelo k rozvoji výroby plísňových sýrů. Vyráběly se zde sýry typu Camembert, de Brie, Gorgonzola, Nalžovský sýr (z oblasti Jihozápadních Čech) (Malíř et al., 2003).

3 ZÁKLADNÍ CHARAKTERISTIKA MIKROSKOPICKÝCH HUB (PLÍSNÍ)

Houby jsou prastaré mnohobuněčné nebo jednobuněčné (kvasinky) heterotrofní organismy, které se objevili před několika miliardami let (2,7 miliard let). Původ houbových organismů není stále zcela vysvětlen. V minulosti byly například vřeckovýtrusné houby odvozovány od předků z ruduch. Carl Linné se snažil řád houby taxonomicky zařadit a zařadil tak houby do rostlinné říše. Pomocí molekulárně biologických výzkumů se problematika původu hub podařila vyřešit. Pomocí sekvenování ribozomální RNA se dokázalo, že jsou houbové buňky více příbuzné živočišným buňkám (*Animalia*), ačkoliv morfologicky připomínají spíše rostliny (*Plantae*). Z fylogenetického hlediska jsou houby zařazené do samostatné říše hub (*Fungi*) (Malíř et al., 2003). Systém hub velmi často měněn a je poměrně složité se v něm zorientovat. V současné době je říše hub členěna do 8. oddělení: 1. *Chytridiomycota*, 2. *Neocallimastigomycota*, 3. *Blastocladiomycota*, 4. *Mucoromycota*, 5. *Zoopagomycota*, 6. *Ascomycota*, 7. *Basidiomycota*, 8. *Microsporidiomycota*. (Spatafora et al., 2016). Houby jsou nejpočetnější, nejvýznamnější a rovněž nejznámější skupina eukaryotických heterotrofních organismů. Odhaduje se, že může existovat až 1,5 milionu hub (Kalina & Váňa 2005).

3.1 Morfologie mikroskopických hub

Mikroskopické vláknité houby jsou tvořeny dutým vláknem (hyfou), tvoří tělo neboli stélku (thallus), které jsou vzájemně spletené a tvoří podhoubí (mycelium). Útvar spleť hyf se nazývá sklerocium. Hyfy jsou s přehrádkou (septum) anebo bez přehrádek. Většina vláknitých mikromycetů je typická přehrádkovaným myceliem (např. *Ascomycota*). Jednobuňkové hyfy, které nejsou přehrádkované jsou označovány také jako coenocytické (např. *Zygomycota*) (Laciaková et al., 2011). U většiny zástupců je přítomná buněčná stěna, která je většinou tvořena polysacharidy, bílkovinami, tuky. Převládající polysacharidovou složku tvoří chitin a chitosan (Kalina & Váňa 2005).

3.2 Rozmnožování a výživa hub

Pomocí specializovaných hyf (sporoforů) dochází k tvorbě spór (výtrusů), které umožňují houbám rozmnožování, šíření i přežívání v nepříznivých podmínkách. Podle způsobu rozmnožování se houby vykytují ve dvou formách: anamorfa a teleomorfa. Anamorfa je nepohlavní (asexuální) stadium, které se rozmnožuje pomocí nepohlavních spór (mitospór), které vznikají mitotickým dělením (Malíř et al., 2003). Nepohlavní rozmnožování je významné a u řady druhů představuje dominantní způsob rozmnožování. Cyklus rozmnožování může proběhnout několikrát za sezónu což je důležité zvláště u parazitických druhů. Nepohlavní exospóry jsou označovány jako konidie, které vznikají na konidioforech, které vznikají z konidiogenní buňky (Kalina & Váňa 2005). Teleomorfa je pohlavní stadium u kterého předchází vzniku sexuálních spór meióza (meisporické). Pohlavně se rozmnožující jsou například Ascomycota, Basidiomycota a Zygomycota. Anamorfa a jedna nebo více jejich teleomorf spolu dohromady utváří celek, který je označován jako holomorfa. Spóry se podle umístění dělí na endospóry a exospóry. Endospóry jsou umístěné uvnitř plodících orgánů. Exospóry jsou fruktifikované (proces tvorby plodnic) na vnější část orgánů (Malíř et al., 2003)

Houby jsou chemoheterotrofní organismy, které využívají látky organického původu jako zdroj energie, uhlíku a stavebních látek. Živiny získávají z okolního prostředí nejčastěji jako saprofyti, kdy přijímají potravu z odumřelých organismů. Pomocí vylučovaných enzymů rozkládají substrát a jednoduché látky přijímají jako živiny osmotrofně absorpcí z prostředí. Další způsoby výživy jsou fakultativní paraziti, obligátní paraziti, saproparaziti a symbionti (mykorhiza). Významně se podílejí na koloběhu látek a energie v přírodě jako dekompozitoři organických látek. Pouze velmi malá část hub se přizpůsobila parazitismu jiných organismů (Laciaková et al., 2011).

3.3 Faktory ovlivňující růst a rozmnožování plísní

Mikroskopické houby se velmi dobře morfologicky a fyziologicky adaptovali k nejrůznějším ekologickým podmínkám. Jsou kosmopolitně rozšířeny všude tam, kde

je organická hmota. Jejich variabilita jim umožňuje osídlovat nejrůznější prostředí. Jsou přítomné ve vzduchu, půdě, na plochách, v krmivu, v potravinách rostlinného a živočišného původu, na povrchu živých a odumřelých organismů. Výskyt plísní je také velmi ovlivněn klimatickými podmínkami prostředí. Dokážou efektivně využít živiny z prostředí a konkurovat tak ostatním organismům. V prostředí s vysokým obsahem živin je lépe přizpůsobena kvasinková forma, která se dokáže velmi rychle dělit pučením (podobně rychlé jako bakterie). Vláknité houby dokážou růst a přežívat v relativně nepříznivých podmínkách, díky podpovrchovému myceliu, které prorůstá substrát a umožňuje jim tak dobře využít živiny. (Malíř et al., 2003). Růst a rozmnožování plísní je ovlivněno řadou faktorů (Tab. 1).

3.3.1. Teplota

Optimální teploty se pro jednotlivé druhy plísní odlišují. Obecně platí, že jsou plísně schopné růst v širokém rozmezí teplot od -8 do $+90$ °C. V příznivých podmínkách rostou plísně mnohonásobně rychleji. Spolu s teplotou je růst samozřejmě ovlivněn také relativní vzdušnou vlhkostí a vodní aktivitou v substrátu (Laciaková et al., 2011).

3.3.2. Relativní vlhkost vzduchu

Na povrch substrátu vyrůstá vzdušné mycelium s fruktifikačními orgány, které zajišťují reprodukci hub. Vyžadují velmi vysokou relativní vlhkost vzduchu na tvorbu spór (95-100 %) (Laciaková et al., 2011).

3.3.3. Vodní aktivita (a_w)

„Available water“ neboli „dosažitelná voda“ pro růst mikroorganismů a aktivitu enzymů. Princip využití vodní aktivity spočívá v tom, že každý mikroorganismus je schopný růst, jestliže hodnota vodní aktivity je vyšší než určitý limit. Představuje volnou vodu v substrátu, která je v potravinách definována jako poměr tlaku vodní páry nad potravinou k tlaku par nad destilovanou vodou. Její hodnoty se udávají v desetinných číslech od 0 do 1,0. Vodní aktivita souvisí s relativní vzdušnou vlhkostí a osmotickým tlakem (Laciaková et al., 2011).

3.3.4. Kyslík

Většina hub roste obligátně v aerobním prostředí, tedy v prostředí s kyslíkem. Fakultativně anaerobní dokážou určitou dobu růst i v anaerobních podmínkách. Za aerobních podmínek energii získávají oxidační fosforylací, bez kyslíku získávají energii fosforylací na substrátové úrovni. Existují i obligátně anaerobní, které se vyskytují v žaludku přežvýkavců (Malíř et al., 2003, Laciaková et al., 2011).

3.3.5. pH

Optimální prostředí pro růst hub je v rozmezí pH 5–7. Vlákňité houby jsou schopné růst při pH od 1,2 do 11 (Laciaková et al., 2011).

Tabulka 1. Všeobecné charakteristiky pro růst hub (upraveno podle Ostrý, 1988)

Charakteristika	Růst
teplota	-12 °C až 55 °C
pH	1,7 až 10
a_w	min. 0,62 (extrémně xerofilní), min. 0,85 (většina)
vztah ke kyslíku	aerobní prostředí
vliv solí	do 20 % NaCl

4 VYUŽITÍ PLÍSNÍ PŘI VÝROBĚ MLÉČNÝCH VÝROBKŮ

Startovací kultury plísní jsou v mlékárenském průmyslu využívány především pro jejich proteolytickou a lipolytickou aktivitu, díky které dávají mléčným výrobkům charakteristické organoleptické vlastnosti jako je chuť, aroma a struktura. Významnou roli mají inhibiční účinky na běžné kontaminanty mléčných potravin a prodlužují tím tak jejich trvanlivost. Ve výrobě mléčných produktů jsou nejčastěji využívány druhy rodu *Penicillium* (Ropars 2022).

4.1 *Penicillium camemberti*

Dosud bylo identifikováno asi 1000 druhů *Penicillium*, ale pouze několik kmenů má průmyslový význam z hlediska produkce mléčných výrobků (Uraz & Özer 2014). *Penicillium camemberti* bylo poprvé popsáno v roce 1906 a je považováno za domestikovanou formu *Penicillium commune*. Tato houba se vyskytuje téměř výlučně na sýru, nebo v prostorách sýrárny, velmi výjimečně mimo toto prostředí. Využívá se při výrobě sýrů typu Camembert a Brie, na kterých tvoří bílé kolonie. Používá se například i při výrobě masných produktů jako jsou například fermentované masné výrobky (Ropars 2022).

4.1.1. Růstové charakteristiky

Optimální teplota růstu *P. camemberti* je 20-25 C°, přičemž je schopná růst i při teplotě 5 C° v aerobním prostředí. Optimální pH pro růst je mezi 3,5-6,5. Optimální hodnota vodní aktivity je v rozmezí od 0,91 do 0,94_{aw}. Ve vhodných podmínkách vytváří bílé až lehce nažloutlé kolonie na povrchu. Z hlediska pH je tedy *P. camemberti* ideální startovací kultura pro sýry typu hermelín, protože jejich pH v prvních 24 hodinách je okolo 4,6. V procesu zrání metabolizuje plíseň laktát na oxid uhličitý a vodu na povrchu sýra a tím vytváří gradient pH, který je klíčovým faktorem v procesu zrání a vede k vyššímu pH (Ropars 2022). Mezi 5 a 12 dnem je celý povrch

sýru pokryt bílou kolonií *P. camemberti*, která je silná asi 3 mm (Molimard et al., 1997, Uraz & Özer 2014)

4.1.2. Význam

P. camemberti produkuje řadu proteolytických a lipolytických enzymů, které hrají důležitou roli při zrání sýra. Díky nim se v potravině tvoří mnoho aromatických a chuťových sloučenin (Ropars 2022). Typ a koncentrace kyselin, primárních a sekundárních alkoholů, karbonylových sloučenin, esterů a uhlovodíků určují charakteristické vlastnosti sýrů. Lipolýza je důležitá u měkkých sýrů jako je sýr typu Camembert, kde volné mastné kyseliny mohou dosáhnout až 10 % mastných kyselin v sýru. Naopak vysoké koncentrace některých sloučenin mohou způsobovat vady (Uraz & Özer 2014, Plocková & Březina 1988).

Startovací kultury se využívají i pro své inhibiční účinky na nežádoucí růst plísňových kontaminantů a produkci mykotoxinů. Když se *P. camemberti* použije jako sekundární startovací kultura, má silný inhibiční účinek na mnoho běžných plísní, které kontaminují sýry jako je např. *Cladosporium herbarum*, *P. roqueforti*, *P. commune*. V případě, že se používá smíšená kultura inhibiční účinky *P. camemberti* se výrazně snižují (Ropars 2022, Garnier et al., 2017).

4.1.3. Využití

Kulturní plíseň *P. camemberti* se využívá při výrobě tradičního povrchově zrajícího hermelínového sýra. Využívá se nejčastěji smíšené kultury spolu s bakteriemi. Krémová a polotekutá vnitřní konzistence hermelínu je způsobena především aktivitou *P. camemberti*. Po 14 dnech se na povrchu plísně vytvoří tenká, šedobílá kůra, která je pouze na povrchu a do sýra neproniká. Nízká koncentrace amoniaku je spojena s vyžralým aroma. Poté se balí do pergamenu a folie. Vyžralý je sýr po 4-5 týdnech, kdy by měl být spotřebován (Ropars 2022).

Sýr Brie je též zrající sýr s povrchovou plísní. Rozdíly oproti hermelínu spočívají ve vnitřním zrání a charakteristické vůni a chuti. Povrchová vrstva je tvořena *P. camemberti*, která se postupně z bílé mění na žlutou a zaroste gram pozitivními bakteriemi. Za charakteristikou chuť a vůni je zodpovědná plíseň na

povrchu. Po dozrání sýr velmi rychle podléhá zkáze a musí být rychle zkonsumován (Uraz & Özer 2014, Ropars 2022).

4.2 *Penicillium roqueforti*

Stejně jako *Penicillium camemberti*, tak i druh *Penicillium roqueforti* patří mezi velmi početný rod *Penicillium*. Tato kulturní plíseň se běžně vyskytuje v přírodě a lze ji izolovat z půdy nebo rozkládající se organické hmoty. Používá se jako startovací kultura pro výrobu sýrů s modrou plísní např. Gorgonzola, Roquefort, Stilton a Danablu (viz. tab. 2) (Coton et al., 2022).

4.2.1. Růstové charakteristiky

Penicillium roqueforti má oproti *P. camemberti* vyšší rychlost růstu a vytváří nízké sametově zelené někdy až modré kolonie (Uraz & Özer 2014, Coton et al., 2022, Ropars 2022). Podle výzkumů má *P. roqueforti* nejnižší nároky na kyslík ze všech druhů *Penicillium*. Houba není ovlivněna dokud koncentrace kyslíku neklesne pod 4,2 % (Coton et al., 2022). Je psychrofilní a je schopná růst i při nízkých teplotách např. okolo 5 °C, díky tomu může kontaminovat chlazené potraviny (Uraz & Özer 2014). Je tolerantní ke změnám pH, může růst v rozmezí pH 3 až 10 (Coton et al., 2022).

4.2.2. Význam

Proteolytické enzymy produkované *Penicillium roqueforti* způsobují změkčování struktury sýra. Proteolytické enzymy zahrnují extracelulární a intracelulární proteinázy a peptidázy (Coton et al., 2022). Zvláště důležité pro proces zrání jsou extracelulární aspartátové proteinázy. Lipázy, které jsou ve vodě rozpustné hydrolyzují mléčný tuk na volné mastné kyseliny, které přispívají k typické chuti modrých sýrů. Plíseň produkuje i další důležité složky příchuti jako jsou ketony a sekundární alkoholy, které přispívají k sýrové chuti (Abbas & Dobson 2011, Coton et al., 2022).

4.2.3. Využití

Nejběžnějšími sýry s modrou plísní uvnitř jsou Gorgonzola, dánský Danablu, španělský Cabrales, česká Niva, Stilton anebo francouzský Roquefort. Například při výrobě sýru Roquefort plíseň prorůstá celým sýrem, který je uložen v dobře větraném prostoru, následně je zabalen do folie, kde se vytvoří prostředí s menším množstvím kyslíku, v sýrů tak začínají vznikat typická oka ve kterých dochází k důležitým enzymatickým reakcím (Abbas & Dobson 2011, Frias et al., 2017).

Tabulka 2. Kulturní plísně využívané v mlékárenském průmyslu

Druh	Použití	Reference
<i>Penicillium camemberti</i>	sýry s plísní na povrchu	Coton et al., 2022, Ropars 2022, Garnier et al., 2017, Uraz & Özer 2014, Lukášová et al., 2001
<i>Penicillium roqueforti</i>	sýry s plísní uvnitř	Coton et al. 2022, Uraz & Özer 2014, Abbas & Dobson 2011, Frias et al. 2017
<i>Penicillium nalgiovense</i>	Nalžovský sýr	Mieslerová et al., 2015, Plocková & Březina 1988
<i>Penicillium caseicolum</i>	sýry s plísní na povrchu	Lukášová et al., 2001, Plocková & Březina 1988
<i>Penicillium viridicatum</i>	tvrdé sýry	Plocková & Březina 1988
<i>Fusarium sarcochromum</i>	sýr s plísní na povrchu	Doležálek 1958
<i>Mucor racemosus</i>	norský sýr	Plocková & Březina 1988
<i>Geotrichum candidum</i>	sýry	Šipošová et al., 2021, Fröhlich-Wyder et al., 2019, Plocková & Březina 1988

5 NEGATIVNÍ PŮSOBENÍ PLÍSNÍ V MLÉČNÝCH VÝROBCÍCH

V příznivých podmínkách jsou schopné plísně svojí činností zničit velké množství surovin a produktů. Odhaduje se, že 10-20 % světové produkce potravin je zničeno v důsledku kontaminace houbami. Mléčné výrobky jsou méně náchylné ke kažení než jiné výrobky, jako je zelenina nebo ovoce, protože se obvykle uchovávají v chladničce, některé výrobky jsou tepelně ošetřené a některé z nich jsou fermentované, což v nich vytváří konkurence schopnou mikrobiotu, mají kyselé pH a přirozeně obsahují organické kyseliny. I přes to, dokáže značný počet plísní růst a přežít na mléčných výrobcích. Díky adaptační schopnosti jsou schopné využívat řadu substrátů včetně sacharidů, organických kyselin, proteinů a lipidů (Huis 1996). Houby jsou také acidotolerantní, xerotolerantní a psychrotolerantní a dokážou do určité míry tolerovat chemické konzervační látky, které se přidávají do mléčných potravin za účelem prodloužení trvanlivosti (Baroiller et al., 1990, Batt & Tortorello 2014, Prado et al., 2015)

Kontaminující mikroskopické houby způsobují snižování biologické hodnoty potravin, které mohou mít negativní dopad na zdraví člověka (Laciaková et al., 2011). „Potraviny jsou pro vláknité mikromycety vhodným živným substrátem. Po kontaminaci potravin dochází k růstu mycelia a aktivaci enzymového aparátu mikromycetů. Následně dochází ke kažení a rozkladu potravin“ (Malíř et al., 2003, s. 84.). Plísně zhoršují organoleptické vlastnosti potravin, které mohou být pro spotřebitele na první pohled zřejmé (Garnier et al., 2017). Přímým působením na člověka mohou způsobovat mykotoxikózy, mykózy a mykoalergie. Plísně využívají po kontaminaci potravin jen některé jejich složky (vitamíny, esenciální aminokyseliny, mastné kyseliny, minerály) a tímto snižují jejich biologickou hodnotu a jakost (Malíř et al., 2003).

5.1 Mléko a mléčný prášek

Hlavním typem mléka používaného pro lidskou spotřebu je kravské mléko, které odpovídá 83 % světové produkce mléka, následuje buvolí 13 %, kozí mléko 2 %,

ovčí 1 % (Becker-Algeri et al., 2016). Přítomnost mikroskopických hub v krmivech přežvýkavců se jeví jako klíčovým ukazatelem přítomnosti mykotoxinů v mléce a mléčných výrobcích (Viegas et al., 2020). Kvalita mléka ve vztahu k toxickým kontaminantům přímo souvisí s typem a kvalitou krmiva pro zvířata v návaznosti na metabolismus mykotoxinů a jejich následné vylučování do mléka (Becker-Algeri et al., 2016).

Během zpracování mléka může dojít k další kontaminaci plísněmi a výsledné množství mykotoxinů v konečném produktu může být ještě daleko vyšší. Přidáním dalších složek jako jsou například ovocné koncentráty do mléka se též výrazně zvyšuje riziko kontaminace mykotoxiny nemléčného původu (Ünüsán 2019, Daou et al., 2020). V syrovém mléce jsou ve velkém množství zastoupeny zárodky hub *Mucor sp.*, *Fusarium sp.*, *Geotrichum sp.*, *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.* (Jesenská 1987).

5.2 Sýry

Sýry podléhají zkáze plísněmi velmi často, a proto je tato kontaminace významným kvalitativním problémem sýrů. Díky relativně dlouhé trvanlivosti mnoha sýrů mohou plísně pomalu růst a způsobit tak viditelné a organoleptické vady dané potraviny. Náchylnost ke kažení plísněmi závisí na mnoha vnějších a vnitřních faktorech (viz. kapitola 3.) (Martin et al., 2022).

K výrobě speciálních druhů sýrů se nejčastěji používají kmeny *Penicillium roqueforti* a *P. camemberti* (syn. *P. candidum*) Startovacím kulturám se začíná věnovat stále větší pozornost z důvodu jejich možné toxigenity (Lafont & Lafontová 1976). Právě rod *Penicillium* je nejběžnější plísňový kontaminant vyskytující se v sýrech. Studie uvádějí, že více jak 70 % všech kontaminací sýrů je právě způsobeno rodem *Penicillium*. Dominující mikroflórou kažení je *P. commune*, *P. nalgiovense*, *P. roqueforti*, *P. verrucosum*. Dále byli izolovány druhy *P. chrysogenum*, *P. citrinum*, *P. expansum*, *P. brevicompactum*, které jsou však méně časté a nevyskytují se tak hojně v našem mírném podnebném páse (Martin et al., 2022). *Penicillium roqueforti* je schopné produkovat metabolity jako je například PR-toxin, roquefortin kyselinu penicilovou, patulin, kyselinu mykofenolovou, řada z nich je však v sýrech nestabilní (Malíř et al., 2003).

Penicillium camemberti produkuje kyselinu cyklopiazonovou v závislosti od vlastností kmene, teploty a prostředí. Riziko ohrožení zdraví konzumenta je pravděpodobně malé, protože jedna dávka sýra obsahuje méně než 4 µg kyseliny cyklopiazonové. I přes to, je nutné neustále působení startovacích kultur monitorovat (Jesenská 1987, Coton et al., 2022, Ropars 2022). Účinky kyseliny cyklopiazonové na lidech ještě nebyly stanoveny avšak při testování na myších bylo její působení fatální (Uraz & Özer 2014). Dalším velmi častým kontaminantem je rod *Aspergillus*, který je schopen produkovat například sterigmatocystin, patulin, aflatoxin M₁ nebo ochratoxin A. Další plísně zodpovědné za znehodnocení a kažení sýrů jsou například *Cladosporium*, *Mucor*, *Fusarium*, *Geotrichum*, *Acremonium* (Kure & Skaar 2019). U sýrů jsou 4 hlavní zdroje kontaminace mykotoxiny (Ushkalov et al., 2020):

- I. Kontaminace mléka v důsledku krmení zvířat kontaminovaným krmivem
- II. Syntéza vláknitými mikromycety
- III. Výroba sýra z kontaminovaného sušeného mléka
- IV. Přidáváním kořenících přísad rostlinného původu (AFB₂, AFG₁, T2)

Tabulka 3. Vybrané druhy *Penicillium* na sýrech podle zemí (Kure & Skaar 2019, upraveno L. Rejman)

Druh	Stát
<i>P. atramentosum</i>	Norsko, Francie
<i>P. bialowienzense</i>	Francie
<i>P. brevicompactum</i>	Francie
<i>P. chrysogenum</i>	Dánsko, USA, Španělsko
<i>P. commune</i>	Dánsko, Řecko, Francie, UK, Austrálie, Německo, Česká Republika , Azory, USA, Belgie, Japonsko, Nový Zéland, Nizozemí, Norsko, Španělsko
<i>P. crustosum</i>	Dánsko, Itálie, Francie, Azory, UK, Norsko
<i>P. echnulatum</i>	Austrálie, Jižní Afrika
<i>P. expansum</i>	Norsko
<i>P. gravinivasei</i>	Itálie
<i>P. palitans</i>	Norsko
<i>P. nalgiovense</i>	Dánsko, Řecko, Slovensko
<i>P. roqueforti</i>	Dánsko, Německo, Česká Republika , Austrálie, Řecko, Malta, Costa Rica, Norsko
<i>P. solitum</i>	Dánsko, Řecko, Itálie, Norsko, Španělsko
<i>P. verrucosum</i>	Dánsko, Řecko, Španělsko
<i>P. viridicatum</i>	Austrálie

6 ZDROJE KONTAMINACE

6.1 U chovatele

Plísňová kontaminace mléka může nastávat již u samotného farmáře, kdy může docházet ke zkrmování kontaminovaného krmiva. Látky obsažené v krmivu jsou vylučované do mléka, a tak již v samotném dojném zvířeti dochází ke kontaminaci (Shundo et al., 2009). Nedodržování hygienických postupů během dojení je velmi častým problémem. Dodržování předepsaných pravidel pracovníka na dojírně je nezbytné pro budoucí osud suroviny (mléka). Například znečištěný kravský struk je významným kontaminantem mléka plísněmi, kvasinkami a bakteriemi, které odchází spolu s mlékem do sacího sběrače a dále kontaminuje celý sběrný tank, který poté putuje do mlékárny (Vacheyrou et al., 2011). Musí být zajištěna vhodná skladovací teplota ve sběrném tanku, která zpomaluje růst nežádoucích mikroorganismů a prodlužuje tak trvanlivost mléka (Plocková & Březina 1988, Sofos 1993, Garnier et al., 2017).

6.2 V mlékárně

V mlékárně hojně dochází ke kontaminaci vzdušnými houbami, spory hub se rozptýlí v prostorech velmi snadno a kontaminují mléko a výrobky z něj. Ke kontaminaci plísněmi dochází také během výrobních procesů (povrchy zařízení, solanka, dochucovadla, kontaminované oblečení pracovníka mlékárny). Solanka pro nasolování sýrů, je jedním z nejběžnějších zdrojů plísní (Suriyarachchi & Fleet 1981, Schön et al., 2016). V jedné studii byly hlášeny dokonce počty 1, 109 CFU/cm² (Bokulich & Mills 2013). Také ingredience přidávané do sýrů jako dochucovadla a koření látky mohou být zdrojem nežádoucích plísní. Některé ovocné přísady nejsou zcela tepelně upraveny (ovoce do jogurtů). V roce 2017 bylo hlášeno, že až 100 % všech ovocných přípravků obsahuje termostabilní askosporotvorné houby (Tranquillini et al., 2017). Obalové materiály mohou být také potenciálním zdrojem kontaminace, to však zatím nebylo řádně prozkoumáno (Garnier et al., 2017).

6.3 U spotřebitele

Ke kontaminaci mléčných produktů dochází i u samotného spotřebitele. Po otevření zabaleného produktu dochází ke kontaminaci vzdušnými sporami hub. Důležitým faktorem je i samotná teplota skladování výrobku. Výzkumy na toto téma jsou omezené a nejsou zcela vyřešené (Catellani et al., 2014, Garnier et al., 2017).

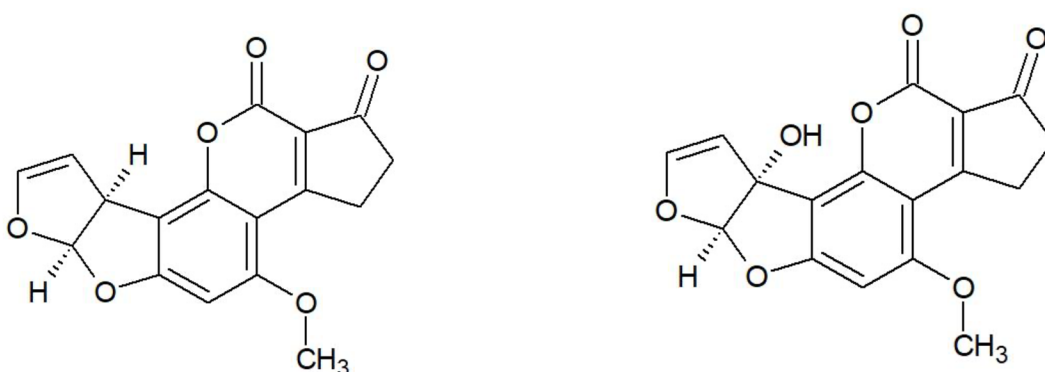
7 MYKOTOXINY

Termín mykotoxin je odvozen z řeckého slova „*mycos*“, což znamená houba (plíseň) a latinského slova „*toxicum*“ což znamená jed. Mikroskopické houby mohou produkovat mykotoxiny, což jsou sekundární toxické metabolity nebílkovinné povahy toxické pro člověka a živé organismy (Malíř et al., 2003). Pravděpodobným důvodem, proč jsou mykotoxiny produkovány je obranný prostředek v konkurenčním boji o „substrát a o přežití“ (Ostrý & Kýrová 2017). Mykotoxiny se v potravinách nacházejí především v důsledku buď nepřímé kontaminace, kdy se potravina vyrábí již z mléka, které bylo kontaminované v samotném zvířeti po zkrmování kontaminovaným krmivem, nebo přímo působením plísní uvnitř potraviny (Bullerman 1981). Sekundární metabolismus, jehož produktem jsou mykotoxiny, je obvykle aktivován signály z vnějšího prostředí (chlad, teplo, fungicid) (Alahlah et al., 2020). Existuje více než 400 různých mykotoxinů produkovaných vláknitými houbami (Bennett & Klich 2003). Jsou produkovány třemi hlavními plísňovými rody *Aspergillus*, *Penicillium* a *Fusarium* (Moudgil et al., 2019). Některé druhy hub jsou schopné produkovat několik mykotoxinů současně, což může vést k synergismu těchto mykotoxinů. Může se tak stát, že je produkt toxický, i přes to že obsah každého odebraného mykotoxinu nepřekračuje jeho maximální přípustný limit (Ushkalov et al., 2020). Naprostá většina mykotoxinů je termostabilní, proto opatření plynoucí z pasterace a sterilizace mléka významně neovlivňují jejich koncentraci (Ünüsán 2019, Daou et al., 2020). V průběhu dalšího zpracování mléka a odstraňování vody ze surovin se může obsah mykotoxinů výrazně zvýšit. Roztok se stává koncentrovanějším díky sníženému množství vody (Alahlah et al., 2020).

Mykotoxiny přítomné v potravinách a krmivech představují důležitý problém týkající se bezpečnosti a kvality potravin s dopadem na zdraví lidí. Spojeny s tím jsou i značné ekonomické ztráty. Ty zahrnují jak samotnou zkázu potravin, tak i ekonomické náklady spojené s farmaceutickou a zdravotní péčí během intoxikací kontaminovanou potravinou. Na základě zpráv Organizace pro výživu a zemědělství se ročně ve světě vyprodukuje asi 20 % všech potravin, které jsou kontaminované mykotoxiny (Egmond et al., 2004, Malíř et al., 2003).

7.1 Aflatoxiny

Aflatoxiny patří do skupiny mykotoxinů produkovaných obecně rodu *Aspergillus*. *A. flavus* a *A. parasiticus* jsou co se týče ekonomických ztrát významné plísně, které produkují významně aflatoxin B₁, B₂, G₁ a G₂ a všechny ostatní aflatoxiny jsou deriváty těchto čtyř (Fedlu 2019). Aflatoxin B₁ (AFB₁) je přirozeně nejtoxičtější se vyskytující aflatoxin v potravinách, působící jako chemický karcinogen jater (Wu & Khlangwiset 2010). Mezinárodní agenturou pro výzkum rakoviny je AFB₁ řazen do skupiny 1 karcinogenních látek (tj. prokazatelně karcinogenní pro člověka). Plísně přítomné v krmivu zvířat produkují právě AFB₁. U dojných zvířat se AFB₁ přeměňuje v játrech na 4-hydroxylovaný metabolit a je vylučován do mléka a moči jako aflatoxin M₁ (AFM₁). Koncentrace AFM₁ závisí na příjmu AFB₁. Když je příjem AFB₁ zastaven, koncentrace AFM₁ je v mléce po 72 hodinách nedetekovatelná (Yitbarek & Tamir 2014). Zhruba 1-3 % požitého AFB₁ se přemění na AFM₁ (Ushkalov et al., 2020).



Obrázek 1. Aflatoxin B₁ a Aflatoxin M₁

Distribuce aflatoxinů se v různých mléčných výrobcích liší. V sýru je to přibližně 40-60 %, 10 % v másle a <2 % v podmáslí. AFM₁ je vysoce rozpustný ve vodě, proto se ukládá v sýru, ale ne v mléčné syrovátce (Creppy 2002). Karcinogenita AFM₁ je desetkrát menší než karcinogenita AFB₁, a proto byl Mezinárodní agenturou pro výzkum rakoviny zahrnut do třídy 2 B (tj. možný karcinogen pro člověka). U zvířat se AFB₁ přeměňuje v játrech na 4-hydroxylovaný metabolit a je vylučován do mléka a moči jako aflatoxin M₁ (AFM₁). Koncentrace AFM₁ závisí na příjmu AFB₁. Když je příjem AFB₁ zastaven, koncentrace AFM₁ je v mléce po 72 hodinách nedetekovatelná (Yitbarek & Tamir 2014). Zhruba 1-3 % požitého AFB₁ se přemění

na AFM₁ (Ushkalov et al., 2020). Obecně platí, že přítomnost aflatoxinů v těle zvířat a lidí způsobuje onemocnění zvané aflatoxikóza, v případě AFM₁ může být specifikována jako aflatoxikóza M1. Postiženým orgánem u savců jsou játra (Shundo et al., 2009, Assaf et al., 2019). Evropská komise (ES) č. 1831/2006, stanovila maximální akceptovatelný limit tohoto aflatoxinu v syrovém mléce, tepelně ošetřeném a mléce pro výrobu mléčných výrobků na 50 ng/kg. Pro zajímavost v USA je to například 500 ng/kg (Omar 2016). Interní limity v některých státech jsou však mnohem přísnější, než udává Evropská komise.

Tabulka 4. Maximální přípustné limity AFM₁ v mléce a mléčných výrobcích v Evropě a interní limity některých zemí (Yitbarek & Tamir 2014, upraveno L. Rejman)

Stát	Max. limit (ng/l)	Typ výrobku
Evropský limit	50	syrové mléko, tepelně ošetřené, mléko pro výrobu mléčných výrobků
Česká republika	500	mléko
	100	mléko pro děti
Rakousko	50	mléko
Německo	50	mléko
Bulharsko	500	mléko
Švédsko	50	tekuté mléčné produkty
Nizozemsko	20	máslo
Švýcarsko	50	mléko
	250	sýr
Belgie	50	mléko
Francie	50	mléko
	30	mléko pro děti do 3. let

7.2 Sekundární metabolismus *Penicillium camemberti*

I startovací kultury se mohou vyskytovat v mléčných výrobcích jako kontaminanty. Kulturní plísně využívané při výrobě zrajících sýrů mohou produkovat nežádoucí sekundární metabolity toxické pro člověka. *P. camemberti* produkuje celou řadu sekundárních metabolitů jako je palitantin, regulovasin A, regulovasin B (Ropars 2022).

7.2.1. Kyselina cyklopiazonová

Nejvýznamnějším toxinem produkovaným *P. camemberti* je kyselina cyklopiazonová, což je neurotoxická a imunosupresivní sloučenina, vyskytující se v mléčných výrobcích především při skladování ve vyšších teplotách. Při nižších skladovacích teplotách je v mléčných výrobcích nestabilní. Toxicita kyseliny cyklopiazonové vede ke zvýšeným svalovým kontrakcím v důsledku inhibičního účinku kalcium dependentní ATPázy (Ropars 2022, Uraz & Özer 2014). Kyselina cyklopiazonová se vyskytuje pouze v kůře na povrchu sýra, protože její kolonie neprorůstají do jádra sýru. Zatím nejsou hlášeny žádné dlouhodobé účinky při konzumaci zrajícího sýra typu Camembert nebo Brie. Pravděpodobně pravidelná konzumace mléčných výrobků s plísní na povrchu nepředstavuje pro konzumenty tak velkou hrozbu. Avšak její detailní působení na lidský organismus ještě nebylo zcela prozkoumáno. Existuje možnost, že to může být způsobeno skutečností, že mnoho dalších metabolitů bude produkováno ve stejnou dobu a že tyto metabolity mohou mít antagonistický účinek, který by neutralizoval nebo inhiboval toxicitu kyseliny cyklopiazonové (Ropars 2022, Uraz & Özer 2014).

7.3 Sekundární metabolismus *Penicillium roqueforti*

Stejně jako *P. camemberti* tak i *P. roqueforti* produkuje sekundární toxické metabolity. Oproti *P. camemberti* jich však produkuje o něco více a je také častějším kontaminantem mléčných potravin. Výskyt této plísně je běžnější, vzhledem k tomu, že se vyskytuje volně v přírodě (Coton et al., 2022).

7.3.1. PR-toxin

Je jedním z nejvíce toxických metabolitů produkovaných *P. roqueforti*, který je často detekován v plísňovém sýru. U zvířat způsobuje zvýšení propustnosti kapilár v důsledku přímého poškození plic, srdce, jater a ledvin. V živočišných buňkách inhibuje syntézu RNA a proteinů, aktivitu DNA polymerázy a také mitochondriální dýchání. Úroveň produkce a stability toxinu je závislá na podmínkách prostředí. PR-toxin v sýrech není stabilní anebo ho je jen velmi malé množství. Vědci se domnívají,

že je to způsobeno mikroaerofilními podmínkami v sýrech, které nepodporují produkci PR-toxinu (Coton et al., 2022, Uraz & Özer 2014).

7.3.2. Roquefortin

Jedná se o relativně slabý neurotoxin, který je ale produkován většinou kmenů *P. roqueforti*. V nedávné studii byl ve Finsku roquefortin detekován ve všech 10 vzorcích sýrů s plísní uvnitř. Má se však za to, že tento toxin nepředstavuje pro konzumenta žádné závažné zdravotní riziko a měla by být konzumace sýrů s plísní *P. roqueforti* bezpečná (Abbas & Dobson 2011). Uvádí se, že v testování na myších způsobuje křečovitě záchvaty. V testování na přežvýkavcích zase způsoboval nervovou slabost a mírné poruchy koordinace (Coton et al., 2022).

7.3.3. Kyselina mykofenolová

Sekundární metabolit, který je produkován mnoha kmeny *P. roqueforti*, má antibiotickou aktivitu proti bakteriím a dermatofytickým houbám a je také známo, že interferuje s virovým množením. Obecně je pro lidi toxicita kyseliny mykofenolové nízká a nepředstavuje tak pravděpodobně riziko pro jejich zdraví. Jsou hlášeny zprávy o toxických účincích na potkanech, kdy se jim perorálně podávala dávka 30 mg/kg, což vedlo k anemii a smrti. Pro snížení růstu *P. roqueforti* produkujícího kyselinu mykofenolovou se účinně využívá tzv. smíšená kultura, používající *Geotrichum candidum* (Abbas & Dobson 2011, Coton et al., 2022).

8 PREVENCE VÝSKYTU MIKROSKOPICKÝCH HUB

Houby jsou v dnešní době významnými kontaminanty potravinového průmyslu. Nežádoucí výskyt mikroskopických hub v potravinách a ve výrobních závodech má za následek velké ekonomické ztráty. Kombinací preventivních a kontrolních metod se snižuje jejich výskyt v mléčných výrobcích. Preventivní metody lze definovat jako metody, kterým se lze vyhnout kontaminaci nebo rekontaminaci během procesu zpracování, balení a skladování hotového výrobku. Dodržování preventivních a kontrolních metod je klíčem úspěchu v mlékárenském průmyslu (Garnier et al., 2017). Velmi důležitý je systém kritických bodů (Hazard Analysis and Critical Control Points), který je povinný pro všechny výrobce potravin, zařízení veřejného stravování a pro všechny obchodníky kteří uvádějí potraviny do oběhu podle zákona č. 110/1997 Sb. o potravinách a tabákových výrobcích (Demnerová 2016).

Výběr nejvhodnějších metod prevence výskytu mikroskopických hub (plísní) je závislý na řadě faktorů. Jedny z hlavních faktorů jsou vlastnosti, složení a vodní aktivita (a_w) produktu. Dále také vlastnosti daných mikroorganismů, kterých se týká sanitace. Významným faktorem jsou podmínky v daném provozu, podmínky během výrobního procesu a procesu skladování a postoj samotných spotřebitelů ke konzervantům potravin (Egmond et al., 2004, Rahman 2007). Schématické znázornění preventivních a kontrolních metod je znázorněno na obr. 2. Preventivní a kontrolní metody používané u mlékárenských produktů (Garnier et al., 2017).

8.1 Preventivní metody

8.1.1. Předvýrobní prevence

Základem úspěchu pro co nejmenší primární kontaminaci mléka a mléčných produktů je používání vhodných agrotechnických opatření během pěstování kulturních plodin. Při kterých je vhodné aplikovat fungicidní prostředky proti

plísním. Přizpůsobit zavlažování klimatickým podmínkám, aby nedocházelo k růstu plísní, které znehodnocují danou plodinu a mohou způsobovat její toxicitu tvorbou mykotoxinů, které mají negativní vliv na organismus. Dále je velmi důležité dbát na prevenci během sklizně a skladování surovin, kdy je nutné provádět pravidelné kontroly teploty a vlhkosti skladovaných surovin, vizuální prohlídky a odstranění kontaminovaných plodin, aby se zabránilo plísňové kontaminaci surovin, ze kterých se vyrábí krmivo pro hospodářská zvířata a tím zajistit zdravotní nezávadnost potravin živočišného původu (Malíř et al., 2003).

8.1.2. Vhodné výrobní a distribuční procesy

Ze studií vyplývá, že jako klíčový se jeví přenos houbových mikroorganismů z prostředí do mléčných potravin, a tak musí být tento přenos co nejvíce redukován (Buehler et al., 2019). Základem úspěchu konzervace potravin je nízká míra počáteční kontaminace, kterou redukuje sanitací, dekontaminací, čistícími procesy a dodržováním hygienických postupů (Sofos 1993). Během výroby a balení mléčných výrobků musí být zajištěny co nejseptičtější podmínky a biologické riziko kontaminace musí být sníženo na minimum (Rysstad a Kolstad 2006). Pro správné výrobní a distribuční praktiky jsou zásadní tyto dva body: 1. Výběr kvalitní suroviny a monitorování výskytu mikroorganismů, 2. Úplné zamezení nebo zpomalení mikrobiálního růstu (Loureiro & Querol 1999). Kvalita a nezávadnost mléčných výrobků musí být kontrolována od výrobního procesu surovin až po hotový produkt, jeho balení a skladování (Sandrou & Arvanitoyannis 2000, Buehler et al., 2019).

8.1.3. Systém HACCP (Hazard Analysis and Critical Control Points)

Systém kritických bodů, který udává, jaké prostředky a postupy jsou nezbytné k tomu, aby se předcházelo nebezpečím, která ohrožují konzumenta ještě předtím, než se mohou projevit (Sandrou a Arvanitoyannis 2000). „*Název nese dvě základní charakteristiky celého systému: analýza nebezpečí narušení zdravotní nezávadnosti určitého potravinářského výrobku nebo pokrmu a identifikace kritických kontrolních a zároveň ochranných bodů v průběhu výroby, zpracování, skladování, přepravy, distribuce a zpracování potravin na pokrmy*“ (Malíř et al., 2003, s. 289).

Systém HACCP zahrnuje sedm principů:

Tabulka 5. Sedm Principů kritických bodů (Sandrou & Arvanitoyannis 2000)

Provedení analýzy nebezpečí
Stanovení a identifikace kritického bodu
Stanovení kritérií a kritických mezí v kritických bodech
Vymezení kontrolních metod ke sledování hodnot v kritických bodech
Stanovení nápravných opatření pro každý kritický bod v případě zjištění odchylek od stanovených hodnot kritérií
Verifikace systému HACCP
Vedení záznamů a dokumentace

8.1.4. Systém filtrace vzduchu a dekontaminace

Potencionálním zdrojem kontaminace může být i okolní vzduch ve kterém se vyskytují spóry plísní. V provozech by měly být zavedeny účinné vzduchové filtry, které jsou navrženy, aby zachytily spóry plísní. Pro omezení proudění vzduchu v provozu je vhodné používat systémy tlakování vzduchu, který zabraňuje proudění vzduchu z kontaminovanějších oblastí do oblastí nejčistších (Garnier et al., 2017). Zejména v dozrávacích místnostech a v místech balení sýrů se zavádí technologie „čistých prostor“, kdy se využívá přetlaku vzduchu, aby se co nejvíce snížila úroveň kontaminace vzduchu v těchto prostorech (Martin et al., 2022). Pro dekontaminaci vzduchu se využívá například plynného ozónu, který v závislosti na dávce a době aplikování snižuje počet plísní a kvasinek (Garnier et al., 2017). Množství plísní a kvasinek ve výrobních mléčných produktech by nemělo být vyšší než 50–100 jednotek plísní a kvasinek na m³ (Martin et al., 2022).

8.2 Kontrolní metody

8.2.1. Inaktivace mikroorganismů

Tepelné úpravy mléka snižují mikrobiální zátěž mléčných výrobků a snižují tak výskyt mikroskopických hub a kvasinek v mléčných výrobcích. Úpravy by měly co nejméně ovlivňovat organoleptické vlastnosti a nutriční hodnoty mléka. Tepelné ošetření musí být šetrné, provedené v určité teplotě a v určitém čase působení. Jedná se především o pasteraci, UHT a sterilaci (Lado & Yousef 2002).

Pasterace je proces, kdy dochází k ohřevu mléka, který nepřekračuje teplotu 100 °C. Tepelné ošetření mléka omezuje počet nežádoucích mikroorganismů a zajišťuje zdravotní nezávadnost a prodloužení trvanlivosti mléka a mléčných produktů. Při tomto procesu dochází k devitalizaci vegetativních forem mikroorganismů, především patogenů, redukci počtu spór a k inaktivaci většiny enzymů. Pasterace se dosahuje podle platné legislativy Nařízením Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004 ve znění nařízení komise (ES) č. 1662/2006 ošetřením: Šetrná pasterace – záhřev na vysokou teplotu po krátkou dobu (nejméně 72 °C po dobu 15 s.), Dlouhodobá pasterace – záhřev nízkou teplotou po dlouhou dobu (nejméně 63 °C po dobu 30 minut) (Janoštová et al., 2012). Produkt se musí po pasteraci bezprostředně zchladit na teplotu 6 – 4 °C, aby se zpomalil mikrobiální růst a prodloužila se jeho doba trvanlivosti (Janoštová et al., 2012, Sakkas et al., 2014). Tato teplota musí být udržována až do samotného zpracování. Provozovatelé potravinářských podniků však mohou mléko uchovávat při vyšších teplotách, ale to pouze v případě, že ke zpracování dojde bezprostředně po nadojení nebo do 4 hodin do přijetí do zpracovatelského podniku (Janoštová et al., 2012). Účinnost pasterizace se vyjadřuje procentním poměrem mezi množstvím „zbylé“ a původní mikroflóry. Za normální účinnost se považuje, nečiní-li množství zbylé a původní mikroflóry více než 0,01 % původního množství. Nejvyšší hranice normy je 0,1 – 0,2 %, vyšší pak značí defekt pasterizačního zařízení nebo sekundární kontaminaci (Skorodumova 1953).

Dalším tepelným ošetřením mléka je UHT (Ultra High Temperature), kde je syrové mléko ošetřeno vysokou teplotou. Toto ošetření zahrnuje souvislé působení tepla po krátkou dobu (nejméně 135 °C s dobou nezbytnou k inaktivaci

mikroorganismů a spór). Díky UHT mohou být výrobky mikrobiologicky stabilní i po inkubaci při 30 °C 15 dní nebo po inkubaci 55 °C 7 dní v uzavřených nádobách (Janoštová et al., 2012).

Sterilizace je proces, kdy je mléko nepřímo tepelně ošetřeno v hermeticky uzavřených obalech nebo nádobách odolných nejméně na teplotu 100 °C (až 115-120 °C po dobu 20-30 minut). Dochází k usmrcení všech mikroorganismů, včetně spór a inaktivaci enzymů a tím je dosaženo sterility mléka. Sterilizace se provádí po naplnění do spotřebitelských obalů (sklo, kov) a jejich hermetickém uzavření. Trvanlivost mléka se tak při pokojové teplotě prodlouží na několik týdnů. (Sakkas et al., 2014).

Některé druhy hub jsou díky rezistenci vůči vysokým teplotám schopné znehodnotit tepelně upravené mléčné výrobky, zejména pasterizované výrobky s přídavkem ovoce (např. jogurty). Druhy vyskytující se v pasterizovaném ovoci, které mohou znehodnotit tento mléčný produkt jsou například *Byssochlamys spectabilis*, *Neosartorya fischeri*, *Geotrichum candidum*, *Talaromyces avellaneus* (Houbraken et al., 2006, Scaramuzza & Berni 2014).

Dále se využívá například ošetření vysokým tlakem, který inaktivuje spóry plísní a kvasinkové buňky (Chawla et al., 2011). Nebo ošetření pomocí pulzního elektrického pole na několik sekund, které je například účinné při inaktivaci *Aspergillus spp.* (Ravishankar et al., 2008, Vijayalakshmi et al., 2018).

8.2.2. Regulace teploty

Pravidelné kontrolování teploty je rozhodující pro kvalitu a trvanlivost mléčných výrobků. V syrovém mléce a nesterilních mléčných výrobcích se využívá nízká teplota k minimalizaci mikrobiálního růstu. Skladování v nízkých teplotách nebo při teplotách nižších než 0 °C však mikroorganismy nelikviduje, ale pouze minimalizuje jejich růst (Sofos 1993). Obvyklá skladovací teplota v provozech je 0 °C–4 °C a 4 °C až 10 °C v domácnostech spotřebitelů. Většina hub je však psychrotrofních a jsou schopné růst a produkovat enzymy za nízkých teplot (Garnier et al., 2017).

8.2.3. Balení v ochranné atmosféře

Balení v ochranné atmosféře je velmi hojně využívaná metoda k prodloužení trvanlivosti mléčných potravin. Proces spočívá v nahrazení vzduchu definovanou směsí plynů a zabránění růstů plísní. Využívají se například i aktivní látky jako například oxid uhličitý nebo lapače kyslíku (siřičitany, E304, E315) (Sandhya 2010). U mnoha rodů (př. *Penicillium*, *Mucor spp.*) může pouze 0% koncentrace vzduchu zcela inhibovat jejich růst (Nguyen et al., 2016). Taková hladina vzduchu však může podpořit fakultativní nebo striktně anaerobní plísně, které jsou kontaminanty, což může mít za následek škodlivý vliv na produkty. Problematické jsou plísňové sýry, u kterých je přítomnost kyslíku nezbytná pro udržení jejich organoleptických vlastností činností pouze „kulturních“ plísní, nikoliv plísní způsobujících kažení (Rodriguez-Aguilera et al., 2011). Nezávisle na druhu houby je k dosažení inhibice růstu plísní nezbytná hladina CO₂ nad 50 % a v závislosti na druhu houby je k úplné inhibici růstu hub v pevných matricích zapotřebí až 50–90 % hladiny CO₂ (Nguyen et al., 2016). Ze současných výzkumů modifikovaných atmosfér je zřejmé, že většina ochranných atmosfér zcela nebrzdí růst, ale doba kažení je zpožděna. Účinky O₂ a CO₂ je však potřeba stále zkoumat, aby se zlepšila účinnost ochranné atmosféry (Garnier et al., 2017).

8.2.4. Chemické konzervační látky

Tyto látky jsou využívány jako přísady v mlékárenském průmyslu, které pomáhají předcházet kažení mléčných potravin bakteriemi nebo plísněmi. Antifungální konzervační látky v mléčných výrobcích zahrnují slabé organické kyseliny, jako je kyselina sorbová, kyselina benzoová a kyselina propionová, a jejich soli, jako je sorbát draselný, sorbát vápenatý, benzoát sodný, benzoát draselný, benzoát vápenatý a propionát sodný, natamycin, polyethylenové antibiotikum (Garnier et al., 2017).

Tabulka 6. Seznam povolených konzervačních látek v mléčných výrobcích v EU (Garnier et al., 2017, upraveno L. Rejman)

Konzervační látka	Mléčný výrobek	Legislativa EU	Kodex EU
Natamycin	Povrch nekrájeného tvrdého, polotvrdého, poloměkkého sýra	1 mg/dm ²	A 235
Kyselina sorbová	Margarín		A 200
	Ochucené fermentované mléko	1 500 mg/kg	
	Tepelně neopracované mléčné dezerty	300 mg/kg	
	Syrovátkové sýry, sýrové výrobky, tavené sýry,	2 000 mg/kg	
	Kyselé mléko, nezrající výrobky, zrající výrobky	1 000 mg/kg	
Sorbát draselný, Sorbát vápenatý	Za studena balený sýr, smetanový sýr, sýrová pomazánka, poloměkké polotučné sýry		E 202, E 203
	Ochucené kysané mléčné výrobky	1 500 mg/kg	
	Tepelně neopracované mléčné dezerty	300 mg/kg	
	Syrovátkové sýry, sýrové výrobky, tavené sýry,	2 000 mg/kg	
	Kyselé mléko, nezrající výrobky, zrající výrobky	1 000 mg/kg	
	Ochucené kysané mléčné výrobky	1 500 mg/kg	
Benzoan sodný	Margarín		A 211
	Ochucené kysané mléčné výrobky	1 500 mg/kg	
	Tepelně neopracované mléčné dezerty	300 mg/kg	
	Syrovátkové sýry, sýrové výrobky, tavené sýry,	2 000 mg/kg	
	Kyselé mléko, nezrající výrobky, zrající výrobky	1 000 mg/kg	
Benzoan draselný, Benzoan vápenatý	Ochucené kysané mléčné výrobky	1 500 mg/kg	E 212, E 213
	Tepelně neopracované mléčné dezerty	300 mg/kg	
	Syrovátkové sýry, sýrové výrobky, tavené sýry,	2 000 mg/kg	
	Kyselé mléko, nezrající výrobky, zrající výrobky	1 000 mg/kg	
Kyselina propionová	Zrající sýr		A 280
Propionát sodný	Sýry a zrající sýry		A 281

8.2.5. Kvašení

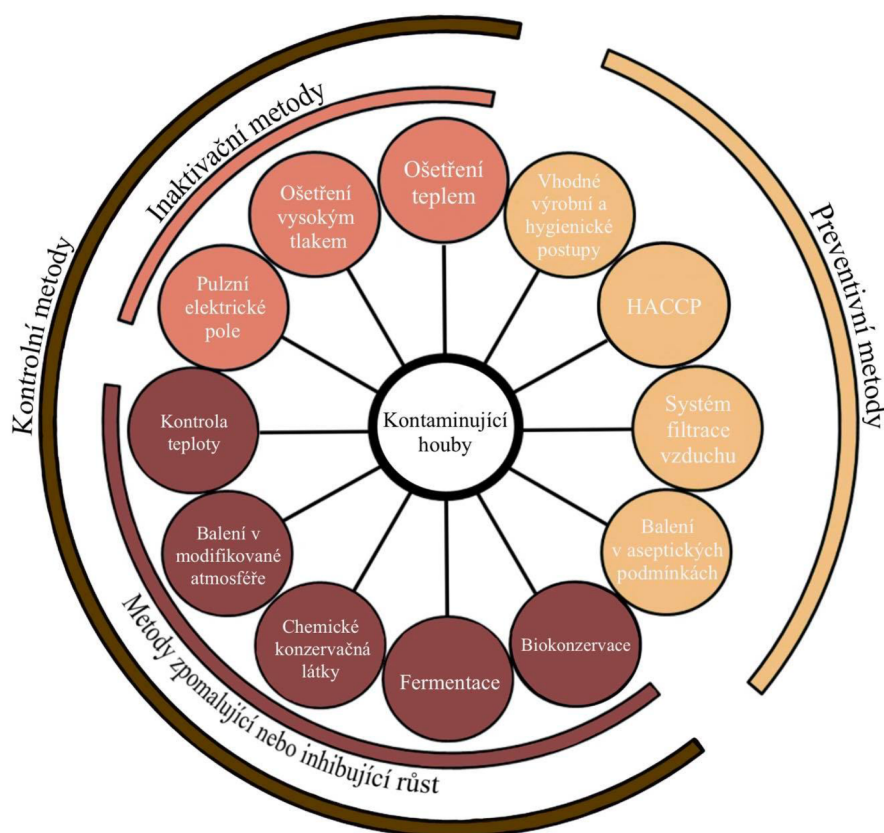
Biologický proces specifických mikroorganismů produkujících určité metabolity s antifungálním a antibakteriálním účinkem (Caplice & Fitzgerald 1999, Ross et al., 2002). Využívají se různé mikrobiální skupiny k výrobě mléčných produktů, které mohou potlačovat nebo zpomalovat růst nežádoucích plísní. U některých typů mléčných výrobků se využívá komplexní mikroflóry složené z žádoucích aerobních bakterií a hub, které mohou být kompetičně silnější než nežádoucí mikroorganismy. Použití bioprotektivních kultur a fermentátů získává stále větší zájem u veřejnosti (Garnier et al., 2017).

8.2.6. Bioprotektivní kultury

Na trhu je stále větší poptávka po přírodních řešeních, které zajišťují bezpečnost

a trvanlivost potravin. Bio konzervace je již tisíce let využívaný koncept konzervace (fermentace). Rostoucí poptávka po potravinách bez konzervačních látek dává tak možnost novým řešením přírodní konzervace (Garnier et al., 2017). Bakteriální nebo plísňové kmeny využíváme pro jejich antimikrobiální vlastnosti. Na rozdíl od startovacích kultur tyto kmeny neovlivňují aroma, texturu a barvu dané potraviny (Magnusson & Schnürer 2001, Lassois et al., 2008).

Bakterie mléčného kvašení (např. *Enterococcus avium*, *Bifidobacterium animalis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis*, *Lactobacillus acidophilus*) mají inhibiční účinky na produkci některých aflatoxinů v potravinách a krmivech a dokážou je také odstranit. Úspěšnost vazby aflatoxinů u kmenů bakterií mléčného kvašení závisí na pH, teplotě a matici (Peles et al., 2021).



Obrázek 2. Preventivní a kontrolní metody používané u mlékárenských produktů (Garnier et al., 2017, upraveno V. Radová).

9 DISKUZE

Kulturní plísně jsou využívány v potravinářském průmyslu již několik tisíc let, v moderních biotechnologiích se využívá řada plísňových kultur, které mají pozitivní vliv na výrobu mléčných výrobků. Avšak i tyto kulturní plísně jsou schopné produkovat nežádoucí mykotoxiny, které mohou mít negativní dopad na lidské zdraví. Tento problém se týká především sýrů s plísní na povrchu a s plísní uvnitř. Negativní působení kulturních plísní v mléčných výrobcích je stále málo prozkoumáno a nevěnuje se jim taková pozornost jako vlivům pozitivním, které se využívají ve výrobní technologii některých mléčných produktů. Působení mykotoxinů produkovaných kulturními plísněmi je testováno především na myších a potkanech. Například kyselina mykofenolová, která je produktem *Penicillium roqueforti* způsobovala u těchto zvířat anemii a smrt. Bylo by vhodné detailněji zkoumat sekundární metabolismus a jeho produkty u tzv. startovacích kultur (např. *Penicillium camemberti*, *P. roqueforti*), které jsou hojně využívány při výrobě plísňových sýrů, a právě tyto jejich produkty metabolismu mohou mít negativní dopady na lidské zdraví. Ačkoliv se dlouhodobá konzumace plísňových sýrů nejeví jako zdraví škodlivá, je zde potenciaální riziko ohrožení zdraví konzumenta například při skladování mléčného produktu při vyšší teplotě než u samotného výrobce. Nabízí se otázka, zda by nebylo vhodné některé přípustné limity mykotoxinů v mléčných výrobcích zpřísnit a podrobně zkoumat působení sekundárních metabolitů na člověka.

Ke kontaminaci mikroskopickými plísněmi dochází již v samotných chovech zvířat, kdy jsou zvířata krmena kontaminovaným krmivem. Této primární kontaminaci by se dalo vyvarovat přísnějším dodržováním opatření během skladování a podávání krmiva v chovech. K sekundární kontaminaci dochází především během výrobního procesu a procesu skladování. V případě, že by se zpřísnili kontroly nad dodržování preventivních a kontrolních opatření, mohl by se výskyt mikroskopických hub v mléčných produktech ještě více minimalizovat a mohlo by tak dojít k prodloužení doby trvanlivosti mléčných výrobků a oddálit jeho kažení. Tím ještě více eliminovat potenciaální negativní dopady na lidské zdraví a ekonomické ztráty.

10 ZÁVĚR

Tato bakalářská práce shrnuje běžně se vyskytující plísně v mléčných produktech, a to jak kulturní plísně s pozitivním vlivem na výrobu, tak i plísně které tyto produkty kontaminují a způsobují jejich kažení a snižování trvanlivosti. Uvádí jejich základní růstové charakteristiky a faktory, které ovlivňují jejich výskyt v potravinách. Shrnuje význam využití nejběžnějších kulturních kmenů plísni, ale upozorňuje i na potencionální riziko produkovaných metabolitů těchto plísni. V práci jsou popsány nejběžnější způsoby kontaminace plísněmi, které se běžně vyskytují v prostředí a způsobují nám snižování jakosti mléčných potravin a jejich kažení.

Je pouze malé množství žádoucích kulturních kmenů s pozitivním vlivem na mléčné produkty. Již několik desítek let se využívají stejné nebo obdobné plísňové kultury, které nám především zlepšují aroma a chuť sýrů. I tyto kmeny kulturních plísni mohou v mléčných produktech produkovat nežádoucí toxické sekundární metabolity, které mohou mít negativní vlivy na lidské zdraví. Literární rešerše stávajících poznatků odhalila některé málo prozkoumané oblasti právě těchto mykotoxinů, které jsou produkovány kulturními plísněmi. Jsou již několik desítek let známé výskyty těchto metabolitů u těchto plísňových kultur, avšak jejich stabilita v mléčném výrobku a působení na lidský organismus dodnes není zcela probádané téma.

Kontaminujících plísni je opravdu velké množství a mohou se vyskytovat téměř ve všech mléčných výrobcích. Tyto plísně snižují jakost mléčných výrobků a způsobují jejich kažení a tím způsobují značné ekonomické ztráty. Nežádoucí produkce mykotoxinů v mléčných výrobcích má negativní dopady na lidské zdraví a je důležité, aby tyto metabolity byly včas odhaleny a nedocházelo k jejich konzumaci v potravině.

Plísně kontaminující potraviny představují globální problém. Je známo, že kontaminacím nelze zcela zabránit a s ohledem na jejich působení v mléčných výrobcích, je nezbytné pravidelně provádět vhodná preventivní a kontrolní opatření k minimalizaci jejich výskytu.

11 SEZNAM LITERATURY

- ABBAS, A. DOBSON, A. D. W. 2011: *Yeasts and Molds: Penicillium roqueforti*. In: *Encyclopedia of Dairy Sciences* [online cit. 22. 4. 2022]. B.m.: Elsevier, s. 772–775. ISBN 978-0-12-374407-4. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-374407-4.00363-0
- ALAHLAH, N., EL MAADOUDI, M., BOUHRITI, N., TRIQUI, R., BOUGTAIB, H. 2020: *Aflatoxin M1 in UHT and powder milk marketed in the northern area of Morocco*. *Food Control* [online cit. 6. 3. 2022]. **114**, 107262. ISSN 09567135. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodcont.2020.107262
- ARAN, N. EKE, D. 1987: *Mould mycoflora of Kaşar cheese at the stage of consumption*. *Food Microbiology* [online cit. 12. 5. 2022]. **4**(2), 101–104. ISSN 07400020. Dostupné z: doi:10.1016/0740-0020(87)90024-4
- ASSAF, J. C., NAHLE, S., CHOKR, A., LOUKA, N., ATOUI, A., EL KHOURY, A. 2019: *Assorted Methods for Decontamination of Aflatoxin M1 in Milk Using Microbial Adsorbents*. *Toxins* [online cit. 22. 4. 2022]. **11**(6). ISSN 2072-6651. Dostupné z: doi:10.3390/toxins11060304
- BAROILLER, C., SCHMIDT, J. L., LAPADU-HARGUES, M. 1990: *Contribution à l'étude de l'origine des levures du fromage de Camembert*. *Le Lait* [online cit. 15. 4. 2022]. **70**(1), 67–84. ISSN 0023-7302. Dostupné z: doi:10.1051/lait:199017
- BATT, C. A., TORTORELLO, M. L. 2014: *Encyclopedia of food microbiology*. 2. ed. Amsterdam: AP, Academic Press/Elsevier [online cit. 10. 4. 2022]. ISBN 978-0-12-384733-1.
- BECKER-ALGERI, T. A., CASTAGNARO, D., BORTOLI, K., SOUZA, C., DRUNKLER, D. A., BADIALE-FURLONG, E. 2016: *Mycotoxins in Bovine Milk and Dairy Products: A Review*. *Journal of Food Science* [online cit. 12. 4. 2022]. **81**(3), R544–R552. ISSN 0022-1147, 1750-3841. Dostupné z: doi:10.1111/1750-3841.13204
- BENNETT, J.W, 1998: *Mycotechnology: the role of fungi in biotechnology Based on a lecture held at the symposium, 'Progress in US Biotechnology', at the 8th European Congress on Biotechnology (ECB8) in Budapest, Hungary, August 1997.1*. *Journal of Biotechnology* [online cit. 2. 4. 2022]. **66**(2–3), 101–107. ISSN 01681656. Dostupné z: doi:10.1016/S0168-1656(98)00133-3
- BENNETT, J. W., KLICH, M. 2003: *Mycotoxins*. *Clinical Microbiology Reviews* [online cit. 6. 3. 2022]. **16**(3), 497–516. ISSN 0893-8512, 1098-6618. Dostupné z: doi:10.1128/CMR.16.3.497-516.2003
- BOKULICH, N. A., MILLS, D. A. 2013: *Facility-Specific "House" Microbiome Drives Microbial Landscapes of Artisan Cheesemaking Plants*. *Applied and Environmental Microbiology* [online]. **79**(17), 5214–5223. ISSN 0099-2240, 1098-5336. Dostupné z: doi:10.1128/AEM.00934-13

- BUEHLER, A.J., EVANOWSKI R.L., WIEDMANN, M., MARTIN, N.H. 2019: *Internal transcribed spacer (ITS) sequence-based characterization of fungal isolates from multiple yogurt facilities—A case study*. *Journal of Dairy Science* [online cit. 12. 2. 2022]. **102**(4), 3646–3653. ISSN 00220302. Dostupné z: doi:10.3168/jds.2018-15636
- BULLERMAN, L.B. 1981: *Public Health Significance of Molds and Mycotoxins in Fermented Dairy Products*. *Journal of Dairy Science* [online cit. 23. 4. 2022]. **64**(12), 2439–2452. ISSN 00220302. Dostupné z: doi:10.3168/jds.S0022-0302(81)82869-X
- CAPLICE, E., FITZGERALD, G. F. 1999: *Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation*. *International Journal of Food Microbiology* [online cit. 3.3. 2022]. **50**(1), 131–149. ISSN 0168-1605. Dostupné z: doi:10.1016/S0168-1605(99)00082-3
- CATELLANI, P., MIOTTI SCAPIN, R., ALBERGHINI, L., RADU, I. L., GIACCONE, V. 2014: *Levels of microbial contamination of domestic refrigerators in Italy*. *Food Control* [online cit. 16. 4. 2022]. **42**, 257–262. ISSN 09567135. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodcont.2014.02.025
- COTON, E., JANY, J. L., COTON, M., 2022: *Penicillium roqueforti*. In: Paul L.H. MCSWEENEY a John P. MCNAMARA, ed. *Encyclopedia of Dairy Sciences (Third Edition)* [online cit. 22. 4. 2022]. Oxford: Academic Press, s. 599–606. ISBN 978-0-12-818767-8. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-08-100596-5.01092-1
- CREPPY, E. E. 2002: *Update of survey, regulation and toxic effects of mycotoxins in Europe*. *Toxicology Letters* [online cit. 2. 4. 2022]. **127**(1–3), 19–28. ISSN 03784274. Dostupné z: doi:10.1016/S0378-4274(01)00479-9
- DAOU, R., AFIF, CH., JOUBRANE, K., KHABBAZ, L. R., MAROUN, R., ISMAIL, A., EL KHOURY, A. 2020: *Occurrence of aflatoxin M1 in raw, pasteurized, UHT cows' milk, and dairy products in Lebanon*. *Food Control* [online cit. 6. 3. 2022]. **111**, 107055. ISSN 09567135. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodcont.2019.107055
- DEMNEROVÁ, K. 2016: *Laboratoř mikrobiologického zkoumání potravin*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 122 str., ISBN 978-80-7080-957-0.
- DEMOULIN, V. 1985: *The red algal-higher fungi phylogenetic link: The last ten years*. *Biosystems* [online cit. 28. 2. 2022]. **18**(3), 347–356. ISSN 0303-2647. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/0303-2647(85)90034-6
- DOLEŽÁLEK, J. 1958: *Přednášky z mlékařské mikrobiologie*. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, fakulta potravinářské technologie. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1958, 284 s.
- EGMOND, H. P., JONKER, M. A. 2004: *Food and Agriculture organization of the United Nations, ed., 2004. Worldwide regulations for mycotoxins in food and feed in 2003*. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAO food and nutrition paper, 81. ISBN 978-92-5-105162-7.

- FEDLU, M. 2019: *Aflatoxin and its Public Health Significance: A Review*. *Journal of Dairy & Veterinary Sciences* [online cit. 1. 4. 2022]. **12**(3). ISSN 25732196. Dostupné z: doi:10.19080/JDVS.2019.12.555837
- FILTENBORG, O., FRISVAD, J. C., THRANE, U. 1996: *Moulds in food spoilage*. *International Journal of Food Microbiology* [online cit. 13. 5. 2022]. **33**(1), 85–102. ISSN 01681605. Dostupné z: doi:10.1016/0168-1605(96)01153-1
- FRIAS, J., MARTINEZ-VILLALUENGA, C., PEÑAS, E. 2017: *Fermented foods in health and disease prevention*. Amsterdam ; San Diego, CA: Academic Press. ISBN 978-0-12-802309-9.
- FRÖHLICH-WYDER, M.T., ARIAS-ROTH, E., JAKOB, E. 2019: *Cheese yeasts*. *Yeast* [online cit. 24. 4. 2022]. ISSN 0749503X. Dostupné z: doi:10.1002/yea.3368
- GARNIER, L., FLORENCE, V., MOUNIER, J. 2017: *Diversity and Control of Spoilage Fungi in Dairy Products: An Update*. *Microorganisms* [online cit. 9. 2. 2022], **5**(3), 42. ISSN 2076-2607. Dostupné z: doi:10.3390/microorganisms5030042.
- HASSANIN, N. I. 1993: *Detection of mycotoxigenic fungi and bacteria in processed cheese in Egypt*. *International Biodeterioration & Biodegradation* [online cit. 2. 5. 2022]. **31**(1), 15–23. ISSN 09648305. Dostupné z: doi:10.1016/0964-8305(93)90011-P
- HOUBRAKEN, J., SAMSON R. A., FRISVAD, J. C. 2006: *Byssochlamys: significance of heat resistance and mycotoxin production*. [online cit. 12. 2. 2022]. Boston, MA: Springer US, *Advances in Experimental Medicine and Biology*, s. 211–224 [vid. 2022-02-16]. ISBN 978-0-387-28385-2. Dostupné z: doi:10.1007/0-387-28391-9_14
- HUIS IN'T VELD, J. H.J. 1996: *Microbial and biochemical spoilage of foods: an overview*. *International Journal of Food Microbiology* [online cit. 2. 4. 2022]. **33**(1), 1–18. ISSN 01681605. Dostupné z: doi:10.1016/0168-1605(96)01139-7
- CHAWLA, R., PATIL, G. R., SINGH, A. K. 2011: *High hydrostatic pressure technology in dairy processing: a review*. *Journal of Food Science and Technology* [online cit. 13. 2. 2022]. **48**(3), 260–268. ISSN 0022-1155, 0975-8402. Dostupné z: doi:10.1007/s13197-010-0180-4
- JANOŠTOVÁ, B., VORLOVÁ, L., NAVRÁTILOVÁ, P., KRÁLOVÁ, M., NECIDOVÁ, L., MAŘICOVÁ E. 2012: *Technologie mléka a mléčných výrobků*. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita 143 s. ISBN 978-80-7305-637-7
- JESENSKÁ, Z. 1987: *Mikroskopické huby v poživatinách a v krmivách*. Bratislava: Alfa, 320 s.
- JODRAL, M., LIÑAN, E., ACOSTA, I., GALLEGO, C., ROJAS, F., BENTABOL, A. 1993: *Mycoflora and toxigenic Aspergillus flavus in Spanish milks*. *International Journal of Food Microbiology* [online cit. 4. 5. 2022]. **18**(2), 171–174. ISSN 01681605. Dostupné z: doi:10.1016/0168-1605(93)90222-3

KALINA, T., VÁŇA, J. 2005: Sinice, řasy, houby, mechorosty a podobné organismy v současné biologii. Praha: Univerzita Karlova, nakladatelství Karolinum, 606 s., 32 s. barev. obr. příl. : il. ; 25 cm. ISBN 80-246-1036-1.

KURE, C. F. SKAAR, I. 2019: *The fungal problem in cheese industry. Current Opinion in Food Science* [online cit. 7. 3. 2022]. **29**, 14–19. ISSN 2214-7993. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.07.003>

LACIAKOVÁ, A., ČONKOVÁ, E., MALÍŘ, F., OSTRÝ, V., PIPOVÁ, M., MATÉ, D., PIECKOVÁ, E., TKÁČIKOVÁ, S., VÝROSTKOVÁ, J. 2011: *Mikroskopické vláknité huby a mykotoxiny v potravinách a krmivách*. Košice: Univerzita veterinárskeho lekárstva a farmácie. 278 s. ISBN 978-80-8077-252-9.

LADO, B. H., AHMED E. Y. 2002: *Alternative food-preservation technologies: efficacy and mechanisms. Microbes and Infection* [online cit. 15. 2. 2022]. **4**(4), 433–440. ISSN 1286-4579. Dostupné z: doi:[https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(02\)01557-5](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(02)01557-5)

LASSOIS, L., DE LAPEYRE DE BELLAIRE, L., JIJAKLI, M. H. 2008: *Biological control of crown rot of bananas with Pichia anomala strain K and Candida oleophila strain O. Biological Control* [online 7. 3. 2022]. **45**(3), 410–418. ISSN 1049-9644. Dostupné z: doi:[doi:10.1016/j.biocontrol.2008.01.013](https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2008.01.013)

LOUREIRO, V., QUEROL, A. 1999: *The prevalence and control of spoilage yeasts in foods and beverages. Trends in Food Science & Technology*. **10**(11), 356–365. ISSN 0924-2244.

LUKÁŠOVÁ, J., BURDOVÁ, O., HOLEC, J., LINHARTOVÁ, E., VEČEREK, V. 2001: *Hygiena a technologie mléčných výrobků*. 1. vyd. Brno: VFU Brno, 180 s.

MAGNUSSON, J., SCHNÜRER, J. 2001: *Lactobacillus coryniformis subsp. coryniformis Strain Si3 Produces a Broad-Spectrum Proteinaceous Antifungal Compound. Applied and Environmental Microbiology* [online cit. 7. 3. 2022]. **67**(1), 1–5. ISSN 0099-2240, 1098-5336. Dostupné z: doi:[doi:10.1128/AEM.67.1.1-5.2001](https://doi.org/10.1128/AEM.67.1.1-5.2001)

MALÍŘ, F., OSTRÝ V. 2003: *Vláknité mikromycety (plísňe), mykotoxiny a zdraví člověka*. Brno: Národní centrum ošetrovatelství a nelékařských zdravotnických oborů, 349 s. ISBN 80-7013-395-3.

MARTIN N.H., SNYDER A., WIEDMANN M. 2022: *Spoilage Mold in Dairy Products Encyclopedia of Dairy Sciences* [online cit. 14. 2. 2022]. Oxford: Academic Press, s. 607–610. ISBN 978-0-12-818767-8. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100596-5.23017-5>

MOLIMARD, P., LESSCHAEVE, S., BROUSSE, M., SPINNLER, H. E. 1997: *Effect of the association of surface flora on the sensory properties of mould-ripened cheese. Le Lait* [online cit. 23. 4. 2022]. **77**(1), 181–187. ISSN 0023-7302. Dostupné z: doi:[doi:10.1051/lait:1997112](https://doi.org/10.1051/lait:1997112)

- MONEY, N. P. 2016: *Fungi and Biotechnology*. In: *The Fungi* [online cit. 2. 4. 2022]. B.m.: Elsevier, s. 401–424 [vid. 2022-04-27]. ISBN 978-0-12-382034-1. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-382034-1.00012-8
- MONTAGNA, M.T., SANTACROCE, M. P., SPILOTROS, G., NAPOLI, C., MINERVINI, F., PAPA A., DRAGONI, I. 2004: *Investigation of Fungal Contamination in Sheep and Goat Cheeses in Southern Italy. Mycopathologia* [online cit. 2. 5. 2022]. **158**(2), 245–249. ISSN 0301-486X. Dostupné z: doi:10.1023/B:MYCO.0000041897.17673.2c
- MOUBASHER, A. H., ABDEL-KADER, M. I. A. EL-KADY, I. A. 1979: *Toxigenic fungi isolated from roquefort cheese. Mycopathologia* [online cit. 3. 5. 2022]. **66**(3), 187–190. ISSN 0301-486X, 1573-0832. Dostupné z: doi:10.1007/BF00683970
- MOUDGIL, P., BEDI, J. S., AULAKH, R. S., GILL, J. P. S. 2019: *Antibiotic residues and mycotoxins in raw milk in Punjab (India): a rising concern for food safety. Journal of Food Science and Technology* [online cit 29. 3. 2022]. **56**(11), 5146–5151. ISSN 0975-8402. Dostupné z: doi:10.1007/s13197-019-03963-8
- OMAR, S. S. 2016: *Aflatoxin M1 levels in raw milk, pasteurized milk and infant formula. Italian Journal of Food Safety* [online cit 10. 4. 2022]. **5**(3) [vid. 2022-04-26]. ISSN 2239-7132. Dostupné z: doi:10.4081/ijfs.2016.5788
- OORAIKUL, B., STILES, M. E. 1991: *Modified atmosphere packaging of food*. 1. publ. New York: Horwood. Ellis Horwood series in food science and technology. ISBN 978-0-7476-0064-0.
- OSTRÝ, V., KÝROVÁ, V. 2017: *Toxigenní vláknité mikroskopické houby a mykotoxiny v potravinách. Živa* 5/2017 str. 133-135. [online cit. 7. 3. 2022]
- PELES, F., SIPOS, P., KOVÁCS, S., GYŐRI, Z., PÓCSI, I., PUSZTAHELYI, T. 2021: *Biological Control and Mitigation of Aflatoxin Contamination in Commodities. Toxins* [online cit. 22. 4. 2022]. **13**(2), 104. ISSN 2072-6651. Dostupné z: doi:10.3390/toxins13020104
- PITT, J. I., HOCKING, A. D. 1997: *Primary Keys and Miscellaneous Fungi*. In: J. I. PITT a A. D. HOCKING, ed. *Fungi and Food Spoilage* [online cit. 2. 4. 2022]. Boston, MA: Springer US, s. 59–171. ISBN 978-1-4615-6391-4. Dostupné z: doi:10.1007/978-1-4615-6391-4_5
- PITT, J. I. HOCKING, A. D. 2009: *Fungi and Food Spoilage* [online cit. 12. 5. 2022]. Boston, MA: Springer US [vid. 2022-05-19]. ISBN 978-0-387-92206-5. Dostupné z: doi:10.1007/978-0-387-92207-2
- PLOCKOVÁ, M., BŘEZINA, P. 1988: *Mikrobiologie mléka a tuků*. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 228 s.

- PRADO, M. R., BLANDÓN, L. M., VANDENBERGHE, L. P. S., RODRIGUES, C., CASTRO, G. R., THOMAZ-SOCCOL, V., SOCCOL, C. R. 2015: *Milk kefir: composition, microbial cultures, biological activities, and related products*. *Frontiers in Microbiology* [online cit. 21. 3]. **6** [vid. 2022-04-26]. ISSN 1664-302X. Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2015.01177
- RAHMAN, M., S. 2007: *Handbook of food preservation*. Boca Raton (Fla.): CRC press. Food science and technology, 167. ISBN 978-1-57444-606-7.
- ROPARS, J. 2022: *Penicillium camemberti*. In: *Encyclopedia of Dairy Sciences* [online cit. 26. 4. 2022]. B.m.: Elsevier, s.593–598 ISBN 978-0-12-818767-8. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-08-100596-5.01091-X
- ROSS, R. P., MORGAN S., HILL, C. 2002: *Preservation and fermentation: past, present and future*. *International Journal of Food Microbiology* [online cit. 3. 3. 2022]. **79**(1), 3–16. ISSN 0168-1605. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/S0168-1605(02)00174-5
- RYSSTAD, G., KOLSTAD, J. 2006: *Extended shelf life milk-advances in technology*. *International Journal of Dairy Technology* [online cit. 15. 2. 2022]. **59**(2), 85–96. ISSN 1364727X, 1471-0307. Dostupné z: doi:10.1111/j.1471-0307.2006.00247.x
- SAKKAS, L., MOUTAFI, A., MOSCHOPOULOU, E., MOATSOU, G. 2014: *Assessment of heat treatment of various types of milk*. *Food Chemistry* [online cit. 15. 2. 2022]. **159**, 293–301. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2014.03.020
- SANDHYA, S. 2010: *Modified atmosphere packaging of fresh produce: Current status and future needs*. *LWT - Food Science and Technology* [online cit. 2. 3. 2022]. **43**(3), 381–392. ISSN 00236438. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2009.05.018
- SANDROU, D. K., ARVANITTOYANNIS, I. S. 2000: *Implementation of Hazard Analysis Critical Control Points (HACCP) to the dairy industry: Current status and perspectives*. *Food Reviews International* [online cit. 10. 2. 2022]. **16**(1), 77–111. ISSN 8755-9129, 1525-6103. Dostupné z: doi:10.1081/FRI-100100283
- SCARAMUZZA, N., BERNI, E. 2014: *Heat-resistance of Hamigera avellanea and Thermoascus crustaceus isolated from pasteurized acid products*. *International Journal of Food Microbiology* [online cit. 12. 2. 2022]. **168–169**, 63–68. ISSN 01681605. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2013.10.007
- SHEPHARD, G. S. 2008: *Impact of mycotoxins on human health in developing countries*. *Food Additives & Contaminants: Part A* [online cit. 4. 5. 2022]. **25**(2), 146–151. ISSN 1944-0049, 1944-0057. Dostupné z: doi:10.1080/02652030701567442

SHUNDO, L., NAVAS, S. A., LAMARDO, L. C. A., RUVIERI, V., SABINO, M. 2009: *Estimate of aflatoxin M1 exposure in milk and occurrence in Brazil*. *Food Control* [online cit. 2. 4. 2022]. **20**(7), 655–657. ISSN 09567135. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodcont.2008.09.019

SCHÖN, K., SCHORNSTEINER, E., DZIECIOL, M., WAGNER, MÜLLER, M., SCHMITZ-ESSER, M. S. 2016: *Microbial communities in dairy processing environment floor-drains are dominated by product-associated bacteria and yeasts*. *Food Control* [online cit. 12. 4. 2022]. **70**, 210–215. ISSN 09567135. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodcont.2016.05.057

SKORODUMOVA, A. M., 1953: *Technická mikrobiologie mléka a mléčných výrobků*. 2. vyd. Praha: SZN, 276 s.

SOFOS, J. N. 1993: *Current microbiological considerations in food preservation*. *International Journal of Food Microbiology* [online cit. 8. 2. 2022]. **19**(2), 87–108. ISSN 01681605. Dostupné z: doi:10.1016/0168-1605(93)90176-H

SPATAFORA, J.W., CHANG, Y., BENNY, G. L., LAZARUS, K., SMITH, M. E., BERBEE, M. L., BONITO, G., CORRADI, N., GRIGORIEV, I., GRYGANSKYI, A., JAMES, T. Y., O'DONNELL, K., ROBERSON, R. W., TAYLOR, T. N., UEHLING, J. R., VILGALYS, WHITE M. M., STAJICH, J. E. 2016: *A phylum-level phylogenetic classification of zygomycete fungi based on genome-scale data*. *Mycologia* [online cit. 7. 3. 2022]. **108**(5), 1028–1046. Dostupné z: doi:10.3852/16-042

SURIYARACHCHI, V. R., FLEET, G. H. 1981: *Occurrence and Growth of Yeasts in Yogurts*. *Applied and Environmental Microbiology* [online cit. 12. 4. 2022]. **42**(4), 574–579. ISSN 0099-2240, 1098-5336. Dostupné z: doi:10.1128/aem.42.4.574-579.1981

ŠIPOŠOVÁ, P., KOŇUCHOVÁ, M., VALÍK, L., TREBICHA VSKÁ, M., MEDVEĎOVÁ, A. 2021: *Quantitative Characterization of Geotrichum candidum Growth in Milk*. *Applied Sciences* [online cit. 23. 4. 2022]. ISSN 2076-3417. Dostupné z: doi:10.3390/app11104619

TRANQUILLINI, R., SCARAMUZZA, N., BERNI, E. 2017: *Occurrence and ecological distribution of Heat Resistant Moulds Spores (HRMS) in raw materials used by food industry and thermal characterization of two Talaromyces isolates*. *International Journal of Food Microbiology* [online cit. 15. 4. 2022]. **242**, 116–123. ISSN 01681605. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2016.11.023

ÜNÜSAN, N. 2019: *Systematic review of mycotoxins in food and feeds in Turkey*. *Food Control* [online cit. 6. 3. 2022]. **97**, 1–14. ISSN 09567135. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodcont.2018.10.015

URAZ, T., ÖZER, B. H. 2014: *Starter cultures | Molds Employed in Food Processing*. In: *Encyclopedia of Food Microbiology* [online cit. 10. 3. 2022]. B.m.: Elsevier, s. 522–528 [vid. 2022-03-15]. ISBN 978-0-12-384733-1. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-384730-0.00323-2

USHKALOV, V, DANCHUK, V., MIDYK, S., VOLOSHCHUK, N., DANCHUK, O., 2020: *Mycotoxins in milk and dairy products. Food Science and Technology* [online cit. 6. 3. 2022]. **14**(3) [vid. 2022-03-07]. ISSN 2409-7004, 2073-8684. Dostupné z: doi:10.15673/fst.v14i3.1786

VACHEYROU, M., NORMAND, A. N., GUYOT, P., CASSAGNE, C., PIARROUX, R., BOUTON, Y. 2011: *Cultivable microbial communities in raw cow milk and potential transfers from stables of sixteen French farms. International Journal of Food Microbiology* [online cit. 10. 4. 2022]. **146**(3), 253–262. ISSN 01681605. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijfoodmicro.2011.02.033

VAZ, A., CABRAL SILVA, A. C., RODRIGUES, P., VENÂNCIO, A. 2020: *Detection Methods for Aflatoxin M1 in Dairy Products. Microorganisms* [online cit. 2. 5. 2022]. **8**(2), 246. ISSN 2076-2607. Dostupné z: doi:10.3390/microorganisms8020246

VIEGAS, S., ASSUNÇÃO, R., TWARUŻEK, M., KOSICKI, R., GRAJEWSKI, J., VIEGAS, C. 2020: *Mycotoxins feed contamination in a dairy farm – potential implications for milk contamination and workers' exposure in a One Health approach. Journal of the Science of Food and Agriculture* [online cit. 15. 3. 2022]. **100**(3), 1118–1123. ISSN 0022-5142, 1097-0010. Dostupné z: doi:10.1002/jsfa.10120

VIJAYALAKSHMI, S., NADANASABHAPATHI, S., KUMAR, R., SUNNY KUMAR, S. 2018: *Effect of pH and pulsed electric field process parameters on the aflatoxin reduction in model system using response surface methodology: Effect of pH and PEF on Aflatoxin Reduction. Journal of Food Science and Technology* [online cit. 25.4. 2022]. **55**(3), 868–878. ISSN 0022-1155, 0975-8402. Dostupné z: doi:10.1007/s13197-017-2939-3

WESTALL, S., FILTENBORG, O. 1998: *Spoilage yeasts of decorated soft cheese packed in modified atmosphere. Food Microbiology* [online cit. 10. 5. 2022]. **15**(2), 243–249. ISSN 07400020. Dostupné z: doi:10.1006/fmic.1997.0162

WU, F., KHLANGWISSET, P. 2010: *Health economic impacts and cost-effectiveness of aflatoxin-reduction strategies in Africa: case studies in biocontrol and post-harvest interventions. Food Additives & Contaminants: Part A* [online cit. 1. 4. 2022]. **27**(4), 496–509. ISSN 1944-0049. Dostupné z: doi:10.1080/19440040903437865

Yitbarek M. B., Tamir, B. 2014: *Mycotoxines and/or aflatoxines in milk and milk products: review. American Scientific Research Journal for Engineering, Technology and Sciences* [online cit. 2. 4. 2022]

Seznam obrázků:

Obrázek 1. Aflatoxin B ₁ a Aflatoxin M ₁	19
Obrázek 2. Preventivní a kontrolní metody používané u mlékárenských produktů k prevenci, inaktivaci, zpomalení a inhibici hub způsobujících kažení (Garnier et al., 2017, upraveno V. Radová).....	30

Seznam tabulek:

Tabulka 1. Všeobecné charakteristiky pro růst hub (upraveno podle Ostrý, 1988)	7
Tabulka 2. Kulturní plísňe využívané v mlékárenském průmyslu	11
Tabulka 3. Vybrané druhy <i>Penicillium</i> na sýrech podle zemí (Kure & Skaar 2019, upraveno L. Rejman)	15
Tabulka 4. Maximální přípustné limity AFM ₁ v mléce a mléčných výrobcích v Evropě a interní limity některých zemí (Yitbarek & Tamir 2014, upraveno L. Rejman)	20
Tabulka 5. Sedm Principů kritických bodů (Sandrou & Arvanitoyannis 2000).....	25
Tabulka 6. Seznam povolených konzervačních látek v mléčných výrobcích v EU (Garnier et al., 2017, upraveno Rejman).....	29

Přílohy

Tabulka 7. Kontaminující mikroskopické plísně izolované z mléčných produktů (Garnier et al., 2017, upraveno L. Rejman)

Druh	Výskyt	Reference
<i>Alternaria alternata</i>	sýr s modrou plísní, tvrdý a polotvrdý sýr, mléko	(Kure 2001, Vacheyrou et al., 2011)
<i>Aspergillus glaucus</i>	pasterované mléko, čerstvé mléko	(Jodral et al., 1993)
<i>Aspergillus candidus</i>	buvolí, ovčí a kozí sýr	(Montagna et al., 2004)
<i>Aspergillus ochraceus</i>	buvolí, ovčí a kozí sýr	(Montagna et al., 2004)
<i>Aspergillus flavus</i>	tvrdý a polotvrdý sýr, pasterované mléko, čerstvé mléko	(Hassanin 1993, Jodral et al., 1993)
<i>Aspergillus tamarii</i>	sýr s modrou plísní	(Jodral et al., 1993)
<i>Aspergillus fumigatus</i>	sýr s modrou plísní, tvrdý a polotvrdý sýr, čerstvé mléko	(Moubasher et al., 1979)
<i>Aspergillus syndowi</i>	jogurt	(Moubasher et al., 1979)
<i>Aspergillus versicolor</i>	sýr s modrou plísní, tvrdý a polotvrdý sýr, ovčí a kozí sýr	(Moubasher et al., 1979, Lund et al., 1995)
<i>Aspergillus niger</i>	sýr s modrou plísní, tvrdý a polotvrdý sýr, čerstvé mléko	(Moubasher et al., 1979, Hocking & Faedo 1992, Bullerman 1981)
<i>Aureobasidium pullulans</i>	tvrdý a polotvrdý sýr	(Kure 2001)
<i>Botrytis cinerea</i>	tvrdý a polotvrdý sýr	(Hocking & Faedo 1992)
<i>Byssochlamys nivea</i>	pasterované mléko	(Shephard 2008)
<i>Cladosporium phyllophilum</i>	máslo a margarín	(Garnier et al., 2017)
<i>Cladosporium butyri</i>	máslo a margarín	(Pitt a Hocking 2009)
<i>Cladosporium halotolerans</i>	tvrdý a polotvrdý sýr	(Hocking & Faedo 1992, Pitt a Hocking 2009)
<i>Epicoccum nigrum</i>	tvrdý a polotvrdý sýr	(Hocking & Faedo 1992)

Druh	Výskyt	Reference
<i>Fusarium avenaceum</i>	buvolí, ovčí a kozí sýr	(Montagna et al., 2004)
<i>Fusarium oxysporum</i>	tvrdý a polotvrdý sýr, měkký sýr, pasterované mléko	(Hocking & Faedo 1992, Pitt & Hocking 2009)
<i>Fusarium solani</i>	tvrdý a polotvrdý sýr, měkký sýr	(Lund et al., 1995)
<i>Fusarium verticillioides</i>	tvrdý a polotvrdý sýr, pasterované mléko, čerstvé mléko	(Jodral et al., 1993, Bullerman 1981)
<i>Hamigera avellanea</i>	pasterované mléko	(Pitt & Hocking 2009)
<i>Naumovia dairenensis</i>	měkký sýr	(Westall & Filtenborg 1998)
<i>Penicillium glabrum</i>	máslo a margarín	(Pitt & Hocking 2009, Hocking & Faedo 1992)
<i>Penicillium spinulosum</i>	tvrdý a polotvrdý sýr	(Kure 2001)
<i>Penicillium funiculosum</i>	buvolí, ovčí a kozí sýr	(Montagna et al., 2004)
<i>Penicillium minioluteum</i>	tvrdý a polotvrdý sýr	(Kure 2001)
<i>Penicillium purpureogenum</i>	tvrdý a polotvrdý sýr	(Aran & Eke 1987)
<i>Penicillium regulosum</i>	tvrdý a polotvrdý sýr	(Hocking & Faedo 1992, Lund et al., 1995)
<i>Penicillium bialowiezense</i>	tvrdý a polotvrdý sýr, jogurt	(Garnier et al., 2017)
<i>Penicillium brevicompactum</i>	tvrdý a polotvrdý sýr	(Pitt a Hocking 2009, Garnier et al., 2017)
<i>Penicillium adametzioides</i>	čerstvý nezrající sýr	(Garnier et al., 2017)
<i>Penicillium antarcticum</i>	tvrdý a polotvrdý sýr	(Garnier et al., 2017)
<i>Penicillium arenicola</i>	buvolí, ovčí a kozí sýr	(Montagna et al., 2004)
<i>Penicillium canescens</i>	tvrdý a polotvrdý sýr	(Aran & Eke 1987)

Druh	Výskyt	Reference
<i>Penicillium charlesii</i>	čerstvý nezrající sýr, pasterované mléko	(Garnier et al., 2017)
<i>Penicillium chrysogenum</i>	máslo, margarín, sýr s modrou plísní, tvrdý a polotvrdý sýr, jogurt	(Hocking & Faedo 1992, Pitt & Hocking 2009, Kure 2001)
<i>Penicillium griseofulvum</i>	tvrdý a polotvrdý sýr	(Aran & Eke 1987)
<i>Penicillium nalgiovense</i>	tvrdý a polotvrdý sýr, měkký sýr	(Lund et al., 1995, (Garnier et al., 2017, Filtenborg et al., 1996)
<i>Penicillium camemberti</i>	tvrdý a polotvrdý sýr	(Aran & Eke 1987, Uraz & Özer 2014, Garnier et al., 2017)
<i>Penicillium commune</i>	tvrdý a polotvrdý sýr, sýr s plísní, čerstvý nezrající sýr, kozí sýr	(Pitt & Hocking 2009, Garnier et al., 2017)
<i>Penicillium crustosum</i>	buvolí, ovčí a kozí sýr, tvrdý a polotvrdý sýr, kozí a ovčí sýr	(Hocking & Faedo 1992, Lund et al., 1995)
<i>Penicillium palitans</i>	čerstvý nezrající sýr	(Kure 2001, Garnier et al., 2017)
<i>Penicillium solitum</i>	buvolí, ovčí a kozí sýr, jogurt, měkký sýr, ostatní mléčné produkty	(Filtenborg et al., 1996, Kure 2001, Garnier et al., 2017)
<i>Penicillium verucosum</i>	buvolí, ovčí a kozí sýr, tvrdý a polotvrdý sýr, plísněvý sýr	(Hocking & Faedo 1992, Pitt & Hocking 2009)
<i>Penicillium viridicatum</i>	tvrdý a polotvrdý sýr	(Hocking & Faedo 1992, Pitt & Hocking 2009)
<i>Penicillium expansum</i>	máslo a margarín, tvrdý a polotvrdý sýr	(Aran & Eke 1987, Kure 2001, Pitt & Hocking 2009)

Druh	Výskyt	Reference
<i>Penicillium roquefortii</i>	buvolí, ovčí a kozí sýr, tvrdý, polotvrdý, sýr, plísňový sýr	(Hocking & Faedo 1992, Kure 2001, Pitt & Hocking 2009)
<i>Mucor circinelloides</i>	tvrdý a polotvrdý sýr, jogurt	(Garnier et al., 2017, Kure 2001)
<i>Mucor hiemalis</i>	buvolí, ovčí a kozí sýr, tvrdý a polotvrdý sýr, jogurt	(Pitt a Hocking 2009, Kure 2001)
<i>Mucor plumbeus</i>	tvrdý a polotvrdý sýr	(Kure 2001)
<i>Mucor racemosus</i>	tvrdý a polotvrdý sýr, jogurt	(Lund et al., 1995 ,Kure 2001 Garnier et al., 2017)
<i>Rhizopus stolonifer</i>	sýr s modrou plísní	(Montagna et al., 2004, Moubasher et al., 1979)
<i>Tamnidium elegans</i>	tvrdý a polotvrdý sýr	(Garnier et al., 2017)

