

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

Studijní program: B 4106 Zemědělská specializace
Studijní obor: Biologie a ochrana zájmových organismů
Katedra: Potravinářských biotechnologií a kvality zemědělských produktů

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Výskyt mykotoxinů v mléce a mléčných produktech

Autor bakalářské práce: Jitka Dyková, DiS.
Vedoucí bakalářské práce: MVDr. Lucie Hasoňová, Ph.D.

České Budějovice, 2019

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE (PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Jitka DYKOVÁ, DiS.**
Osobní číslo: **Z14251**
Studijní program: **B4106 Zemědělská specializace**
Studijní obor: **Biologie a ochrana zájmových organismů**
Název tématu: **Výskyt mykotoxinů v mléce a mléčných produktech**
Zadávací katedra: **Katedra kvality zemědělských produktů**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Mykotoxiny patří mezi významné kontaminanty důležitých zemědělských a potravinářských komodit. Jedná se o sekundární metabolity produkované širokou škálou mikroskopických vláknitých hub, které mohou u člověka a hospodářských zvířat vést ke vzniku závažných onemocnění. Riziko kontaminace mléka a mléčných výrobků mykotoxiny, zejména aflatoxiny, je předmětem mnoha současných studií.

Cílem práce je vypracovat literární přehled zaměřený na význam a zdravotní problematiku spojenou s výskytem mykotoxinů v mléce a mléčných produktech.

Bakalářská práce bude vypracována na základě pokynů uvedených na www.zf.jcu.cz/studenti/informace-pro-studujici/ podle následující rámcové osnovy:

Úvod - charakteristika a význam řešené problematiky včetně uvedení cílů práce

Literární přehled - současný stav poznání dané problematiky získaný studiem soudobé vědecké a odborné literatury

Závěr - stručné shrnutí výsledků vlastní práce, návrhy a doporučení vyplývající z řešené problematiky

Abstrakt: přehled nejdůležitějších informací - v českém a anglickém jazyce, včetně klíčových slov.

Rozsah grafických prací: 5-10 stran (tabulky, grafy, fotografie)

Rozsah pracovní zprávy: 25-45 stran

Forma zpracování bakalářské práce: tištěná/elektronická

Seznam odborné literatury:

- Benkerroum, N.: Mycotoxins in dairy products: a review. *International Dairy Journal*, 2016, 62, 63-75
- Betina, V.: Mykotoxíny: Chémia - biológia - ekológia. 1. vyd. Bratislava: Alfa, 1990. 284 s. Edícia potravinárskej literatúry. ISBN 80-05-00631-4.
- Moravcová, H., Nedělník, J.: Studium obsahu aflatoxinu M1 ve vzorcích mléka z distribuční sítě ČR v letech 2004-2005. Sborník vědeckých prací VUP Troubsko. 2006, 15, s. 27-32.
- Prandini, A., Tansini, G., Sigolo, S., Filippi, L., Laporta, M., Piva, G.: On the occurrence of aflatoxin M1 in milk and dairy products. *Food and Chemical Toxicology*, 2009, 47, 984-991.
- Velíšek, J., Hajšlová, J.: *Chemie potravin. Rozšířené a přepracované 3. vydání.* Tábor: OSSIS, 2009. ISBN 978-80-86659-17-6.
- Odborné články týkající se sledované problematiky v časopisech *Mlékařské listy*, *Veterinářství*, *Potravinářská revue*, sborníky z odborných konferencí a seminářů


Vedoucí bakalářské práce:

MVDr. Lucie Hasoňová, Ph.D.

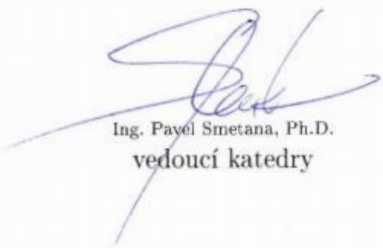
Katedra kvality zemědělských produktů

Datum zadání bakalářské práce: 17. března 2017

Termín odevzdání bakalářské práce: 21. dubna 2018


prof. Ing. Miloslav Šoch, CSc., dr. h. c.
děkan

JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA
studijní oddělení
Studentůská 1688, 370 05 České Budějovice


Ing. Pavel Smetana, Ph.D.
vedoucí katedry

V Českých Budějovicích dne 17. března 2017

SEZNAM ZKRATEK

AF – aflatoxin

AFB₁ – aflatoxin B₁

AFM₁ – aflatoxin M₁

a_w – vodní aktivita

DON – deoxynivalenol

FB₁ – fumonisin B₁

FB₂ – fumonisin B₂

IARC – Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny

OTA – ochratoxin A

ZEN – zearalenon

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem svoji bakalářskou práci vypracovala samostatně, s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou, ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce.

V Městečku, dne _____

Jitka Dyková, DiS.

ABSTRAKT

Cílem bakalářské práce bylo vytvořit literární přehled zaměřený na mikroskopické vláknité houby (mikromycety) a výskyt jejich sekundárních metabolitů, mykotoxinů, v mléce a mléčných výrobcích. První část práce byla zaměřena na obecnou charakteristiku mikromycet, jejich příznivých i negativních účinků, a na popis tří hlavních rodů – *Aspergillus*, *Penicillium* a *Fusarium*. Další část práce se zabývala výskytem mykotoxinů v mléce a mléčných výrobcích. Byly popsány cesty kontaminace, nejčastější mykotoxiny v mléce a mléčných výrobcích, především v sýrech, a dále preventivní opatření k jejich eliminaci.

Klíčová slova: mikromycety; aflatoxiny; mléko; sýry; zdravotní rizika.

ABSTRACT

The aim of the bachelor thesis was to create a literary review focused on microscopic filamentous fungi (micromycetes) and the occurrence of their secondary metabolites, mycotoxins, in milk and dairy products.

The first part of the work dealt with a general characteristic of micromycetes, their positive and negative effects, and with the description of three main genera - *Aspergillus*, *Penicillium* and *Fusarium*.

The next part of the work was focused on the occurrence of mycotoxins in milk and in dairy products. The ways of contamination were described, and also the most common mycotoxins in milk and in dairy products, mainly in cheese, and some preventive measures for their elimination.

Key words: micromycetes; aflatoxins; milk; cheese; health risks

Obsah

1	ÚVOD	9
2	PROBLEMATIKA MYKOTOXINŮ V MLÉCE A MLÉČNÝCH PRODUKTECH.....	10
2.1	Mikroskopické vláknité houby a jejich význam.....	10
2.1.1	Základní charakteristika vybraných zástupců produkujících mykotoxiny.....	10
2.1.2	Příznivé účinky vláknitých hub a jejich využití	12
2.1.3	Negativní účinky mikroskopických vláknitých hub.....	14
2.2	Mykotoxiny v mléce a mléčných produktech	19
2.2.1	Zdroje kontaminace mléka a mléčných produktů mykotoxiny ...	21
2.2.2	Výskyt mykotoxinů v mléce.....	24
2.2.3	Výskyt mykotoxinů v sýrech.....	26
2.2.4	Výskyt mykotoxinů v ostatních mléčných výrobcích	32
2.2.5	Kontrola mykotoxinů v mléce a mléčných výrobcích.....	34
2.2.6	Dekontaminace, odstranění mykotoxinů z mléka a mléčných výrobků.....	36
2.2.7	Legislativa a limity mykotoxinů.....	37
3	ZÁVĚR	39
4	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	40

1 ÚVOD

Mikroskopické vláknité houby jsou eukaryotní organismy, tvořící vláknité povlaky uvnitř nebo na povrchu substrátu. Jsou relativně nenáročné na vnější podmínky, rostou v širokém rozpětí teplot, pH i vodní aktivity. Někteří zástupci jsou schopny produkovat sekundární metabolity, z nichž nejsledovanější jsou bezesporu mykotoxiny. Ačkoliv producentů těchto metabolitů je velké množství, nejvýznamnější jsou rody *Aspergillus*, *Penicillium* a *Fusarium*. Jejich působení na živé organismy má celou řadu negativních dopadů, včetně zdravotních rizik.

Mykotoxiny jsou častými kontaminanty krmiv pro zvířata, a touto cestou se mohou dostávat do potravinového řetězce. Mykotoxiny přijímané krmivem jsou následně v organismu zvířete metabolizovány a mohou být buď kumulovány ve tkáních, nebo vylučovány např. mlékem.

Vzhledem k tomu, že mléko je jednou ze základních potravin ve výživě člověka, je nezbytné se jeho kvalitou trvale zabývat. Mykotoxiny jsou nejen v mléce, ale i v ostatních surovinách a potravinách rostlinného i živočišného původu monitorovány.

Cílem předkládané bakalářské práce bylo vytvořit literární přehled zaměřený na mikroskopické vláknité houby a mykotoxiny zejména v mléce a mléčných výrobcích.

2 PROBLEMATIKA MYKOTOXINŮ V MLÉCE A MLÉČNÝCH PRODUKTECH

2.1 Mikroskopické vláknité houby a jejich význam

Mikroskopické vláknité houby (vláknité mikromycety), které jsou nedílnou součástí vnějšího prostředí, mají celou řadu příznivých, ale i negativních účinků. Běžně, a pro zjednodušení, jsou označovány též jako plísně, ačkoliv toto označení není pro všechny zástupce vláknitých mikromycet zcela odpovídající (Ostrý, 1999). V této bakalářské práci je však právě tento termín, spolu s termínem mikromycety, využíván. Mikromycety jsou eukaryotní organismy, které z hlediska výživy patří mezi heterotrofní, a tedy organické látky jsou pro ně zdrojem energie a uhlíku (Velíšek a Hajšlová, 2009). Základní stavební jednotkou mikromycet jsou vlákna (hyfy), která se větví a splétají v podhoubí (mycelium). Houby se mohou rozmnožovat pohlavním i nepohlavním způsobem, přičemž ne u všech jsou popsány oba dva způsoby. Dle způsobu života lze houby rozlišit na saprofytické, kterých je nejvíce, a na parazitické (Ostrý, 1998).

Vysoká variabilita a značná přizpůsobivost k podmínkám prostředí umožnila těmto organismům osídlit různé ekologické niky, čímž je zajištěn jejich široký výskyt ve zcela rozličných biotopech. Mikromycety jsou v ekosystémech významnou součástí potravních řetězců, kde plní úlohu především jako dekompozitoři organických hmot a společně s dalšími organismy udržují koloběh látek, hlavně dusíku, síry a fosforu, v přírodě (Buchta a kol., 2001).

Mikroskopických vláknitých hub je popsáno několik tisíc. Tyto počty však nejsou konečné, každoročně jich několik dalších přibývá. Hub, významných z hlediska potravinářského průmyslu, je popsáno přibližně 50 rodů s asi 200 druhy (Malíř a Ostrý, 2003).

2.1.1 Základní charakteristika vybraných zástupců produkujících mykotoxiny

Mezi nejběžnější zástupce mikromycet, které produkují mykotoxiny, patří rody *Aspergillus*, *Penicillium* a *Fusarium*.

2.1.1.1 Rod *Aspergillus*

říše	<i>Fungi</i>
oddělení	<i>Ascomycota</i>
řád	<i>Eurotiales</i>
čeleď	<i>Trichocomaceae</i>
anamorfní rod	<i>Aspergillus</i>

Tyto houby parazitují a vyskytují se hlavně v obilovinách, potravinách z obilovin, kukuřici, rýži, ořechách, mléku, sýrech a v mnohých dalších (Frayssinet, 1998).

Rodové označení *Aspergillus* poprvé použil botanik Pier Antonio Micheli v roce 1729. Český název tohoto rodu je kropidlák, protože při průřezu rozmnožovacím orgánem připomínal botanikům kropítko (Dvořáčková 1990).

Rod *Aspergillus* zahrnuje více než 200 druhů, přičemž přibližně 18 zástupců bývá považováno za významné patogeny pro člověka (Malíř a Ostrý, 2003). Tyto druhy se od sebe liší např. na základě morfologie kolonií, odolnosti proti nepříznivým vnějším podmínkám, rychlosti růstu či produkce různých mykotoxinů. Za více než 95 % všech onemocnění jsou zodpovědné pouze tři druhy, a to *A. fumigatus*, *A. flavus* a *A. niger* (Gibel a kol. 1971).

Zástupci tohoto rodu produkují tyto hlavní mykotoxiny: aflatoxin B, G, ochratoxin A, patulin.

2.1.1.2 Rod *Penicillium*

říše	<i>Fungi</i>
oddělení	<i>Ascomycota</i>
řád	<i>Eurotiales</i>
čeleď	<i>Trichocomaceae</i>
anamorfní rod	<i>Penicillium</i>

Rodové označení *Penicillium* poprvé použil německý botanik Johann H. F. Link v roce 1809 pro konidiální stádium mikroskopické houby. Český název štětičkovec vznikl na základě tvaru rozmnožovací nepohlavní struktury připomínající štětičky (Malíř a Ostrý, 2003).

V mírných a teplých klimatických pásmech patří zástupci tohoto rodu k nejrozšířenějším vláknitým mikroskopickým houbám. Jejich spóry jsou všudypřítomné a tyto mikromycety jsou častými kontaminanty potravin, životního a pracovního prostředí člověka (IARC, 2002).

Zástupci tohoto rodu produkují především patulin, ochratoxin A a citrinin.

2.1.1.3 Rod *Fusarium*

říše	<i>Fungi</i>
oddělení	<i>Ascomycota</i>
řád	<i>Eurotiales</i>
čeleď	<i>Trichocomaceae</i>
anamorfní rod	<i>Fusarium</i>

První záznam popisu mikromycetů rodu *Fusarium* je spojen se jménem německého botanika H. F. Linka. Český název pro makrokonidie fuzárií je srpovnička (Malíř a Ostrý, 2003).

Zástupci tohoto rodu jsou součástí půdního ekosystému a napomáhají k rozkladu organické hmoty. Mnozí se evolučně přizpůsobili k parazitismu rostlin. Někteří, např. *F. graminearum* se užívají k výrobě mykoproteinu, který je jako bohatý zdroj proteinů oblíbený zejména ve stravě veganů (Mac Donald a kol., 2000).

V potravinách se vyskytují převážně v obilovinách, ale mohou se nalézat i v kukuřici, rýži, ovoci, bramborách, vlašských ořechách a dalších (Malíř a kol. 2003).

Hlavními mykotoxiny, které tyto mikromycety produkují, jsou deoxynivalenon, zearalenon, T-2 toxin a fumonisiny.

2.1.2 Příznivé účinky vláknitých hub a jejich využití

Ačkoliv tato práce je věnována převážně negativním účinkům vláknitých hub, je vhodné popsat i jejich prospěšné účinky (**Tabulka 1**), které rovněž nejsou v životě člověka zanedbatelné.

Jedním z největších přínosů v dějinách medicíny je bezpochyby objev penicilinu Sirem Alexandrem Flemingem v roce 1928. Tato látka, produkovaná *Penicillium chrysogenum*, je již od II. světové války používána k léčbě bakteriálních infekcí (Buchta a kol., 1996). Objev penicilinu byl v rozvoji civilizace a kvality života významným milníkem a nastartoval éru antibiotik. V ČR se podařilo výzkumníkům Wiesnerovi, Frágnerovi, Lebduškovi a dalším připravit penicilin již v roce 1944 v Měcholupech (Malíř a Ostrý, 2003).

Tabulka 1 Vybraní zástupci mikromycet a jejich biotechnologické využití

Producent	Produkt	Použití
<i>Penicillium griseofulvum</i>	griseofulvin	antifungální antibiotikum
<i>Pseudomassaria</i> spp.	látka podobná inzulínu	náhrada inzulínu
<i>Penicillium chrysogenum</i>	penicilin	β-laktamové antibiotikum
<i>Aspergillus alliaceus</i>	asperlicin	léčba nemocí žaludku
<i>Aspergillus terreus</i>	mevinolin	snížení hladiny cholesterolu v krvi
<i>Aspergillus terreus</i>	kyselina itakonová	výroba akrylové pryskyřice
<i>Fusarium moniliforme</i>	kyselina giberelová	růstový hormon rostlin
<i>Aspergillus niger</i>	kyselina citrónová	potraviny, nápoje, kosmetika, zpracování kůží
<i>Aspergillus niger</i>	kyselina glukonová	potraviny, čisticí prostředky
<i>Rhizopus</i> spp., <i>Aspergillus</i> spp.	lipázy	enzymy pro potravinářský průmysl
<i>Penicillium</i> spp.	amylázy	enzymy pro potravinářský průmysl
<i>Penicillium</i> spp.	pektinázy	enzymy pro potravinářský průmysl
<i>Aspergillus niger</i>	α-galaktosidáza	enzymy, preparát proti nadýmání
<i>Aspergillus</i> spp., <i>Penicillium</i> spp.	proteázy	enzymy pro potravinářský průmysl
<i>Rhizomucor miehei</i>	rennin (chymozin)	výroba sýrů
<i>Eremothecium ashbyi</i> , <i>Ashbya gossypii</i>	riboflavin	vitamin B ₂ k fortifikaci potravin

Upraveno podle: Malíř a Ostrý, 2003

V potravinářském průmyslu se vláknité houby uplatňují nejen při výrobě různých enzymů, ale i k výrobě konkrétních potravin. Největší využití těchto organismů je v oblasti jihovýchodní Asie, kde slouží k výrobě fermentovaných produktů z rýže, manioku, kukuřice a čiroku. Zatímco v Evropě je jejich využití omezeno jen na některé konkrétní produkty (Malíř a Ostrý 2003). K výrobě sýrů s bílou plísní na povrchu je používáno *Penicillium camemberti*, k výrobě sýrů s modrou plísní uvnitř hmoty *P. roqueforti* (Vazquez a kol. 2001). V našich podmínkách se jedná o sýry hermelín a niva.

Své využití mají plísně i při výrobě přívlastkových vín. *Botrytis cinerea* je plíseň využívaná k dokončování zrání hroznů, jejich vysušení a následné zvýšení cukernatosti. Výsledkem jsou poté tokajská vína a v případě použití pouze jednotlivých bobulí zpracovaných touto plísní, pak tzv. vína z cibéb (Malíř a Ostrý, 2003). Mikroskopické houby se dále používají k výrobě některých trvanlivých tepelně neopracovaných masných výrobků. Tyto masné výrobky jsou populární hlavně ve Španělsku a Maďarsku. V ČR jsou známé např. salámy uherského typu (Klimešová a kol., 1996).

Kromě využití v potravinářství a farmaceutickém průmyslu lze jmenovat i uplatnění vybraných zástupců hub v biologické ochraně rostlin proti různým škůdcům tzv. mykopesticidy. Jejich využití je významné zejména v oblasti ekologického zemědělství jako alternativa přípravků na bázi chemických látek (Malíř a Ostrý, 2003).

2.1.3 Negativní účinky mikroskopických vláknitých hub

Z negativního významu vláknitých mikromycet lze jmenovat především produkci mykotoxinů, které negativně působí na živočichy včetně člověka. Významné je rovněž znehodnocení potravin a krmiv růstem mikromycet s následným snížením biologické hodnoty těchto produktů včetně změn sensorických vlastností. V neposlední řadě mohou vláknité houby vést k rozvoji onemocnění – mykóz, nebo alergických reakcí (Patočka, 2004).

Vláknité mikromycety produkují sekundární metabolity, mykotoxiny, které mohou mít negativní vliv na zdraví lidí a zvířat. Termín „mykotoxin“ byl poprvé použit v roce 1955 Forgaczem a Carllem. Mykotoxiny patří mezi významné toxiny přírodního původu. V současné době je známo více než 300 mykotoxinů a každoročně jsou objeveny další (Ostrý a kol., 1998).

Pravděpodobným důvodem, proč jsou mykotoxiny houbami produkovány, je skutečnost, že představují obranný prostředek v konkurenčním boji o substrát a o přežití (Patočka, 2004).

Přibližně 50 zástupců mikroskopických vláknitých hub je spojováno s produkcí mykotoxinů a následnými mykotoxikózami u lidí a zvířat. Ačkoliv mikroskopické houby nejsou klasickými potravinovými patogeny, svou produkcí mykotoxinů v potravinách mohou vyvolávat závažné zdravotní problémy. Mykotoxiny mají z hlediska veřejného zdraví značný význam vzhledem k jejich široké distribuci v krmivech a potravinách a k některým závažným dopadům na zdraví zvířat a lidí (Benkerroum, 2016). Zvýšená pozornost je jejich negativním účinkům věnována teprve v několika posledních dekadách (Malíř a Ostrý, 2003).

Mykotoxiny jsou organické sloučeniny nebiłkovinné povahy s nízkou molekulární hmotností. Díky svým fyzikálně-chemickým vlastnostem snadno pronikají do různých tkání a mohou být vylučovány např. mlékem (Nedělník a Moravcová, 2005).

K významným negativním účinkům mykotoxinů patří mj. snižování funkčnosti imunitního systému organismu a karcinogenní působení (**Tabulka 2**). Účinky mykotoxinů jsou obecně rozlišovány na akutní, v případě příjmu vysokého množství toxinů v potravine, a na chronické (pozdni), v případě dlouhodobé zátěže některými mykotoxiny s kumulativním účinkem (Malíř a Ostrý, 2003).

Tabulka 2 Mykotoxiny a jejich negativní účinky na živé organismy

Mykotoxin	Zkratka	Akutní toxické účinky	Pozdní toxické účinky
Aflatoxin M ₁	AFM ₁	-	imunotoxicita, teratogenita, mutagenita, hepatotoxicita, karcinogenita
Aflatoxin B ₁	AFB ₁	nekróza hepatocytů, narušení srážlivosti krve – hemoragie v játrech, plicích, nadledvinách a ledvinách, úhyn	karcinogenita, hepatotoxicita, teratogenita, tumor jater, patologické změny v plicích, ledvinách a myokardu
Ochratoxin A	OTA	nefrotoxicita	karcinogenita, mutagenita, embryotoxicita
Deoxynivalenol	DON	střevní potíže a zvracení, úbytek hmotnosti, ovlivnění kvality vajec, snížení produkce mléka	kožní změny, gastrointestinální onemocnění, imunosuprese, teratogenita
Zearalenon	ZEN	otok vulvy, prsních žláz a bradavek, výhřez vaginy a rekta	atrofie vaječníků, estrogenismus, snížení množství spermatu
Fumonisin B ₁	FB ₁	snížení biosyntézy některých lipidů, které jsou potřebné pro stavbu a fyziologickou činnost buněčných membrán nervových buněk	postižení jater, plic a ledvin
Citrinin		-	nefrotoxicita, hepatotoxicita, neurotoxicita
Patulin		neurotoxicita – poškození mozku, paralýza motorických nervů, křeče, hepatotoxicita, nefrototoxicita,	teratogenita, genototoxicita
PR-toxin		poškození plic, srdce, jater a ledvin	mutagenita, karcinogenita

Upraveno podle: Malíř a Ostrý (2013), Berkerroum (2016)

Aflatoxiny (AF) jsou nejvýznamnější a nejprostudovanější mykotoxiny, pro které byl v jejich objevu významným mezníkem rok 1960, kdy byly identifikovány neznámé mykotoxiny ve spojitosti s epidemií, která se označovala jako „onemocnění X“. Při této epidemii uhynuly v Anglii desetitisíce krůt po konzumaci kontaminovaného krmiva. Brzy se zjistilo, že producentem mykotoxinů je *Aspergillus flavus*. Tyto toxiny se začaly nazývat „*Aspergillus flavus* toxins“, tedy aflatoxiny. Z chemického hlediska jsou AF nenasycené, polycyklické, vysoce substituované kumariny (Malíř a Ostrý, 2003). Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny (IARC) řadí AF do skupiny 1 jako prokázaný karcinogen pro člověka.

Při produkci AF se uplatňují především zástupci rodu *Aspergillus*, přičemž nejrozšířenější je *A. flavus*, vyskytující se zejména v tropických a subtropických oblastech a *A. parasiticus*, převažující v mírném klimatu. Oba jmenovaní zástupci dokáží růst a tvořit aflatoxiny na všech zemědělských komoditách a téměř na každém organickém substrátu (Patočka, 2004).

Tvorba AF začíná v období, kdy se u hub začínají tvořit konidie. Vrcholu produkce je dosahováno v období intenzivní sporulace plísní. Poté se během přibližně šesti dnů tvorba AF postupně snižuje. Obvykle je syntetizováno několik (2–3) typů aflatoxinů současně (Malíř a Ostrý, 2003).

Doposud bylo identifikováno přibližně 20 zástupců, z nichž se čtyři (B₁, B₂, G₁ a G₂) vyskytují v přírodě zcela přirozeně (Malíř a Ostrý, 2003).

Aflatoxin B₁ (AFB₁) je nejsilnější přírodní karcinogen a nejúčinnější hepatokarcinogen u zvířat. Jeho účinky jsou rozdílné podle druhu, pohlaví, věku a výživového stavu jedince. Nejcitlivěji na AFB₁ reagují mláďata a březí samice. Co se týká druhové vnímavosti, nejvnímavější jsou pstruzi, prasata a drůbež, naopak relativně odolní jsou přežvýkavci (ovce, skot) (Nedělník a Moravcová, 2005). Primární postižení se týká jater, avšak byly pozorovány i změny v dalších orgánech.

Aflatoxin M₁ (AFM₁) vzniká v organismu hydroxylací z perorálně přijatého AFB₁. Hlavní výskyt AFM₁ je popisován v játrech a ledvinách, a je vylučován v žluči, moči, stolici a u laktujících savců i mlékem. Mutagenní potenciál tohoto toxinu je cca 3 % z AFB₁ a v porovnání s ním je také méně toxický a karcinogenní. K expozici AFM₁ u člověka dochází především pitím kontaminovaného mléka a konzumací mléčných výrobků z něj.

Vzhledem k vyšší konzumaci mléka u dětí, je tato kategorie nejvíce ohrožena. Děti mají navíc nižší tělesnou hmotnost, vysokou buněčnou aktivitu a jejich imunitní systém dosud není plně vyvinutý (Malíř a Ostrý, 2003).

Ochratoxin (OTA) je mykotoxin syntetizovaný zejména rody *Aspergillus* a *Penicillium* (Rodríguez 2011). IARC zařazuje tento mykotoxin do skupiny 2B jako možný karcinogen pro člověka. Podle Nogueira a Oliveiry (2006) je vstupní branou OTA do organismu trávicí ústrojí, ve kterém se mykotoxin u většiny živočišných druhů absorbuje. Nejprve dochází k rychlé absorpci OTA v žaludku, čemuž napomáhá jeho kyselé prostředí, a poté probíhá jeho pomalé vstřebávání ve střevech.

Trichotheceny jsou syntetizovány zejména rody *Fusarium*, *Stachybotrys*, *Trichothecium*, *Trichoderma*, *Cylindrocarpon*, *Verticimonosporium*, a další (Scott 1989). Tyto mykotoxiny se mohou vyskytovat u většiny obilnin při sklizni a uskladnění. Fusarová kyselina, která se často objevuje v obilninách, zvyšuje toxicitu trichothecenů prostřednictvím synergického mechanismu (Yiannikouris a Jouany 2002). Navzdory velkému počtu těchto sloučenin v přírodě, pouze některé byly identifikovány jako kontaminanty potravin. Jsou to např. deoxynivalenol (DON), nivalenol, T-2, HT-2 a dyacetoxyscirpenol. Nejvýznamnějším ze skupiny trichothecenů je bezesporu DON, nazývaný rovněž jako vomitoxin, který je produkován hlavně *Fusarium graminearum* a v některých oblastech též *Fusarium culmorum* (Richard 2000). V živočišném organismu se DON přeměňuje na méně toxický metabolit, de-epoxy-DON, který je posléze vylučován v moči, stolici a v dalších sekretech, jako např. v mléce (Maul a kol. 2012; Shephard a kol. 2013).

Zearalenon (ZEN) je lakton produkovaný různými druhy rodu *Fusarium*, především *F. graminearum* a *F. culmorum* (Zinedine a kol. 2007). K přeměně ZEN na metabolity dochází především v játrech, ale může k ní docházet i v batoru přežvýkavců s pomocí batorových prvoků (Malekinejad a kol. 2006). Na rozdíl od AF, není ZEN považován za karcinogenní, avšak má silné estrogení účinky. Ačkoliv ZEN nepatří k příliš častým kontaminantům mléka a mléčných výrobků, v některých studiích např. z Itálie (Meucci a kol., 2011), Argentiny (Signorini a kol. 2012), Číny (Huang a kol., 2014) byla jeho přítomnost v mléce prokázána.

Fumonisin (FB) byly objeveny v roce 1988 separováním z kultur *Fusarium verticillioides* (Gelderblom a kol. 1988). Zdravotní problémy zvířat a lidí spojené s těmito mykotoxiny souvisí téměř výhradně s konzumací kontaminované kukuřice nebo výrobků z ní (Bolger a kol. 2001; Wang a Merrill 2004, Abbas a kol. 2006). Dosud bylo izolováno 18 různých druhů FB, které se odlišují počtem a umístěním hydroxylových skupin. Nejčastějším a současně nejtoxičtějším druhem je fumonisin B₂ (FB₂), produkovaný *Fusarium moniliforme*. Společně s fumonisinem B₁ (FB₁) představují přibližně 70 % všech FB vyskytujících se v přírodě a v potravinách (Seo a Lee 1999; Seo a kol. 2001; Niderkon a kol. 2009). Podle IARC je FB₁ klasifikován do skupiny 2B jako možný lidský karcinogen.

Patulin, původním názvem klaviformin, je mykotoxin, který byl objeven během výzkumu nových druhů antibiotik v roce 1941. Pod názvem patulin byl poprvé izolován Anslowem a kol. v roce 1943 jako antibioticky aktivní metabolit *Penicillium patulum*. Při pokusech na laboratorních zvířatech však byly později zjištěny vedle antibiotických účinků i účinky toxické, proto byl patulin zařazen mezi mykotoxiny. Při produkci patulinu se uplatňují především rody *Aspergillus*, *Penicillium*, *Paecilomyces* a *Byssosclamyces*. Patulin patří mezi přirozené kontaminanty jablek, výrobků z nich a dalšího ovoce, pro které je typická hnědá hniloba jako jsou banány, meruňky aj. Růst plísně a následná tvorba patulinu však běžně probíhá teprve při poškození povrchové vrstvy plodu (Malíř a Ostrý, 2003).

2.2 Mykotoxiny v mléce a mléčných produktech

Zájem o mykotoxiny v mléce a mléčných produktech začal v 60. letech minulého století spolu s prvními potvrzenými případy kontaminace mléka AFM₁ (Malíř a Ostrý, 2003).

Nejčastěji se v mléce a mléčných výrobcích vyskytují AF, avšak prokazovány mohou být i další mykotoxiny, jako: fumonisin (FB₁ a FB₂), OTA, ZEN, trichothecen (T-2, DON), (**Tabulka 3**). V nedávném průzkumu provedeném v Číně bylo na přítomnost mykotoxinů testováno syrové, pasterizované a sušené mléko. Z celkového počtu 50 analyzovaných vzorků bylo 15 % kontaminováno současně dvěma druhy mykotoxinů, 45 % třemi druhy a 22 % dokonce čtyřmi druhy mykotoxinů (Huang a kol., 2014).

Tabulka 3 Vybrané mykotoxiny detekované v mléce a mléčných produktech

Mykotoxin	Producent	Zdroj	Literatura
AFM ₁	vzniká přeměnou AFB ₁ v játrech dojnice	kravské a kozí mléko (syrové, pasterizované, UHT), jogurt, máslo, zmrzlina, sýry	Fallah, 2010; Gul, 2014; Prandini a kol., 2009; Sengun a kol., 2008
AFB ₁	<i>Aspergillus</i> spp. (např. <i>A. flavus</i> , <i>A. parasiticus</i>)	parmazán	Lopez a kol. 2001; Sengun a kol., 2008;
OTA	<i>Aspergillus</i> spp., <i>Penicillium</i> spp.	syrové kravské mléko, sýry	Brase a kol., 2009; Clark a Snedeker, 2006; Duarte a kol., 2012; Murphy a kol., 2006; Pattono a kol., 2013
Citrinin	<i>P. citrinum</i> , <i>P. expansum</i> , <i>A. niveus</i>	povrch poloměkkých sýrů, parmazán, kozí měkký sýr	Bailly a kol., 2002; Sengun a kol., 2008; Vazquez a kol., 2001
Patulin	<i>Penicillium</i> spp.	sýry s modrou plísní, syrové kravské mléko, polotvrdé sýry	Brase a kol., 2009; Erdogan a Sert, 2004; Marin a kol., 2013; Murphy a kol., 2006; O'Brien a kol., 2006; Patton a kol., 2013;
PR-toxin	<i>P. roqueforti</i> , <i>P. expansum</i>	sýry s modrou plísní	Brase a kol., 2009; Erdogan a Sert, 2004; Hymery a kol., 2014a; O'Brien a kol., 2006; Sengun a kol., 2008

AFM₁ – aflatoxin M₁; AFB₁ – aflatoxin B₁; OTA – ochratoxin; UHT – ultra-high temperature; A. – *Aspergillus*; P. – *Penicillium*

2.2.1 Zdroje kontaminace mléka a mléčných produktů mykotoxiny

Přítomnost mykotoxinů v mléce a mléčných výrobcích může být způsobena nepřímou a přímou kontaminací.

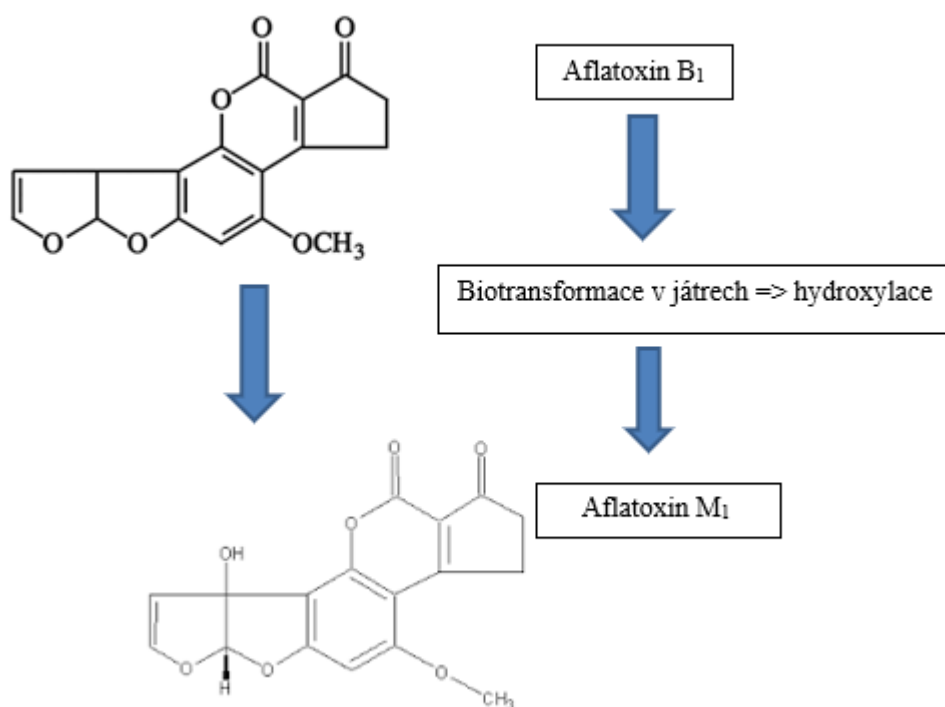
Nepřímá kontaminace je důsledkem kontaminace krmiv plísněmi, s následnou tvorbou mykotoxinů.

Kontaminace mléka a mléčných produktů AFM₁ vykazuje rozdíly v závislosti na geografické oblasti, ročním období, podmínkách prostředí, dostupnosti zelené píce a naopak míře zkrmování konzervovaných krmiv apod. (Dashti a kol., 2009; Pei a kol., 2009; Bilandzic a kol., 2010; Rahimi and others 2010; Xiong a kol., 2013). Zejména roční období, ve kterém se krmivo zvířatům podává, má velký vliv na výskyt mykotoxinů v mléce i konečných mléčných výrobcích (Iqueball a kol. 2013). Bylo prokázáno, že mléko produkované v průběhu teplých období roku je méně kontaminované AFM₁ v porovnání s mlékem z chladnějších období (Peng and Chen 2009). Vyšší kontaminace v chladnějších měsících byla způsobena delším skladováním krmiv, což poskytovalo vhodné podmínky k růstu plísní a produkci mykotoxinů. Jako další souvislost s vyšší hladinou AFM₁ v mléce v zimním období se uvádí snížená doживost, která má za následek vyšší koncentraci mykotoxinů (Asi a kol. 2012). Rovněž podmínky prostředí, jako teplota a vlhkost, a dále zemědělské plodiny použité k výrobě krmiv mají v kontaminaci krmiv a následně mléka a mléčných výrobků významnou roli (Dasthi a kol., 2009).

Po pozření kontaminovaného krmiva se mykotoxiny metabolizují, biotransformují a přesouvají do živočišných výrobků, jako je mléko a maso, čímž představují riziko pro zdraví lidí (Ghiasian and others 2007).

U dojnic, krmených zaplísněným krmivem, se mykotoxiny metabolizují v játrech, a to prostřednictvím cytochromu P450 do několika metabolitů. Z krmiva přijatý AFB₁ se hydroxylací terciálního uhlíku difuranokumarinového kruhu konvertuje na hlavní metabolit – AFM₁ (**Obrázek 1**) (Faletto a kol. 1988).

Obrázek 1 Metabolizace aflatoxinu B₁ z krmiva na aflatoxin M₁ v organismu



Odhaduje se, že přibližně 0,3 – 6,2 % přijatého AFB₁ je metabolizováno, biotransformováno a vyloučeno mlékem ve formě AFM₁. Míra biotransformace se však liší v závislosti na řadě faktorů, jako např. individualita, výživový a fyziologický stav zvířat, biotransformační kapacita jater, mléčná produkce (Iqbal a kol., 2013, Duarte a kol., 2013). Samotný prostup AFM₁ do mléka je ovlivňován rozdílem mezi pH krevní plazmy a mléka, což je mj. dáno zdravotním stavem zvířete (Yiannikouris a Jouany 2002; Kalac 2011).

Přímá cesta kontaminace je výsledkem produkce mykotoxinů toxigenními plísněmi přímo v mléčných produktech, a to prakticky v kterékoliv fázi produkčního procesu. Toto platí zejména pro některé sýry, u nichž jsou plísně součástí normální mikrobioty (Benkerroum, 2016).

Plísně v mléčných produktech mohou pocházet ze tří zdrojů:

- Plísně kontaminující syrové mléko, které přežívají pasterizaci nebo je jejich zdrojem postpasterizační kontaminace. Tyto plísně mohou růst a tvořit mykotoxiny v pozdějších stádiích výroby sýrů a dalších mléčných produktů, a dále při jejich skladování. Příznivé podmínky pro růst plísní, však ještě nemusí být vhodné pro tvorbu a stabilitu mykotoxinů samotných (Kokkonen a kol., 2005a; Murphy a kol., 2006; Prandini a kol., 2009).
- Divoké kmeny plísní, jejichž růst je cíleně podporován při výrobě určitých druhů sýrů ze syrového mléka, za účelem udržení jejich osobitosti a chráněného označení. Tato kategorie sýrů je náchylnější k obsahu zvýšeného množství mykotoxinů, vzhledem k značné diverzitě druhů plísní a také z důvodu přítomnosti neznámých druhů plísní, které se na jejich produkci podílí a jsou zapojeny do procesu zrání (Pattono a kol., 2013).
- Komerčně využívané kmeny, které jsou záměrně přidávány ke startovacím kulturám a které za určitých podmínek mohou produkovat mykotoxiny. U *P. roqueforti*, které je používáno k produkci sýru Roquefort (Francie), Stilton (Velká Británie), Tulum (Turecko), Gorgonzola (Itálie) aj., byla zjištěna za podmínek *in vitro* produkce některých mykotoxinů jako např. roquefortin, PR-toxin, patulin (O'Brien a kol., 2006). U *P. camemberti* byla prokázána produkce kyseliny cyklopiazonové, a to nejen v podmínkách *in vitro*, ale i v určitém množství ve vzorcích sýrů camembertského typu (Sengun a kol., 2008). Některé mikromycety se používají i k ochraně sýra před vysycháním a před růstem nežádoucí povrchové mikrobioty (Klimešová a kol., 1996).

2.2.2 Výskyt mykotoxinů v mléce

2.2.2.1 Aflatoxiny v mléce

Jak již bylo uvedeno výše, AF patří mezi nejčastěji se vyskytující mykotoxiny v mléce. Pokud jsou laktující zvířata krmena krmivem obsahujícím AFB₁, vzniká z něj v organismu hydroxylací AFM₁, který je dobře rozpustný ve vodě, což dovoluje jeho snadnou exkreci mlékem. AFM₁ je nejčastěji prokazovaným AF v mléce (Coffey a kol., 2009), avšak i část AFB₁ může být do mléka vylučována. Např. Scaglioni a kol. (2014) jej detekovali v pasterizovaném a UHT mléce v průměrném množství 1,476, resp. 0,690 µg/l. Dalším metabolitem, který je detekován v mléce, je AFM₂.

Prokazatelný výskyt AFM₁ ve vzorcích mléka a mléčných výrobků se v řadě evropských zemí (Portugalsko, Turecko, Itálie a Chorvatsko) relativně snížil. Naproti tomu studie v asijských zemích (Čína, Thajsko, Tchaj-wan) potvrzují přítomnost mykotoxinů až ve 100 % vzorků (**Tabulka 4**). Flores-Flores a kol. (2015) uvádí alarmující koncentrace nejen AF (AFM₁, AFB₁, AFB₂), ale i ZEN, OTA, i v dalších rozvojových oblastech světa.

Tabulka 4 Kontaminace mléka aflatoxinem M₁ v různých zemích

Země	Vzorek	Vyšetřených	Pozitivních		Literatura
			n	%	
Srbsko	PM	36	35	97,2	Kos a kol. (2014)
	UHT	70	69	98,5	
	SM	40	40	100,0	
	SM	678	382	56,3	Tomaservic a kol. (2015)
Chorvatsko	SM	3543	72	2,0	Bilandzic a kol. (2010)
Portugalsko	UHT	40	11	27,5	Duarte a kol. (2013)
Španělsko	UHT	72	68	94,4	Cano-Sancho a kol. (2010)
Turecko	UHT	129	75	8,1	Ertas a kol. (2011)
	UHT	100	67	67,0	Unusan (2006)
Írán	SM	111	85	76,6	Kamkar (2006)
	PM	116	83	71,5	Fallah (2010)
	UHT	109	68	62,3	

Země	Vzorek	Vyšetřených	Pozitivních		Literatura
			n	%	
Súdán	SM	44	42	95,5	Elzupir a Elhussein (2010)
Pákistán	SM	107	76	71,0	Iqbal a kol., (2013)
Thajsko	SM	240	240	100,0	Ruangwises a Ruangwises (2010)
Čína	SM	12	12	100,0	Pei a kol. (2009)
	SM	200	45	32,5	Han a kol. (2013)
	UHT	153	84	54,9	Zheng a kol. (2013)
	PM	26	25	96,2	
Brazílie	PM	30	26	87,0	Iha a kol. (2013)
	UHT	17	13	76,0	
	UHT	75	23	30,7	Oliveira a kol. (2013)
	UHT	152	133	87,5	Silva a kol. (2015)

UHT – ultra heat temperature; SM – syrové mléko; PM – pasterizované mléko

2.2.2.2 Ostatní mykotoxiny v mléce

OTA je do mléka vylučován v nízkých koncentracích, což dokládá např. studie provedená v Itálii. Patton a kol. (2013) analyzovali vzorky mléka z tržní sítě - 63 vzorků mléka z ekologických farem a 20 vzorků mléka z konvenční zemědělské produkce. Přítomnost OTA byla prokázána ve třech vzorcích mléka z ekologické produkce v množství od 0,7 do 0,11 µg/l. U konvenčních vzorků nebyl výskyt OTA potvrzen v žádném vzorku mléka. K podobným výsledkům dospěli ve Francii i Boudra a kol. (2007).

FB nepatří mezi časté kontaminanty mléka a jejich výskyt v mléce tudíž není příliš prostudován. Je však třeba podotknout, že ve všech zkoumaných případech, kdy k vylučování FB mlékem došlo, byly zjištěné mezní hodnoty velmi vysoké, v rozpětí 1-50 µg/kg mléka. Hammer a kol. (1996) záměrně podávali dojnícím vysoké dávky FB₁ (3 mg/kg krmiva). Byly zjištěny hodnoty 0,05 % pro vylučování FB₁ mlékem. Gazzotti a kol. (2009) vyvinuli metodu k průkazu a kvantifikaci FB₁ ve vzorcích mléka pomocí kapalinové chromatografie – hmotnostní spektrometrie. Z deseti analyzovaných vzorků bylo osm kontaminovaných nad mezní hodnoty (0,26 µg/kg).

Jelikož FB₁ a FB₂ vykazují značnou odolnost vůči tepelnému ošetření, např. vůči pasterizaci (62 °C/30 minut) (Maragos a Richard 1994), a s ohledem k jejich zařazení mezi potenciální karcinogeny, představuje jejich výskyt v mléce pro konzumenty vysoké zdravotní riziko. Proto je metodika jejich stanovení, jakožto i následná legislativní regulace mezních hodnot, zcela zásadní.

ZEN rovněž nepatří mezi časté kontaminanty mléka. Přesto byl opakovaně prokázán ve vzorcích syrového, pasterizovaného i sušeného mléka např. v Číně (Huang a kol., 2014). Kontaminace byla hlášena i v Argentině, kdy Signorini a kol. (2012) zjistili, že koncentrace ZEN v syrovém mléce byla 0,125 µg/l. Výsledky uvedených studií korespondují s příznivými klimatickými podmínkami pro produkci ZEN v daných oblastech.

Trichotheceny, stejně jako ostatní mykotoxiny v mléce, pocházejí především z kontaminovaného krmiva. To, v kombinaci s fyziologickou nerovnováhou organismu dojnice, může vést k jejich vyššímu obsahu v mléce. Obecně se však mléko za zásadní zdroj těchto mykotoxinů nepovažuje. Nedávné studie ukázaly, že u zvířat, která jsou krmena krmivy, jež obsahují trichotheceny (DON nebo T-2), dochází k jejich biotransformaci a vylučování mlékem (Danicke a Brezina, 2013).

Seeling a kol. (2006a) ve své studii zkoumali míru vylučování DON do mléka a zjistili, že DON se v mléce nejčastěji vyskytuje jako metabolit de-epoxy-DON, a to v zanedbatelném množství. Signorini a kol. (2012) prokázali i přítomnost nemetabolizované formy DON v mléce.

Vysoký výskyt DON v obilninách určených ke krmení zvířat naznačuje potřebu dalších studií, vyhodnocujících rizika vylučování tohoto mykotoxinu mlékem (Soleimany a kol., 2012). S tím souvisí i potřeba legislativního ukotvení limitů pro tyto mykotoxiny.

2.2.3 Výskyt mykotoxinů v sýrech

V sýrech bylo detekováno několik druhů mykotoxinů (**Tabulka 5**). Mezi nejzávažnější z nich patří AFM₁ a OTA. Jsou produkovány mikromycetami, které pochází jednak z přímé kontaminace sýrů (původci kažení), a dále z kontaminace nepřímé, tedy primárně jako důsledek zaplísňeného krmiva. Za kažení sýrů jsou zodpovědné především plísňe patřící do rodu *Penicillium*, které jsou velmi dobře adaptované na růst v syrové hmotě.

Tabulka 5 Příklady mykotoxinů ve vybraných sýrech

Druh sýra	Producent	Mykotoxin	Koncentrace	Literatura
italský bílý sýr	<i>P. camemberti</i>	CPA	0,02 – 0,08 mg/kg	Zambonin a kol. (2001)
turecký sýr	<i>Aspergillus</i> sp.	AFM ₁	58 – 850 ng/kg	Aydemir a kol. (2010)
polotvrdý sýr	<i>Penicillium</i> sp.	patulin OTA	15 – 460 µg/kg 1 – 262 µg/kg	Pattono a kol. (2013)
modrý sýr	n	OTA	0,2 – 0,3 µg/kg	Dall'Asta a kol. (2008)
sýr Tulum	<i>P. roqueforti</i>	patulin, kyselina penicilinová, PR toxin, roquefortin	roquefortin 2,1 – 3,8 mg/kg	Erdogan a kol. (2004)

CPA – cyklopiazonová kyselina; AFM₁ – aflatoxin M₁; OTA - ochratoxin ; n – neurčeno

Dvě nejčastěji používané kulturní plísně, *P. camemberti* a *P. roqueforti*, mají rovněž schopnost produkovat několik mykotoxinů. Např. *P. camemberti* produkuje cyklopiazonovou kyselinu, *P. roqueforti* produkuje roquefortin C a mykofenolovou kyselinu. Toxicita těchto mykotoxinů je však v porovnání s dvěma výše zmiňovanými nižší, navíc jsou produkovány ve velmi malých množstvích. Používání kulturních plísní je tedy obecně považováno za bezpečné.

Také v případě kontaminujících plísní, rostoucích na povrchu sýrů, nemusí nutně docházet k produkci mykotoxinů či jejich produkci ve vyšších množstvích. Produkce mykotoxinů je navíc zcela odlišná mezi jednotlivými zástupci mikromycet (Sweeney a Dobson, 1998).

2.2.3.1 Mykotoxiny potenciálně produkované kulturními plísněmi

Roquefortin C je nejběžnějším metabolitem produkovaným zástupci rodu *Penicillium* – produkce je popsána u 25 z 58 zástupců. Podle Scott (1979) všechny studované kmeny *P. roqueforti* produkují roquefortin C a jeho prekurzor roquefortin D. Roquefortin C byl detekován v sýrech s modrou plísní, v sýru Manchego. Ve finských sýrech dokonce hladiny tohoto mykotoxinu dosahovaly 12000 µg/kg (Kokkonen a kol., 2005). Účinky roquefortinu C jsou neurotoxické (Frisvad a kol., 2007).

Mykofenolová kyselina je podle některých studií produkována *P. roqueforti* (Lopez-Diaz a kol., 1996). Její toxicita je nízká a je využívána jako imunosupresivum při transplantacích (Bentley, 2000).

PR toxin, který je rovněž produkován *P. roqueforti*, je nestabilní a v prostředí sýrů je přeměňován na méně toxickou molekulu, PR imin (Kokkonen, 2005).

Cyklopiazonová kyselina je produkována *P. cyclopium*, některými kmeny *P. camemberti* a některými druhy rodu *Aspergillus*. U lidí je zřejmě zodpovědná za akutní mykotoxikózu, označovanou jako „kodu“, projevující se nervovými příznaky (třes, poruchy řeči aj.) (Spahr a kol., 2000).

2.2.3.2 Mykotoxiny přítomné v sýrech jako důsledek kontaminace plísněmi

Aflatoxiny

Přítomnost AFM₁ v sýrech byla popsána řadou studií (**Tabulka 6**), avšak velmi málo studií se zabývalo přítomností AFG₁ a AFB₁ v sýrech. Navíc se jednalo o záměrné přidávání těchto metabolitů do sýrů s následným sledováním jejich stability v čase. Např. bylo zjištěno, že v sýrech švýcarského typu zůstaly oba metabolity v průběhu skladování stabilní (Lieu a Bullerman, 1977).

Vzhledem k tomu, že se AFM₁ silně váže na mléčný kasein, jeho koncentrace se během výroby sýrů v sýřenině zvyšuje (Sengun a kol., 2008). To může vést až k trojnásobné koncentraci AFM₁ u mnoha měkkých sýrů a dokonce až k pětinasobné koncentraci u tvrdých sýrů v porovnání s mlékem, ze kterého byly sýry vyrobeny (Govaris a kol., 2001; Lopez-Díaz, a kol., 1996).

Tabulka 6 Výskyt aflatoxinu M₁ v sýrech ve vybraných zemích

Země	Vzorek	Vyšetřených	Pozitivních		Literatura
			n	%	
Kuwajt	bílý sýr	40	32	80,0	Dashti a kol. (2009)
Turecko	sýr	72	68	94,4	Ertas a kol. (2011)
	krémový sýr	100	99	99,0	Tekinsen a Ucar (2008)
Írán	bílý sýr	116	93	80,1	Fallah a kol. (2011)
	krémový sýr	94	68	72,3	
	sýr	88	47	53,4	Rahimi a kol. (2009)
	bílý sýr	50	30	60,0	Tavakoli a kol. (2012)
Líbie	sýr	20	15	75,0	Elgebri a kol. (2004)
Pákistán	bílý sýr	120	93	78,0	Iqbal a kol., (2013)
	krémový sýr	150	89	59,0	
Řecko	sýr feta	54	0	0	Kaniou-Grigoriadou a kol. (2005)
Brazílie	sýr	10	3	30	Jager a kol. (2013)

Množství AFM₁ v sýrech se liší v závislosti na kontaminaci mléka a technologii výroby, jako je tepelná úprava, délka zrání apod. (Sarimehmetoglu a kol., 2004; Fallah a kol., 2011). Iha a kol. (2013) vyhodnocovali stabilitu AFM₁ v sýrech druhu Minas a zjistili, že po 28 dnech došlo ke snížení koncentrace AFM₁ o 3,2 %. Naproti tomu Oruc a kol. (2006) popsali relativně stabilní koncentrace u dvou druhů sýra i po dlouhé době zrání (60, resp. 90 dní).

Ačkoliv různé druhy sýrů mohou obsahovat AFM₁, jde ve většině případů o nízké množství, které neohrožuje zdraví lidí. V některých studiích však byly prokázány vyšší koncentrace AFM₁, a to typicky u sýrů vyrobených ze syrového mléka, často opatřených chráněným označením např. zeměpisným, původu. Anfossi a kol. (2012) zjistili, že sýry z řemeslné výroby obsahovaly více AFM₁ než sýry z průmyslové výroby, a to bez ohledu na roční období. Z těchto důvodů by riziko spojené s AFM₁ nemělo být podceňováno.

Sterigmatocystin je mykotoxin strukturálně podobný AF, avšak je méně toxický. Je produkován některými druhy rodu *Aspergillus*, především *A. versicolor* (Veršilovskis a De Saeger, 2009). V některých studiích byla prokázána jeho přítomnost během zrání sýrů (Goudy a Edamu). V sýrech může být stabilní i tři měsíce. Nízké teploty okolo 5 °C omezují růst *A. versicolor* i produkci mykotoxinu. Sterigmatocystin je pravděpodobným karcinogenem lidí.

Citrinin může být produkován řadou druhů rodu *Penicillium*, a dále některými zástupci *Aspergillus* sp. (Manabe, 2001). V sýrech jsou známými producenty pouze *P. citrinum* a *P. verrucosum*. Citrinin vykazuje v sýrech, včetně kozích, vysokou stabilitu (Bailly a kol., 2002).

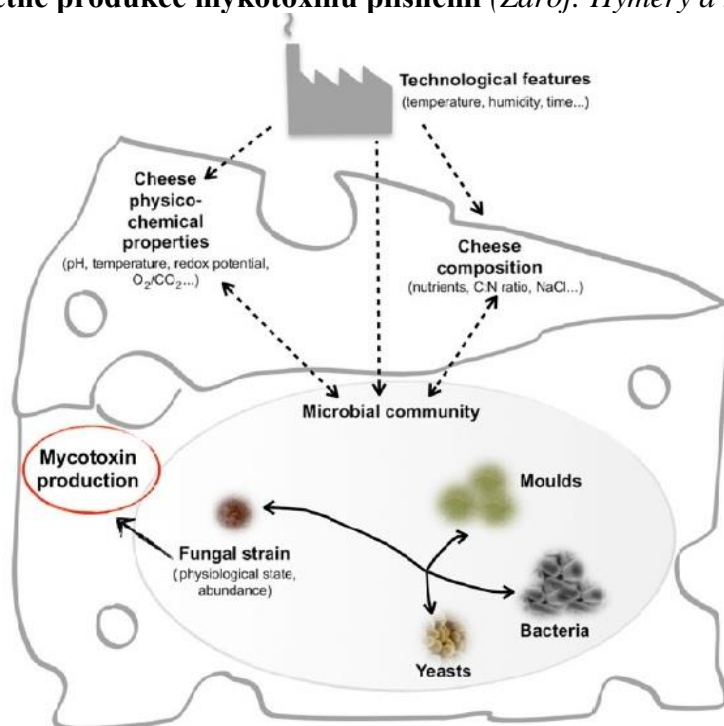
OTA je produkován zástupci rodů *Aspergillus* a *Penicillium*. V sýrech bývá prokazován jako producent zejména *P. nordicum* (Cabanes a kol., 2010). OTA byl detekován v různých komerčních vzorcích sýrů s modrou plísní (Gorgonzola a Roquefort), avšak pouze ve velmi nízkých koncentracích (Dall'Asta a kol., 2008). Konzumace sýrů tedy není považována za významný zdroj OTA.

2.2.3.3 Faktory ovlivňující produkci mykotoxinů v sýrech

Růst plísní a produkce mykotoxinů v potravinách je ovlivňována mnoha faktory včetně biotických a abiotických faktorů (Filtenborg a kol., 1996). Biotické faktory u sýrů zahrnují schopnost daného kmene produkovat mykotoxiny, fyziologický stav plísně a také interakce s dalšími zástupci sýrové mikrobioty (**Obrázek 2**).

Abiotické faktory, které pravděpodobně modulují produkci mykotoxinů v sýrech, lze rozdělit na výrobní a environmentální faktory, jako je teplota, relativní vlhkost, délka zrání a skladovací atmosféra používaná při výrobě sýrů, jakož i fyzikálně-chemické faktory samotného sýra, včetně chemického složení (obsah uhlíku, dusíku, NaCl aj.), pH, vodní aktivity (a_w) a redox potenciálu. Vzhledem k obrovské variabilitě v druzích sýrů, kdy je celosvětově známo více než 1000 různých variet sýrů, a tedy i vlastnostech daných sýrů, je složité určit obecné schéma abiotických faktorů. Např. sýry zrající na povrchu zahrnují měkké, polotvrdé i tvrdé druhy sýrů a zrají při relativní vlhkosti od 80 % do 90 % a při teplotě 4–20 °C po dobu 14 až více než 500 dní dle druhu sýra (Robinson, 1995).

Obrázek 2 Vnitřní a vnější faktory ovlivňující mikrobiální společenství v sýrech včetně produkce mykotoxinů plísněmi (Zdroj: Hymery a kol., 2014)



Sýry byly donedávna považovány za málo vhodný substrát pro tvorbu mykotoxinů, vzhledem k nízkému C/N poměru a nízkým teplotám zrání (Finoli a kol., 1999). Různé druhy a různé kmeny plísní však mají schopnost růst dobře i v tomto prostředí a produkovat mykotoxiny.

Významnou roli v produkci mykotoxinů hraje teplota. Při chladničkových teplotách je produkce mykotoxinů nízká nebo žádná, při 12 °C je střední a při 20 °C optimální (Finoli a kol., 1999).

Vliv a_w a pH na produkci mykotoxinů v sýrech není příliš prozkoumán. Většina plísní, které rostou v sýrech, je tolerantní k vyšším koncentracím solí a mohou růst v relativně nízkých podmínkách a_w (Schmidt a kol., 2008).

Složení atmosféry (hladiny CO_2 a O_2) může významně ovlivnit produkci mykotoxinů. Balení do modifikované atmosféry, které kombinuje inhibiční efekt nízké hladiny O_2 a zvýšeného CO_2 , je často používáno jako překážková technologie k zabránění růstu plísní způsobujících kažení sýrů. Taniwaki a kol. (2001) srovnávali produkci mykotoxinů *A. flavus*, *P. roqueforti* a *P. commune* v plátkovém Cheddaru za podmínek normální atmosféry a kombinace CO_2 (20 % nebo 40 %) a O_2 (1 % nebo 5 %). Produkce mykotoxinů byla výrazně snížena v podmínkách modifikované atmosféry v porovnání s normální atmosférou.

V neposlední řadě i mikrobiální interakce hrají důležitou roli v kvalitě sýrů a jejich bezpečnosti. Sýrová mikrobiota nebo přídavek ochranných kultur může tvořit překážkový efekt (kompetitivní interakce, produkce inhibičních sloučenin) pro potenciálně toxigenní plísňové kontaminanty (Irlinger a Mounier, 2009).

2.2.4 Výskyt mykotoxinů v ostatních mléčných výrobcích

Kromě sýrů, také další mléčné výrobky, jako smetana, máslo, jogurty, zmrzliny aj., mohou obsahovat AFM_1 (Tabulka 7). Studií zaměřených na přítomnost AFM_1 v těchto potravinách však není mnoho.

Tabulka 7 Výskyt aflatoxinu M₁ v ostatních mléčných výrobcích

Země	Vzorek	Vyšetřených	Pozitivních		Literatura
			n	%	
Itálie	kojenecká výživa	185	2	1,1	Meucci a kol. (2010)
Pákistán	máslo	74	33	45,0	Iqbal a kol., (2013)
	jogurt	96	59	61,0	
Turecko	jogurt	50	28	56,0	Ertas a kol. (2011)
	mléčný dezert	50	26	52,0	Tekinsen a Ucar (2008)
	máslo	92	92	100,0	
	jogurt	80	70	87,5	Atasever a kol. (2011)
Brazílie	sušené mléko	12	12	100,0	Iha a kol. (2013)
	kojenecká výživa	7	0	0	Jager a kol. (2013)
	sušené mléko	4	2	50,0	

Govaris a kol. (2002) studovali po dobu čtyř týdnů stabilitu AFM₁ v jogurtech, které byly vyrobeny z uměle kontaminovaného mléka (0,05 a 0,1 g AFM₁/l mléka). Byly hodnoceny jogurty s pH 4,0 a 4,6. Ve vzorcích jogurtu došlo k statisticky významnému ($P < 0,01$) poklesu hladin AFM₁ v porovnání s hodnotami v kontaminovaném mléce. Růst bakterií mléčného kvašení nebyl přítomností AFM₁ ovlivněn, s výjimkou *Streptococcus thermophilus* u jogurtu s vyšší koncentrací AFM₁. Během fermentace bylo zjištěno, že AFM₁ byl statisticky významně nižší ($P < 0,01$) v jogurtech s pH 4,0 v porovnání s jogurty s pH 4,6 pro obě kontaminující koncentrace. V průběhu skladování byl AFM₁ stabilnější v jogurtech s pH 4,6 v porovnání s jogurty s pH 4,0. Pokles z iniciálního množství AFM₁ v mléce byl stanoven v jogurtech s pH 4,6 a 4,0 (i) jednak na konci fermentace – na přibližně 13, resp. 22 %, a dále (ii) na konci doby skladování – na 16, resp. 34 %.

V Turecku byly na přítomnost AFM₁ testovány vzorky jogurtů (n=80) a ayranu (jogurtového nápoje; n=80), náhodně nakoupené v tržní síti (Atasever a kol., 2011). Přítomnost AFM₁ na detekovatelné hladině (5 ng/kg) byla zjištěna v 87,5 % vzorků jogurtů a v 90 % vzorků jogurtového nápoje. Hodnoty AFM₁ u 20 % vzorků jogurtů a u 13,6 % vzorků jogurtových nápojů dokonce překročily maximální povolený limit. Zjištěné vysoké počty pozitivních vzorků u mléčných výrobků přímo z tržní sítě představují důležitý problém z hlediska veřejného zdraví. Proto jsou mléčné produkty na přítomnost AFM₁ rutinně kontrolovány příslušnými autoritami.

Podobné výsledky byly získány i u másla v další studii prováděné v Turecku (Tekinsen a Ucar, 2008). Detekovatelné hladiny (10 ppt) AFM₁ byly prokázány ve všech z 92 analyzovaných vzorků másla, zakoupených v tržní síti v pěti velkých tureckých městech. Hodnoty se pohybovaly v rozpětí 10 – 7000 ng/kg. U 28 % vzorků hodnoty přesáhly povolené maximální limity.

Poněkud příznivější výsledky získali Atasever a kol. (2010), kteří prokázali přítomnost AFM₁ v 66 (82,5 %) z 80 vyšetřených vzorků másla. Hodnoty se pohybovaly v rozpětí 10 – 121 ng/kg a u 13 vzorků (16,3 %) překročily povolený maximální limit.

Iha a kol. (2013) zjišťovali přítomnost AFM₁ v mléce (tekutém a sušeném) a dále v dětské výživě z tržní síti v Brazílii. Rovněž prověřovali stabilitu tohoto mykotoxinu při výrobě sýrů a jogurtů. AFM₁ byl detekován u 83 % vzorků (>3 ng/kg) s hladinami v rozpětí 8–437 ng/kg pro mléko a 20–760 ng/kg pro sušené mléko. Vyšší hodnoty v sušeném mléce lze vysvětlit jednak odolností mykotoxinu k vysoké teplotě a jednak zahuštěním v důsledku odpařování vody z mléka (Flores-Flores a kol., 2015). V dětské výživě nebyl AFM₁ detekován. Zpracování a skladování mělo pouze malý vliv na obsah AFM₁ v mléčných výrobcích. Celkové množství AFM₁ bylo redukováno o 3,2 % v sýrech a o 6 % v jogurtech (pH 4,4).

2.2.5 Kontrola mykotoxinů v mléce a mléčných výrobcích

Dodržování zásad správné krmivářské praxe je k zamezení přítomnosti mykotoxinů v krmivech a následně v mléce (především AFM₁) nezbytným prvním krokem. Mykotoxigenní plísně jsou schopny růst na rostlinném materiálu již na poli, tj. před sklizní, dále během sklizně, skladování a zpracování do krmiv (Jouany, 2007). Kontrola mykotoxinů během sklizně a po sklizni proto zahrnuje: časnou sklizeň, která obvykle zaručuje nízké koncentrace mykotoxinů; vysokou výšku řezu rostlin zamezující kontaminaci zeminou, odstraňování poškozených zrn, které bývají plísněmi napadány; nízkou vlhkost a nízkou teplotu při skladování (Jouany, 2007).

U kvalitních siláží je díky mléčné fermentaci a anaerobním podmínkám zabráněno růstu plísní. Bakterie mléčného kvašení jsou známé svou antifugální aktivitou a jejich použití je v současné době častější než použití chemických konzervantů (Kalac, 2011).

Např. ze siláže izolovaný *Lactobacillus casei* subsp. *pseudoplantarum* byl studován pro jeho schopnost inhibovat růst *A. flavus* subsp. *parasiticus* a jeho produkci AF (Gourama and Bullerman, 1997). Hlavním doporučením k zajištění bezpečné produkce siláží zůstává rychlé vytvoření stabilních anaerobních podmínek a aplikace kyseliny propionové, která je známá pro své antifugální účinky (Kalac, 2011).

Přísné dodržování hygienických standardů během celého potravinového řetězce umožňuje minimalizovat výskyt a růst plísní.

Skladovací teplota (5–7 °C) je důležité preventivní opatření (Sengun a kol., 2008). Růstu za těchto teplotních podmínek jsou schopni pouze zástupci rodu *Penicillium*, které ale představují menší problém vzhledem k tomu, že neprodukují AF. Mohou produkovat méně toxické a méně stabilní metabolity jako je kyselina mykofenolová. Nejen v rámci obchodního řetězce, ale rovněž na úrovni konzumenta musí být teplotní podmínky dodržovány.

Chemické konzervační látky je možno ke kontrole mykotoxinů používat (Sengun a kol., 2008). Např. pimarin (= natamycin, E235) produkovaný *Streptomyces natalensis*. Přípustná hodnota jeho denního příjmu je 0,3 mg/kg živé hmotnosti. Var a kol. (2006) zjistili inhibiční vliv pimarinu na růst plísní u vakuově baleného sýru Kashar během 5 měsíců zrání při 4 °C.

Různé konzervanty, jako kyseliny sorbová, benzoová, propionová, mohou inhibovat růst plísní. Růst plísní na povrchu sýrů může být dále redukován vysokou koncentrací NaCl, která sníží a_w požadované jak pro růst, tak pro produkci mykotoxinů (Sengun a kol., 2008).

Přítomnost O₂. Mykotoxiny produkující plísně patří mezi obligátní aeroby, tedy snížení koncentrace O₂ a/nebo zvýšení koncentrace dalších plynů (CO₂) redukuje růst a syntézu mykotoxinů. Z těchto důvodů je využíváno zejména vakuové balení a bylo prokázáno, že např. produkce roquefortinu C a kyseliny cyklopiazonové je tímto eliminována (Taniwaki a kol., 2001).

Rostlinné extrakty. Různé antimikrobiální složky bylin a koření jsou již dlouhou dobu používány k prevenci růstu plísní v sýrech (Sengun a kol., 2008). Např. bylo prokázáno, že eugenol a thymol ovlivňují růst a produkci citrininu u kmenů *P. citrinum* v různých druzích španělských sýrů. Eugenol se prokázal být účinnějším než thymol a výsledný efekt byl poplatný danému druhu sýra (Vazquez a kol., 2001).

Mikrobiální interakce. Vzájemné kompetice a/nebo inhibice mezi mikroorganismy může rovněž omezit růst plísní a produkci mykotoxinů (Sengun a kol., 2008). Především druhy patřící do rodů *Lactococcus* a *Lactobacillus* jsou v této aktivitě nejschopnější, a to díky produkci organických kyselin, soutěžení o živiny a produkce různých látek (Dalie a kol., 2010). Byla testována antifugální aktivita různých zástupců *Lactobacillus* spp. vůči různým druhům hub, nejen vláknitých, ale i kvasinkových např. *Kluyveromyces lactis*, *Rhodotorula mucilaginosa*. Např. *Lactobacillus harbinensis* vykazoval silný antifugální účinek vůči všem testovaným houbám v jogurtech. Další skupina bakterií používaných v mlékárenském průmyslu, propionové bakterie, jsou široce používané k produkci sýrů švýcarského typu. Fermentují glycerol na kyselinu propionovou, tím dochází k snížení pH, což působí na růst kvasinek a plísní (Lind a kol., 2010).

2.2.6 Dekontaminace, odstranění mykotoxinů z mléka a mléčných výrobků

Jakmile se mykotoxiny v potravinách již vytvoří, proces dekontaminace je velmi náročný nebo i nemožný, a to vzhledem k odolnosti mnoha známých mykotoxinů vůči extrémním environmentálním podmínkám i vůči fyzickým a biologickým postupům navržených konkrétně k jejich deaktivaci (Kabak, 2010).

Známé inaktivační strategie využívají řadu fyzikálních, biologických a chemických metod vedoucích k odstranění již vytvořených mykotoxinů z potravin.

Z fyzikálních faktorů se při dekontaminaci uplatňují tepelné úpravy, ozáření UV paprsky, rentgenovými paprsky a gama paprsky; u nich byla prokázána schopnost snížit hladinu AFB₁ v potravinách, ale dostalo se jim pouze omezené pozornosti na základě veřejného mínění o ozářených potravinách (Jard a kol., 2011).

Pasterizace mléka je dostačující k inaktivaci většiny plísní a jejich spór, přítomných v syrovém mléce (Engel a Teuber, 1991). Některé plísně však produkují spóry odolné k záhřevu např. *Bissochlamys fulva*, která odolává i tepelným úpravám při teplotě 90 °C po dobu pěti minut (Sant'Ana a kol., 2009). Někteří autoři prokázali snížení obsahu AFM₁ v rozsahu o 12–14 %, v závislosti na podmínkách tepelné úpravy (Iqbal a kol., 2015; Prandini a kol., 2009; Sengun a kol., 2008)

Biologická detoxifikace již vytvořených mykotoxinů představuje slibnou alternativu regulace výskytu mykotoxinu v mléčných výrobcích a vzbuzuje v současnosti zvýšený zájem výzkumu. Při této metodě se mykotoxiny odstraňují živými nebo mrtvými mikrobiálními buňkami, do jejichž buněčných stěn se mykotoxiny vstřebávají (Ismail a kol. 2016). Živé mikroorganismy jsou navíc schopné inaktivovat mykotoxiny nebo snížit jejich toxicitu prostřednictvím úplné nebo částečné enzymatické degradace (Sweeney a Dobson, 1998). Mnoho druhů bakterií, kvasinek a plísní vykazuje schopnost enzymatické degradace mykotoxinů (Ashiq, 2015). Např. prokázaná míra degradace u *Saccharomyces cerevisiae* byla 87–91 % pro OTA, FB₁ a FB₂ (Scott a kol., 1995). To může platit u těch mléčných výrobků, ve kterých jsou tyto kvasinky využívány v samotném procesu fermentace nebo zrání (Frohlich-Wyder, 2003). Vlastní účinnost při odstraňování konkrétních mykotoxinů z jednotlivých potravin je však třeba více prozkoumat.

K chemickým postupům dekontaminace patří např. amonizace, acidifikace, alkalizace, ozonizace, deaminace, ošetření chlórem, vystavení redukčním nebo oxidačním činitelům. Tyto způsoby ošetření jsou však obecně méně žádoucí z důvodu nákladnosti a praktických obtíží, spojených s tímto procesem (Jard a kol., 2011; Ashiq, 2015).

2.2.7 Legislativa a limity mykotoxinů

V rámci Evropské unie (EU) jsou maximální limity pro AF, DON, fumonisiny, OTA, patulin, T2, ZEN uvedeny v příslušných legislativních nařízeních, konkrétně se jedná o Nařízení Komise (ES) č. 1881/2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách. Pro mléko a mléčné výrobky je v tomto nařízení uveden maximální limit pouze pro AF v syrovém mléce, který činí 0,05 µg/kg. Hodnoty v oblastech mimo EU však mohou být poněkud odlišné (**Tabulka 8**).

V sýrech, AFM₁ je jediný mykotoxin, pro který byly maximální hladiny (0,05 a 0,5 ppb v mléce používaném pro výrobu sýrů v EU, resp. USA a Číně) stanoveny.

Vzhledem k toxicitě AFM₁ jsou v řadě zemí jeho hladiny v mléce a mléčných produktech přísně monitorovány.

Tabulka 8 Limity aflatoxinu M₁ v mléce a mléčných výrobcích dle zemí

Země	Maximální limit (µg/kg)	
	Mléko	Mléčné produkty
Česká republika	0,05	0,01 kojenecká výživa
Bulharsko	0,50	0,10 sušené mléko
Francie	0,05	0,03 kojenecká výživa
Švýcarsko	0,05	0,025 syrovátka 0,25 sýry 0,02 máslo
Turecko	0,05	0,25 sýry
Brazílie	0,50	5,0 sušené mléko
Argentina	0,05	0,50 mléčné produkty
Írán	0,50	-
Nigérie	1	-
Austrálie	0,05	0,02 máslo 0,25 sýry 0,40 sušené mléko 0,01 kojenecká výživa

Upraveno podle: Iqbal, 2015

3 ZÁVĚR

Bakalářská práce byla zaměřena na výskyt nejčastějších mykotoxinů v mléce a mléčných výrobcích, včetně cest kontaminace, preventivních opatření a možností dekontaminace.

Vzhledem ke skutečnosti, že mykotoxiny mohou vyvolávat velmi závažná onemocnění, je nezbytná jejich trvalá kontrola jak v krmivech, tak v surovinách a potravinách. Živočišné produkty, tedy i mléko a mléčné výrobky, obecně nepředstavují tak významný zdroj mykotoxinů, v porovnání s produkty rostlinného původu. Jak vyplývá i z řady studií, jejich obsah je poplatný dané zeměpisné oblasti, a tedy v rozvojových zemích, např. Egypt, Nigérie, je výskyt mykotoxinů i v mléce a mléčných výrobcích značný.

Nejběžnějšími a ze zdravotního hlediska nejrizikovější jsou aflatoxiny, pro které jsou v současnosti stanoveny maximální limity v mléce a některých mléčných výrobcích, jako např. sýrech, másle a mléčné kojenecké výživě. I díky těmto limitům se onemocnění vyvolávaná těmito mykotoxiny v Evropě téměř nevyskytují. Ostatní mykotoxiny v mléce a mléčných výrobcích nejsou v legislativních předpisech upraveny vůbec a nesleduje se tudíž ani jejich obsah v těchto potravinách. Bylo by proto vhodné se těmito mykotoxiny více zabývat, studovat jejich výskyt v mléce a mléčných výrobcích, a případně upravit legislativní opatření.

Vzhledem k tomu, že dekontaminace již přítomných mykotoxinů z finálních produktů je časově i finančně velmi náročný proces, je nezbytné se věnovat především preventivním krokům, které zajistí kvalitu a bezpečnost celého potravinového řetězce.

4 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- Abbas HK, Cartwright RD, Xie W, Shier WT. 2006. Aflatoxin and fumonisin contamination of corn (maize, *Zea mays*) hybrids in Arkansas. *Crop Prot.* 25, 1–9.
- Ashiq, S. 2015. Natural occurrence of mycotoxins in food and feed: Pakistan perspective. *Comprehensive Rev. in Food Sci. and Food Safety*, 14, 159-175
- Asi, M. R., Iqbal, S. Z., Ari-no, A., & Hussain, A. 2012. Effect of seasonal variations and lactation times on aflatoxin M₁ contamination in milk of different species from Punjab, Pakistan. *Food Control*, 25, 34-38.
- Atasever, M.A, Atasever, M, Özturan, K, Urcar, S. 2010. Determination of Aflatoxin M₁ Level in Butter Samples Consumed in Erzurum, Turkey. *Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.* 16, 159-162.
- Atasever, M.A, Atasever, M, Özturan, K. 2011. Aflatoxin M₁ levels in retail yoghurt and ayran in Erzurum in Turkey. *Turkish J. of Vet. and Animal Sciences.* 35, 59-62.
- Aydemir AM, Adigusal G, Atasever M, Ozturan K. 2010. Determination of aflatoxin M₁ levels in some cheese types consumed in Erzurum-Turkey. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 16, 87–91.
- Bailly, JD, Querin, A, Le Bars-Bailly, S, Benard, G, & Guerre, P 2002. Citrinin production and stability in cheese. *J. of Food Protect.*, 65, 1317-1321.
- Benkerroum, N. 2016. Mycotoxins in dairy products: A review. *Int. Dairy J.*, 62, 63-75.
- Bentley R. 2000. Mycophenolic acid: A one hundred year odyssey from antibiotic immunosuppressant. *Chem. Rev.* 100, 3801–25.
- Bilandzic N, Varenina I, Solomun B. 2010. Aflatoxin M₁ in raw milk in Croatia. *Food Control* 21, 1279–81.
- Bolger M, CokerRD, Dinovi M, Gaylor D, GelderblomWCA, OlsenM, PasterN,Riley RT, Shephard G, Speijers GJA. 2001. Fumonisin. In: Safety Evaluation of Certain Mycotoxins in Food, WHO Food Additives Series 47, FAO Food and Nutrition Paper 74, Prepared by the 56th Meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), WHO, Geneva, Switzerland, 103-279.
- Boudra H, Barnouin J, Dragacci S, Morgavi DP. 2007. Aflatoxin M₁ and Ochratoxin A in raw bulk milk from French dairy herds. *J. Dairy Sci.* 90, 3197–201.
- Brase, S, Encinas, A, Keck, J, & Nising, CF 2009. Chemistry and biology of mycotoxins and related fungal metabolites. *Chem. Rev.* 109, 3903-3990.
- Buchta, V, Sláviková, E, Vadkartiová, R, Alt, S, Jílek, P. 1996. *Zygosaccharomyces bailii* a a potential spoiler of mustard. *Food Microbiol.* 13, 133-135
- Buchta, V., Žák, P., Kohout, A., Otčenášek, M. 2001. Disseminated infection of *Blastoschizomyces capitatus* in a patient with acute myelocytic leukemia. *Mycoses*, 44: 505-512.
- Cabanes FJ, Bragulat MR, Castell'a G. 2010. Ochratoxin A producing species in the genus *penicillium*. *Toxins* 5, 20-1111.
- Cano-Sancho G, Marin S, Ramos AJ, Peris-Vicent J, Sanchis V. 2010. Occurrence of aflatoxin M₁ and exposure assessment in Catalonia (Spain). *Rev. Iberoam. Micol.* 27(3), 130–5.
- Clark, HA, & Snedeker, SM 2006. Ochratoxin a: Its cancer risk and potential forexposure. *J. of Toxicology and Environ. Health. Part B, Critic. Revi.*, 9, 265-296.

- Coffey R, Cummins E, Ward S. 2009. Exposure assessment of mycotoxins in dairy milk. *Food Control* 20, 239–49.
- Dalie DKD, Deschamps AM, Richard-Forget F. 2010. Lactic acid bacteria – Potential for control of mould growth and mycotoxins: a review. *Food Control* 21, 370–80.
- Dall'Asta C, De Dea Lindner J, Galaverna G, Dossena A, Neviani E, Marchelli R. 2008. The occurrence of ochratoxin A in blue cheese. *Food Chem.* 106, 729–34.
- Danicke S, Brezina U. 2013. Kinetics and metabolism of the Fusarium toxin deoxynivalenol in farm animals: consequences for diagnosis of exposure and intoxication and carry over. *Food and Chem Toxicol* 60, 58–75.
- Dashti B, Al-Hamli S, Alomirah H, Al-Zenki S, Abbas AB, Sawaya W. 2009. Levels of aflatoxin M₁ in milk, cheese consumed in Kuwait and occurrence of total aflatoxin in local and imported animal feed. *Food Control* 20, 686–90.
- Dashti, B, Al-Hamli, S, Alomirah, H, Al-Zenki, S, Abbas, A.B, Sawaya, W. 2009. Levels of aflatoxin M₁ in milk, cheese consumed in Kuwait and occurrence of total aflatoxin in local and imported animal feed. *Food Control* 20, 686–90.
- Duarte, SC Lino, CM, Pena, A. 2012. Food safety implications of ochratoxin A in animal-derived food products. *Vet. J.*, 192, 286-292.
- Duarte SC, Almeida AM, Teixeira AS, Pereira AL, Falcao AC, Pena A, Lino CM. 2013. Aflatoxin M₁ in marketed milk in Portugal: Assessment of human and animal Exposure. *Food Control* 30, 411–7.
- Dvořáčková, I. 1990 *Aflatoxins and human health*. Boca Raton (Florida): RCC Press, 154pp. ISBN 0849346282
- Elgerbi AM, Aidoo KE, Candlish AAG, Tester RF. 2004. Occurrence of aflatoxin M₁ in randomly selected North African milk and cheese samples. *Food Addit. Contam.* 21, 592–7.
- Elzupir AO, Elhussein AM. 2010. Determination of aflatoxin M₁ in dairy cattle milk in Khartoum State, Sudan. *Food Control* 21,945–6.
- Engel, G., & Teuber, M. 1991. Heat resistance of ascospores of *Byssoschlamys nivea* in milk and cream. *Int. J. of Food Microbiol.*, 12, 225-233.
- Erdogan A, Sert S. 2004. Mycotoxin-forming ability of two *Penicillium roqueforti* strains in blue moldy tulum cheese ripened at various temperatures. *J. Food Prot.* 67, 533–5.
- Ertas N, Gonulalan Z, Yildirim Y, Karadal F. 2011. A survey of concentration of aflatoxin M₁ in dairy products marketed in Turkey. *Food Control* 22:1956–9.
- Faletto MB, Koser PL, Battula N, Townsend GK, Maccubbin AE, Gelbion HV. 1988. Cytochrome P3-450 cDNA encodes aflatoxin B₁ hydroxylase. *J. Biol. Chem.* 263,12-187
- Fallah, A A., (2010). Assessment of aflatoxin M₁ contamination in pasteurized and UHT milk marketed in central part of Iran. *Food and Chem. Toxicol.*, 48, 988-991.
- Fallah, AA, Rahnama, M, Jafari, T, & Saei-Dehkordi, SS. 2011. Seasonal variation of aflatoxin M₁ contamination in industrial and traditional Iranian dairy products. *Food Control*, 22, 1653-1656.
- Filtenborg O, Frisvad JC, Thrane U. 1996. Moulds in food spoilage. *Intl J Food Microbiol* 33:85–102.
- Finoli, C, Vecchio, A, Galli, A, & Franzetti, L. 1999. Production of cyclopiazonic acid by moulds isolated from Taleggio cheese. *J. of Food Prot.*, 62, 1198-1202.
- Flores-Flores, ME, Lizarraga, E, Lopez de Cerain, A, & Gonzalez-Penas, E. 2015. Presence of mycotoxins in animal milk: A review. *Food Control*, 53, 163-176.
- Frayssinet, C. In Cahagnier, B. Moisissures des aliments peu hydratés. 1998. Les mycotoxines Londres, New York, Paris. *Lavoisier-tec Doc*, 160-207

- Frisvad JC, Thrane U, Samson RA. 2007. Mycotoxin producers. In: Dijksterhuis J, Samson RA, editors. *Food mycology: A multifaceted look at fungi and food*. Boca Raton, Florida: CRC Press/Taylor and Francis, 135–59.
- Frohlich-Wyder, M-T. 2003. Yeasts in dairy products. In T. Boekhout, & V. Robert (Eds.), *Yeasts in food* (pp. 209-237). Cambridge, UK: Woodhead Publishing Ltd.
- Gazzotti T, Lugoboni B, Zironi E, Barbarossa A, Serraino A, Pagliuca G. 2009. Determination of fumonisin B1 in bovine milk by LC-MS/MS. *Food Control* 20, 1171–4.
- Gelderblom WCA, Jaskiewicz K, Marasas WFO, Thiel PG, Horak RM, Vleggaar R, Kriek NP. 1988. Fumonisin novel mycotoxins with cancer promoting activity produced by *Fusarium moniliforme*. *Appl Environ Microbiol.* 54, 1806–11.
- Ghiasian SA, Maghsood AH, Neyestani TR, Mirhendi SH. 2007. Occurrence of aflatoxin M₁ in raw milk during the summer and winter seasons in Hamadan. *Iran J. Food Safety* 27, 188–98.
- Gibel, W, Wegner, K, Wildner, G. P. 1971 Experimental studies on the cancerogenicity of *Penicillium camemberti* var. *candidum*. *Arch. Geschwulstforsch.*, 38, 1, 1-6
- Gourama H, Bullerman LB. 1997. Anti-aflatoxic activity of *Lactobacillus casei* pseudoplantarum. *Intl. J. Food Microbiol.* 34, 43-131.
- Govaris, A, Roussi, V, Koidis, PA, & Botsoglou, NA 2001. Distribution and stability of aflatoxin M₁ during processing, ripening and storage of Telemes cheese. *Food Add. and Contaminants*, 18, 437-443.
- Gul, O. 2014. Occurrence of aflatoxin M₁ in vacuum packed Kashar cheeses in Turkey. *Int. J. of Food Properties*, 17, 273-282
- Hammer P, Blüthgen A, Walte HG. 1996. Carryover of fumonisin B1 into the milk of lactating cows. *Milchwissenschaft* 51, 691–5.
- Han RW, Zheng N, Wang JQ, Zhen YP, Xu XM, Li SL. 2013. Survey of aflatoxin in dairy cow feed and raw milk in China. *Food Control* 34, 35–9.
- Huang, LC, Zheng, N, Zheng, BQ, Wen, F, Cheng, IB, Han RW. 2014. Simultaneous determination of aflatoxin M₁, ochratoxin A, zearalenone and α -zearalenol in milk by UHPLC-MS/MS *Food chem.*, 146, 242-249.
- Hymery, N, Masson, F, Barbier, G, Coton, E. 2014a. Cytotoxicity and immunotoxicity of cyclopiazonic acid on human cells. *Toxicology in Vitro*, 28, 940-947.
- IARC. 2002. *Monographs on the evaluation of the carcinogenic risks to humans*. Some traditional herbal medicines, some mycotoxins, naftalen and styren. Lyon, (France), 82. 601pp. ISBN 9283212827
- Iha, MH, Barbosa, CB, Okada, I A, Trucksess, MW. 2013. Aflatoxin M₁ in Milk and distribution and stability of aflatoxin M₁ during production and storage of yoghurt and cheese, *Food Control*, 29, 1-6.
- Iqbal, SZ, Asi, MR, Jinap, S. 2013. Variation of aflatoxin M₁ contamination in milk and milk products collected during winter and summer seasons. *Food Control*, 34, 714-718.
- Iqbal, SZ, Jinap, S, Pirouz, AA, Ahmad Faizal. AR. 2015. Aflatoxin M₁ in milk and dairy products, occurrence and recent challenges: a review. *Trends in Food science and technology*, 46, 110-119.
- Irlinger F, Mounier J. 2009. Microbial interactions in cheese: implications for cheese quality and safety. *Curr. Opin. Biotechnol.* 20, 8-142.
- Ismail, A, Akhtar, S, Levin, RE, Ismail, T., Riaz, M, Amir, A. 2016. Aflatoxin M₁: Prevalence and decontamination strategies in milk and milk products. *Critical Reviews in Microbiol.*, 42, 418-427.
- Jager AV, Tedesco MP, Souto PCMC, Oliveira CAF. 2013. Assessment of aflatoxin intake in São Paulo, Brazil. *Food Control* 33, 87–92.

- Jard, G, Liboz, T, Mathieu, F, Guyonvarch, A, Lebrihi, A. 2011. Review of mycotoxin reduction in food and feed: From prevention in the field to detoxification by adsorption or transformation. *Food Additives and Contaminants Part A*, 28, 1590-1609.
- Jaskard, CA, El-Nezami, HS, Kankaanpaa, PE, Salminen, S, Ahokas, IT. 2001. Surface binding of aflatoxin B₁ by lactic acid bacteria. *Applied and environmental Microbiolog.*, 67,3086-3091.
- Jouany J-P. 2007. Methods for preventing, decontaminating and minimizing the toxicity of mycotoxins in feeds. *Anim. Feed Sci. Technol* 137, 62-342.
- Kabak, B. 2010. Prevention and management of mycotoxins in food and feed. In M. Rai, A. M. Varma (Eds.), *Mycotoxins in food, feed and bioweapons*. Heidelberg, Germany: Springer.
- Kalac P. 2011. The effects of silage feeding on some sensory and health attributes of cow's milk: A review. *Food Chem.* 125, 307–17.
- Kamkar A. 2006. A study on the occurrence of aflatoxin M₁ in Iranian Feta cheese. *Food Control* 17, 768–75.
- Kaniou-Grigoriadou I, Eleftheriadou A, Mouratidou T, Katikou P. 2005. Determination of aflatoxin M₁ in ewe's milk samples and the produced curd and Feta cheese. *Food Control* 16, 61-257
- Klimešová, V, Svoboda, M, Waissner, K, Macháček, M, Buchta, V, Odlerová, Ž. 1996. Research on antifungal and antimycobacterial agents. Synthesis and activity of 4-alkylthiopyridine-2-carbothioamides. *Arch. Pharm. Pharm. Med. Chem.* 329, 438-442
- Kokkonen M, Jestoi M, Rizzo A. 2005. Determination of selected mycotoxins in mould cheeses with liquid chromatography coupled to tandem with mass spectrometry. *Food Addit Contam* 22, 449–56.
- Kokkonen, M, Jestoi, M, a Rizzo, A. 2005a. The effect of substrate on mycotoxin production of selected *Penicillium* strains. *International J. of Food Microbiol.*, 99, 207-214.
- Kos J, Levi J, Đuragi O, Koki B, Miladinovi I. 2014. Occurrence and estimation of aflatoxin M₁ exposure in milk in Serbia. *Food Control* 38, 41–60.
- Lieu, FY, Bullerman IB. 1977. Production and stability of aflatoxins, penicillic acid and patulin in several substrates. *J. of Food Science*, 42, 1222-1224.
- Lind H, Broberg A, Jacobsson K, Jonsson H, Schnürer J. 2010. Glycerol enhances the antifungal activity of dairy propionibacteria. *Intl. J. Microbiol.* 2010: 82-430873.
- Lopez, C, Ramos, L, Ramadan, S, Bulacio, L, a Perez, J. 2001. Distribution of aflatoxin M₁ in cheese obtained from milk artificially contaminated. *Int. J. of Food Microbiol.*, 64, 211-215.
- Lopez-Diaz, TM, Román-Blanco, C, García-Arias, MT, García-Fernandez, MC, Farcía-Lopez, MI 1996. Mycotoxins in two Spanish cheese varieties. *Int. J. of Food Microbiol.*, 30, 391-395.
- Mac Donald, S. J, Langton, S, Brereton, P. A. 2000. Assessment of Human Exposure to Ochratoxin A in the UK – Relationship between Dietary Intake and Plasma and Urine Levels. In: *Proceedings of the 10th International IUPAC symposium on Mycotoxins and Phycotoxins*, Guarujá, Brazil, 181-188
- Malekinejad H, Maas-Bakker R, Fink-Gremmels J. 2006. Species differences in the hepatic biotransformation of zearalenone. *Vet. J.* 172, 96–102.
- Malíř, F, a Ostrý V. 2003. *Vláknité mikromycety (plísňe), mykotoxiny a zdraví člověka*. Brno: Národní centrum ošetrovatelství a nelékařských zdravotnických oborů, ISBN 80-7013-395-3.
- Manabe M. 2001. Fermented foods and mycotoxins. *Mycotoxins* 51, 8-25.

- Maragos CH, Richard JL. 1994. Quantitation and stability of fumonisin B₁ and B₂ in milk. *J. AOAC Int.* 77, 1162–7
- Marin, S, Ramos, AJ, Cano-Sancho, G, & Sanchis, V. 2013. Mycotoxins: Occurrence, toxicology, and exposure assessment. *Food Chem. and Toxicol.*, 60, 218-237.
- Maul R, Warth B, Kant JS, Schebb NH, Krska R, Koch M, Sulyok M. 2012. Investigation of the hepatic glucuronidation pattern of the fusarium mycotoxin deoxynivalenol in various species. *Chem. Res. Toxicol.* 25, 2715-7.
- Meucci V, Razzuoli E, Soldani G, Massart F. 2010. Mycotoxin detection in infant formula milks in Italy. *Food Addit Contam.* 27, 64–71.
- Meucci V, Soldani G, Razzuoli E, Saggese G, Massar M. 2011. Mycoestrogen Pollution of Italian Infant Food. *J. Pediatrics* 159, 278–83.
- Murphy, PA, Hendrich, S, Landgren, C, & Bryant, CM 2006. Food mycotoxins: An update. *J. of Food Scien.*, 71, 51-65.
- Nařízení komise (ES) č. 1881/2006 ze dne 19. prosince 2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách. L364/15
- Nedělník J, Moravcová H. 2005. Problematika výskytu mykotoxinů v krmivech dojnice, Výzkumný ústav pícninářský, spol. s.r.o. Troubsko, *Veterinářství* 55, 214-219
- Niderkon V, Morgavi DP, Aboab B, Lemaire M, Boudra H. 2009. Cell wall component and mycotoxin moieties involved in the binding of fumonisin B₁ and B₂ by lactic acid bacteria. *J. Appl. Microbiol.* 106, 977–85.
- Nogueira S, Oliveira EMBPP. 2006. Prevalência de Ocratoxina A em alimentos e consequentes problemas de segurança alimentar. *Alimentacao Humana* 12, 69–75.
- O'Brien, M, Nielsen, KF, O'Kiely, P, Forristal, PD, Fuller, HT, & Frisvad, JC. 2006. Mycotoxins and other secondary metabolites produced in vitro by *Penicillium paneum* Frisvad and *Penicillium roqueforti* Thom isolated from baled grass silage in Ireland. *J. of Agric.l and Food Chem.*, 54, 9268-9276.
- Oliveira, CPD, Soares, NDFF, Oliveira, TVD, Baffa Júnior, JC, & Silva, WAD 2013. Aflatoxin M₁ occurrence in ultra high temperature (UHT) treated fluid milk from Minas Gerais/Brazil. *Food Control*, 30, 90-92.
- Ostrý, V, Ruprich, J, Černá, M. 1998. The determination of ultra – trace amounts of aflatoxin M₁ in human urine in The Czech Republic. *Revue Méd. Vét.*, 149, 6, 712
- Ostrý, V. 1999. Mikromycety, mykotoxiny a zdraví člověka. *Časopis Lékařů Českých*, s. 515-52. ISSN 0008-7335
- Patočka, J. 2004. *Vojenská toxikologie*. Praha, Grada. 178 s. ISBN 80-247-0608
- Pattono D, Grosso A, Stocco PP, Pazzi M, Zeppa G. 2013. Survey of the presence of patulin and ochratoxin A in traditional semi-hard cheeses. *Food Control* 33, 54–7.
- Pei SC, Zhang YY, Eremin SA, Lee WJ. 2009. Detection of aflatoxin M₁ in milk products from China by ELISA using monoclonal antibodies. *Food Control* 20,1080–5.
- Peng KY, Chen CY. 2009. Prevalence of Aflatoxin M₁ in Milk and Its Potential Liver Cancer Risk in Taiwan. *J. Food Prot.* 72, 1025–9.
- Prandini, A, Tansini, G, Sigolo, S, Filippi, L, Laporta, M, & Piva, G. 2009. On the occurrence of aflatoxin M₁ in milk and dairy products. *Food and Chem. Toxicol*, 47, 984-991.
- Rahimi E, Karim G, Shakerian A. 2009. Occurrence of aflatoxin M₁ in traditional cheese consumed in Esfahan, Iran. *World Mycotoxin J.* 2, 91–4.
- Rahimi E, Bonyadian M, Rafei M, Kazemeini HR. 2010. Occurrence of aflatoxin M₁ in raw milk of 5 dairy species in Ahvaz, Iran. *Food Chem. Toxicol* 48, 129–31.

- Richard JL. 2000. Mycotoxins: an overview. In: Richard JL, editor. *Romer labs' guide to mycotoxins*. Leicestershire: *Anytime Publishing Services*, 1–48.
- Robinson RK. 1995. *A colour guide to cheese and fermented milks*. London, UK: Chapman and Hall.
- Rodríguez A, Rodríguez M, Luque IM, Justesen AF, Córdoba JJ. 2011. Quantification of ochratoxin A-producing molds in food products by SYBR Green and TaqMan real-time PCR methods. *Int J. Food Microbiol.* 149, 226–35.
- Rodríguez A, Rodríguez M, Luque IM, Justesen AF, Córdoba JJ. 2011. Quantification of ochratoxin A-producing molds in food products by SYBR Green and TaqMan real-time PCR methods. *Int. J. Food Microbiol.* 149, 226–35.
- Ruangwises N, Ruangwises S. 2010. Aflatoxin M₁ Contamination in Raw Milk within the Central Region of Thailand. *Bull Environ. Contam. Toxicol.* 85,195–8.
- Sant'Ana, A. S., Rosenthal, A., & Massaguer, P. R. 2009. Heat resistance and the effects of continuous pasteurization on the inactivation of *Byssoschlamys fulva* ascospores in clarified apple juice. *J. of Applied Microbiol.*, 107, 197-209.
- Sarimehmetoglu B, Kuplulu O, Celik TH. 2004. Detection of aflatoxin M₁ in cheese samples by ELISA. *Food Control* 15, 9-45.
- Scaglioni, PT, Becker-Algeri, T, Drunkler, D, & Badiale-Furlong, E. 2014. Aflatoxin B₁ and M₁ in milk. *Analytica Chim. Acta*, 829, 68-74.
- Scott, PM, & Kennedy, PC 1976. Analysis of blue cheese for roquefortine and other alkaloids from *Penicillium roqueforti*. *J. of Agric. and Food Chem.*, 24, 865-868.
- Scott PM. 1989. The natural occurrence of trichothecenes. In: Beasley VR, editor. *Trichothecene mycotoxicosis: Pathophysiologic effects*, vol. I. Boca Raton, FL: *CRC Press, Inc.*, 1–26.
- Scott, PM, Kanhere, SR, Lawrance, GA, Daley, EF, & Farber, JM. 1995. Fermentation of wort containing added ochratoxin A and fumonisins B₁ and B₂. *Food Additives and Contaminants*, 12, 31-40.
- Seeling K, D'anicke S, Valenta H, van Egmond HP, Schothorst RC, Jekel AA, Lebzien P, Schollenberger M, Razzazi-Fazeli E, Flachowsky G. 2006a. Effects of *Fusarium* toxin-contaminated wheat and feed intake level on the biotransformation and carry-over of deoxynivalenol in dairy cows. *Food Addit Contam* 23, 1008–20.
- Sengun, IY, Yaman, DB, & Gonul, SA. 2008. Mycotoxins and mould contamination in cheese: A review. *World Mycotox. J.*, 1, 291-298.
- Seo JA, Lee YW. 1999. Natural occurrence of the C series of fumonisin in mouldy corn. *Appl. Environ. Microbil.* 65, 1331–4.
- Seo JA, Proctor RH, Plattner MR. 2001. Characterization of 4 clustered and co regulated genes associated with fumonisin biosynthesis in *Fusarium verticillioides*. *Fungal. Genet. Biol.* 34, 155–65.
- Shephard GS, Burger HM, Gambacorta L, Gong YY, Krska R, Rheeder JP, Solfrizzo M, Srey C, Sulyok M, Visconti A, Warth B, Westhuizen LVD. 2013. Multiple mycotoxin exposure determined by urinary biomarkers in rural subsistence farmers in the former Transkei, South Africa. *Food Chem. Toxicol.* 62, 217–25.
- Schmidt-Heydt M, Magan N, Geisen R. 2008. Stress induction of mycotoxin biosynthesis genes by abiotic factors. *FEMS Microbiol. Lett.* 284, 9-142.
- Signorini ML, Gaggiotti M, Molineri A, Chiericatti CA, Zapata De Basílico ML, Basílico JC, Pisani M. 2012. Exposure assessment of mycotoxins in cow's milk in Argentina. *Food Chem. Toxicol.* 50, 250–7.
- Silva MV, Janeiro V, Bando E, Machinski Jr M. 2015. Occurrence and estimative of aflatoxin M₁ intake in UHT cow milk in Paraná State, Brazil. *Food Control* 53, 222–5.

- Soleimany F, Jinap S, Faridah A, Khatib A. 2012. A UPLC-MS/MS for simultaneous determination of aflatoxins, ochratoxin A, zearalenone, DON, fumonisins, T-2 toxin and HT-2 toxin in cereals. *Food Control* 25, 647–53.
- Spahr U, Walther B, Sieber R. 2000. Transfert des mycotoxines dans le lait : Vue d'ensemble. *Rev. Suisse Agric.* 32, 75–8.
- Sweeney MJ, Dobson AD. 1998. Mycotoxin production by *Aspergillus*, *Fusarium* and *Penicillium* species. *Intl. J. Food Microbiol.* 43, 141–58.
- Taniwaki MH, Hocking AD, Pitt JI, Fleet GH. 2001. Growth of fungi and mycotoxin production on cheese under modified atmospheres. *Intl J Food Microbiol* 68, 33-125.
- Tavakoli HR, Riazipour M, Kamkar A, Shaldehi HR, Nejad AHM. 2012. Occurrence of aflatoxin M₁ in white cheese samples from Tehran, Iran. *Food Control* 23, 293–295.
- Tomasevic I, Petrovic J, Jovetic M, Raicevic S, Milojevic M, Miocinovic J. 2015. Two year survey on the occurrence and seasonal variation of aflatoxin M1 in milk and milk products in Serbia. *Food Control* 56,64–70
- Unusan N. 2006. Occurrence of aflatoxin M1 in UHT milk in Turkey. *Food Chem. Toxicol.* 44, 1897–900.
- Var I, Erginkaya Z, G'üven M, Kabak B. 2006. Effects of antifungal agent and packaging material on microflora of Kashar cheese during storage period. *Food Control* 17, 6-132.
- Vazquez, BI, Fente, C, Franco, CM, Vazquez, MJ, & Cepeda, A. 2001. Inhibitory effects of eugenol and thymol on *Penicillium citrinum* strains in culture media and cheese. *Int. J. of Food Microbiol.*, 67, 157-163.
- Velíšek, J, Hajšlová, J. 2009. *Chemie potravin 2*. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009. 623 s. ISBN 978-80-86659-16-9.
- Veršilovskis A, Van Peteghem C, De Saeger S. 2009. Determination of sterigmatocystin in cheese by high-performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Food Addit. Contam.* 26, 33-127.
- Wang E, Merrill AH. 2004. Fumonisin disrupt sphingolipid metabolism, folate transport, and neural tube development in embryo culture and in vivo: a potential risk factor for human neural tube defects among populations consuming fumonisin contaminated maize. *J. Nutr.* 134, 711–6.
- Xiong JL, Wang YM, Mac MR, Liu JX. 2013. Seasonal variation of aflatoxin M1 in raw milk from the Yangtze River Delta region of China. *Food Control* 34:703–6.
- Yiannikouris A, Jouany JP. 2002. Mycotoxins in feeds and their fate in animals: A review. *Anim. Res.* 52, 81–99.
- Zambonin CG, Monaci L, Aresta A. 2001. Determination of cyclopiazonic acid in cheese samples using solid-phase microextraction and high performance liquid chromatography. *Food Chem.* 75, 249–54.
- Zhang, K, Wong, JW, Hayward, DG, Vaclavikova, M, Liao, C.-D, & Trucksess, M W. 2013. Determination of mycotoxins in milk-based products and infant formula using stable isotope dilution assay and liquid chromatography tandem mass spectrometry. *J.of Agric.l and Food Chem.*, 61, 6265-6273.
- Zinedine A, Soriano JM, Molt'ó JC, Mañes J. 2007. Review on the toxicity, occurrence, metabolism, detoxification, regulations, and intake of zearalenone: An oestrogenic mycotoxin. *Food Chem. Toxicol.* 45, 1–18.