

**JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA**

Katedra kvality zemědělských produktů
STUDIJNÍ PROGRAM: B4131 / Zemědělství
STUDIJNÍ OBOR: Agroekologie

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Problematika výskytu kontaminujících látek v mléce

(Chemical contaminants in milk)

Tereza Uhlíková

**Vedoucí bakalářské práce: doc. Ing. Eva Samková, Ph.D.
Konzultant: MVDr. Lucie Hasoňová, Ph.D.**

2019

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Tereza UHLÍKOVÁ**
Osobní číslo: **Z15249**
Studijní program: **B4131 Zemědělství**
Studijní obor: **Agroekologie**
Název tématu: **Problematika výskytu kontaminujících látek v mléce**
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 :

Významným ukazatelem kvality syrového kravského mléka je přítomnost kontaminujících látek, které kromě negativního dopadu na zdraví spotřebitele mohou svými inhibičními účinky omezovat zpracovatelnost mlékárenské suroviny, a způsobovat tak ekonomické ztráty.

Cílem bakalářské práce bude zpracovat literární přehled o problematice kontaminujících látek v mléce, v němž budou uvedeny jejich nejvýznamnější druhy, četnost jejich výskytu v mléce, účinky na zdraví člověka i na mlékárenskou surovinu. Zvláštní zřetel by měl být věnován zejména mykotoxinům a možnostem jejich stanovení.

Bakalářská práce bude vypracována v rámci projektu GAJU-002/2016/Z na základě pokynů (http://www.zf.jcu.cz/copy_of_students/informace-pro-studujici/dokumenty-studijnihoddeleni/informace-pro-studujici/Jak_vypracovat_DP.pdf) a podle osnovy:


1. Úvod - stručná charakteristika a význam řešené problematiky
2. Cíl práce
3. Současný stav poznání dané problematiky s ohledem na cíle práce, zpracovaný formou literárního přehledu na základě studia soudobé vědecké a odborné literatury
4. Závěr - shrnutí získaných informací, návrhy a doporučení vyplývající z problematiky
5. Summary - přehled a nejdůležitější výsledky včetně klíčových slov (v anglickém jazyce)
6. Seznam literatury - jednotný, podle platných citačních zásad

Rozsah grafických prací: 5 - 10 stran (tabulky, grafy)
Rozsah pracovní zprávy: 30 - 35 stran textu
Forma zpracování bakalářské práce: tištěná/elektronická
Seznam odborné literatury:

- van Asselt, E.D. et al.: Overview of food safety hazards in the European dairy supply chain. *Compr. Rev. Food Sci. F.*, 2016, 16 (1): 59-75.
- Khaniki G.R.J.: Chemical contaminants in milk and public health concerns: a review. *Int. J. Dairy Sci.*, 2007, 2 (2):104-115.
- Samková E. (ed.). *Mléko: produkce a kvalita*. 1. vyd., České Budějovice: JU ZF 2012.
- Velfšek J., Hajšlová J.: *Chemie potravin* 1. 2 vyd. Tábor: OSSIS 2009, 580s.
- Databáze AGRIS, CAB Abstracts, Česká zemědělská a potravinářská bibliografie, aj., dostupné na: <http://www.lib.jcu.cz/>
- Vědecká a odborná periodika, příp. sborníky (Mlékařské listy, Náš chov, Ingrovy dny, Veterinářství, Výživa a potraviny aj.)
- Právní předpisy ČR a EU týkající se zásad a požadavků na jakost a zdravotní nezávadnost živočišných produktů.

Vedoucí bakalářské práce: doc. Ing. Eva Samková, Ph.D.
Katedra kvality zemědělských produktů
Konzultant bakalářské práce: MVDr. Lucie Hasoňová, Ph.D.
Katedra kvality zemědělských produktů

Datum zadání bakalářské práce: 24. března 2017
Termín odevzdání bakalářské práce: 21. dubna 2018


prof. Ing. Milošlav Šach, CSc., dr. h. c.
děkan

JIHOČESKÁ UNIVERZITA 
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA
studijní oddělení
Studentská 1608, 370 05 České Budějovice


Ing. Pavel Smetana, Ph.D.
vedoucí katedry

V Českých Budějovicích dne 24. března 2017

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma „Problematika výskytu kontaminujících látek v mléce“ vypracovala samostatně pouze s využitím zdrojů, které jsou uvedeny v seznamu 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.

V Českých Budějovicích dne

.....

Podpis

Poděkování

Mé poděkování patří především mé vedoucí práce doc. Ing. Evě Samkové, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady a připomínky. Rovněž děkuji konzultantce MVDr. Lucii Hasoňové, Ph.D. za podnětné rady a důležitá doporučení. Dále děkuji všem, kteří mi při zpracování bakalářské práce poskytli radu či podali pomocnou ruku.

Abstrakt

Bakalářská práce se věnuje problematice rizikových kontaminujících látek v mléce, jako jsou pesticidy, veterinární léčiva, těžké kovy, mykotoxiny a jejich vlivu na kvalitu mléka. U těchto látek přítomných v mléce je prokázán negativní vliv na zdraví, jak spotřebitele, tak i dojnic. Přítomnost kontaminujících látek v mléce je tedy nutno sledovat hlavně k zajištění zdravotní nezávadnosti mléka jako suroviny. Důležitou skupinou z hlediska kontaminace mléka jsou veterinární léčiva. Jejich rezidua mají negativní dopad na mlékárenské zpracování a zdraví spotřebitele, ale mohou přispívat také k nárůstu antimikrobiální rezistence. Nicméně nadlimitní nálezy reziduí veterinárních léčiv v České republice jsou podle dostupných dat v posledních letech na nízké úrovni. Zvláštní pozornost byla v práci věnována kontaminaci mléka mykotoxiny, neboť tento problém je v současnosti velmi aktuálním a diskutovaným tématem. Nejvíce se práce zaměřuje na kontaminaci mléka aflatoxinem M1, který je nejvíce prozkoumaným mykotoxinem v souvislosti s mlékem.

Klíčová slova: mléko, kontaminující látky, mykotoxiny, zpracování mléka, preventivní opatření

Abstract

The bachelor thesis is focused on the issue of contaminants in milk, such as pesticides, veterinary drugs, heavy metals, mycotoxins and their influence on milk quality. These substances present in milk have a negative impact on consumers health and for dairy cows health. The presence of contaminants in milk should therefore be monitored mainly to ensure the safe of the milk. An important group in terms of milk contamination are veterinary drugs. Their residues have a negative impact for milk processing and consumer health, but can also contribute to an increase in antimicrobial resistance. However, over-limit findings of veterinary drug residues in the Czech Republic have been on a low level in recent years. Special attention has been paid to milk contamination with mycotoxins because this problem is currently a very topical and discussed topic. Most of the work is focused on the contamination of milk with aflatoxin M1, which is the most explored milk-related mycotoxin.

Keywords: milk, contaminants, mycotoxins, milk processing, preventive measures

OBSAH

1. Úvod.....	8
2. Cíl práce.....	9
3. Kontaminující látky v mléce.....	10
3.1 Pesticidy.....	12
3.2 Veterinární léčiva	15
3.3 Těžké kovy.....	21
3.4 Polychlorované bifenyly.....	23
3.5 Melamin.....	24
4. Mykotoxiny.....	25
4.1 Nejvýznamnější druhy mykotoxinů	26
4.2 Vliv mykotoxinů na zdraví zvířata spotřebitelů.....	33
4.3 Příčiny výskytu mykotoxinů v mléce.....	36
4.4 Preventivní opatření	39
4.5 Metody stanovení mykotoxinů	42
5. Vybrané ukazatele jakosti mléka z hlediska výskytu kontaminujících látek	44
5.1 Rezidua inhibičních látek	44
5.2 Kyselost	45
5.3 Kysací schopnost mléka	46
5.4 Syřitelnost mléka.....	46
6. Závěr.....	47
7. Seznam použité literatury	48
7.1 Legislativa.....	52

1. Úvod

Mléko je jednou z důležitých složek lidské výživy, jeho význam spočívá především v obsahu vápníku. V Evropské unii se za rok 2017 vyprodukovalo 165,465 miliard kg kravského mléka, což činí přibližně 20 % celosvětové produkce. Hlavními producenty v Evropě jsou Německo a Francie, které se na produkci podílejí přibližně 35 % (32,661 a 24,987 mld. kg). Ve stejném období, tedy za rok 2017, byla produkce kravského mléka v České republice 2,998 mld. kg.

Vzhledem k tomu, že jakost syrového kravského mléka významně ovlivňuje i jakost mléčných výrobků, je nutné stále sledovat jeho jakostní ukazatele. Jakost mléka je dána souborem chemických, fyzikálních, mikrobiologických a hygienických vlastností. Jedním z nejsledovanějších ukazatelů z hlediska hygienické jakosti mléka je přítomnost reziduí inhibičních látek, které mohou mít negativní vliv jak na zdraví spotřebitele, tak i na mlékárenské zpracování mléka, neboť znemožňují výrobu některých mléčných výrobků.

2. Cíl práce

Cílem bakalářské práce bylo zpracovat literární přehled o problematice kontaminujících látek v mléce, v němž budou uvedeny jejich nejvýznamnější druhy, četnost jejich výskytu v mléce, účinky na zdraví člověka i na mlékářenskou surovinu. Zvláštní zřetel by měl být věnován zejména mykotoxinům a možnostem jejich stanovení.

3. Kontaminující látky v mléce

Kontaminující látky v mléce lze rozdělit podle původu na primární a sekundární. Primární kontaminanty se dostávají krevním oběhem do mléčné žlázy a následně jsou vyloučeny mlékem. Patří sem hlavně látky kontaminující krmiva pro zvířata např. mykotoxiny a pesticidy, příp. látky používané k léčbě zvířat. Významným zdrojem kontaminantů, především z průmyslových výrob a dále těžkých kovů, může být i napájecí voda pro zvířata (SPREER 1998).

Příčinou sekundární kontaminace může být samotné dojení nebo skladování mléka. Zdrojem kontaminace bývá povrch těla zvířete, výkaly, stelivo, dojící zařízení i celé zařízení na uchovávání a transport mléka (potrubí, skladovací nádrže apod.)(KOLOŠTA 2007).

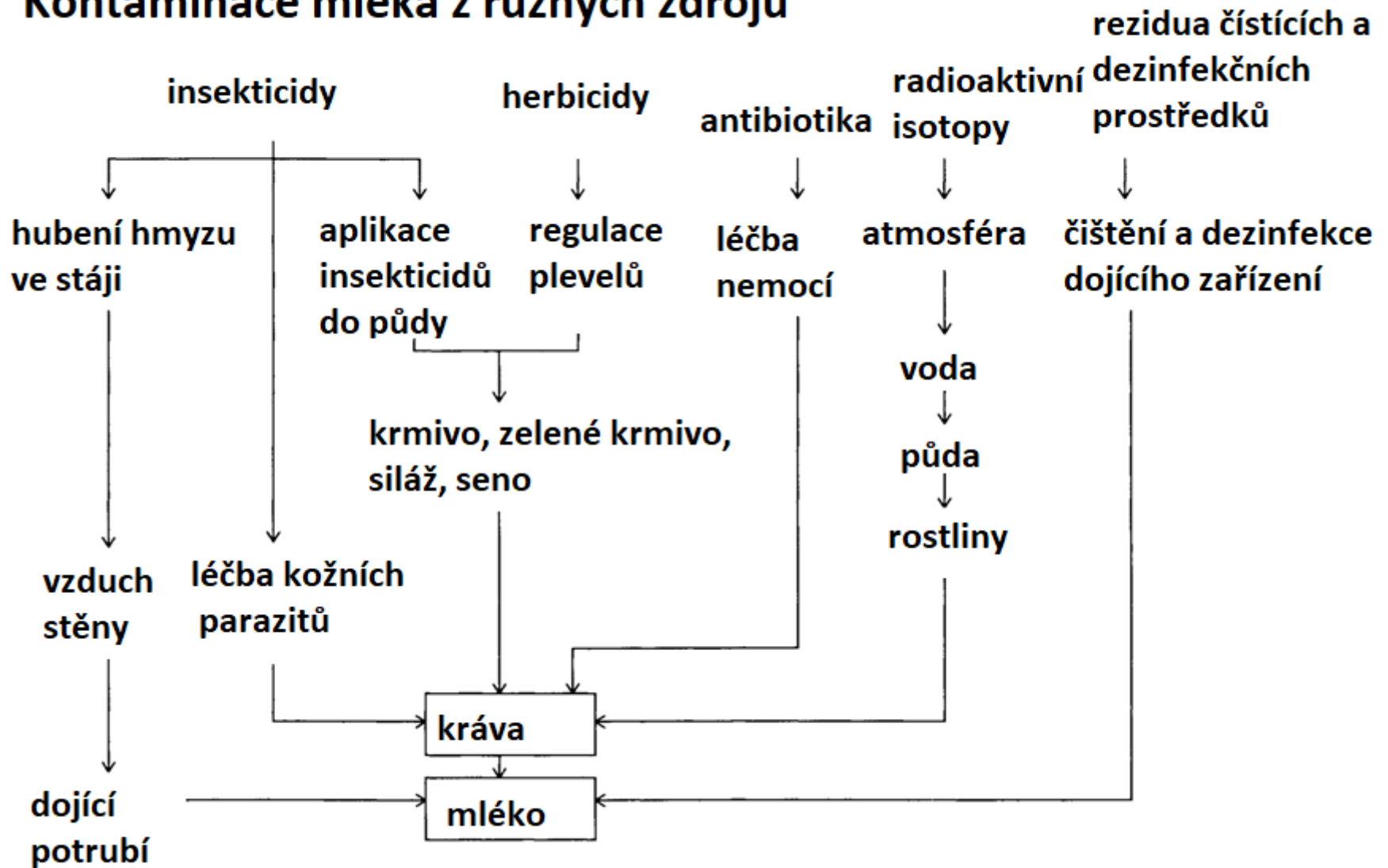
Kontaminující látky, které se dostanou do mléka, mohou způsobovat problémy při výrobě kysaných mléčných výrobků, díky své inhibiční účinnosti na bakteriální kulturu (NAVRÁTILOVÁ 2005, SAMKOVÁ A KOL. 2012). Látky s těmito účinky se označují pojmem inhibiční látky (IL). Tyto látky negativně ovlivňují rozvoj a aktivitu mlékařských kultur při výrobě sýrů, tvarohů či fermentovaných mléčných výrobků. V případě, že mléko obsahuje rezidua inhibičních látek (RIL) ve vyšší než minimální koncentraci může se jejich tlumivý účinek projevit během technologického zpracování mléka nebo zpracování mléka zcela znemožnit (SPREER 1998).

Mezi nejvýznamnější IL patří ty, které i v malých koncentracích působí silně inhibičně, například antibiotika, sulfonamidy a další biologicky aktivní látky. K průniku IL do mléka dochází zejména z těchto příčin:

- nedodržení ochranné lhůty po aplikaci léčiv (zejména antibiotik)
- nedůkladné propláchnutí dojícího potrubí od dezinfekčních prostředků
- záměna mléka neléčených dojnic s mlékem dojnic léčených (SAMKOVÁ A KOL. 2012).

Interakci mezi jednotlivými zdroji kontaminace mléka znázorňuje obrázek č. 1.

Kontaminace mléka z různých zdrojů



Obrázek č. 1: Kontaminace mléka z různých zdrojů (upraveno dle VAN ASSELT A KOL. 2017)

3.1 Pesticidy

Jako pesticidy se podle Organizace pro výživu a zemědělství (FAO) označují všechny látky, které slouží k prevenci, omezení či likvidaci všech nežádoucích činitelů během produkce, skladování, transportu, distribuce a zpracování potravin či krmiv (VELÍŠEK, HAJŠLOVÁ 2009). Pesticidy zahrnují přípravky na ochranu rostlin, které jsou definovány v NAŘÍZENÍ (ES) 1107/2009 a biocidní přípravky, které jsou definovány v NAŘÍZENÍ (EU) 528/2012, o dodávání biocidních přípravků na trh a jejich používání (SMĚRNICE 2009/128/ES).

Pesticidy lze rozdělit podle cílového organismu, proti kterému působí na:

- insekticidy - působí proti hmyzu
- fungicidy - působí proti plísním
- herbicidy - působí proti plevelným rostlinám
- rodenticidy – působí proti hlodavcům

Pesticidy jsou často složité chemické struktury, proto je většina z nich označována pro usnadnění komunikace triviálními názvy nebo zkratkami. Jako příklad lze uvést γ – 1,2,3,4,5,6 – hexachlorcyklohexan, označovaný triviálním názvem lindan.

Na rozdíl od jiných kontaminantů jsou pesticidy aplikovány do životního prostředí kontrolovaně a v souladu se zásadami zemědělské praxe. Podmínky aplikace pesticidů by měly být takové, aby rezidua pesticidů byla v produktech co nejnižší (VELÍŠEK, HAJŠLOVÁ 2009). PEPPERŇÝ (2015) dokonce uvádí, že při dodržení správných postupů při aplikaci pesticidů v rámci zemědělské praxe by ke kontaminaci potravin pesticidy nemělo docházet vůbec.

Pesticidní přípravky jsou nejčastěji aplikovány na listovou plochu rostliny nebo přímo do půdy. Na pesticidy po aplikaci působí celá řada fyzikálních, chemických a biologických faktorů, které jednak ovlivňují jejich kinetiku v prostředí, a dále mohou vyvolat změnu chemické struktury pesticidů, a tím i změnu jejich vlastností (např. rozpustnost) (HOFMAN A KOL. 2018).

Pesticidy se mohou do mléka dostávat přímo nebo nepřímo. K přímému prostupování do mléka může docházet kontaktem s ošetřenými plodinami. Nepřímo mohou pesticidy do mléka proniknout z krmiv pro hospodářská zvířata, prostřednictvím

napájecí vody či vzduchu (VELÍŠEK, HAJŠLOVÁ 2009). Některé pesticidy, jako jsou například organochlorové pesticidy, dichlordifenyltrichlorethan a lindan, přetrvávají v životním prostředí dlouhodobě. Při vstupu do organismu se tyto pesticidy kumulují v tukové tkáni a mohou mít nepříznivé účinky na zdraví zvířat i lidí (VAN ASSELT A KOL. 2017).

Zdravotní rizika expozice organismu pesticidům lze rozdělit na akutní a chronická. Akutní rizika vznikají při náhlé expozici organismu velkému množství pesticidu, zatímco chronická rizika působí při dlouhodobém vystavení zvířete či člověka účinkům pesticidů (PEPPERŇY 2015).

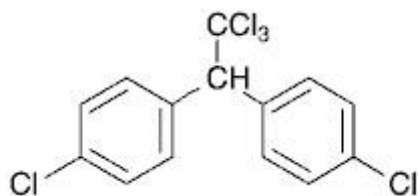
V současné době existuje seznam účinných látek, který obsahuje pouze látky, které splnily podmínky a nejsou zdravotně závadné pro člověka. Pro tyto látky stanovila Evropská unie (EU) maximální hodnoty limitů reziduí (MRL) v potravinách nebo krmivech, konkrétněji je uvedeno v NAŘÍZENÍ 396/2005. Při dodržování správných postupů v zemědělství by ke kontaminaci mléka pesticidy nemělo docházet. Tyto postupy zahrnují především správné dávkování pesticidu, dodržování ochranných lhůt a intervalů mezi jednotlivými aplikacemi pesticidů. Členské státy EU mají vyvinuty vlastní kontrolní systémy týkající se hladin jednotlivých pesticidů a nadlimitní nálezy jsou sdíleny prostřednictvím Systému rychlého varování pro potraviny a krmiva (RASFF). Podle dat Evropského úřadu pro bezpečnost potravin (EFSA), dostupných z výzkumu zaměřeného na množství reziduí pesticidů v mléce z roku 2016, byly nejčastěji detekovány tyto pesticidy: DDT 4,4 % z testovaných vzorků a hexachlorbenzen 4,7 % testovaných vzorků. V mléku nebylo zjištěno žádné překročení MRL. Pro porovnání jsou data z tohoto šetření uvedena s daty z předchozího výzkumu z roku 2013 – Tabulka č. 1.

Tabulka č. 1: Výsledky monitoringu vzorků mléka na výskyt reziduí vybraných pesticidů v roce 2013 a 2016 v Evropě (upraveno dle EFSA 2015 a EFSA 2018).

Pesticid	Sumární vzorec	Počet vyšetřených vzorků		Počet pozitivních vzorků včetně %	
		2013	2016	2013	2016
Hexachlorbenzen	C ₆ Cl ₆	966	486	57 (5,9)	23 (4,7)
Dichlordifenyltrichlorethan (DDT)	C ₁₄ H ₉ Cl ₅	899	472	54 (6,0)	21 (4,4)
Chlordan	C ₁₀ H ₆ Cl ₈	-	312	-	6 (1,9)
Hexachlorcyklohexan (alpha-HCH)	C ₆ H ₆ Cl ₆	-	489	-	3 (0,6)
Lindan (gama-HCH)	C ₆ H ₆ Cl ₆	992	514	2 (0,2)	0 (0)
Hexachlorcyklohexan (beta-HCH)	C ₆ H ₆ Cl ₆	1007	479	1 (0,09)	0 (0)
Heptachlor	C ₁₀ H ₅ Cl ₇	540	356	2 (0,4)	0 (0)

DDT

DDT bylo poprvé syntetizováno v roce 1874 a jeho insekticidní účinky byly objeveny o něco později. Objev DDT znamenal průlom v boji s malárií, protože účinně likviduje komáry, kteří působí jako vektory malárie. Zvláštní pozornost je DDT věnována především proto, že má schopnost přetrvávat v životním prostředí desetiletí a po příjmu do organismu se ukládá v tukové tkáni. Následně může být DDT vylučováno mlékem (BOUWMAN A KOL. 2011).



Obrázek č. 2: Dichlordifenyltrichlorethan

(Zdroj: <https://leporelo.info/ddt>)

Jedná se o aromatickou halogensloučeninu, dříve hojně používanou jako insekticid. Masově se rozšířil po 2. světové válce a byl také hojně používán v tropických zemích k hubení komárů (KHANIKI 2007). Používání DDT je již v ČR zakázáno, ale stále může přetrvávat v prostředí a kontaminovat krmivo pro dojnice (TUNEGOVÁ A KOL. 2018). Limit pro tento insekticid v mléce je 0,04 mg/kg tuku (NAŘÍZENÍ 396/2005). V současné době způsobuje DDT problémy zejména v rozvojových zemích, kde je jeho používání stále povoleno v rámci boje s malárií (TSAKIRIS 2015).

Ve studii prováděné v roce 2015 v Řecku byly testovány vzorky mléka z distribuční sítě a byl zjištěn pozitivní nález DDT u 97,4 % vzorků mléka. Žádný z nálezů však nepřekročil MRL. Zhodnocení rizik konzumace mléka v Řecku naznačuje, že konzumace mléka nepředstavuje z hlediska obsahu DDT významné zdravotní riziko pro spotřebitele (TSAKIRIS 2015).

Rovněž výsledky studie provedené v Polsku na obsah DDT a jeho metabolitů v kravském mléku nepřesáhly MRL. Vzorky byly odebrány z 25 zemědělských a 25 průmyslových oblastí. Zbytky DDT byly zjištěny ve všech testovaných vzorcích, větší obsah byl nalezen v mléku ze zemědělských oblastí (KUBA A KOL. 2015). Tato dvě zjištění naznačují, že obsah DDT v mléce není v současnosti v Evropě velkým problémem, ale stále je třeba situaci sledovat.

3.2 Veterinární léčiva

Veterinární léčiva jsou klasifikována jako farmakologicky a biologicky aktivní chemické látky určené k léčbě, prevenci a diagnostice chorob u zvířat. Podle VELÍŠKA a HAJŠLOVÉ (2009) lze veterinární léčiva rozdělit na následující skupiny:

- antiparazitární přípravky
- antimikrobiální látky
- antiflogistika (látky s protizánětlivým účinkem)
- působící na nervovou soustavu - např.: anestetika (látky znecitlivující)
- působící na vylučovací soustavu - např.: diuretika (látky působící na ledviny, močopudné preparáty)
- působící na trávicí trakt

- hormony
- vitaminy
- stopové prvky aj.

Mezi nejpoužívanější skupiny veterinárních léčiv patří antimikrobiální a antiparazitární látky či přípravky.

Antimikrobiální látky

Antimikrobiální látky se zařazují mezi nejvýznamnější IL, protože mají i v nízkých dávkách bakteriostatické nebo baktericidní účinky na mlékárenské kultury. Tyto látky se dělí na chemoterapeutika a antibiotika, podle toho jestli mají přírodní či syntetický původ. Ze skupin antibiotik, která jsou významná z hlediska ovlivňování kvality mléka, lze jmenovat beta-laktamová antibiotika, tetracykliny, aminoglykosidy a makrolidy (KHANIKI 2007).

Antiparazitní přípravky

Antiparazitika se používají k odstranění obličích a plochých červů z trávicího aparátu dojníc. K používaným přípravkům patří klozantel, albendazol a rafoxanid. Albendazol je účinný proti široké řadě střevních parazitů. Rychle se vstřebává do střevní tkáně a na parazity působí rozvrácením jejich metabolismu, což má za následek jejich smrt. Albendazol se rozkládá na zbytky benzimidazolových sloučenin, které se pak mohou objevovat v mléce a mléčných výrobcích, proto je důležité i u těchto léčiv dodržování ochranných lhůt. Platný MRL albendazolu v mléce je stanoven na 100µg/kg (KHANIKI 2007).

Klozantel se používá k odčervení skotu, koz a ovcí. Účinkuje především proti motolici jaterní a hlísticím vyskytujícím se u těchto druhů hospodářských zvířat. Jeho MRL v mléce je 45 µg/kg (NAŘÍZENÍ 682/2014). Pro rafoxanid je MRL v mléce stanoven na 10 µg/kg (NAŘÍZENÍ 576/2016).

Prakticky každá aplikace léčiv u zvířat vede k výskytu reziduí léčiva v mléce, Léčivé látky se dostávají do různých tkání v těle dojnice včetně tkáně mléčné žlázy a jsou vylučovány mlékem. Míru vylučování léčiva z těla ovlivňuje celá řada faktorů. Z hlavních lze uvést farmakokinetické parametry daného léčiva jako je distribuce v tkáních, a také rychlost vylučování léčiva z organismu. Stupeň a rychlost vylučování IL mlékem záleží také na chemicko-fyzikálních vlastnostech a na způsobu podání látky

zvířeti. Při aplikaci antibiotik musí být proto dodrženy zásady používání, které jsou stanoveny legislativními předpisy (SAMKOVÁ A KOL. 2012).

Veterinární léčiva pronikají do mléka obvykle z krevní plazmy. Proces vstřebávání ovlivňuje například schopnost léčiv vázat se na tuky (lipofilita) nebo schopnost vázat se na proteiny. Dále lze zmínit relativní molekulovou hmotnost či stupeň ionizace léčiva, který je určován pH prostředí (VELÍŠEK, HAJŠLOVÁ 2009).

Ani během tepelné úpravy mléka nedochází k úplnému inaktivování veterinárních léčiv, vzhledem k tomu, že se mléko na rozdíl od jiných potravin tepelně upravuje příliš krátce (NAVRÁTILOVÁ 2012).

Konzumace mléka s obsahem reziduí veterinárních léčiv představuje pro člověka celou řadu zdravotních rizik:

- farmakologicko-toxikologická rizika – karcinogenní, mutagenní a teratogenní účinky
- mikrobiologická rizika
- imunopatologická rizika (SAMKOVÁ A KOL. 2012)

Konkrétní negativní účinky na zdraví člověka lze popsat takto:

- narušení střevní bariéry
- nadměrný růst patogenních mikroorganismů ve střevě
- snížení účinnosti antimikrobiální terapie u člověka
- nárůst rezistence mikroorganismů k antimikrobiálním látkám
- alergické reakce, zřídka i anafylaktický šok (SAMKOVÁ A KOL. 2012).

Vzhledem k těmto zdravotním rizikům je nutné provádět monitoring pomocí různých metod. V současné době existuje mnoho rychlých a jednoduchých mikrobiologických a imunologických screeningových postupů jako jsou mikrobiální destičkové testovací systémy, například Delvotest® (výrobce DSM) či Eclipse (výrobce ZeuInmunotech). Také existují různé imunologické metody jako ELISA, RIA nebo metody využívající biosenzory. Všechny metody používané k tomuto účelu musí detekovat veterinární léčiva pod jejich přípustnými limity a musí splňovat NAŘÍZENÍ EVROPSKÉ KOMISE 657/2002 (BILANDŽIĆ A KOL. 2011).

Zároveň dochází k vyvíjení nových a citlivějších metod k detekci reziduí antibiotik v mléce. Např. byla vyvinuta širokospektrální mikrobiologická inhibiční metoda pro rychlé zjištění různých druhů antibiotik, jako jsou beta-laktamová antibiotika, aminoglykosidy, tetracykliny, sulfonamidy, makrolidy a linkosamidy. Navíc bylo zjištěno, že tato metoda je citlivější na aminoglykosidy a makrolidy než ostatní komerčně dostupné sady používané k detekci reziduí antibiotik v daných produktech (WU A KOL. 2019).

Ke všem farmakologicky účinným látkám schváleným pro použití musí být vydány MRL a stanovena ochranná lhůta, která se vytvoří po provedení vědeckého zhodnocení rizika na základě charakteristiky farmakologicky aktivní látky. MRL pro vybraná léčiva uvádí tabulka č. 2.

Ochranná lhůta je stanovena jako předem definovaná doba, která musí uplynout mezi posledním podáním léčiva zvířeti a nadojením mléka, aby rezidua klesla pod hranici neohrožující zdraví konzumenta (\leq MRL). Délka ochranné lhůty se může pohybovat od několika dnů až k několika týdnům, podle druhu léčiva.

Tabulka č. 2: Maximální reziduální limity pro vybrané druhy léčiv v mléce (WU A KOL. 2019)

Druh léčiva	Koncentrace ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
Penicilin G	4
Cefquinom	20
Neomycin	1500
Streptomycin	200
Doxycyklin	0
Tetracyklin	100
Erythromycin	40
Spiramycin	200
Sulfadiazin	100
Sulfadimidin	100
Linkomycin	150
Danofloxacin	30
Enrofloxacin	100

Prevence kontaminace mléka veterinárními léčivy tedy spočívá v dodržování ochranných lhůt, také v oddělení léčených dojnic po dobu trvání léčby a následné kontrole mléka po léčbě, než je zařazeno zpět do dodávky (NAVRÁTILOVÁ 2012).

Současná situace s výskytem reziduí veterinárních léčiv v mléce se podle dostupných prostudovaných zdrojů zdá příznivá. Obsah RIL v mléce v ČR od roku 2012 – 2018 se pohybuje průměrně od 0,14 % pozitivních vzorků do 0,05 % pozitivních vzorků (ČESKOMORAVSKÁ SPOLEČNOST CHOVATELŮ 2019).

Podle TUNEGOVÉ A KOL. (2018) není přítomnost veterinárních léčiv v potravinách významným toxikologickým rizikem pro spotřebitele v ČR. Hlavním problémem však zůstává nárůst antimikrobiální rezistence. Je známo, že počet bakteriálních kmenů rezistentních na veterinární léčiva se v posledních letech systematicky zvyšuje.

V Číně byl v roce 2017 proveden výzkum zaměřený na kontrolu reziduí veterinárních léčiv v mléce. Celkem bylo analyzováno 192 vzorků syrového mléka odebraného v 64 mlékárnách v 7 okresech. Testováno bylo celkem 28 druhů reziduí veterinárních léčiv. Nalezena byla pouze rezidua čtyř druhů veterinárních léčiv (penicilinu G, sulfacetamidu, trimethoprimu a linkomycinu), která byla detekována ve 12 vzorcích mléka (6,25 %) (HAN A KOL. 2017).

V letech 2009 až 2011 bylo v Brazílii odebráno celkem 961 vzorků mléka z maloobchodní sítě. Hledána byla přítomnost těchto skupin veterinárních léčiv: beta-laktamová antibiotika, tetracykliny, amfenikoly, aminoglykosidy, chinolony, sulfonamidy a ivermektiny. Rezidua veterinárních léčiv však nepřekročily MRL. Nález reziduí doxycyklinu (9 % vzorků) a abamektinu (1,6 %) ale naznačuje, že nejsou dodržovány správné veterinární postupy, protože tato léčiva se nesmí používat k léčbě zvířat, jejichž mléko je určeno pro lidskou spotřebu. Nebyla potvrzena žádná rezidua streptomycinu, chloramfenikolu a beta-laktamů. Mléko v Brazílii obsahuje nízké hladiny veterinárních léčiv, takže toxikologické riziko týkající se spotřeby mléka nelze považovat za problém veřejného zdraví (DE NOVAES A KOL. 2017).

Výsledky výzkumů obsahu reziduí veterinárních léčiv v mléce ve vybraných státech z posledních let jsou uvedeny v tabulce č. 3.

Tabulka č. 3: Výskyt reziduí veterinárních léčiv v mléce ve vybraných zemích (upraveno dle DU A KOL. 2019)

Veterinární léčivo	Země	Rok	Počet vyšetřených vzorků	Pozitivní vzorky (%)	Maximální/průměrná hodnota reziduí (µg/kg)	Reference
Moxidectin	Brazílie	–	342	0,29	2,2/2,2	FURLANI A KOL. (2015)
Penicilin G	Nigerie	–	598	34,44	-/12,47	OLATOYE A KOL. (2016)
Tetracykliny	Čína	2016	198	7,5	9,06/5,05	DU A KOL. (2019)
Chinolony	Čína	2016	198	3,5	4,06/3,66	DU A KOL. (2019)
Linkomycin	Čína	2016	198	2,5	7,66/5,54	DU A KOL. (2019)
Streptomycin	Čína	2016	198	15,1	7,69/4,36	DU A KOL. (2019)
Amoxicilin	Brazílie	2009-2011	961	–	3,9/1,2	DE NOVAES A KOL. (2017)
Ampicilin	Brazílie	2009-2011	961	–	0,1/0,02	DE NOVAES A KOL. (2017)
Chloramfenikol	Brazílie	2009-2011	961	–	0,8/0,3	DE NOVAES A KOL. (2017)

3.3 Těžké kovy

Těžké kovy se přirozeně vyskytují v přírodě, především v půdě. V mnohem větší míře se však do prostředí a z něj pak do potravin dostávají působením lidské činnosti, například odpadními vodami (BEZPEČNOST POTRAVIN A-Z 2018).

Ke kontaminaci mléka těžkými kovy dochází hlavně v důsledku znečištění životního prostředí. S rozvojem průmyslu i dalších odvětví lidské činnosti kontaminace prostředí těžkými kovy narůstá. K nejvýznamnějším těžkým kovům patří olovo a kadmium. Do potravního řetězce se dostávají kontaminovaným krmivem, vodou, automobilovými emisemi či z prostředí zasaženého těžbou surovin jako je uhlí (LICATA A KOL. 2012).

Olovo

Zdrojem olova je především doprava, i když obsah olova ve výfukových plynech postupně klesá v souvislosti s výrazným snižováním znečišťování prostředí (bezolovnatý benzín). Olovo může působit na organismus dvěma různými mechanismy, buď akutně, a to při požití velké dávky, nebo chronicky při dlouhodobém příjmu malých dávek. Akutní otravy se projevují bolestmi břicha, zácpou a chudokrevností a bývají spíše vzácné (BEZPEČNOST POTRAVIN A-Z 2018). V důsledku dlouhodobé expozice se olovo kumuluje v játrech a ledvinách. Olovo snižuje množství hemoglobinu v červených krvinkách, čímž způsobuje chudokrevnost (FLORA A KOL. 2012). Rovněž poškozuje periferní i centrální nervový systém (poruchy koordinace pohybu, poškození mozkové tkáně). U dětí, u nichž je relativně vyšší resorpce olova než u dospělých, může olovo způsobit zpomalení vývoje či snížení imunity organismu. Olovo je nejčastější příčinou otrav hospodářských zvířat těžkými kovy (LICATA A KOL. 2012). Limit pro obsah olova v mléce je stanoven na 0,020 mg/kg (NAŘÍZENÍ 1881/2006).

Kadmium

Kadmium vzniká hlavně při těžbě a následném zpracování vytěžených surovin. Tento těžký kov má velmi dlouhý poločas rozpadu v životním prostředí. V organismu se kumuluje v ledvinách, játrech a dalších orgánech a negativně ovlivňuje metabolismus vápníku (BEZPEČNOST POTRAVIN A-Z 2018). Pro kadmium je stanoven limit pouze

pro tekutou kojeneckou výživu, a to 0,005 mg/kg a pro kojeneckou výživu v prášku 0,010 mg/kg (NAŘÍZENÍ 1881/2006).

Rtuť

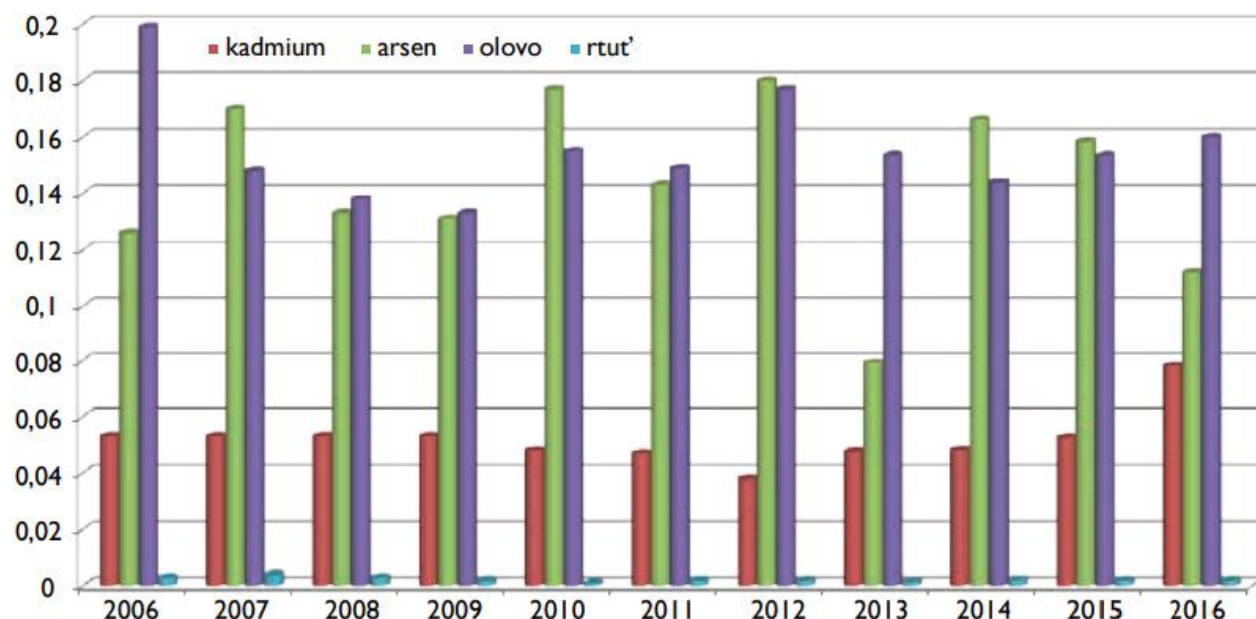
V přírodě se rtuť vyskytuje především ve formě cinabarity (sulfidu rtuťnatého), lidově nazývaného rumělka. Rtuť dále vzniká v barvířském průmyslu a také při spalování fosilních paliv. Rovněž je obsažena v některých dezinfekčních prostředcích a ve sloučeninách s jinými látkami se používá k moření osiva. Toxicita rtuti spočívá především ve schopnosti inhibice enzymů v organismu (FOOD SAFETY AUTHORITY OF IRELAND 2009). Rtuť se vstřebává v organismu přes tenké střevo. Tímto způsobem se ale vstřebá jen malé množství rtuti, uvádí se kolem 7 % z celkové přijaté dávky. Při intoxikaci rtutí je poškozen hlavně mozek a ledviny (VELÍŠEK, HAJŠLOVÁ 2009).

Arzen

Arzen se vyskytuje v prostředí hlavně v důsledku hutní činnosti. Riziko kontaminace mléka arzenem je poměrně malé. Toto riziko může být vyšší v zemích, kde jsou povoleny k používání pesticidy obsahující arzen (FOOD SAFETY AUTHORITY OF IRELAND 2009). Obsah arzenu v půdě je závislý na geologickém podloží, neboť arzen se může uvolňovat při zvětrávání hornin (VELÍŠEK, HAJŠLOVÁ 2009).

Graf č. 1 uvádí vývoj obsahu těžkých kovů v ČR v kompletních krmivech, který svědčí o obsahu kadmia, arzenu, olova i rtuti v poměrně nízkých hodnotách vzhledem k limitům.

Graf č. 1: Průměrné hodnoty kadmia, arzenu, olova a rtuti v krmivech (mg/kg) v letech 2006-2016 v ČR



(Zdroj: http://eagri.cz/public/web/file/550363/Zprava_MCL_2016_fin.pdf)

Maximální limity pro obsah těžkých kovů v obilovinách jsou: pro olovo 0,20 mg/kg, pro kadmium 0,10 mg/kg (NAŘÍZENÍ 1881/2006).

3.4 Polychlorované bifenyly

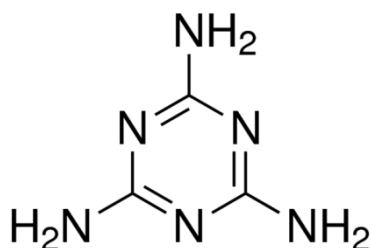
Polychlorované bifenyly (PCB) se začaly vyrábět od 30. let minulého století ve Spojených státech amerických a v 50. letech minulého století se dostaly do Evropy. Jedná se o látky chemicky stálé a nehořlavé. Přestože se mohou vytvářet přirozenými procesy, jako jsou požáry nebo vulkanické procesy, hlavními zdroji PCB jsou antropogenní procesy jako je např. spalování odpadů, výroba PVC a aromatických chemikálií, kde vznikají jako odpadní produkty. PCB jsou rozpustné v organických rozpouštědlech a dobře se vážou na tuky, což je příčinou jejich výskytu v mléce (KOZÁKOVÁ 2011). Do těla dojnice se PCB mohou dostat z prostředí, především jako důsledek zkrmování kontaminovaného krmiva. Státní veterinární správa ČR proto pravidelně monitoruje a vydává hlášení o výskytu těchto látek v potravinách. Limit EU pro obsah sumy PCB v mléce je stanoven na 40 ng/g tuku (NAŘÍZENÍ 1881/2006).

V roce 2008 provedli v Itálii sledování přítomnosti PCB v buvolím mléku. V první fázi tohoto výzkumu bylo odebráno 387 vzorků mléka. Počty pozitivních vzorků mléka byly nízké a všechny pocházely pouze z jediné oblasti, z provincie

Caserta. V této oblasti byla později provedena další analýza, při které bylo identifikováno 94 kontaminovaných provozů, kde koncentrace PCB v mléce ale nepřesáhla MRL stanovený EU (ESPOSITO 2010). Za pravděpodobný zdroj kontaminace mléka bylo označeno krmivo.

3.5 Melamin

Melamin neboli 1,3,5-triazin-2,4,6-triamin je organická dusíkatá sloučenina, která se používá při výrobě hnojiv a umělé hmoty. Téměř se nerozpouští ve vodě, a protože obsahuje 66 % dusíku, tlumí plamen v průběhu hoření. Jedná se o poměrně dostupnou průmyslovou chemikálii, která může být použita na pastevní porosty, aby se zvýšil obsah dusíkatých látek (BEZPEČNOST POTRAVIN A-Z 2018). Limit EU pro melamin v potravinách s výjimkou kojenecké výživy je 2,5 mg/kg. Pro kojeneckou výživu platí limit 1 mg/kg (NAŘÍZENÍ 594/2012).



Obrázek č. 3: Melamin

(Zdroj:<https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/m2659?lang=en®ion=CZ>)

Jedním ze zdrojů melaminu je pastva s použitím hnojiv – tj. jde o nepřímý zdroj, kdy se dojnice pase na porostu s obsahem melaminu (BOTHÁ 2010). Ovšem v případě tzv. melaminové kauzy v Číně roku 2008 šlo o záměrné přidání melaminu do mléka, aby se tak zvýšil obsah dusíku, kterým byl maskován nedostatek bílkovin v mléce. Takto kontaminované mléko dále sloužilo k výrobě kojenecké výživy i dalších mléčných výrobků. Melamin v mléce vyvolával u dětí zdravotní komplikace, poškození ledvin, v několika případech došlo i k úmrtí dětí (LUTTER 2011).

4. Mykotoxiny

Mykotoxiny jsou sekundární metabolity plísní, které jsou toxické pro člověka a zvířata (FLORES-FLORES, GONZÁLEZ-PEÑAS 2018). Pojmenování mykotoxiny poprvé použili Forgacz a Carll v roce 1955. V této době začalo také vědecké zkoumání mykotoxinů (VELÍŠEK, HAJŠLOVÁ 2009). Onemocnění vyvolaná mykotoxiny jsou označovaná jako mykotoxikózy. Je známo více než 300 druhů mykotoxinů a odhaduje se, že přibližně 50 z nich je schopno vyvolávat mykotoxikózy u zvířat a lidí (SUCHÝ, HERZIG 2005).

Plísně produkují mykotoxiny pravděpodobně v rámci boje o své přežití a v konkurenčním boji o živiny. Mezi nejvýznamnější producenty mykotoxinů patří plísně rodu *Aspergillus*, *Penicillium* a *Fusarium* (HAVLOVÁ A JIČÍNSKÁ 1995). Mykotoxiny mohou být zjišťovány v potravině dokonce i tehdy, když se produkující plíseň na povrchu již nevyskytuje. Jednotlivé druhy plísní mohou tvořit i více druhů mykotoxinů a také naopak, jeden druh mykotoxinu může být produkován několika různými druhy plísní. Velká část mykotoxinů je stabilní při výrobě a zpracování krmiv a není významně ovlivněna ani běžnými technologickými procesy. Za vysoce stabilní lze označit aflatoxiny, zearalenon, fumonisiny, některé skupiny ochratoxinů a další mykotoxiny (SUCHÝ, HERZIG 2005). Nejdůležitější mykotoxiny a jejich producenty uvádí tabulka č. 4.

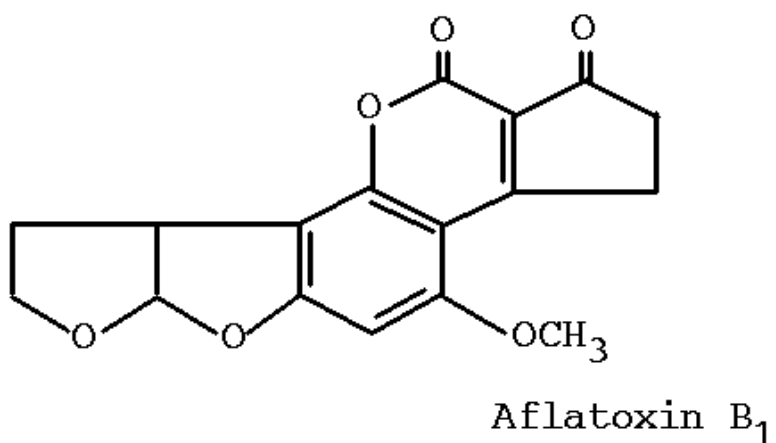
Tabulka č. 4: Mykotoxiny a jejich producenti (FAO 2001)

Vybrané mykotoxiny	Produkční organismy
Aflatoxiny B1, B2, G1, G2	<i>Aspergillus parasiticus</i>
Aflatoxiny B1, B2	<i>Aspergillus flavus</i>
T-2 toxin	<i>Fusarium sporotrichioides</i>
Deoxynivalenol (nebo nivalenol)	<i>Fusarium graminearum</i>
Zearalenon, Fumonisin B1	<i>Fusarium moniliforme</i> (<i>F. verticillioides</i>)
Ochratoxin A	<i>Penicillium verrucosum</i> , <i>Aspergillus ochraceus</i>

4.1 Nejvýznamnější druhy mykotoxinů

Aflatoxiny

Hlavní tři druhy plísní rodu *Aspergillus* produkující aflatoxiny jsou: *A. flavus*, *A. parasiticus* a *A. nominus*. Nejvýznamnější aflatoxiny jsou B1, B2, G1 a G2. Tato označení pochází z anglických názvů pro barvy (B=blue, G=green) a odvozuje se z jejich zbarvení při fluorescenci (VELÍŠEK, HAJŠLOVÁ 2009).



Obrázek č. 4: Aflatoxin B1

(Zdroj:http://www.med.muni.cz/predmety/preventivni/MYKOTW/mtpr_idx.htm)

Aflatoxin B1 bývá označován jako jeden z nejsilnějších přírodních karcinogenů. Plísně produkující aflatoxiny potřebují k životu relativně vysokou teplotu, udává se, že optimální teplota jejich růstu se pohybuje kolem 28 °C. Rovněž je pro ně optimální vysoká relativní vlhkost substrátu. Pokud má substrát menší relativní vlhkost než 12 %, životní cyklus plísně se zastaví (MORAVCOVÁ, NEDĚLNÍK 2005A).

V játrech se aflatoxiny B1, B2, G1 a G2 transformují na metabolity M1 a M2, které jsou více toxické než původní látky (KRMENČÍK, KYSILKA 2007). Po příjmu kontaminovaného krmiva se aflatoxiny mlékem vylučují přibližně sedm dní (MORAVCOVÁ, NEDĚLNÍK 2005A).

Na výskyt aflatoxinů v mléce byla provedena celá řada studií v zahraničí i v ČR. V letech 2004-2005 byla v ČR provedena studie obsahu aflatoxinu M1 v mléce, získaném z obchodních řetězců. Zkoumáno bylo celkem 90 vzorků a pouze ve třech analyzovaných vzorcích byla zjištěna přítomnost aflatoxinů M1. V žádném ze

vzorků nebyla detekována úroveň aflatoxinů překračující MRL EU, který je stanoven na 0,050 µg/kg mléka. Rovněž se zjistilo, že tepelná úprava pasterizací a sterilizací patrně nemá významný vliv na obsah aflatoxinu M1 v mléčných produktech. Ze zjištění je patrné, že kontaminace aflatoxiny M1 v české distribuční síti nepředstavuje závažný problém (MORAVCOVÁ, NEDĚLNÍK 2005A).

V roce 2016 bylo v Kosovu analyzováno 192 vzorků syrového kravského mléka na obsah aflatoxinu M1. Bylo zjištěno, že 74 vzorků mléka (38 %) bylo kontaminováno aflatoxinem M1 a 11 vzorků (5,7 %) mírně překročilo MRL. Maximální změřené množství aflatoxinu M1 bylo 0,082 µg/l (CAMAJ A KOL. 2018). Autoři proto doporučili věnovat větší pozornost kvalitě krmiv pro dojnice.

V letech 2013 až 2016 byla prováděna studie na výskyt aflatoxinu M1 v mléce v Itálii (CAMMILLERI A KOL. 2019). Autoři zkoumali celkem 576 vzorků mléka od různých druhů zvířat. Kontaminace aflatoxinem M1 byla zjištěna pouze u 6 % odebraných vzorků a MRL přesáhly pouze 2 vzorky (0,35 %). Autoři konstatovali, že v porovnání s předcházejícími roky se situace ohledně výskytu aflatoxinu M1 v mléce výrazně zlepšila.

Data z výše uvedených výzkumů i dalších studií zaměřených především na výskyt aflatoxinů v mléce jsou shrnuta v tabulce č. 5.

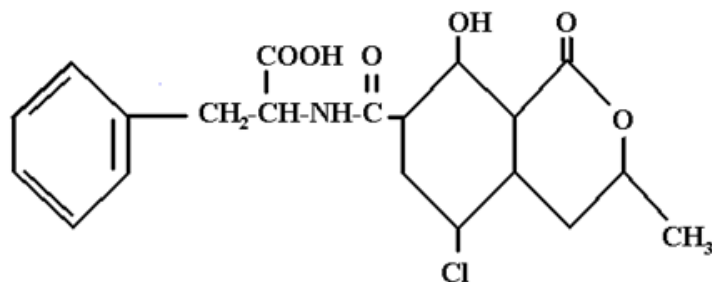
Tabulka č. 5: Výskyt mykotoxinů v mléce ve vybraných zemích

Rok	Země	Druh mykotoxinu	Počet vyšetřených vzorků	% pozitivních vzorků	% nadlimitních vzorků	Zdroj
2004-2005	ČR	Aflatoxin M1	90	3,3	0	MORAVCOVÁ NEDĚLNÍK, 2005A
2013-2016	Itálie	Aflatoxin M1	576	6,0	0,4	CAMMILLERI A KOL. 2019
2013-2016	Srbsko	Aflatoxin M1	423	80,9	49,1	JAJIĆ A KOL. 2019
2016	Kosovo	Aflatoxin M1	192	38,0	5,7	CAMAJ A KOL. 2018
2017	Brazílie	Aflatoxin M1	40	87,5	0	VENÂNCIO A KOL. 2019
2018	Peru	Ochratoxin A	30	10,0	0	FLORES-FLORES, GONZÁLEZ-PEÑAS 2018

Ochratoxiny

Producenty ochratoxinu A jsou rody *Aspergillus* a *Penicillium* (například *A. ochraceus*, *A. verrucosum*, *P. palitans*, *P. commune*) (SUCHÝ, HERZIG 2005). Do skupiny ochratoxinů patří také ochratoxin B, C a D. Nejtoxičtější je ochratoxin A. Ochratoxin B je přibližně 16krát méně toxický než ochratoxin A (prokázáno ve studii na kuřatech). Naopak ochratoxin C působí stejně toxicky jako ochratoxin A, ale vyskytuje se v krmivech spíše ojediněle (MALÍŘ, OSTRÝ 2003). Ochratoxiny se vyskytují zejména v ječmeni, žitě, ovsu, pšenici, rýži a kukuřici. V našich klimatických podmínkách se ochratoxiny detekují poměrně často a bývají zjišťovány v obilí v průběhu skladování (BEZPEČNOST POTRAVIN A-Z 2018). Jedná se o stabilní mykotoxiny, které nejsou zničeny běžnými postupy přípravy potravin, například aby se snížila koncentrace ochratoxinu A, musí být vystaven teplotě nad 250 °C po dobu několika minut (FLORES-FLORES, GONZÁLEZ-PEÑAS 2018). Je rozpustný

v organických rozpouštědlech (chloroformu, metanolu, etanolu) (MALÍŘ A OSTRÝ 2003).



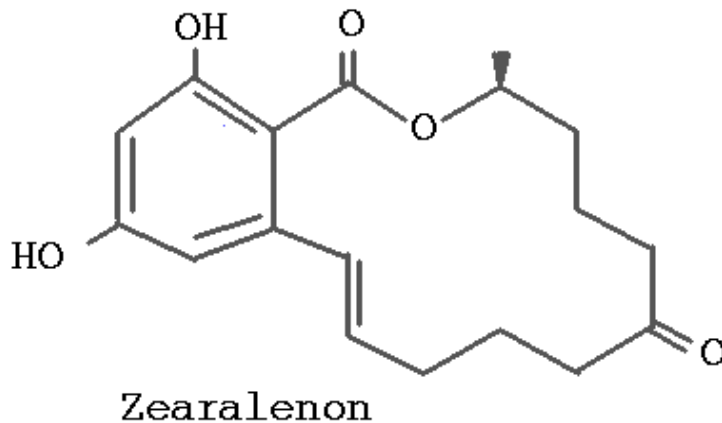
Ochratoxin A

Obrázek č. 5: Ochratoxin A

(Zdroj: http://www.med.muni.cz/predmety/preventivni/MYKOTW/mtpr_idx.htm)

Zearalenon

Zearalenon tvoří řada druhů z rodu *Fusarium*. Chemicky se jedná o laktony kyseliny beta-resorecylové. V obilovinách lze zearalenon najít již před sklizní nebo vzniká při skladování. Zearalenon se ve skladovaném obilí chová velmi stabilně, dokonce setrvává v nezměněné podobě po fermentaci i tepelném zpracování produktu. Zearalenon lze úspěšně odstranit z produktu alkalizací nebo použitím chlornanů. Zearalenony mohou být vylučovány mlékem dojnic krměných kontaminovaným krmivem, což znamená riziko mykotoxikóz hlavně u dětí (KRMENČÍK, KYSILKA 2007). Rizikovou skupinou k příjmu většího množství zearalenonu jsou také zemědělci samozásobitelé nebo vegani a vegetariáni, kteří konzumují naklíčená semena, na kterých mohou růst producenti tohoto mykotoxinu (ŠIMŮNEK 2003).

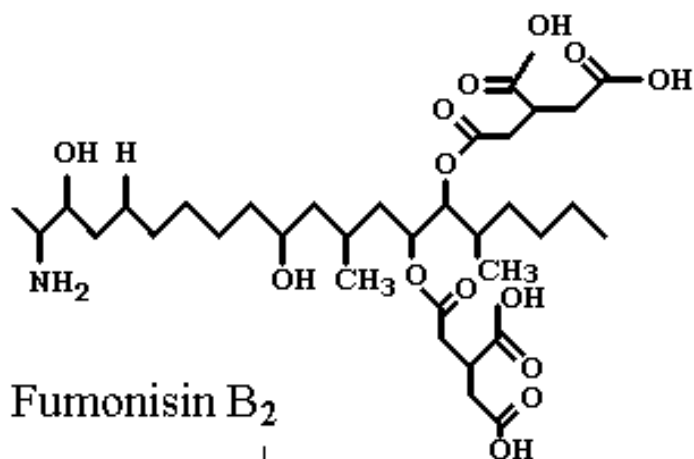


Obrázek č. 6: Zearalenon

(Zdroj: http://www.med.muni.cz/predmety/preventivni/MYKOTW/mtpr_idx.htm)

Fumonisin

Fumonisin byl poprvé objeven v roce 1998 v jižní Africe. Fumonisy je možno chemicky charakterizovat jako složité alifatické sloučeniny. Fumonisy se dají klasifikovat na skupiny A1, A2, B1, B2, B3 a B4. Nejčastěji je detekován fumonisin skupiny B1, který je označován za nejtoxičtější. Jedná se o mykotoxiny, které produkují plísňe rodu *Fusarium* (MALÍŘ, OSTRÝ 2003). V průběhu let bylo popsáno více než 15 producentů fumonisinů rodu *Fusarium* (např. *F. moniliforme*, *F. proliferatum*, *F. nygamai*, *F. dlamini*, *F. napiforme*, *F. oxysporum*). *Fusarium moniliforme* může infikovat kukuřici a lze jej prokázat i v kvalitním kukuřičném zrně (KRMENČÍK, KYSILKA 2007). V ostatních obilovinách (pšenice, ječmen) se vyskytuje méně často a v nízkých koncentracích. Po konzumaci kontaminovaného krmiva dojnícemi může docházet k jeho vylučování mlékem. Na rozdíl od ostatních mykotoxinů se fumonisy lépe rozpouštějí ve vodě než v jiných rozpouštědlech a tudíž je jejich resorpce z gastrointestinálního traktu poměrně nízká (OSTRÝ, RUPRICH 2018).

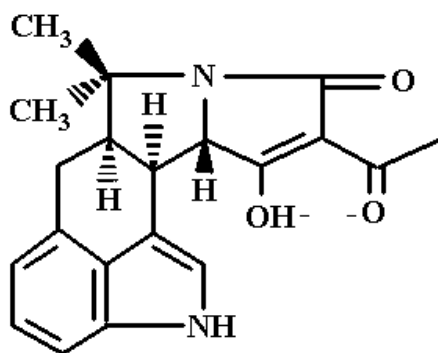


Obrázek č. 7: Fumonisin B₂

(Zdroj: http://www.med.muni.cz/predmety/preventivni/MYKOTW/mtpr_idx.htm)

Kyselina cyklopiazonová

Kyselina cyklopiazonová je středně toxický mykotoxin, který produkují rody plísní *Penicillium* a *Aspergillus*. Kmeny *Aspergillus flavus* produkují k. cyklopiazonovou společně s aflatoxiny (MALÍŘ, OSTRÝ 2003). Produkovat ji může také *P. commune* a *P. griseofulvum* (VELÍŠEK, HAJŠLOVÁ 2009). K. cyklopiazonová může vytvářet rezidua v živočišných produktech. Přítomnost tohoto mykotoxinu byla prokázána v kukuřici, slunečnicových semenech, arašídech, v sýrech zrajících s bílou plísní na povrchu, v mléce ovcí, drůbežím mase a vejcích (MALÍŘ A OSTRÝ 2003). Její nízké koncentrace v živočišných potravinách naznačují, že nepředstavuje vážné zdravotní riziko pro spotřebitele. Pouze při nedodržení technologických postupů v průběhu výroby plísňových sýrů se může její koncentrace výrazně zvýšit (SUCHÝ, HERZIG 2005).



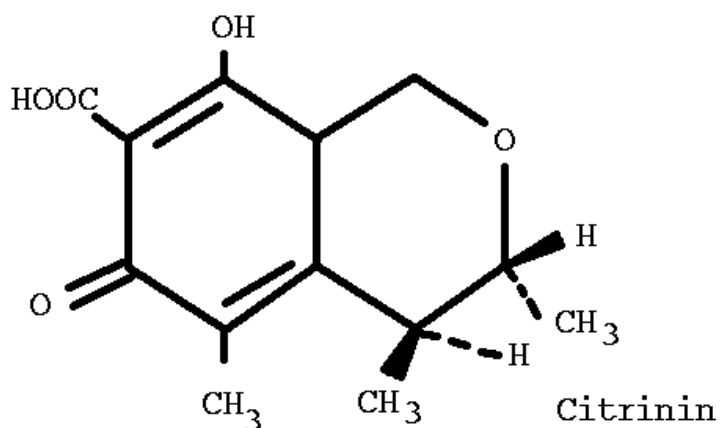
Kyselina cyklopiazonová

Obrázek č. 8: Kyselina cyklopiazonová

(Zdroj: http://www.med.muni.cz/predmety/preventivni/MYKOTW/mtpr_idx.htm)

Citrinin

Citrinin produkují některé druhy plísní rodu *Aspergillus* a *Penicillium*. Původně byl využíván jako antibiotikum pro zvířata, ale brzy po objevení byl vyřazen kvůli svým nefrotoxickým účinkům. Citrinin je důležitým kontaminantem potravin a lze ho detekovat společně s ochratoxinem A. Má rovněž podobnou strukturu jako ochratoxin A, chybí mu však postranní aminokyselinový řetězec. S ochratoxinem A může působit synergicky (SUCHÝ, HERZIG 2005). Kontaminuje různé komodity rostlinného původu, zejména pak obiloviny. V ČR bývá zjišťován především v uskladněném obilí, ale často je zaznamenán již před sklizní (KRMENČÍK, KYSILKA 2007).



Obrázek č. 9: Citrinin

(Zdroj: http://www.med.muni.cz/predmety/preventivni/MYKOTW/mtpr_idx.htm)

4.2 Vliv mykotoxinů na zdraví zvířat a spotřebitelů

Vliv působení mykotoxinů na organismus zvířete je různý. Závisí hlavně na druhu mykotoxinu, přijaté dávce a délce působení mykotoxinu. Z hlediska zvířete záleží hlavně na věku jedince, živočišném druhu, pohlaví a zdravotním stavu. Svou roli hraje také výživný stav a kondice organismu v době příjmu mykotoxinů (MORAVCOVÁ, NEDĚLNÍK 2005B). Pokud je zvíře vystaveno působení více mykotoxinů najednou, může se jejich účinek sčítat (MARTH, STEELE 2001).

Účinky na zdraví je možno rozdělit na akutní a chronické. Akutní intoxikace jsou vyvolány příjmem většího množství mykotoxinu v jedné dávce. Projevují se klasickými příznaky otravy jako je poškození jater, ledvin, nervového a oběhového systému i centrální nervové soustavy. Známý je hepatotoxický účinek mykotoxinů projevující se cirhózou jater nebo vznikem nekrotických ložisek v játrech. Naproti tomu chronický účinek vzniká z dlouhodobé expozice nižším dávkám mykotoxinů (KUMMER, FALDÍKOVÁ 2002). Může se projevat imunosupresivně, snižováním užitekosti nebo zhoršováním výživného stavu zvířete. U březích samic mají mykotoxiny teratogenní a mutagenní účinky na plod. K chronickým účinkům mykotoxinů u zvířat přispívá špatná zoohygienu, vakcinace, stres a nevhodné stájové prostředí. Mykotoxiny mají schopnost ukládat se v tkáňovém tuku, a proto mohou být odbourávány při ketózách (VELÍŠEK, HAJŠLOVÁ 2009).

Jak již bylo dříve uvedeno, u mykotoxinů byly zaznamenány karcinogenní účinky. Látky s těmito účinky jsou na základě nebezpečnosti řazeny dle organizace International Agency for Research on Cancer do následujících skupin: 1- karcinogenní látky s dostatečně prokázaným účinkem; 2- potenciálně karcinogenní látky (2A- pravděpodobně karcinogenní; 2B- možná karcinogenní); 3- látky nehodnotitelné pro nedostatek vědeckých důkazů; 4- látky pravděpodobně nejsou karcinogenní pro člověka (INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER 2019). Úroveň toxicity pro vybrané druhy mykotoxinů je shrnuta v tabulce č. 6.

Tabulka č. 6: Klasifikace karcinogenních účinků vybraných mykotoxinů (upraveno dle LUO A KOL. 2018)

Druh mykotoxinu	Kategorie podle karcinogenních účinků
Aflatoxin B1	Třída 1
Aflatoxin M1	Třída 1
Ochratoxin	Třída 2B
Fumonisin B1	Třída 2B
Zearalenon	Neklasifikován

Aflatoxiny

Aflatoxin je známý hlavně svými karcinogenními a imunosupresivními účinky na organismus zvířat (MARTH, STEELE 2001). U zvířat vystavených velkému množství aflatoxinů v krmné dávce se také projevuje snížená užitkovost a u mláďat zpomalení nebo zastavení růstu (NURHAN 2019). Karcinogenní a imunosupresivní účinky má aflatoxin také na člověka (LUO A KOL. 2018).

Ochratoxin

Účinky ochratoxinu na zdraví byly testovány u laboratorních a hospodářských zvířat, ale i u lidí. Byla prokázána teratogenita ochratoxinu a negativní působení na nervovou soustavu vyvíjejícího se plodu (KRMENČÍK, KYSILKA 20007). Nedávné studie poskytly důkazy karcinogenního účinku ochratoxinu u laboratorních potkanů a myši (STEYN 2016). K přesnějšímu určení toxických účinků ochratoxinu by však bylo třeba dalších studií.

Zearalenon

Odhaduje se, že vylučování zearalenonu mlékem představuje asi 0,01 % mykotoxinu z přijaté denní dávky. Existuje spojitost mezi výskytem nervových poruch u mláďat a příjmem zearalenonu matkami v průběhu březosti. Je odhadováno, že bezpečné množství příjmu pro lidi je 0,05 µg na kilogram tělesné hmotnosti (SUCHÝ, HERZIG 2005). Zearalenon může u zvířat i lidí způsobovat zejména zvýšenou produkci estrogenů. Problémy u běžné populace však nezpůsobuje příliš často.

Fumonisin

Fumonisy jsou prokazatelné karcinogeny pro člověka, protože působí při karcinogenním procesu jako promotory (ŠIMŮNEK 2003, FOLTÝNOVÁ 2012). Mohou způsobovat také několik typů onemocnění hospodářských zvířat, například plicní edém prasat. Nejznámější chorobou, kterou způsobují u zvířat je leukoencefalomalacie koní (OSTRÝ, RUPRICH 2018).

Kyselina cyklopiazonová

Kyselina cyklopiazonová u zvířat dokáže inhibovat syntézu bílkovin při přepisu RNA. Také poškozuje zažívací trakt, játra, ledviny i další orgány a může působit degeneraci svalstva. Jednotlivá zvířata projevují různou citlivost na její toxicitu. Při modelovém pokusu s kuřecími brojlerly bylo zjištěno, že působí na kosterní svalstvo obdobně degenerativně jako nedostatek vitamínu E a selenu. Podobné změny byly zjištěny i při zkrmování krmiva kontaminovaného aflatoxinem (SUCHÝ, HERZIG 2005).

Nejvýznamnější účinky různých druhů mykotoxinů na zdraví zvířat i lidí jsou shrnuty v tabulce č. 7.

Tabulka č. 7: Negativní působení vybraných mykotoxinů na zdraví zvířat i lidí

Zvíře			Člověk		
Mykotoxin	Účinek	Zdroj	Mykotoxin	Účinek	Zdroj
Zearalenon	zvýšení produkce estrogenů	SUCHÝ, HERZIG 2005	Aflatoxiny	poškození jater	VELÍŠEK, HAJŠLOVÁ 2009
K. cyklopiazonová	degenerace svalstva u kuřat	SUCHÝ, HERZIG 2005	Fumonisin	karcinom jícnu	ŠIMŮNEK 2003
Aflatoxiny	pokles imunity	NURHAN 2019	Aflatoxiny	Reyův syndrom	KRMENČÍK, KYSILKA 2007
Ochratoxin	poškození ledvin	NURHAN 2019	Aflatoxiny	respirační onemocnění	KRMENČÍK, KYSILKA 2007
Fumonisin	leukoencefalomalacie u koní	ŠIMŮNEK 2003	Fumonisin	poškozuje zažívací trakt	VELÍŠEK, HAJŠLOVÁ 2009
Ochratoxin	teratogenní účinky	STEYN 2016	Fumonisin	poruchy nervové soustavy	NURHAN 2019

4.3 Příčiny výskytu mykotoxinů v mléce

Na celém světě dochází v průběhu výroby krmiv a potravin ke kontaminaci mykotoxiny, kterou lze omezit, ale ne zcela vymýtit. Ke kontaminaci může docházet v různých částech procesu výroby krmiv pro dojnice, tzn. při pěstování, sklizni, transportu, ale hlavně při skladování a následném konzervování. Hlavním problémem při vstupu mykotoxinů do výroby mléka je kvalita jednotlivých krmiv pro dojnice. Kritická mohou být zejména tato krmiva: siláž, obilné šroty a pokrutiny (PRANDINI A KOL. 2009).

Plísňe, které jsou zdrojem mykotoxinů, se objevují také v seně, zejména pak při nesprávném postupu sušení, nebo v senážích. Častým zdrojem mykotoxinů je kukuřice. Bylo zjištěno, že kukuřice sklizená v období vysokých teplot nebo dovezená z tropických

oblastí je rizikovější než kukuřice vypěstovaná a sklizená za nižších teplot (PRANDINI A KOL. 2009). V teplejších oblastech se častěji detekují aflatoxiny a fumonisiny, naopak v chladnějších klimatických podmínkách s vyšší vlhkostí to jsou spíše ochratoxiny (SUCHÝ, HERZIG 2005).

COTTY (2007) uvádí, že obsah aflatoxinů, které jsou později nalézány v mléce, má původ ve zkrmování kukuřičné siláže. Naopak nejméně kontaminovanými krmivy z hlediska obsahu mykotoxinů se ukázaly být jetelotravní a vojtěškové siláže (MORAVCOVÁ, NEDĚLNÍK 2005C).

Aflatoxiny byly prokázány rovněž v sušené mléčné výživě dle výzkumu, kdy bylo experimentálně kontaminováno sušené mléko spórami toxikogenní plísně *Aspergillus flavus*. Zjistilo se, že produkce aflatoxinů po 7 dní při pokojové teplotě je několikanásobně vyšší než stanovují hygienické limity EU (KRMENČÍK, KYSILKA 2007).

V tabulce č. 8 je uvedeno porovnání jednotlivých typů krmiv pro dojnice z hlediska obsahu mykotoxinů. Data pochází z výzkumu provedeného v ČR v letech 2002-2003. Analyzováno bylo 65 vzorků pocházejících z podniků na severní a jižní Moravě. K analýze byla použita metoda ELISA.

Tabulka č. 8: Průměrné koncentrace mykotoxinů v sušině různých typů krmiv v ppm (Parts per milion); (upraveno dle MORAVCOVÁ, NEDĚLNÍK 2005B)

	AFL	T2	FUM	DON	ZEA	% pozitivních vzorků
Vojtěšková siláž	0,0035	0,176	0,050	0,500	0,577	100
Kukuřičná siláž	0,0014	0,260	1,870	0,960	1,377	96
Jetelotravní siláž	0,0028	0,242	0,470	0,630	0,179	100
Travní siláž	0,0024	0,207	1,110	0,550	1,197	93
GPS ječmen	0,0024	0,163	1,130	1,370	0,500	100

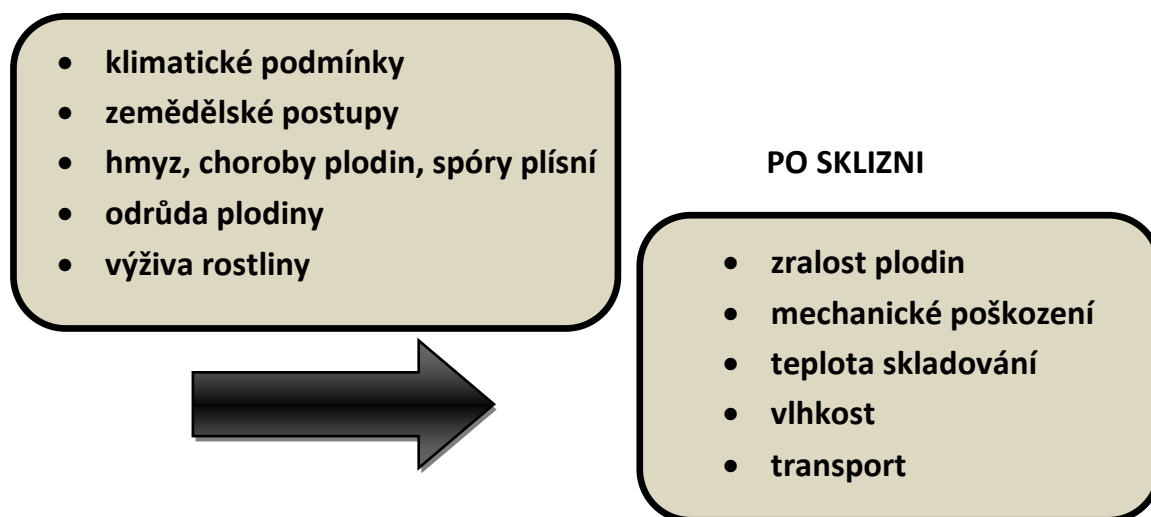
AFL: aflatoxiny, DON: deoxynivalenol, ZEA: zearalenon, T2: T2-toxin, FUM: fumonisin; GPS: systém sklizení celých rostlin ječmene pro píceňářské účely

Kritickým ukazatelem kontaminace krmiv mykotoxiny může být přítomnost různých škůdců při nevhodném skladování krmiv – roztočů a dalších druhů hmyzu (KADLEC A KOL. 2009), neboť jsou významnými „přenašeči“ spór plísní.

Mezi hlavní faktory, které mají vliv na tvorbu mykotoxinů, patří hlavně vlhkost, pH, obsah kyslíku v krmivu, teplota či kompetiční vztahy mezi plísněmi. Dalšími podmínkami, které podporují rozšiřování mykotoxinů, jsou vysoká teplota, časté deště v průběhu pěstování plodin a při sklizni, mechanické poškození na zrnech, sucho a mráz (KADLEC A KOL. 2009). Velký vliv na výskyt a růst mykotoxinů u kukuřice má doba sklizně, zavlažování a způsob uchovávání sklizeného zrna. Z těchto důvodů je doporučeno sklízet zrna s co nejnižší sklizňovou vlhkostí, obvykle pod 14 %. Dále je potřeba brát zřetel na způsob čištění zrna a teplotu jeho uchovávání (PRANDINI A KOL. 2009).

Na obrázku č. 10 jsou zaznamenány nejdůležitější faktory, které se v průběhu procesu pěstování a uchovávání po sklizni podílejí na kontaminaci komodit spóry plísní.

ZEMĚDĚLSKÁ PRAXE PŘED SKLIZNÍ



Obrázek č. 10: Faktory ovlivňující kontaminaci komodit mykotoxiny (upraveno dle NURHAN 2019)

4.4 Preventivní opatření

Význam mykotoxinů lze pozorovat podle vzrůstající četnosti hlášení jejich výskytu v systému RASFF. Mykotoxiny pronikají do těla dojnice hlavně kontaminovanými krmivy a některé z nich mohou být vylučovány z těla dojnice mlékem, jak již bylo popisováno. Proto by producenti krmiv měli svou snahu směřovat k omezení kontaminace krmiv mykotoxiny. Úplné vymýcení mykotoxinů z krmiv a potravin není možné, proto jsou kvůli ochraně zdraví zvířat a lidí stanoveny již zmíněné MRL. Rovněž FAO vydává nařízení k regulaci obsahu mykotoxinů v potravinách a krmivech (VAN EGMOND 2007).

Dále existují předpisy EU, které se mykotoxiny zabývají a upravují jejich množství v potravinách a krmivech.

Legislativní předpisy EU pro mykotoxiny v krmivech a potravinách a konkrétní druhy mykotoxinů, kterých se týkají (v závorce):

- Nařízení Komise (ES) č. 1881/2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách (aflatoxiny: B1, součet B1, B2, G1, G2, aflatoxin M1, ochratoxin A, patulin, deoxynivalenol, zearalenon, fumonisiny B1 a B2, T-2 a HT-2 toxin)
- Nařízení Komise (ES) č. 1126/2007, kterým se mění nařízení (ES) č. 1881/2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách, pokud jde o fusariové toxiny v kukuřici a ve výrobcích z kukuřice (maximální hodnoty obsahu toxinů rodu *Fusarium*)
- Nařízení Komise (EU) č. 105/2010, kterým se mění nařízení (ES) č. 1881/2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách, pokud jde o ochratoxin A (maximální limity pro ochratoxin)
- Nařízení Komise (EU) č. 165/2010, kterým se mění nařízení (ES) č. 1881/2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách, pokud jde o aflatoxiny (maximální limity pro aflatoxiny)

- Nařízení Komise (EU) č. 574/2011, kterým se mění příloha I směrnice Evropského parlamentu a Rady 2002/32/ES o nežádoucích látkách v krmivech (limity pro aflatoxin B1 a námel v krmivech)

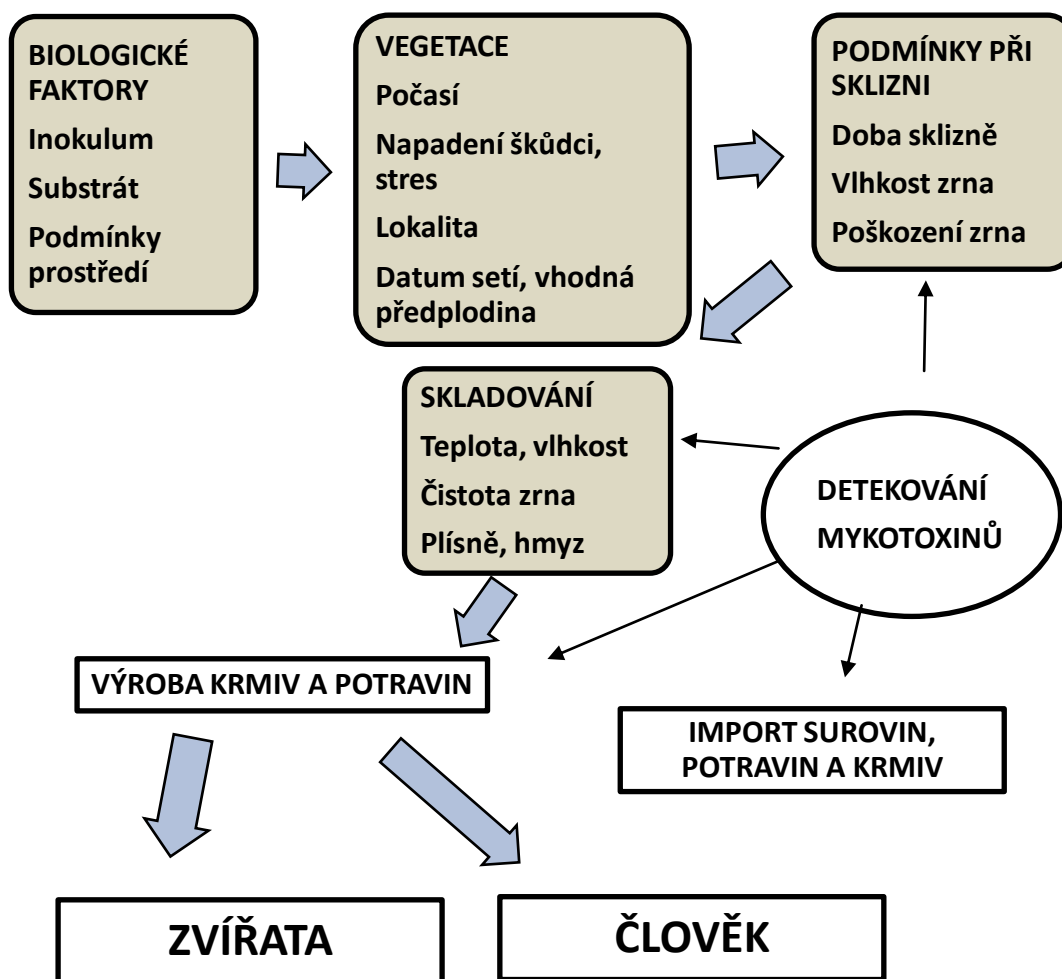
Preventivní opatření k snížení obsahu mykotoxinů v krmivu

Zatímco potraviny mají ve většině evropských zemí stanoveny limity pro obsah jednotlivých mykotoxinů, jak je uváděno v předcházejících kapitolách, u krmiv tato opatření chybí. Pro krmiva v členských státech EU je stanoven pouze limit pro maximální přípustné koncentrace aflatoxinu B1. Pro ostatní mykotoxiny v krmivech jsou uvedena pouze směrodatná doporučení (SUCHÝ, HERZIG 2005).

Doporučení pro prevenci kontaminace krmiv mykotoxiny lze shrnout v následujících bodech (SUCHÝ, HERZIG 2005).

- správné střídání plodin v osevním postupu
- volba vhodné odrůdy plodiny
- vhodně zvolené ošetření proti plísním
- boj proti plevelům, škůdcům a chorobám
- udržení dobrého zdravotního stavu porostu
- ochrana proti mechanickému poškození při sklizni a transportu
- kvalitní sklizeň, konzervace a skladování

Na obrázku č. 11 jsou znázorněny vztahy a interakce mezi životním prostředím a zemědělskou prvovýrobou, kterými lze významně ovlivnit výskyt mykotoxinů.



Obrázek č. 11: Důležité momenty prevence kontaminace plodin mykotoxiny

(Zdroj: upraveno, <http://eagri.cz/public/web/ukzuz/portal>)

Vedle preventivních opatření v surovinách můžeme použít ještě více či méně účinné metody dekontaminace mykotoxinů (VELÍŠEK, HAJŠLOVÁ 2009). Tyto metody jsou ekonomicky náročné, protože je většinou třeba dekontaminovat velké množství hmoty.

Metody dekontaminace lze rozdělit na fyzikální, chemické a biologické. Mezi fyzikální metody zařazujeme mechanické třídění plodin a extrakci mykotoxinů pomocí rozpouštědla. V praxi je jako rozpouštědlo používán například etanol nebo aceton. Při volbě tohoto postupu ale dochází k nežádoucímu vyplavování živin z krmiva. Dalším možným fyzikálním opatřením je inaktivace pomocí tepla, která ale nemá u většiny mykotoxinů prokazatelný účinek (VELÍŠEK, HAJŠLOVÁ 2009).

K odstranění mykotoxinů z mléka lze použít adsorpci pomocí hlinitokřemičitanu vápenatého, tuto látku je možné přidat do krmiva, aby se na ni v trávicím traktu zvířat navázaly mykotoxiny. Uvádí se, že na minerální látky se naváže asi 44 % z aktivních mykotoxinů. K chemickým metodám odstraňování mykotoxinů lze použít degradaci pomocí peroxidu vodíku či amoniaku a také jiná konzervační činidla. Z biologických metod lze jmenovat biodegradaci pomocí enzymů. Dále je možné podpořit přirozené detoxikační procesy v organismu zvířete přidáváním antioxidantů do krmné dávky (MIFKA 2008).

Rovněž lze využít mikroorganismy, jako jsou bakterie a kvasinky, na které se mykotoxiny navážou a tím částečně ztratí svůj toxický účinek nebo jsou zcela inhibovány. Například lze použít kvasinky *Saccharomyces cerevisiae* (BAPTISTA A KOL. 2002).

4.5 Metody stanovení mykotoxinů

Stanovování mykotoxinů je důležité vzhledem ke zjišťování zdravotní nezávadnosti potravin. Proces stanovení mykotoxinů se skládá z odběru vzorku, úpravy vzorku, extrakce mykotoxinu a vlastního stanovení. Metody stanovování mykotoxinů lze rozdělit na biologické, mikrobiologické a chromatografické (RUPRICH 2011). Za zmínku stojí ještě toxikologické metody, kterých se ale v současnosti využívá zřídka, vzhledem k protestům ochránců zvířat (ŠIMŮNEK 2003).

K chromatografickým metodám, které pracují na základě chemicko-fyzikálního principu, můžeme zařadit tenkovrstvou chromatografii (TLC), kapalinovou chromatografii (HPLC) a plynovou chromatografii (GC). Všechny tyto metody pracují na principu různé rychlosti prostupování jednotlivých látek vrstvou sorbentu.

Jako další můžeme k detekci mykotoxinů používat mikrobiologické metody. Tyto metody jsou méně náročné, alespoň pokud se týká vybavení laboratoře a používají se hlavně v případě, že je k dispozici pouze omezené množství vzorku. Mikrobiologické metody pracují na principu použití selektivních disků k blokaci mykotoxinu (ŠIMŮNEK 2003).

K nejčastěji využívaným biologickým metodám detekce mykotoxinů patří testy ELISA a RIA. Tyto metody pracují na principu vazby antigenu a protilátky.

Mykotoxiny většinou samy o sobě nevyvolávají imunitní reakci, ale reagují až po navázání na vhodný přenašeč (bílkovinu), který pak vyvolá tvorbu specifických protilátek. Obě tyto metody jsou vypracovávány pro konkrétní testované látky. Například metoda ELISA používaná u mléka kravského nebude spolehlivě fungovat u mléka mateřského (FOLTÝNOVÁ 2012).

Také přítomnost mykotoxinů v krmivech pro dojnice lze někdy odhalit již podle senzorických změn na komoditě, neboť se dá detekovat podle zápachu, změny barvy nebo změn tvaru semen a plodů (ÖHLINGER A KOL. 2004). Některé plísňové metabolity mohou rovněž významně snižovat chutnost krmiva pro zvířata (SUCHÝ, HERZIG 2005).

5. Vybrané ukazatele jakosti mléka z hlediska výskytu kontaminujících látek

Přítomnost kontaminujících látek může mít kromě negativních účinků na zdraví spotřebitele i negativní účinek na následné zpracování mléka. V následujících kapitolách jsou uvedeny významné ukazatele jakosti mléka, které s výskytem kontaminujících látek souvisejí.

5.1 Rezidua inhibičních látek

Rezidua kontaminujících (inhibičních) látek mají inhibiční účinek na mlékárenské kultury, což znemožňuje výrobu některých mléčných výrobků (kefíry, sýry...)(KOLOŠTA 2007). Tato rezidua pronikají do mléka z různých zdrojů a příčin. Těmito zdroji jsou hlavně: terapeutické aplikace antibiotik, sulfonamidů a jiných biologicky aktivních látek, zbytky čistících a dezinfekčních látek, silně zaplísněná krmiva, pesticidy a konzervační látky (NAVRÁTILOVÁ 2005). O většině z těchto kontaminantů bylo pojednáno v předchozích kapitolách. Za nejčastěji vyskytující se RIL jsou považována veterinární léčiva. Je zjevné, že hlavní příčina výskytu těchto reziduí v mléku je řetězec: výskyt subklinických a klinických mastitid – podávání léčiv – málo kontrolované oddělování mléka dojnic v ochranné lhůtě (KOLOŠTA 2007).

Zvláštní skupinu IL tvoří látky přirozeně se vyskytující v obranném systému mléčné žlázy, jako jsou imunoglobuliny, lysozym a laktoferin. Většina z těchto látek ztrácí svoji inhibiční účinnost pasterací. Zvýšený výskyt koncentrací těchto přirozených IL může být zjišťován v mléku od krav trpících mastitidou nebo od krav s metabolickými poruchami (NAVRÁTILOVÁ 2005).

Ukazatel RIL je spolu s celkovým počtem mikroorganismů a počtem somatických buněk povinným ukazatelem, vyplývajícím z požadavků tzv. hygienického balíčku, konkrétně Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 853/2004 ze dne 29. dubna 2004 o hygieně potravin. Dále požadavky pro tyto ukazatele upravuje i Veterinární zákon ČR (č. 166/1999 Sb.) ve znění pozdějších předpisů a příslušná prováděcí vyhláška.

5.2 Kyselost

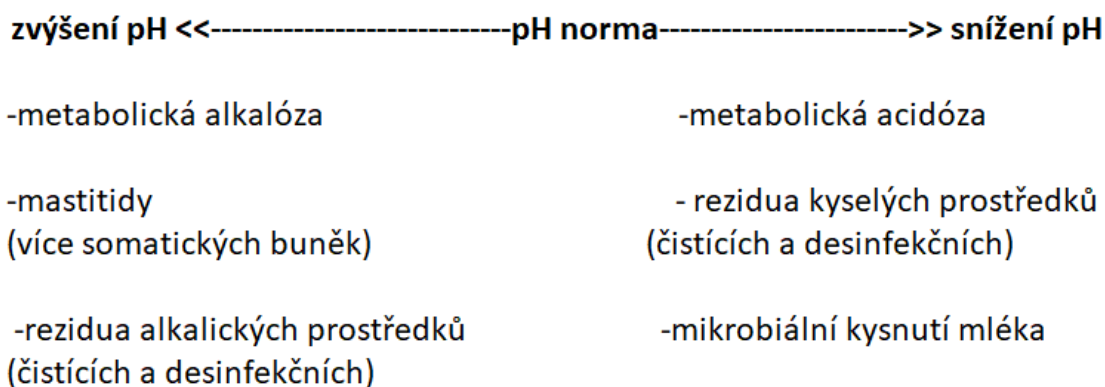
Kyselost je označována za jeden z nejdůležitějších technologických ukazatelů. Můžeme ji specifikovat a vyjádřit dvěma způsoby, jako aktivní kyselost a titrační kyselost (KADLEC A KOL. 2009).

Titrační kyselost mléka

Titrační kyselost je významná z hlediska technologického zpracování mléka pro sýrařství a fermentované mléčné výrobky. Stanovuje se podle normy ČSN 57 0530 jako spotřeba odměrného vzorku NaOH potřebná k neutralizaci mléka na indikátor fenolftalein, ve stupních Soxhlet-Henkela (SH), resp. v mmol/l. Vyjadřuje obsah kyselých skupin v mléce a indikuje zvýšení obsahu kyseliny mléčné v mléce následkem mikrobiální činnosti. Mléko by podle ČSN 57 0529 mělo dosáhnout titrační kyselosti v rozmezí 6,2 – 7,8 SH (SAMKOVÁ A KOL. 2012).

Aktivní kyselost mléka

Čerstvé mléko by mělo mít pH v rozmezí od 6,4 – 6,7. Metoda stanovení aktivní kyselosti mléka je poměrně málo citlivá na produkci kyselin mikroorganismy, díky pufrací schopnosti mléka. Jako pufry v mléce působí zejména kyselina fosforečná, kyselina uhličitá a mléčné bílkoviny. Určité látkové změny v mléce se mohou projevit tak, že titrační kyselost je již měřitelná, zatímco pH ještě do určité míry zůstane stejné (KADLEC A KOL. 2009). Faktory, které mohou ovlivňovat pH mléka jsou znázorněny na obrázku č. 12.



Obrázek č. 12: Faktory působící na pH mléka (upraveno dle SAMKOVÁ A KOL. 2012)

5.3 Kysací schopnost mléka

Stanovení kysací schopnosti mléka má význam z hlediska posouzení výběru syrového mléka ke zpracování fermentačními technologiemi a dalšímu zpracování na mléčné výrobky. Stanovením kysací schopnosti mléka se také může posuzovat přítomnost RIL v mléce, zejména pak přítomnost antibiotik (KADLEC A KOL. 2009). Kysací schopnost mléka se stanoví s použitím jogurtové kultury (*Lactobacillus bulgaricus* a *Streptococcus thermophilus*), která je velmi citlivá na přítomnosti IL. Dle normy je u kravského mléka minimální hodnota 25 SH (ŠVEJCAROVÁ A KOL. 2011).

5.4 Syřitelnost mléka

Jako syřitelnost mléka je označována schopnost enzymového srážení. Pro syřitelnost je nutná přítomnost vápenatých iontů. Syřitelnost lze rozdělit na dva dílčí ukazatele. Těmito ukazateli jsou čas potřebný ke koagulaci po přidání syřidla a posouzení pevnosti syřeniny (KADLEC A KOL. 2009).

6. Závěr

Mléko je významnou složkou lidské výživy, především z hlediska obsahu hodnotných mléčných bílkovin, mléčného tuku a vysokého obsahu vápníku. K zaručení zdravotní nezávadnosti mléka, které by spotřebitelem mohlo být bez obav konzumováno, je třeba dodržet několik zásadních podmínek. Základním předpokladem zdravotní nezávadnosti mléka je původ od zdravé dojnice, která byla krmena nezávadným krmivem. Mléko po nadojení musí být řádně ošetřeno a technologicky zpracováno. Pro omezení zdravotních rizik plynoucích z kontaminace mléka cizorodými látkami slouží celá řada legislativních předpisů, které stanovuje Evropská unie.

Mezi nejvýznamnější kontaminanty pronikajícími do mléka patří rezidua veterinárních léčiv, pesticidů, těžkých kovů a mykotoxiny. V současné době je pozornost, co se týká kvality mléka, věnována především výskytu veterinárních léčiv a mykotoxinů. Veterinární léčiva pronikají do mléka hlavně vlivem nedodržení ochranných lhůt při terapeutické aplikaci antibiotik. Situace s výskytem reziduí veterinárních léčiv v České republice se zdá příznivá, podle dostupných dat z preventivního monitoringu se jejich obsah v posledních letech snižuje.

Mykotoxiny pronikají do mléka především jako důsledek zkrmování zaplísňených krmiv dojnicím. Z pohledu mléka je nejvýznamnějším mykotoxinem aflatoxin M1, který vzniká hydroxylací krmivem přijatého aflatoxinu B1. Nejrizikovějším krmivem z hlediska obsahu mykotoxinů je kukuřice a kukuřičná siláž, naopak nejméně kontaminovaná jsou krmiva s vysokým obsahem bílkovin, jako je například vojtěška či jetel. Zvyšující se teplota jako důsledek klimatických změn vytváří pro plísně produkující mykotoxiny příznivé prostředí. Lze tedy předpokládat, že budou mykotoxiny působit problémy i v následujících letech.

Na základě studia dostupných zdrojů lze říci, že současná kvalita mléka není významně ohrožena. Dodržování legislativních předpisů, které jsou stanoveny pro kontrolu kontaminujících látek v mléce, je ale stále nutné.

7. Seznam použité literatury

1. Baptista, A. S., a kolektiv.: Thermolysed and active yeast to reduce the toxicity of aflatoxin. *Scientia Agricola*, 2002, 59 (2): 257-260.
2. Bezpečnost potravin A-Z. Internetový portál bezpečnosti potravin Ministerstva zemědělství [online]. Dostupné na: <https://www.bezpecnostpotravin.cz/az/termin/76525.aspx>
3. Bilandžić, N., a kolektiv.: Concentrations of veterinary drug residues in milk from individual farms in Croatia. *Mljekarstvo/Dairy*, 61(3): 260-267.
4. Botha, D. D.: Melamine, from fertilizer to pasture to cow's milk. Stellenbosh, 2010. PhD Thesis. University of Stellenbosch. Dostupné z: <https://core.ac.uk/download/pdf/37325522.pdf>
5. Bouwman, H., Van den Berg H, Kylin H.: DDT and malaria prevention: addressing the paradox. *Environmental Health Perspectives*, 2011, 119(6):744–7.
6. Camaj, A., a kolektiv.: Aflatoxin M1 contamination of raw cow's milk in five regions of Kosovo during 2016. *Mycotoxin Research*, 2018, 34(3): 205-209.
7. Cammilleri, G., a kolektiv.: Aflatoxin M1 in cow, sheep and donkey milk produced in Sicily, Southern Italy. *Mycotoxin Research*, 2019, 35 (1): 47-53.
8. Cotty, P.J., Jaime-Garcia, R.: Influences of climate on aflatoxin producing fungi and aflatoxin contamination. *International Journal of Food Microbiology*, 2007, 119(1-2): 109-115.
9. Českomoravská společnost chovatelů [online]. 2019. Dostupné na: <https://www.cmsch.cz/getattachment/c6d00bfd-de39-48e0-9cde-e608ec3ee015/Vysledky-kvality-nakupovaneho-mleka-v-roce-2018-podle-analyz-bazenovych-vzorku.pdf.aspx?lang=cs-CZ>
10. De Novaes, S. F., a kolektiv.: Residues of veterinary drugs in milk in Brazil. *Ciencia Rural*, 2017, 47 (7):8
11. Du, B., a kolektiv.: Presence of tetracyclines, quinolones, lincomycin and streptomycin in milk. *Food Control*, 2019, 100 (6): 171-175.
12. EFSA [online]. 2015. Dostupné na: https://www.bezpecnostpotravin.cz/UserFiles/Benes/EFSA_PestRez_2013.pdf
13. EFSA [online]. 2018. Dostupné na: <http://doi.wiley.com/10.2903/sp.efsa.2018.EN-1454>

14. Esposito, M., a kolektiv.: Contamination levels and congener distribution of PCDDs, PCDFs and dioxin-like PCBs in buffalo's milk from Caserta province (Italy). *Chemosphere*, 2010, 79 (3): 341-348.
15. FAO.: Manual on the application of the HACCP system in mycotoxin prevention and control. Rome: FAO, 2001. ISBN 92-5-104611-5.
16. Flora, G., a kolektiv.: Toxicity of lead: a review with recent updates. *Interdisciplinary Toxicology*, 2012, 5(2): 47-58.
17. Flores-Flores, M.E., González-Peñas, E.: Analysis of Mycotoxins in Peruvian Evaporated Cow Milk. *Beverages*, 2018, 4 (2): 34
18. Food Safety Authority of Ireland: Mercury, Lead, Cadmium, Tin and Arsenic in Food. *Toxicology Factsheet Series*, 2009, 1 (5):1-13
19. Foltýnová, Z.: Mykotoxiny v potravinách a stanovení produkce kyseliny cyklopiazonové v sýrech s bílou plísní na povrchu. Zlín, 2012. Bakalářská práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická, Ústav analýzy a chemie potravin
20. Han, R., a kolektiv.: Survey of Veterinary Drug Residues in Raw Milk in Hebei Province, China. *Journal of Food Protection*, 2017, 80 (11) : 1890-1896
21. Hofman, J., a kolektiv [online]. 2018 Dostupné na: <https://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/ochrana-obecne/rezidua-pesticidu-v-ornych-pudach-ceske-republiky>
22. International Agency for Research on Cancer [online]. 2019 Dostupné na: <https://monographs.iarc.fr/wp-content/uploads/2019/01/Preamble-2019.pdf>
23. Jajić, I., a kolektiv.: Aflatoxin M1 occurrence in Serbian milk and its impact on legislative. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 2019, 69(4):1283-1290
24. Jičínská, E., Havlová, J.: Patogenní mikroorganismy v mléce a mlékárenských výrobcích. Praha: Ústav zemědělských a potravinářských informací, 1995. ISBN 80-85120-47-x.
25. Kadlec, P., Melzoch, K., Voldřich, M.: Co byste měli vědět o výrobě potravin?: Technologie potravin. Ostrava: Key Publishing, 2009. 536 s. ISBN 978-80-7418-051-4.
26. Khaniki, G. R.: Chemical contaminants in milk and public health concerns: a review. *International Journal of Dairy Science*, 2007, 2 (2): 104-15.
27. Kološta, M.: Riziko výskytu reziduí inhibičních látek v mlieku. Žilina: VÚM a.s., 2007. ISBN neuvedeno.

28. Kozáková, L.: Expozice české populace polychlorovaným bifenylům. Praha 2011. Bakalářská práce. Univerzita Karlova v Praze, 3. lékařská fakulta, Ústav obecné hygieny
29. Krmenčík, P., Kysilka, J. [online]. 2001-2007 Dostupné na: <http://www.biotox.cz/toxikon/>
30. Kuba, J., a kolektiv: Comparison of DDT and its metabolites concentrations in cow milk from agricultural and industrial areas. *Journal of Environmental Science and Health: Part B*, 2015, 50(1):1-7
31. Kummer, V., Faldíková, L. [online]. 2002 Dostupné na: <https://www.naschov.cz/ucinky-mykotoxinu-na-zdravi-a-reprodukcii-hospodarskych-zvirat/>
32. Licata, P., a kolektiv.: Determination of trace elements in goat and ovine milk from Calabria (Italy) by ICP-AES. *Food Additives and Contaminants: Part B*, 2012, 5 (4):268-271
33. Luo, Y., a kolektiv.: Updating techniques on controlling mycotoxins - A review. *Food Control*, 2018, 89 (2): 123-132
34. Lutter, P., a kolektiv: Screening and confirmatory methods for the determination of melamine in cow's milk and milk-based powdered infant formula: Validation and proficiency-tests of ELISA, HPLC-UV, GC-MS and LC-MS/MS. *Food Control*, 2011, 22(6): 903-913.
35. Malíř, F. A Ostrý, V.: Vlákňité mikromycety (plísňe), mykotoxiny a zdraví člověka. Brno: Národní centrum ošetrovatelství a nelékařských zdravotnických oborů v Brně, 2003. 349 s. ISBN 80-701-3395-3.
36. Marth, E. H., Steele, J. L.: Applied Dairy Microbiology. 2. vyd. New York: Marcel Dekker, 2001. 744 s. ISBN 0-8247-0536-X.
37. Mifka J.: Odbourávání mykotoxinů pomocí mikroorganismů. Brno, 2008 Diplomová práce. Mendelova univerzita v Brně, Agronomická fakulta, Ústav technologie potravin.
38. Moravcová, H., Nedělník, J. [online]. 2005a. Dostupné na: http://www.vupt.cz/content/files/pub_05/morav_05_01.pdf
39. Moravcová, H., Nedělník, J. [online]. 2005b. Dostupné na: https://c.vupt.cz/files/pub_06/nedel_06_01.pdf
40. Moravcová, H., Nedělník J.: Problematika výskytu mykotoxinů v krmivech pro zvířata. *Veterinářství*, 2005c, 55: 214-219.
41. Navrátilová, P.: Problematika reziduí inhibičních látek v syrovém kravském mléce. *Veterinářství*, 2005, 52:478-481.

42. Navrátilová, P., a kolektiv.: Hygiena produkce mléka. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita, Fakulta veterinární hygieny a ekologie, 2012. 129 s. ISBN 978-80-7305-625-4
43. Nurhan, Ü.: Systematic review of mycotoxins in food and feeds in Turkey. *Food Control*, 2019, 97 (10): 1-14
44. Ostrý, V., Ruprich, J. [online]. 2018. Dostupné na: http://www.szu.cz/uploads/CZVP/Fumonisy_30_let_vyroci_Lenfeldovy_Hoklovy_dny_2018.pdf
45. Öhlinger, R., a kolektiv.: Occurrence of toxigenic fungi and related mycotoxins in cereals, feeds and foods in Austria. *An Overview on Toxigenic Fungi and Mycotoxins in Europe*. 2006. Springer, Dordrecht, 2004. s. 1-10.
46. Pepperný, K.: Rezidua pesticidů v potravinách – zdravotní rizika a aktuální stav. In: Státní zdravotní ústav [online]. Praha, 2015 [cit. 2019-28-03]. Dostupné z: <http://www.szu.cz/tema/rezidua-pesticidu-v-potravinach-zdravotni-rizika-a-aktualni>
47. Prandini, A., a kolektiv: On the occurrence of aflatoxin M1 in milk and dairy products. *Food and Chemical Toxicology*, 2009, 47(5): 984-991.
48. Ruprich, J. a kolektiv [online]. 2011. Dostupné na: <http://czvp.szu.cz/monitor/tds11c/5CHEMON/ANORG11/PB.pdf>
49. Samková, E., a kolektiv.: Mléko: produkce a kvalita. Vědecká monografie. České Budějovice: Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, 2012. 240 s., ISBN 978-80-7394-383-7.
50. Spreer, E.: Milk and Dairy Product Technology. New York: M. Dekker, 1998. 484 s. ISBN 0-8247-0094-5.
51. Steyn, P. S.: Ochratoxin and other dihydroisocoumarins. *Microbial Toxins*, 2016, 6: 179-205.
52. Suchý, P., Herzig, I. [online]. 2005. Dostupné na: <https://vuzv.cz/wp-content/uploads/2018/04/Hezig-Suchý-Plisne-a-mykotoxiny-2005.pdf>
53. Šimůnek, J. [online]. 2003. Dostupné na <http://www.med.muni.cz/predmety/preventivni/MYKOTW/mtobec.htm>
54. Švejcárová, M., a kolektiv, [online]. 2011. Dostupné na: http://www.mlekarskelisty.cz/upload/soubory/pdf/2011/128_s.i-iv.pdf
55. Tsakiris, I. N., a kolektiv: Risk assessment for children exposed to DDT residues in various milk types from the Greek market. *Food and Chemical Toxicology*, 2015, 75: 156-165.

56. Tunegová, M., a kolektiv.: Occurrence of chemical contaminants in animal products during 1999–2016 in the Czech Republic. *British Food Journal*, 2018, 120 (9): 2142-2154. Dostupné také na: <https://doi.org/10.1108/BFJ-12-2017-0672>
57. Van Asselt, E. D., a kolektiv: Overview of food safety hazards in the European dairy supply chain. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2017, 16 (1): 59-75.
58. Van Egmond, H. P., a kolektiv: Regulations relating to mycotoxins in food. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2007, 389 (1): 147–157.
59. Velíšek, J., Hajšlová, J.: Chemie potravin 2. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009. 623 s. ISBN 978-80-86659-16-9.
60. Venâncio, R. L., a kolektiv.: Occurrence and seasonality of aflatoxin M1 in milk in two different climate zone. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2019, 99 (11): 3203–3206
61. Wu, Q., a kolektiv.: A Novel Microbiological Method in Microtiter Plates for Screening Seven Kinds of Widely Used Antibiotics Residues in Milk, Chicken Egg and Honey. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10(3): 436.

7.1 Legislativa

Nařízení (ES) 396/2005 o maximálních limitech reziduí pesticidů v potravinách a krmivech rostlinného a živočišného původu a na jejich povrchu a o změně Směrnice Rady 91/414/EHS, [cit. 2019-20-03]. Dostupné na: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/ALL/?uri=CELEX:32005R0396>.

Směrnice Evropského parlamentu a Rady 2009/128/ES ze dne 21. října 2009, kterou se stanoví rámec pro činnost Společenství za účelem dosažení udržitelného používání pesticidů, [cit.2019-25-03]. Dostupné na: <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:309:0071:0086:CS:PDF>

Prováděcí nařízení Komise (EU) 682/2014 ze dne 20. června 2014, kterým se mění nařízení (EU) č. 37/2010, pokud jde o látku klozantel, [cit.2019-31-03]. Dostupné na: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/ALL/?uri=CELEX%3A32014R0682>

Nařízení Komise (EU) 37/2010 ze dne 22. prosince 2009 o farmakologicky účinných látkách a jejich klasifikaci podle maximálních limitů reziduí v potravinách živočišného původu, [cit.2019-31-03]. Dostupné na: <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=CONSLEG:2010R0037:20120514:CS:PDF>

Prováděcí nařízení Komise (EU) 576/2016 ze dne 14. dubna 2016, kterým se mění nařízení (EU) č. 37/2010, pokud jde o látku rafoxanid, [cit.2019-31-03]. Dostupné na: <https://esipa.cz/sbirka/sbsrv.dll/sb?DR=SB&CP=32016R0576>

Nařízení Komise (EU) 594/2012 ze dne 5. července 2012, kterým se mění nařízení (ES) č. 1881/2006, pokud jde o maximální limity kontaminujících látek ochratoxinu A, PCB bez dioxinového efektu a melaminu v potravinách, [cit.2019-31-03]. Dostupné na: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/?uri=celex:32012R0594>

Nařízení komise (ES) 1881/2006 ze dne 19. prosince 2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách, [cit.2019-31-03]. Dostupné na: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/HTML/?uri=CELEX:02006R1881-20150731&from=EN>