

DETECTION OF AFLATOXIN B1 IN SOME FOODSTUFFS BY ELISA METHOD

Olga Cwиковá, Tomáš Gregor, Hana Koubková

ABSTRACT

The aflatoxin B1 is highly toxic and carcinogenic secondary metabolite, which is mainly produced by the fungi *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*. It has been commonly found as contaminants of peanuts, tree nuts and their products. This work deals with the detection of aflatoxin B1 in these foodstuffs. A total of 33 samples of nuts, peanuts and their products were tested for contain of aflatoxin B1. For analysis was used competitive heterogeneous enzyme immunoassay (ELISA). 97 % of samples were contaminated with aflatoxin B1 in the range of 0.78 – 8.16 $\mu\text{g.kg}^{-1}$. Levels of aflatoxin B1 above the regulatory limits were found in 9 samples (28 %). The highest level of this aflatoxin was detected in a sample of walnuts (8.16 $\mu\text{g.kg}^{-1}$). The relatively low content of this substance was involved in almonds (mean value 1.11 $\mu\text{g.kg}^{-1}$). The derivate products contained higher concentration of aflatoxin B1 than just nuts.

Key words: aflatoxin B1, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus parasiticus*, ELISA, nuts,

ÚVOD

Aflatoxiny patří s ohledem na svoji extrémně vysokou toxicitu mezi nejvíce sledované mykotoxiny (Velíšek, 2002). Historicky byly považovány za produkt plísně *Aspergillus flavus* – odtud pochází název aflatoxin (*Aspergillus flavus* toxin). Později byla produkce aflatoxinů připsána i jiným druhům (Pohanka, 2008). Výčet aflatoxinogenních mikromycet publikovali Ostrý a Škarková (2003): *Aspergillus flavus*, *A. nominius*, *A. parasiticus*, *A. tamarii* (u kterého je průkaz toxinogenity a druhové identifikace nutno ještě konfirmovat molekulárně biologickými metodami) a nově popsané druhy *A. bombycis*, *A. pseudotamarii* a *Aspergillus zhaoqingensis*. Malíř a Ostrý (2003) dále uvádějí *Aspergillus argentinicus*. V tropických a subtropických oblastech jsou aflatoxiny produkovány zejména vláknitými mikromycetami *A. flavus* a *A. parasiticus* (Malíř a Ostrý, 2003). Mezi plodiny, které jsou často napadeny plísněmi rodu *Aspergillus* patří cereálie (např. kukuřice, čirok, rýže, pšenice), olejniny (např. podzemnice, sojové boby, slunečnice, bavlna), koření (chilli papričky, pepř černý, koriandr, kurkuma, zázvor aj.) a ořechy (např. mandle, pistácie, vlašský ořech, kokos, para-ořech) (Kvasničková, 2010). Přestože bylo identifikováno 20 aflatoxinů, pouze 4 aflatoxiny B1, B2, G1 a G2 se vyskytují přirozeně a jsou významnými kontaminanty široké škály potravin a krmiv (Sherif et al., 2008).

Aflatoxiny mají toxické, karcinogenní, mutagenní a teratogenní účinky na laboratorní zvířata (Sherif et al., 2008). Nadměrný příjem aflatoxinů organizmem má za následek rozvinutí otravy nazývané aflatoxikóza (Pohanka, 2008). Aflatoxiny jsou relativně rezistentní k tepelné inaktivaci a ničí se pouze teplotami okolo 250 °C (Megan a Olsen, 2004). Pokles hladiny aflatoxinů závisí na obsahu vlhkosti, množství tuku a dalších složkách přítomných v dané potravíně (Velíšek, 2002).

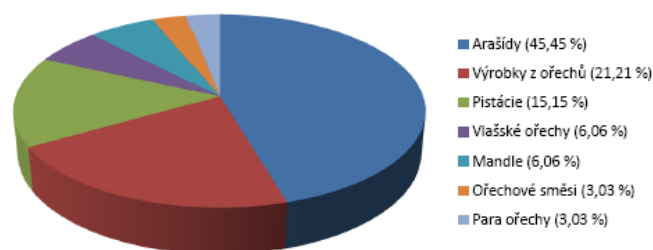
Cílem práce bylo zjistit množství aflatoxinu B1 ve vybraných potravinách (suchých skořápkových plodech a výrobcích z nich) metodou ELISA.

MATERIÁL A METODY

Pro detekci aflatoxinu B1 byly použity suché skořápkové plody a výrobky z nich. Ve třech odběrových časech bylo zakoupeno v maloobchodní síti v Brně a okolí celkem 33 vzorků. Výběr materiálu pro analýzu byl dlouhodobý a cílený, mimo jiné byly zohledněny:

- výsledky studie MYKOMON, ve které byly zkoumány toxinogenní mikromycety v potravinách v rámci České republiky
- studie zabývající se detekcí aflatoxinů v ořeších a podzemnici olejné (např. Amjad Iqbal et al., 2006, Cheraghali et al., 2008, Chun et al., 2007, Nakai et al., 2008)
- země původu jednotlivých skořápkových plodů
- faktory ovlivňující tvorbu aflatoxinů
- senzorické zhodnocení výrobku.

Seznam všech výrobků použitých k analýze je uveden v tabulce 1, skladba jednotlivých skupin výrobků na obrázku 1. Vzorky byly až do analýzy uchovávány za podmínek doporučených výrobcem.



Obr. 1: Skladba vzorků použitých při analýze

Ke stanovení aflatoxinu B1 byla použita souprava ELISA (Immunolab GmbH, AB1-E01, Lilienthalstrasse, D-34123 Kassel; NOACK ČR), složená z následujících reagensů:

- standardy aflatoxinu B1 (0, 100, 400, 1000, 4000, 10000 pg.ml⁻¹). Objem každého standardu byl 0,5 ml a byly 10x koncentrované
- anti-aflatoxin B1 protilátka (králičí): 6 ml
- konjugát (anti-králičí-peroxidáza): 11 ml
- roztok substrátu (TMB): 11 ml
- stop roztok (0,5 M kyselina sírová): 11 ml
- ředidlo standardu/vzorku (PBS/BSA): 60 ml
- promývací roztok (PBS + Tween 20): 60 ml

(určený ke zředění destilovanou vodou v poměru 1:9). Souprava obsahovala i mikrotitrační destičku složenou z 12 stripů s 8 oddělitelnými jamkami, které byly pokryty konjugátem k aflatoxinu.

Stanovení aflatoxinu B1 v suchých skořápkových plodech a výrobkách z nich bylo provedeno v chemické laboratoři Ústavu technologie potravin Mendelovy univerzity v Brně, která má povolení Státního úřadu pro jadernou bezpečnost pro práci s mykotoxiny.

Suché skořápkové plody byly zhomogenizovány v mixéru (3 minuty) a výrobky z ořechů a arašídů byly rozetřeny v třecí misce. Dva gramy takto připravených vzorků byly extrahovány v roztoku metanolu a dvojitě destilované vody (10 ml, v poměru 7:3), dále byla směs míchána 30 minut na orbitální třepačce (120 otáček za min; GFL 3005, Německo). Extrakt byl odstředěn (Universal 32R, Hettich Zentrifugen, Německo) 5 minut při 3000 g a získaná vodná fáze byla zředěna 1:10 roztokem PBS/BSA. Stejným způsobem byly zředěny také standardy aflatoxinu B1. Do jamky mikrotitrační destičky bylo v duplikátech napipetováno 100 μl takto

připravených vzorků, resp. standardů. Poté bylo do každé jamky přidáno 50 μl anti-Aflatoxin B1 protilátky (králičí). Po devadesáti minutové inkubaci při pokojové teplotě byly jamky třikrát promyty zředěným promývacím roztokem PBS + Tween 20 (300 μl). Následně bylo napipetováno 100 μl peroxidázového konjugátu (anti-králičí-peroxidázy). Po 90-ti minutové inkubaci, byl systém promyt a do každé jamky bylo přidáno 100 μl substrátového roztoku TMB. Reakce (bez přístupu světla při pokojové teplotě) byla po 20 minutách zastavena přidáním 100 μl 0,5 M kyseliny sírové (stop roztok). Absorbance byla změřena pomocí ELISA readeru (Neogen Microwell Strip Reader, Neogen Corporation, Leshar Place, Lansing, MI 48912, Velká Británie) při vlnové délce 450 nm. Pro každý vzorek i standard byla vypočítána průměrná absorbance a procentuální vyjádření jednotlivých absorbancí v porovnání k slepému pokusu (100 %) a získané hodnoty byly označeny jako B/B0. Dále byla vytvořena standardní křivka, která byla proložena logaritmickou spojnicí trendu (rovnice regrese: $y = -11,57 \ln(x) + 124,96$; $R^2 = 0,9854$). Koncentrace aflatoxinu B1 přítomná ve vzorku (2 g) v pg.g⁻¹ byla získána výpočtem z rovnice regrese a vynásobením ředícím faktorem (50). Následně byly hodnoty přepočítány na 1 g vzorku a převedeny na μg.kg⁻¹, aby mohly být porovnány s legislativními požadavky.

U každého měření byly vypočítány základní statistické charakteristiky (aritmetický průměr, směrodatná odchylka a variační koeficient) pomocí programu Microsoft Excel 2007. Pro každou skupinu výrobků byl v témže programu vypočten aritmetický průměr stanovených koncentrací aflatoxinu B1, medián a rozsah zjištěných hodnot.

Tab.1 Seznam výrobků použitých k analýze

Název	Druh výrobku	Země původu (byla-li uvedena)
Arašídy volné Tesco	Arašídy pražené, neloupané	-
Pistacios Tesco	Pistácie pražené, solené, neloupané	Írán
Mandle Dr. Ensa	Jádra mandlí blanširované, pražené, solené	USA
Arašídy Canto 100 g	Arašídy pražené, loupané, solené	Polsko
Pistácie volné Tesco	Pistácie pražené, solené, neloupané	-
Arašídy Sombreros Nuts	Arašídy pražené, loupané, solené	-
Tesco salted roasted peanuts	Arašídy pražené, loupané, solené	Polsko
Arašídy Canto 185 g	Arašídy pražené, loupané, solené	Polsko
Chilli flavoured peanuts Tesco	Pražené arašídy s chilli příchutí	Holandsko
Viva comex arašídy Lac Nhan	Loupané nepražené arašídy	Vietnam
Čínská směs LTC Vysoké Mýto	Arašídy v těstíčku se sezamem	Čína
Pistácie Královská chuť	Pistácie pražené, solené, neloupané	Írán
Solené pistácie Tesco	Pistácie pražené, solené, neloupané	Polsko
Pražené solené mandle Tesco	Jádra mandlí, pražené, solené	Polsko
Arašídy volné Interspar	Arašídy pražené, neloupané	-
Arašídy Tesco value	Arašídy pražené, loupané, solené	Polsko
Pistácie volné Interspar	Pistácie pražené, solené, neloupané	-
Arašídy v medu Tesco	Pražené arašídy s medem	Polsko

Směs ořechů Tesco	Směs para ořechů, arašídů, mandlí, ořechů kešu, lískových ořechů a polovin vlašských ořechů	-
Bio arašidy	Arašidy pražené, loupané, solené	Argentina
Arašídový balíček	Arašidy v glukosovém sirupu, cukru a medu	Řecko
Vlašské ořechy, zakoupeny v Brně	Jádra vlašských ořechů, volné	-
Para ořechy, zakoupeny v Brně	Para ořechy bez skořápky volné	-
Arašidy zakoupeny v Brně	Arašidy pražené, nesolené, loupané	-
Arašidy Indonésie	Arašidy pražené, nesolené, loupané	Indonésie
Vlašské ořechy volné	Jádra vlašských ořechů	ČR
Peanut Butter, arašídové máslo	Arašídový krém s kousky	Čína
Bio Samba čoko-buráková pomazánka	Čokoládovo-arašídová pomazánka	Německo
Arašídová Nugeta Orion	Arašídová pomazánka	-
Lískooříšková Nugeta Orion	Lískooříšková pomazánka	-
Čokoládová pasta lískooříšková HAAS	Čokoládovo-lískooříšková pasta	-
Chalwa sezamowa s orzechami	Sezamová chalva s ořechy	Polsko
Fistikli Cezerye Ezmesi	Mrkvová tyčinka s arašidy	Turecko

VÝSLEDKY A DISKUSE

Analyzováno bylo celkem 33 vzorků, u kterých byl imunochemickou metodou ELISA změřen obsah aflatoxinu B1. Přítomnost aflatoxinu B1 byla zjištěna u 97 % vzorků, a to v množství od 0,79 do 8,16 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, přičemž požadavkům legislativy na obsah aflatoxinu B1 nevyhovovalo 28 % testovaných vzorků.

Nejnižší námi naměřené hodnoty vykazovaly mandle (průměrně 1,11 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$), nejvyšší hodnoty byly zaznamenány u vlašských ořechů (průměrně 5,67 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$). V testovaných arašidech byl zjištěn obsah aflatoxinu B1 v průměru 1,69 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, v pistáciích průměrně 1,29 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ a v para ořeších 3,99

$\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. Ve vzorcích potravin z alternativního zemědělství byl detekován aflatoxin B1 v arašidech v množství 5,37 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ a v pomazánce 1,64 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. V odvozených výrobcích byla stanovena koncentrace aflatoxinu B1 vyšší než v samotných skořápkových plodech: pomazánky obsahovaly průměrně 3,06 μg aflatoxinu B1 v kilogramu (arašídové průměrně 2,19 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, lískooříškové průměrně 3,93 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$), tyčinky průměrně 2,25 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ a arašídové máslo 3,95 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. Naměřené hodnoty aflatoxinu B1 u jednotlivých vzorků, přepočítané na výtěžnost, jsou uvedeny v tab. 2.

Tab.2 Naměřené hodnoty aflatoxinu B1 ($\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) u jednotlivých vzorků přepočítané na výtěžnost, B/B0: procentuální vyjádření jednotlivých absorbancí v porovnání k slepému pokusu

Vzorek	B/B0 [%]	Koncentrace aflatoxinu B1 [$\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$]
Arašidy volné Tesco	75,17	2,15
Pistachios Tesco, Irán	86,76	0,79
Mandle Dr. Ensa, USA	74,78	2,22
Arašidy Canto 100 g, Polsko	77,99	1,68
Pistácie volné Tesco	88,61	0,67
Arašidy Sombreros Nuts	86,22	0,83
Tesco salted roasted peanuts, Polsko	80,91	1,31
Arašidy Canto 185 g, Polsko	78,90	1,56

Chilli flavoured peanuts Tesco, Holandsko	84,23	0,98
Vivacomex arašidy Lac Nhan, Vietnam	86,81	0,79
Čínská směs LTC Vysoké Mýto, Čína	85,74	0,86
Pistácie Královská chuť, Irán	79,29	1,51
Solené pistácie Tesco, Polsko	75,31	2,12
Pražené solené mandle Tesco, Polsko	100	0
Arašidy volné Interspar	81,90	1,20
Arašidy Tesco value, Polsko	81,64	1,23
Pistácie volné Interspar	80,28	1,38
Arašidy v medu Tesco, Polsko	85,54	0,88
Směs ořechů Tesco	68,18	3,93
Bio arašidy Argentina	64,59	5,37
Arašidový balíček, Řecko	73,95	2,39
Vlašské ořechy, volné (zakoupeny Brno, Orlí)	70,68	3,17
Para ořechy, volné (zakoupeny Brno, Dornych)	68,01	3,99
Arašidy (zakoupeny Brno, Dornych)	79,93	1,42
Arašidy, Indonésie	72,46	2,72
Vlašské ořechy, ČR	59,73	8,16
Peanut Butter, arašidový krém, Čína	68,12	3,95
Bio Samba čoko-buráková pomazánka	78,31	1,64
Arašidová Nugeta Orion	72,33	2,75
Lískooříšková Nugeta Orion	68,27	3,90
Čokoládová pasta lískooříšková HAAS	68,10	3,96
Chalwa sezamowa s orzechami, Polsko	83,76	1,02
Fistikli Cezerye Ezmesi, Turecko	69,59	3,48

Podle Nařízení Komise č.1881/2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách (ve znění Nařízení č.165/2010), platí pro jádra podzemnice olejné určené k přímé spotřebě (včetně zpracovaných výrobků) limit na obsah aflatoxinu B1 $2 \mu\text{g.kg}^{-1}$, pro mandle a pistácie (včetně výrobků) $8 \mu\text{g.kg}^{-1}$, pro lískové ořechy a para ořechy $5 \mu\text{g.kg}^{-1}$ (taktéž včetně zpracovaných či odvozených výrobků). Pro ostatní skořápkové plody platí limit pro obsah aflatoxinu B1 $2 \mu\text{g.kg}^{-1}$.

Námi zjištěné procento pozitivních vzorků obsahujících aflatoxin B1 (97 %) je v porovnání s výsledky dalších studií vyšší. Při analýze provedené v Jižní Koreji byla zjištěna kontaminace 10,6 % vzorků (ořechy, arašidy a výrobky z nich) (Chun et al., 2007). Britský Úřad pro bezpečnost potravin

zjistil ve své studii 25 % kontaminaci vzorků (Kopáčová, 2004) a při pokusu v Egyptě byla zjištěna kontaminace 82 % vzorků ořechů a výrobků z nich (Selim et al., 1996). V pokusu provedeném v Nizozemí překračovalo legislativní limit 10 % vzorků (Suková, 2005), ve Velké Británii 13 % (Anonym, 2002). To je v porovnání s našimi výsledky méně.

Co se týká arašidů, při pokusech v Brazílii byl naměřen obsah aflatoxinů ve 33 % vzorků (naměřené hodnoty se pohybovaly v rozmezí 7,0 až $116 \mu\text{g.kg}^{-1}$) (Nakai et al., 2008). Námi zjištěné množství aflatoxinu B1 bylo u arašidů mnohem nižší (0,78 – $5,37 \mu\text{g.kg}^{-1}$) než ve zmiňovaném pokusu. Obdobné výsledky jako jsme naměřili v našem pokusu publikoval D'Mello (2003), který zjistil v arašidech koncentrace aflatoxinu B1 od 0,8 do $16 \mu\text{g.kg}^{-1}$.

Analýzou aflatoxínu B1 v pistáciích a vlašských ořešcích se blíže zabývali **Cheraghali et al. (2007)**. Zjistili, že 11,8 % iránských pistácií má koncentraci aflatoxinů vyšší než je povolený legislativní limit v Íránu ($5 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$).

Nejvyšší námi naměřené hodnoty aflatoxínu B1 vykazovaly vlašské ořechy ($3,17 - 8,16 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$). Vyšší kontaminaci vlašských ořechů v porovnání s naším pokusem zaznamenal **Gürse (2006)** v Turecku (maximální naměřená hodnota byla $22,1 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$). Při analýze vlašských ořechů v Egyptě byla zjištěna přítomnost aflatoxínu v 75 % vzorků, což je ve srovnání s námi méně (**Abdel-Hafez a Sabe, 1993**). Je však třeba vzít v úvahu nízký počet vzorků, které jsme analyzovali.

Monitoringem arašídových máseľ se zabýval **D'Mello (2003)**. Varianta „crunchy“ (s kousky) obsahovala $3,2 - 16 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ aflatoxínu B1. Nižší hodnota rozpětí je srovnatelná s námi zjištěnou hodnotou aflatoxínu B1 v arašídovém másle s kousky ($3,96 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$). Úřadem pro bezpečnost potravin Velké Británie bylo v roce 2002 analyzováno 35 vzorků ořechových pomazánek (včetně arašídových máseľ). Legislativním požadavkům nevyhovovalo 7 vzorků (tj. 20 %), což je v porovnání s námi méně, v našem pokusu bylo legislativně nevyhovujících 40 % pomazánek.

Na nebezpečí potravin z alternativního zemědělství z hlediska kontaminace mykotoxiny upozornili **Marx et al., (1995)**. Z ekologického zemědělství pocházely dva námi testované vzorky. V obou vzorcích byl detekován aflatoxin B1, v jednom vzorku koncentrace aflatoxínu B1 překračovala legislativní limity. Kvůli nízkému počtu námi analyzovaných vzorků však nelze ze zjištěných výsledků vyvozovat závěry.

ZÁVĚR

Přítomnost aflatoxínu B1 byla detekována u 97 % vzorků. Požadavkům evropské legislativy nevyhovovalo 24 % vzorků suchých skořápkových plodů a 43 % výrobků z nich. V odvozených výrobcích byly stanoveny vyšší koncentrace sledovaného aflatoxínu než v samotných skořápkových plodech, což může poukazovat na používání méně kvalitních surovin k výrobě ořechových a arašídových produktů. Tato situace je závažná především proto, že výrobky ze skořápkových plodů, jako jsou pomazánky a tyčinky, jsou oblíbené především mezi dětmi.

Nejnižší naměřené hodnoty aflatoxínu B1 ze všech testovaných suchých skořápkových plodů vykazovaly mandle. Důvodem může být zavedení dobrovolného odběru vzorků mandlí pro kontrolu aflatoxinů v Kalifornii a dozor kontrolních úřadů EU nad 100 % zásilek dovezených mandlí. Nejvyšší

koncentraci aflatoxínu B1 vykazovaly vlašské ořechy, což bylo pravděpodobně způsobeno jejich nevhodným posklizňovým ošetřením a způsobem skladování. Vzhledem k tomu, že vlašské ořechy jsou v České republice důležitou složkou mnoha tradičních pokrmů, je potřeba věnovat zjištěným skutečnostem větší pozornost. S ohledem na zdraví spotřebitele lze, na základě výsledků této práce, doporučit snížení spotřeby výrobků z ořechů a arašídů ve prospěch suchých skořápkových plodů jako takových, které jsou, i přes možný výskyt aflatoxinů, pro lidské zdraví významným přínosem. Pozornost konzumenta by však měla být zaměřena na důkladnou senzorkou analýzu konzumovaných plodů.

V rámci Evropské unie bylo v roce 2008 systémem RASFF přijato 902 oznámení na aflatoxiny. Z tohoto počtu se 710 oznámení týkalo ořechů, ořechových výrobků a semen. V téže roce bylo v ČR přijato 5 oznámení týkajících se přítomnosti mykotoxinů (jednalo se o arašidy z Ruské federace, pistácie z Íránu, muškátový ořech, krmivo a bílá slunečnicová semena). Na základě kontroly trhu byla odeslána 4 oznámení (para ořechy z Bolívie, pistácie z USA, kurkuma a mletý muškátový ořech). Při kontrole dovozu byly zadrženy a nepropuštěny do volného oběhu ČR dvě zásilky (arašidy z Vietnamu a z Číny). U 91 % oznámení se jednalo o nadlimitní hodnoty v obsahu aflatoxinů. V roce 2009 bylo z ČR odesláno systémem 9 oznámení týkajících se kontroly dovozu, tři z nich se týkaly aflatoxinů. Konkrétně šlo o arašidy (Čína), mandle (USA) a arašidy ve skořápce (Vietnam). Na základě těchto údajů lze konstatovat, že problematika výskytu aflatoxínu B1 v potravinách, konkrétně v suchých skořápkových plodech a výrobcích z nich, je celosvětově aktuální, což dokládá i častá aktualizace legislativy týkající se četnosti provádění fyzických kontrol potravin, které podléhají zesíleným úředním kontrolám.

LITERATURA

- ABDEL-HAFEZ, A.L., SABER, S.M., 1993. Mycoflora and mycotoxin of hazelnut and walnut seeds in Egypt. In *Zentralblatt für Mikrobiologie*. Mar, 148(2), p. 137 – 147.
- AMJAD IQBAL, S., KHALIL, I. A., SHAH, H., 2006. Aflatoxin contents of stored and artificially inoculated cereals and nuts. *Food Chemistry* 98, p. 699-703.
- ANONYM, 2002. FOOD STANDARDS AGENCY. Survey of Nuts, Nut Products and Dried Tree Fruits For Mycotoxins. *Food Survey Information Sheet* [online]. 28 January 2002, 21/02, [cit. 2010-03-25]. Dostupný z WWW: <<http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/21nuts.pdf>>
- ANONYM, 2009. EUROPEAN COMMISSION. *The Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF)* :

Annual Report 2008. Luxembourg, 2009. 54 pp.

Dostupné z www:

<http://ec.europa.eu/food/food/rapidalert/report2008_en.pdf>. ISBN 978-92-79-11202-7.

D'MELLO, F. J. P., 2003. *Food safety: contaminants and toxins*. Oxford: CABI Publishing, 452 pp. ISBN 0-85199-607-8.

GÖRNER, F., VALÍK, L., 2004. *Aplikovaná mikrobiológia požívatin*: 1. vyd. Bratislava: Malé Centrum, 528 s. ISBN 80-967064-9-7.

GÜRSES, M., 2006. Mycoflora and aflatoxin content of hazelnuts, walnuts, peanuts, almonds and roasted chickpeas sold in Turkey. In *International journal of food properties*. Vol. 9, Issue 3. Turkey, p. 395 – 399.

CHERAGHALI, A. M., YAZDANPANAH, H., DORAKI, N., ABOUHOSSAIN G., HASSIBI, M., ALI-ABADI, S., ALIAKBARPOOR, M., AMIRAHMADI, M., ASKARIAN, A., FALLAH, N., HASHEMI, T., JALALI, M., KALANTARI, N., KHODADADI, E., MADDAH, B., MOHIT, R., MOHSENY, M., PHAGHIHY, Z., RAHMANI, A., SETOODEH, L., SOLEIMANY, E., ZAMANIAN, F., 2007. Incidence of aflatoxins in Iran pistachio nuts. In *Food and Chemical Toxicology* 45, p. 812 – 816.

CHUN, H. S., KIM, H.J., OK, H.E., HWANG, J., CHUNG, D., 2007. Determination of aflatoxin levels in nuts and their products consumed in South Korea. In *Food Chemistry* 102, p. 385 – 391.

KOPÁČOVÁ, O., 2004. Aflatoxiny v ořeších. www.agronavigator.cz, článok č. 27222.

KVASNIČKOVÁ, A., 2010. *Aspergillus* a aspergilóza. *Agronavigátor* [online], [cit. 2010-03-19]. Dostupný z www:

<<http://www.agronavigator.cz/default.asp?ids=3818&ch=13&typ=1&val=97854>>.

MALÍŘ, F., OSTRÝ, V., 2003. Vlákňité mikromycety (plísňe), mykotoxiny a zdraví človeka. 1. vyd. Brno: *Národní centrum ošetrovatelství a nelékařských zdravotnických oborů*, 349 s. ISBN 80-7013-395-3.

MARX, H.; GEDEK, B.; KOLLARCIK, B., 1995. Vergleichende Untersuchungen zum mykotoxikologischen Status von ökologisch und konventionell angebauten Getreide.. In *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung*. vol. 201, No.1, p. 83 – 86.

MEGAN, N., OLSEN, M., 2004. Mycotoxins in food detection and control. 1. vyd. *Cambridge: Woodhead Publishing, Woodhead publishing in food science and technology*, 471 pp. ISBN 1-85573-733-7.

NAKAI, V. K., ROCHA, L.O., GONCALEZ, E., FONSECA, H., MOISÉS, E., ORTEGA, M., CORREA, B., 2008. Distribution of fungi and aflatoxins in a stored peanut variety. In *Food Chemistry*. p. 285 – 290.

NAŘÍZENÍ KOMISE (ES) 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. In *Úřední věstník Evropské unie*. 2010.

NAŘÍZENÍ KOMISE (ES) č.1152/2009, kterým se stanoví zvláštní podmínky dovozu některých potravin z některých třetích zemí v důsledku rizika kontaminace aflatoxiny a kterým se zrušuje rozhodnutí 2006/504/ES. In *Úřední věstník Evropské unie*. 2009.

OSTRÝ, V.; ŠKARKOVÁ, J., 2003. Metodické doporučení mikrobiologickému zkoušení potravin a pokrmů: Kultivační metoda průkazu aflatoxinogenních mikromycetů (plísňí) *Aspergillus flavus* a *Aspergillus parasiticus* v potravinách a pokrmeh. *Acta hygienica, epidemiologica et microbiologica*. 1/2003. Praha: Státní zdravotní ústav v Praze, s. 1 – 28. ISSN 0862-5956.

POHANKA, M., 2008. Aflatoxiny. *Toxicology* [online], [cit. 2010-01-19]. Dostupný z WWW: <http://www.toxicology.emtrading.cz/modules.php?name=News&file=article&sid=177>.

SELIM, M.I, POPENDORF W., IBRAHIM M.S., EL SHARKAWY S., EL KASHORY E.S., 1996. Aflatoxin B1 in common Egyptian foods.. In *Journal of AOAC International*. USA, p. 1124 – 1129.

SHERIF, S.O., SALAMA, E.E., ABDEL-WAHHAB, M.A., 2008. Mycotoxins and child health: the need for health risk assessment.. *International journal of hygiene and environmental health*, p. 347 – 368.

SUKOVÁ, I., 2005. Výsledky monitoringu mykotoxinů. www.agronavigator.cz, článok č. 32071.

VELÍŠEK, J., 2002. *Chemie potravin 3. Tábor: OSSIS*, 331 s. ISBN 80-86659-02-X.

Kontaktní adresa:

MVDr. Olga Cwiková Ph.D., Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, e-mail: cwikova@node.mendelu.cz

Ing. Tomáš Gregor Ph.D., Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, e-mail: gregor@mendelu.cz

Ing. Hana Koubková, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, e-mail: hana.koubkova@gmail.com