

OCCURRENCE OF FILAMENTOUS MOULDS IN SPICES AND DRIED VEGETABLES AND THEIR ABILITY TO PRODUCE SELECTED MYCOTOXINS

Michal Mokry, Zuzana Barboráková, Zuzana Mašková, Dana Tančinová

ABSTRACT

The aim of this study was to monitor potentially toxigenic filamentous microfungi in spices and dried vegetables samples. Selected strains of *Aspergillus* and *Penicillium* strains were tested for their ability to produce mycotoxins (ochratoxin A, aflatoxin B₁, aflatoxin G₁, cyclopiazonic acid, sterigmatocystin, roquefortin C, penitrem A, patulin and citrinin) *in vitro* by using TLC method (thin layer chromatography). Out of all strains tested, production ability of at least one mycotoxin was noted in 27 strains (56.3 %). For ability production of selected mycotoxins were 3 *Aspergillus* species (*A. Nigri* aggregate, *A. flavus*, *A. versicolor*), 1 *Emericella* species (*E. nidulans*) and 4 *Penicillium* species (*P. allii*, *P. chrysogenum*, *P. crustosum*, *P. expansum*) tested. Strains demonstrated production of penitrem A (60 % of tested istrains), sterigmatocystin (66.7 %), roquefortin C (66.7 %), aflatoxin B₁ (100 %), cyclopiazonic acid (100 %) and patulin (100 %).

Keywords: mycotoxins, spices, dried vegetables, thin layer chromatography

ÚVOD

Po stáročia sú používané rôzne časti rastlín, väčšinou tropických, k úprave chuti a vône potravín. Ich účinnými látkami sú silice rôznej koncentrácie a zloženia. Prevažne sa používajú sušené mleté listy, kôra, semená a iné časti rastlín. Do potravín sa koreniny pridávajú v malých množstvách, ale aj tak môžu byť príčinou značnej mikrobiálnej kontaminácie. Je potrebné si uvedomiť, že spracovanie korenín, najmä v subtropických a tropických oblastiach, prebieha často na nízkej hygienickej úrovni (Tančinová et al. 2008). Vrabcheva (2000) a Martins et al. (2001) uvádzajú, že tropické klimatické podmienky (vysoká teplota, vlhkosť a zrážky) poskytujú priaznivé prostredie pre kontamináciu korenín mikroskopickými vláknitými hubami a produkciu mykotoxínov.

Aflatoxíny sú skupinou karcinogénnych mykotoxínov, ktoré môžu byť nájdené v širokom spektre potravinárskych komodít vrátane orechov, obilnín a korenín (Cervino et al., 2008). Najvyššiu akútnu toxicitu má aflatoxín B₁, po ňom nasledujú s klesajúcou toxicitou aflatoxíny G₁, B₂ a G₂. Optimálna teplota pre produkciu aflatoxínov kmeňmi *A. flavus* a *A. parasiticus* je v rozmedzí 25 až 30 °C (Golian et al., 2006). Ochratoxín A (OTA) je sekundárny metabolit produkovaný viacerými druhmi rodov *Aspergillus* a *Penicillium*. *A. ochraceus* a *P. verrucosum* sú dva hlavné ochratoxinogénne druhy schopné rásť v rôznych klimatických podmienkach, teda kontaminácia plodín OTA sa môže vyskytovať celosvetovo. Rizikovými potravinami sú obilniny, káva, kakao, koreniny, pivo, víno, hrozno a mäsové produkty. OTA je toxický pre zvieratá a má neurotoxické, imunotoxické a nefrotoxické účinky (Pardo et al., 2006). Citrinín je nefrotoxický mykotoxín produkovaný niekoľkými druhmi rodu *Penicillium*, *Aspergillus* a *Monascus*. Kontaminuje rôzne rastlinné komodity, predovšetkým obilniny a zvyčajne sa nachádza spoločne s OTA (Flajs et Peraica, 2009). Sterigmatocystín je mykotoxín produkovaný mikroskopickými hubami rodu *Aspergillus*. Ďalšie druhy rodov *Bipolaris*, *Chaetomium*, *Emericella* sú taktiež schopné produkovať sterigmatocystín. Pravidelne je detegovaný v zrnách, v kukurici, v chlebe, v syre, v koreninách, v zrnkách kávy a v ďalších komoditách (Versilovskis et De Saeger, 2010). Kyselina

cyklopiazonová je produkovaná viacerými druhmi rodu *Penicillium* (*P. aurantiogriseum*, *P. crustosum*, *P. griseofulvum*, *P. camemberti*) a tiež druhmi *A. flavus*, *A. tamarii* a *A. versicolor*, ale nie druhom *A. parasiticus* (Huang et al., 1994; Goto et al., 1996).

Cieľom príspevku bolo priniesť prehľad o rodovom, resp. druhovom spektre vláknitých mikroskopických húb a ich potenciálnej toxigenite vo vybraných druhoch korenín a sušenej zeleniny.

MATERIÁL A METODIKA

V rokoch 2009 a 2010 bolo mykologicky vyšetrených 30 rôznych druhov korenín a sušenej zeleniny (53 vzoriek). Prehľad vzoriek a informácie o ich pôvode sú uvedené v Tabuľke 1.

Stanovenie kontaminácie mikroskopickými vláknitými hubami

Na stanovenie kontaminácie vláknitými mikroskopickými hubami bola použitá platňová zriedovacia metóda (STN ISO 7954). Ako živné médium bolo použité GKCH (agar s kvasničným extraktom, glukózou a chloramfenikolom). Na očkovanie média boli použité riedenia 10⁻¹ a 10⁻² v dvoch opakovaniach. Kultivácia prebiehala 3 - 5 dní pri teplote 25±1 °C, v tme.

Druhová identifikácia izolátov rodu Aspergillus, Penicillium a Alternaria.

Vyizolované aspergily boli preočkované na MEA (agar so sladidlovým extraktom, Samson et al., 2002a), CYA (Czapkov agar s kvasničným extraktom, Samson et al., 2002a) a CY20S (Czapkov agar s kvasničným extraktom a 20 % sacharózy, Samson et al., 2002a). Vyizolované penicília boli preočkované na MEA, CYA, YES (agar s kvasničným extraktom a sacharózou, Samson et al., 2002a) a CREA (agar s kreatínom a sacharózou; Samson et al., 2002a). Kultivácia prebiehala 7 - 14 dní pri teplote 25±1 °C, v tme. Druhová identifikácia vláknitých mikroskopických húb bola vykonaná na základe kultivačných a mikromorfologických znakov podľa Pitt (1985), Pitt et Hocking (1999), Klich (2002), Samson et al. (2002b), Frisvad et al. (2004), Samson et Frisvad (2004), Varga et al. (2007).

Vyizolované alternárie boli preočkované na PCA (zemiakovo-mrkvový agar; Samson et al., 2002a) a kultivované pri izbovej teplote pri prirodzenom rozptýlenom

svetle (Simmons, 1992). Identifikácia rodu *Alternaria* bola primárne vykonaná podľa Simmons et Roberts (1993), Andersen et al. (2001, 2002), Simmons (2007) a Dugan et Peever (2002). Simmons et Roberts (1993) definovali 6 rôznych sporulačných paternov, ktoré zahŕňajú 3-dimenzionálne štruktúry konidií a konidioforov pri 50-násobnom priblížení. Tento poznatok bol nosný pri zaraďovaní alternárií do skupín.

Tabuľka 1: Analyzované vzorky korenín a sušenej zeleniny

Materiál	Krajina pôvodu	N
Bobkový list mletý	Turecko	1
Brokolica sušená	Čína	1
Cesnak granulovaný	Čína	1
Cesnakové plátky	Čína	1
Cesnakový prášok	Čína	2
Cibuľa granulovaná	Francúzsko	2
Cibuľa sušená	Francúzsko	2
Cibuľový prášok	Francúzsko	2
Chilli korenie mleté	Čína	1
Karfiolový prášok	Čína	6
Kari korenie	Španielsko	1
Korenie biele mleté	Vietnam	3
Korenie čierne mleté	Vietnam, Indonézia, Malajzia	1
Korenie zelené mleté	India	1
Majoránka celá	Egypt	2
Majoránka mletá	Egypt	2
Mrkva sušená granulovaná	Poľsko	1
Muškatový orech	Indonézia	1
Paprika sladká	Maďarsko	4
Pažítka sušená	Čína	1
Pór prášok	Egypt	6
Rajčiny granulované	Čína	2
Rasca mletá	Fínsko	1
Špargľový prášok biely	Peru	1
Špargľový prášok zelený	Peru	1
Tekvica sušená plátky	Uzbekistan	1
Petržlenová vňať sušená	Slovensko	1
Zázvor mletý	Nigéria, Západná Afrika	1
Zeler granulovaný	Poľsko	1
Zelerová vňať	Slovensko	2

N – počet vzoriek

Frekvencia výskytu (Fr) rodov bola vypočítaná podľa vzorca (González et al., 1999):

$$Fr(\%) = \left(\frac{ns}{N} \right) \times 100$$

kde „ns“ vyjadruje počet vzoriek, v ktorých bol rod detegovaný; „N“ celkový počet vzoriek.

Stanovenie toxigenity

Reprezentatívne izoláty rodov *Aspergillus* a *Penicillium* boli v *in vitro* podmienkach testované na produkciu vybraných mykotoxínov tenkovrstvou chromatografiou (TLC) podľa Samson et al. (2002a), modifikovanou Labudom et Tančinovou (2006).

Kultivácia pre skrining kyseliny cyklopiazonovej, roquefortínu C, penitrému A a sterigmatocystínu prebiehala na CYA, pre skrining aflatoxínu B₁ a G₁, citrinínu, ochratoxínu A a patulínu na YES 14 dní v tme pri teplote 25±1 °C. Z kolónií boli spolu s kultivačným médiom vyrezané 3 výseky, každý s plochou približne 5 x 5 mm. Výseky boli extrahované 5 min v 500 µl roztoku chloroform:metanol (2:1, v/v) na Vortexe (Genie®2, MoBio laboratories). Tekuté fázy metabolických extraktov jednotlivých izolátov a štandardy skrínovaných mykotoxínov (Sigma, Nemecko) boli v množstvách 50, resp. 30 µl nanesené na chromatografickú platňu (Merck, Nemecko) a vyvíjané v roztoku toluén:etylacetát:kyselina mravčia (5:4:1, v/v/v). Vizualizácia aflatoxínov (modrá a zelenomodrá škvrna), ochratoxínu A (modrozelená škvrna), sterigmatocystínu (červenkastá škvrna) a citrinínu (žltozelená škvrna s chvostom) prebiehala pod UV svetlom (365 nm). Kyselina cyklopiazonová bola vizualizovaná pod denným rozptýleným svetlom po postriekaní Ehrlichovým činidlom a následnom zahrievaní chromatografickej platne na 130 °C na 8 minút ako fialová škvrna s chvostom. Patulín bol viditeľný na dennom svetle po postriekaní platne 0,5 % roztokom MBTH (3-metyl-2benzotiazolióňhydrazón hydrochlorid) v metanole a následnom zahriatí na 130 °C na 8 minút ako žltoranžová škvrna. Penitrém A bol viditeľný po nanesení 20 % AlCl₃ v 60 % etanole a zahriatí na 130 °C na 8 minút ako tmavozelená až čierna škvrna a roquefortín C po nanesení Ce(SO₄)₂·4H₂O ako oranžová škvrna.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V štúdií sme analyzovali 53 vzoriek korenín a sušenej zeleniny. Mikromycéty neboli izolované zo vzoriek bobkového listu mletého, cesnaku granulovaného, cesnakových plátkov, chilli korenia mletého, kari korenia, korenia čierneho i zeleného mletého, rasce mletej a zázvora mletého. Vo vzorkách boli izolovaní zástupcovia vláknitých mikroskopických húb, ktorých druhové zastúpenie je uvedené v Tabuľke 2. Najvyššia frekvencia výskytu (Obrázok 1) bola zaznamenaná u zástupcov rodov *Penicillium* (45,3 %), *Aspergillus* (39,6 %) a *Cladosporium* (11,3 %). Frank et al. (2004) uvádzajú, že výskyt mikromycét v potravinách môže byť výsledkom nevhodného skladovania. Okrem toho vo svojej štúdií potvrdzujú, že v rasci mletej, muškátovom orechu a červenej paprike sladkej sa vyskytovali predovšetkým mikromycéty rodu *Aspergillus*. Garcia et al. (2001) vo svojej štúdií analyzovali 304 vzoriek byliniek a korenín (cesnakový prášok, rasca, čierne korenie, oregano, bobkové listy) často používaných v Mexiku. *A. Nigri* skup. bol detegovaný v 29 % vzoriek, *Rhizopus* sp. v 19 % a *Cunninghamella* sp. v 8 %. Almela et al. (2007) vo vzorkách červenej mletej papriky pochádzajúcej z Peru, Brazílie, Zimbabve a Španielska vyzolovali 115 kmeňov mikroskopických húb. Z toho 85 kmeňov bolo získaných ako potencionálnych producentov ochratoxínu A a identifikovaných ako *Aspergillus Circumdati* skupina (*A. ochraceus*) a *A. Nigri* skupina (*A. niger*, *A. carbonarius*). Taktiež uvádzajú, že vo vzorkách pochádzajúcich zo Španielska sa vyskytovali zástupcovia rodov *Alternaria*, *Cladosporium*, *Rhizopus*, *Penicillium* a *Aspergillus Nigri* skupina.

Gatti et al. (2003) mykologicky vyšetrili 115 vzoriek celého čierneho korenia od dvoch hlavných výrobcov v oblasti Brazílie (Pará a Espírito Santo). V oboch regiónoch bol potvrdený vysoký výskyt kontaminácie vláknitými mikroskopickými hubami (99,1 % vzoriek). Autori identifikovali zástupcov 9 rodov (*Aspergillus*,

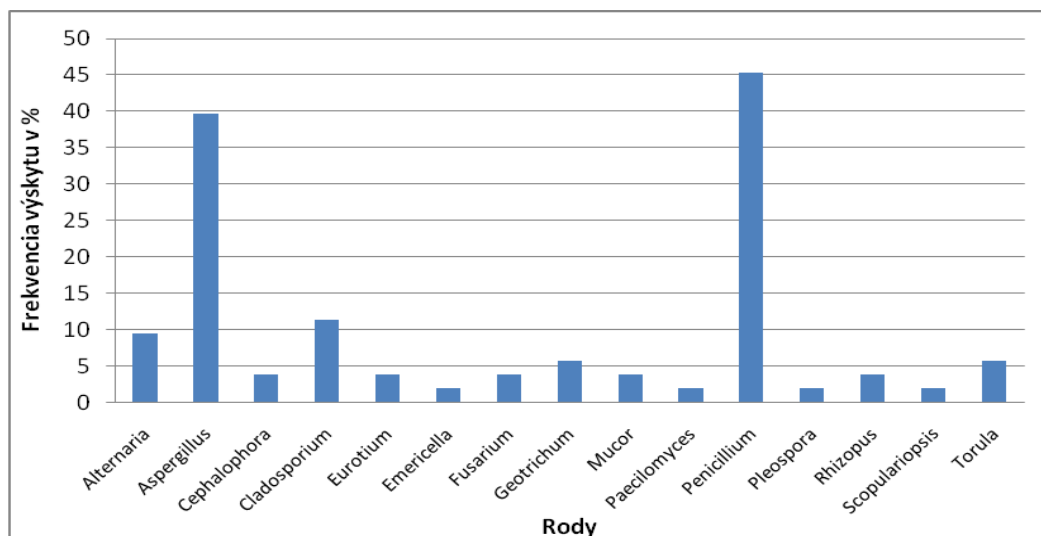
Eurotium, *Rhizopus*, *Penicillium*, *Curvularia*, *Cladosporium*, *Absidia*, *Emericella* a *Paecilomyces*), prevládajúci bol rod *Aspergillus* (53,5 %), následne rod *Eurotium* (24,5 %). Dvadsaťpäť vzoriek (21,7 %) bolo kontaminovaných s aflatoxinogénnymi druhmi *A. flavus* a *A. parasiticus*.

Tabuľka 2: Vlákňité mikroskopické huby izolované zo vzoriek korenia a sušenej zeleniny

Materiál	Izolované mikroskopické huby
Brokolica sušená	<i>Aspergillus Nigri</i> skup.
Cesnakový prášok	<i>Aspergillus Nigri</i> skup., <i>Penicillium allii</i> , <i>P. chrysogenum</i>
Cibuľa granulovaná	<i>Aspergillus Nigri</i> skup., <i>Penicillium</i> sp., <i>Rhizopus stolonifer</i>
Cibuľa sušená	<i>Aspergillus Nigri</i> skup., <i>Penicillium glabrum</i>
Cibuľový prášok	<i>Aspergillus flavus</i> , <i>A. Nigri</i> skup., <i>Penicillium glabrum</i> , <i>P. chrysogenum</i>
Karfiolový prášok	<i>Alternaria tenuissima</i> skup., <i>Alt. alternata</i> , <i>Aspergillus Nigri</i> skup., <i>Cladosporium macrocarpum</i> , <i>Penicillium aurantiogriseum</i> komplex, <i>P. crustosum</i> , <i>P. polonicum</i> , <i>P. rugulosum</i> , <i>Rhizopus stolonifer</i>
Korenie biele mleté	<i>Aspergillus Nigri</i> skup., <i>Emericella nidulans</i> , <i>Eurotium</i> sp., <i>Penicillium crustosum</i> , <i>P. expansum</i> , <i>P. chrysogenum</i>
Majoránka celá	<i>Aspergillus Nigri</i> skup., <i>Penicillium expansum</i>
Majoránka mletá	<i>Aspergillus Nigri</i> skup., <i>Cladosporium</i> sp., <i>Penicillium atramentosum</i>
Mrkva sušená granulovaná	<i>Cladosporium</i> sp., <i>Geotrichum candidum</i> , <i>Penicillium</i> sp.
Muškatový orech	<i>Paecilomyces</i> sp.
Paprika sladká	<i>Penicillium chrysogenum</i>
Pažitka sušená	<i>Fusarium proliferatum</i>
Pór prášok	<i>Alternaria alternata</i> , <i>Alt. tenuissima</i> skup., <i>Aspergillus</i> sp., <i>Cephalophora</i> sp., <i>Fusarium</i> sp., <i>Mucor circinelloides</i> , <i>Penicillium aurantiogriseum</i> komplex, <i>P. crustosum</i> , <i>P. chrysogenum</i> , <i>Pleospora herbarum</i> , <i>Scopulariopsis</i> sp., <i>Torula</i> sp.
Rajčiny granulované	<i>Aspergillus versicolor</i> , <i>Cladosporium cladosporioides</i> , <i>C. herbarum</i> , <i>Penicillium crustosum</i>
Špargľový prášok biely	<i>Aspergillus Nigri</i> skup.
Špargľový prášok zelený	<i>Aspergillus Nigri</i> skup., <i>A. flavus</i> , <i>Mucor</i> sp., <i>Penicillium</i> sp.
Tekvica sušená plátky	<i>Aspergillus Nigri</i> skup., <i>A. flavus</i> , <i>A. sydowii</i> , <i>Cladosporium herbarum</i>
Petržlenová vňať sušená	<i>Alternaria</i> sp., <i>Geotrichum candidum</i>
Zeler granulovaný	<i>Aspergillus versicolor</i>
Zelerová vňať	<i>Cladosporium herbarum</i> , <i>Geotrichum candidum</i>

A. – *Aspergillus*, P. – *Penicillium*, Alt. – *Alternaria*, C. – *Cladosporium*, skup. – skupina, sp. – species (druh)

Obrázok 1: Frekvencia výskytu vyizolovaných rodov vláknitých mikroskopických húb v analyzovaných vzorkách korenia a sušenej zeleniny



Nami vyizolované kmene potencionálne toxínogénnych druhov boli testované TLC metódou na produkciu mykotoxínov: ochratoxín A, aflatoxín B₁, aflatoxín G₁, kyselina cyklopiazonová, sterigmatocystín, roquefortín C,

penitrém A, patulín a citrinín. Počas tejto štúdie sa zistilo, že 27 kmeňov (56,3 %) produkovalo v podmienkach *in vitro* minimálne jeden mykotoxín. Prehľad testovaných kmeňov je uvedený v Tabuľke 3.

Tabuľka 3: Prehľad testovaných kmeňov z rodov *Aspergillus*, *Emericella* a *Penicillium* na schopnosť produkovať mykotoxíny v podmienkach *in vitro*

Testované kmene resp. skupina	Testovaný mykotoxín	Pôvod kmeňov	Počet produkčných kmeňov / počet testovaných kmeňov
<i>A. Nigri</i> skup.	ochratoxín A	brokolica sušená	0**/1*
		cesnakový prášok	0/2
		cibuľa sušená	0/1
		korenie biele mleté	0/1
		majoránka celá	0/1
<i>A. flavus</i>	aflatoxín B ₁	cibuľový prášok	1/1
		špargľový prášok zelený	2/2
		tekvica sušená plátky	1/1
	aflatoxín G ₁	cibuľový prášok	0/1
		špargľový prášok zelený	0/2
		tekvica sušená plátky	0/1
	kyselina cyklopiazonová	cibuľový prášok	1/1
		špargľový prášok zelený	2/2
		tekvica sušená plátky	1/1
<i>A. versicolor</i>	sterigmatocystín	rajčiny granulované	0/1
<i>E. nidulans</i>		zeler granulovaný	1/1
<i>P. allii</i>		korenie biele mleté	1/1
<i>P. chrysogenum</i>	roquefortín C	cesnakový prášok	1/1
		cesnakový prášok	2/2
		cibuľový prášok	0/1
		korenie biele mleté	3/3
		paprika sladká	1/2
		pór prášok	1/2
<i>P. crustosum</i>	roquefortín C	karfiolový prášok	0/1
		korenie biele mleté	1/1
		pór prášok	0/2
	penitrém A	rajčiny granulované	1/1
		karfiolový prášok	0/1
		korenie biele mleté	1/1
<i>P. expansum</i>	roquefortín C	pór prášok	1/2
		rajčiny granulované	1/1
	patulín	karfiolový prášok	0/1
		korenie biele mleté	1/1
	citrinín	majoránka celá	1/1
		korenie biele mleté	0/1
Počet kmeňov spolu			27/48

* - počet testovaných kmeňov, ** - počet produkčných kmeňov A. – *Aspergillus*, E. – *Emericella*, P. – *Penicillium*, skup. - skupina

Ochratoxín A neprodukoval žiaden zo 6 testovaných kmeňov. Na produkciu aflatoxínu B₁ sa testovali 4 kmene (*A. flavus*), všetky boli produkčné a boli izolované zo vzoriek cibuľového prášku (1), špargľového prášku zeleného (2) a tekvice sušenej plátky (1). Produkcia aflatoxínu G₁ nebola potvrdená, tým sa nám však potvrdilo, že *A. flavus* nie je producentom tohto

mykotoxínu. *A. flavus* je však aj potencionálnym producentom kyseliny cyklopiazonovej. Testované kmene tento mykotoxín produkovali. Tieto výsledky potvrdzujú, že zdrojom aflatoxínogénnych kmeňov sú dovozové komodity. **Tančínová et Labuda (2006, 2009)** uvádzajú, že kmene *A. flavus* z našich domácich komodít neprodukujú aflatoxíny. Z 3 kmeňov testovaných na produkciu

sterigmatocystínu produkovali mykotoxín 2 (66,7 %): *A. versicolor* (1) a *E. nidulans* (1) a boli izolované z korenia bieleho mletého a zeleru granulovaného. Na produkciu roquefortínu C sa testovalo 18 kmeňov, 12 z nich (66,7 %) bolo produkčných. Roquefortín C produkoval 1 kmeň *P. allii*, 2 kmene druhov *P. crustosum* a *P. expansum* a 7 kmeňov *P. chrysogenum*. Produkujúce kmene boli izolované zo vzorky majoránky celej (1), papriky sladkej (1), pórového prášku (1), rajčín granulovaných (1), cesnakového prášku (3) a korenia bieleho mletého (5). Penitrém A produkovali 3 (60 %) z 5 testovaných kmeňov *P. crustosum*, kmene boli vyizolované z korenia bieleho mletého (1), pórového prášku (1) a rajčín granulovaných (1). Dva kmene *P. expansum* boli testované na produkciu patulínu a citrinínu. Patulín produkovali obidva testované kmene (100 %), avšak citrinín nebol preukázaný ani pri jednom z testovaných kmeňov. Produkčné kmene sa vyskytovali v koreni bielom mletom (1) a majoránke celej (1).

ZÁVER

V rokoch 2009 a 2010 bolo mykologicky vyšetrených 30 vzoriek rôznych druhov korenín a sušenej zeleniny. Z analyzovaných vzoriek boli izolovaní zástupcovia vláknitých mikroskopických húb rodov *Alternaria*, *Aspergillus*, *Cephalophora*, *Cladosporium*, *Emericella*, *Eurotium*, *Fusarium*, *Geotrichum*, *Mucor*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Pleospora*, *Rhizopus*, *Scopulariopsis* a *Torula*. Mikromycéty neboli izolované vo vzorkách bobkového listu mletého, cesnaku granulovaného, cesnakových plátkov, chilli korenia mletého, kari korenia, korenia čierneho i zeleného mletého, rasce mletej a zázvora mletého. Celkovo 48 kmeňov potenciálne toxigených druhov rodu *Aspergillus*, *Emericella* a *Penicillium* bolo otestovaných na produkciu mykotoxínov metódou TLC v podmienkach *in vitro*. Mykotoxíny produkovalo 27 kmeňov, t.j. 56,3 %. Na schopnosť produkovať vybrané mykotoxíny boli testované 2 druhy aspergilov a 1 skupina (*Aspergillus Nigri* skup., *A. flavus*, *A. versicolor*), 1 druh rodu *Emericella* (*Emericella nidulans*) a 4 druhy penicílií (*P. allii*, *P. chrysogenum*, *P. crustosum*, *P. expansum*). Zistili sme schopnosť produkovať penitrém A (60 % kmeňov), sterigmatocystín (66,7 %), roquefortín C (66,7 %), aflatoxín B₁ (100 %), kyselinu cyklopiazonovú (100 %) a patulín (100 %). U žiadneho z testovaných kmeňov nebola TLC metódou potvrdená produkcia ochratoxínu A, aflatoxínu G₁ a citrinínu. Táto štúdia priniesla nové poznatky o výskyte potenciálne toxigených druhov vláknitých mikroskopických húb v koreninách a v sušenej zelenine a poukázala na riziko výskytu mykotoxínov v týchto komoditách.

LITERATÚRA

ALMELA, L., RABE, V., SÁNCHEZ, B. et al., 2007. Ochratoxin A in red paprika: Relationship with the origin of the raw material. In *Food Microbiology*, vol. 24, 2007, p. 319-327.
ANDERSEN, B., KRØGER, E., ROBERTS, R. G., 2001. Chemical and morphological segregation of

Alternaria alternata, *A. gaisen* and *A. longipes*. In *Mycological Research*, vol. 105, 2001, p. 291-299.
ANDERSEN, B., KRØGER, E., ROBERTS, R. G., 2002. Chemical and morphological segregation of *Alternaria arborescens*, *A. infectoria* and *A. tenuissima* species-groups. In *Mycological Research*, vol. 106, 2002, p. 170-182.
CERVINO, C., ASAM, S., KNOPP, D. et al., 2008. Use of isotope-labeled aflatoxins for LC-MS/MS stable isotope dilution analysis of foods. In *J Agric Food Chem.*, vol. 56, 2008, no. 6, p. 1873-1879.
DUGAN, F. M., PEEVER, T. L., 2002. Morphological and cultural differentiation of described species of *Alternaria* from *Poaceae*. In *Mycotaxon*, vol. 83, 2002, p. 229-264.
FLAJS, D., PERAICA, M., 2009. Toxicological properties of citrinin. In *Arh Hig Rada Toksikol.*, vol. 60, 2009, no. 4, p. 457-464.
FRANK, V., MACHALCOVÁ, T., MOROCHOVIČOVÁ, M., 2004. Prieskum mikrobiologických vlastností korenín a chuťových prísad. In *Zborník z vedeckej konferencie s medzinárodnou účasťou : Výživa a potraviny pre tretie tisícročie „Spoločné stravovanie“*. Nitra : SPU, 2004, 283 p. ISBN 80-8069-421-4.
FRISVAD, J. C., FRANK, J. M., HOUBRAKEN, J. A. M. P. et al., 2004. New ochratoxin A producing species of *Aspergillus* section *Circumdati*. In *Studies in Mycology*, vol. 50, 2004, p. 23-43.
GARCIA, S., IRACHETA, F., GALVAN, F. et al., 2001. Microbiological survey of retail herbs and spices from mexican markets. In *Journal of Food Protection*, vol. 64, 2001, no. 1, p. 99-103.
GATTI, M. J., FRAGA, M. E., MAGNOLI, C. et al., 2003. Mycological survey for potential aflatoxin and ochratoxin producers and their toxicological in harvested Brazilian black pepper. In *Food Additives and Contaminants*, vol. 20, 2003, no. 12, p. 1120-1126.
GOLIAN, J., HREŠKO, M., TOMAN, R., 2006. Výskyt vybraných aflatoxínov v potravinách. In *Zborník vedeckých prác z II. Vedeckej konferencie s medzinárodnou účasťou : Bezpečnosť a kvalita potravín a surovín*. Nitra : SPU, 2006, p. 134-140. ISBN 80-8069-767-1.
GONZÁLEZ, H. H. L., PACIN, A., RESNIK, S. L. et al., 1996. Deoxynivalenol and contaminant mycoflora in freshly harvested Argentinean wheat in 1993. In *Mycopathologia*, vol. 135, 1996, no. 2, p. 129-134.
GOTO, T., WICKLOW, D. T., RO, Y. 1996. Aflatoxin and cyclopiazonic acid production by a sclerotium-producing *Aspergillus tamarii* strain. In *Appl Environ Microbiol*, vol. 62, 1996, p. 4036-4038.
HUANG, X., DORNER, J. W., CHU, F. S., 1994. Production of aflatoxin and cyclopiazonic acid by various aspergilli: An ELISA analysis. In *Mycotoxin Res*, vol. 10, 1994, p. 101-106.
LABUDA, R., TANČINOVÁ, D., 2006. Fungi recovered from slovakian poultry feed mixtures and their toxinogenicity. In *Ann Agric Environ Med.*, vol. 13, 2006, p. 193-200.
KLICH, M. A., 2002. *Identification of common Aspergillus species*. Utrecht: Centraalbureau voor Schimmelcultures, 2002. 116 p. ISBN 90-70351-46-3.
MARTINS, M. L., MARTINS, H. M., BERNARDO, F. 2001. Aflatoxins in spices marketed in Portugal. In *Food Additives and Contaminants*, vol. 18, 2001, no. 4, p. 315-319.

- PARDO, E., MARIN, S., RAMOS, A. J. et al., 2006. Ecophysiology of ochratoxigenic *Aspergillus ochraceus* and *Penicillium verrucosum* isolates. Predictive models for fungal spoilage prevention – a review. In *Food Addit Contam.*, vol. 23, 2006, no. 4, p. 398-410.
- PITT, J. I., 1985. Nomenclatorial and taxonomic problems in the genus *Eurotium*. In SAMSON, R. A., PITT, J. I., 1985. *Advances in Penicillium and Aspergillus systematics*. New York and London: Plenum Press, 1985, p. 383-396.
- PITT, J. I., HOCKING, A. D., 1999. *Fungi and Food Spoilage*. 2. vyd. Maryland: An Aspen Publication, 1999. 593 p. ISBN 0-8342-1306-0.
- SAMSON, R. A., HOEKSTRA, E. S., LUND, F. et al., 2002a. Method for the detection, isolation and characterisation of food-borne fungi. In SAMSON, R. A., HOEKSTRA, E. S., FRISVAD, J. C. et al.: *Introduction to food- and airborne fungi*. Utrecht: Centraalbureau voor Schimmecultures, 2002a. p. 283-297.
- SAMSON, R. A., HOEKSTRA, E. S., FRISVAD, J. C. et al., 2002b. *Introduction to Food- and Airborne Fungi*. 6. vyd. Utrecht: Centraalbureau voor Schimmelcultures, 2002b. 389 p. ISBN 90-70351-42-0.
- SAMSON, R. A., FRISVAD, J. C., 2004. Polyphasic taxonomy of *Penicillium* subgenus *Penicillium*. A guide to identification of food and air-borne terverticillate *Penicillia* and their mycotoxins. In *Studies in Mycology*, 49, Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands. 2004, p. 1-173.
- SIMMONS, E. G., 1992. *Alternaria* taxonomy: current status, viewpoint, challenge. In CHELKOWSKI, J., VISCONTI, A.: *Alternaria* biology, plant diseases and metabolites. Amsterdam : Elsevier, 1992, p. 1-35.
- SIMMONS, E. G., ROBERTS, R. G., 1993. *Alternaria* themes and variations (73). In *Mycotaxon*, vol. 48, 1993, p. 109-140.
- SIMMONS, E. G., 2007. *Alternaria*. An Identification Manual. Utrecht : Centraalbureau voor Schimmelcultures, 2007, 775 p. ISBN 978-90-70351-68-7.
- STN ISO 7954: 1997, Mikrobiológia. Všeobecné pokyny na stanovenie počtu kvasiniek a plesní.
- TANČINOVÁ, D., LABUDA, R., 2006. Mykotická kontaminácia vybraných surovín rastlinného pôvodu. In Kolektív autorov: *Výživná a technologická kvalita rastlinných produktov a ich potravinárske využitie*. Nitra : SPU Nitra, 2006, p.167 - 194. ISBN 80-8069-780-9
- TANČINOVÁ, D., LABUDA, R., 2009. Fungi on wheat bran and their toxinogenity. In *Ann Agric Environ Med*, 16, 2009, p. 159-165.
- TANČINOVÁ, D., MAKOVÁ, J., FELŠÖCIOVÁ, S. et al., 2008. *Mikrobiológia potravín*. 2. upravené vydanie. Nitra : SPU. 2008, 150 p. ISBN 978-80-552-0145-0.
- VARGA, J., FRISVAD, J. C., SAMSON, R. A., 2007. Polyphasic taxonomy of *Aspergillus* section *Candidi* based on molecular, morphological and physiological data. In *Stud. in Mycol.*, vol. 59, 2007, p. 75-88.
- VERSILOVSKIS, A., DE SAEGER, S., 2010. Sterigmatocystin: occurrence in foodstuffs and analytical methods – an overview. In *Mol Nutr Food Res.*, vol. 54, 2010, no. 1, p. 136-147.
- VRABCHEVA, T. M., 2000. Mycotoxins in spices. In *Vopr Pitan.*, vol. 69, 2000, no. 6, p. 40-43.

Contact address:

Ing. Michal Mokry, Department of Quality, Nestlé Slovakia, Kosovska cesta 11, 971 01 Prievidza Slovakia, E-mail: michal.mokry@sk.nestle.com

Ing. Zuzana Barboráková, Department of Microbiology, Faculty of Biotechnology and Food Science, Slovak University of Agriculture, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra Slovakia, E-mail: zuzana.barborakova@gmail.com

Ing. Zuzana Mašková, PhD., Department of Microbiology, Faculty of Biotechnology and Food Science, Slovak University of Agriculture, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra Slovakia, E-mail: zuzana.maskova@uniag.sk

doc. Ing. Dana Tančinová, PhD., Department of Microbiology, Faculty of Biotechnology and Food Science, Slovak University of Agriculture, Tr. A. Hlinku 2, 949 76 Nitra Slovakia, E-mail: dana.tancinova@uniag.sk