

5.2 „HYGIMON“ - CÍLENÝ MONITORING HYGIENICKÉ A ZDRAVOTNÍ NEZÁVADNOSTI POTRAVIN V ČR

5.2.2 - Toxinogenní plísně a potraviny

a.

Souhrn

Ve dvouletém monitorovacím období v letech 2018-2019 byla nově realizována substudie „*Toxinogenní plísně a potraviny*“ v rámci studie "HYGIMON“. Specializované mykologické vyšetření bylo zaměřeno zejména na popis a charakterizaci nebezpečí výskytu toxinogenních vláknitých mikroskopických hub (dále toxinogenních plísni) významných producentů mykotoxinů ve vybraných potravinách. V osmi odběrových termínech bylo odebráno 38 druhů komodit na 12 odběrových místech v ČR, což představuje celkem 456 vzorků potravin. U testovaných potravin byl stanoven celkový počet plísni (KTJ/g potraviny) a charakterizován jejich mykologický profil. Výskyt sledovaných druhů toxinogenních plísni byl dále charakterizován indexem kontaminace (I_k), tzn. poměrem počtu potenciálně toxinogenních plísni (KTJ/g) k celkovému počtu vláknitých mikroskopických hub (KTJ/g). Druhovú identifikaci vybraných izolátů potenciálně toxinogenních plísni *Aspergillus* sekce *Nigri*, producentů ochratoxinu A byla nezávisle potvrzena metodou PCR (polymerázové řetězové reakce) a metodou PCR-RFLP (polymorfismu délky restričních fragmentů). Byla získána frekvenční data o kvalitativním a kvantitativním výskytu toxinogenních plísni - zejména producentů aflatoxinů a ochratoxinu A ve vybraných v potravinách v ČR. S využitím mykologických diagnostických médií byla prokázána přítomnost 9 izolátů toxinogenních plísni *Aspergillus flavus* producentů aflatoxinů v 9 vzorcích z 60 vzorků (tj. 15 %) uvedených typů potravin: čaj černý, mouka polohrubá, mouka hladká, vločky ovesné a čaj ovocný. Dále byla prokázána přítomnost 73 izolátů potenciálně toxinogenních plísni *Aspergillus* sekce *Nigri* producentů ochratoxinu A v 43 vzorcích (tj. 33 %) potravin: čaj černý, čaj ovocný, rozinky, paprika sladká, ořechy vlašské, müsli, kmín, hrozny, rohlíky celozrnné, veka, chléb pšenično-žitný. Při detailním mykologickém vyšetření izolátů *Aspergillus* sekce *Nigri* bylo 71 izolátů identifikováno jako *Aspergillus cf. niger* a 2 izoláty jako *Aspergillus cf. carbonarius*. Uvedená identifikace druhů plísni byla nezávisle potvrzena metodou PCR a PCR-RFLP. Izoláty plísni jsou uchovány v 30% glycerolu v hlubokomrazícím boxu při teplotě – 81 °C k dalšímu využití.

Z dalších výstupů substudie „*Toxinogenní plísně a potraviny*“ vyplývají následující závěry:

- Vysoká kontaminace plísněmi byla zjištěna v rozinkách (n: 12; n+: 5; n+ %: 42; aritmetický průměr \bar{x} : $5,4 \cdot 10^4$ KTJ/g; medián: 5 KTJ/g; rozsah: $<10-3 \cdot 10^5$ KTJ/g), vlašských ořechů (n: 12; n+: 12; n+ %: 100; \bar{x} : $1,0 \cdot 10^4$ KTJ/g; medián: $2,2 \cdot 10^3$ KTJ/g; rozsah: $25-8,7 \cdot 10^4$ KTJ/g), kmínu (n: 12; n+: 12; n+ %: 100; \bar{x} : $5,6 \cdot 10^3$ KTJ/g; medián: $5,5 \cdot 10^3$ KTJ/g; rozsah: $380-1,4 \cdot 10^4$ KTJ/g), hroznech (n: 12; n+: 6; n+ %: 50; \bar{x} : $2 \cdot 10^3$ KTJ/g; medián: 8 KTJ/g; rozsah: $<10-1,9 \cdot 10^4$ KTJ/g), ovocném čaji (n: 12; n+: 11; n+ %: 92; \bar{x} : $1,1 \cdot 10^3$ KTJ/g; medián: 480 KTJ/g; rozsah: $<10-3,3 \cdot 10^3$ KTJ/g), sladké paprice (n: 12; n+: 8; n+ %: 67; \bar{x} : $9,1 \cdot 10^2$ KTJ/g; medián: 35 KTJ/g; rozsah: $<10-4,5 \cdot 10^3$ KTJ/g), černém čaji (n: 12; n+: 12; n+ %: 100; \bar{x} : $6,6 \cdot 10^2$ KTJ/g; medián: 275 KTJ/g; rozsah: $80-3,7 \cdot 10^3$ KTJ/g) a hladké mouce (n: 12; n+: 10; n+ %: 83; \bar{x} : $5,1 \cdot 10^2$ KTJ/g; medián: 160 KTJ/g; rozsah: $<10-4,0 \cdot 10^3$ KTJ/g).

- V černém pepři byl zjištěn výskyt kontaminujících plísní s nízkou frekvencí pouze ve dvou vzorcích (17 %) v počtu 14 a $5,5 \cdot 10^3$ KTJ/g. Nepotvrdili se tak naše předpoklady o vyšší frekvenci výskytu a významné kontaminaci černého pepře plísněmi.
- Kontaminace plísněmi nebyla zjištěna v kojenecké mléčné výživě, džusu, corn flakes, těstovinách, sýru Eidam, celozrnném chlebu a arašídech. Všechny testované vzorky (100 %) byly pod mezí stanovitelnosti < 10 KTJ/g.
- V dalších druzích pečiva (v pšenično-žitném chlebu, žitném chlebu, celozrnných rohlících a pšeničných rohlících) byla zachycena kontaminace plísněmi s nízkou frekvencí vždy pouze v jednom vzorku pečiva (8 %) v rozsahu 10 – 170 KTJ/g.
- V jednotlivých druzích potravin (v kakaovém prášku, čočce, hrachu a vločkách ovesných) byla zjištěna kontaminace plísněmi s nízkou frekvencí vždy pouze v jednom vzorku potravin (8 %) v rozsahu 22 KTJ/g respektive 80 KTJ/g.
- V trvanlivém tepelně opracovaném salámu a v trvanlivém fermentovaném salámu byla zjištěna kontaminace plísněmi s nízkou frekvencí vždy pouze v dvou vzorcích (8 %) v počtu 20 a 25 KTJ/g.
- Výskyt kulturní plísně *Penicillium camemberti* v sýrech s plísní na povrchu se pohyboval v rozsahu $3,4 \cdot 10^4$ – $1,1 \cdot 10^6$ KTJ/g (\bar{x} : $6,1 \cdot 10^5$ KTJ/g , medián: $6,2 \cdot 10^5$ KTJ/g). Výskyt kontaminujících plísní nebyl v testovaných vzorcích sýrů s plísní na povrchu zjištěn.
- Výskyt kulturní plísně *Penicillium roqueforti* v sýrech s plísní uvnitř hmoty se pohyboval v rozsahu $2 \cdot 10^6$ – $1,2 \cdot 10^8$ KTJ/g (\bar{x} : $2,8 \cdot 10^7$ KTJ/g , medián: $1,9 \cdot 10^7$ KTJ/g). V testovaných vzorcích sýrů s plísní uvnitř hmoty byly zjištěny kontaminující plísně *Penicillium* spp. ve 3 vzorcích (25 %) v rozsahu $1 \cdot 10^5$ – $1 \cdot 10^6$ KTJ/g.

Substudie „Toxinogenní plísně a potraviny“ v rámci studie "HYGIMON" bude realizována ve stejném designu a ve stejné podobě i v dalším dvouletém monitorovacím období v letech 2020-2021.

b. **Spolupracující organizace a odborníci**

Státní zdravotní ústav, Centrum zdraví, výživy a potravin v Brně, Národní referenční centrum pro mikroskopické houby a jejich toxiny v potravinových řetězcích (doc. MVDr. Vladimír Ostrý, CSc., Ing. Veronika Kýrová, Ph.D., Ivana Procházková), Centrum zdraví, výživy a potravin v Brně (Prof. MVDr. Jiří Ruprich, CSc., RNDr. Irena Řehůřková, Ph.D., Ing. Jitka Blahová, Mgr. Marcela Dofková, Ing. Miroslava Krbůšková, Darina Leciánová, Dis.), Sběrka kultur hub (CCF) katedry botaniky přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze (RNDr. Alena Kubátová, CSc.), katedra biologie přírodovědecké fakulty Univerzity Hradec Králové (doc. RNDr. František Malíř, Ph.D.).

c.

Základní informace

Studie s názvem „HYGIMON“, jako jedna ze součástí projektu monitoringu dietární expozice člověka chemickým látkám, se zabývá cíleným monitoringem hygienické a zdravotní nezávadnosti (bezpečnosti) potravin a pokrmů k zajištění vysoké úrovně ochrany lidského zdraví a zájmů spotřebitelů. Studie „HYGIMON“ bezprostředně reaguje na současnou situaci potravin nesplňujících kritéria podle nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 178/2002, kterým se stanoví obecné zásady a požadavky potravinového práva, zřizuje se Evropský úřad pro bezpečnost potravin a stanoví postupy týkající se bezpečnosti potravin.

V rámci studie „HYGIMON“ byla proto v letech 2018 - 2019 realizována substudie s názvem „*Toxinogenní plísňe a potraviny*“, která navazuje na studii „MYKOMON“ z let 1999-2011. Toxinogenní plísňe jsou mikroorganismy, které mají schopnost produkovat mykotoxiny. Z celkového počtu asi 120 druhů plísni, které mají význam v potravinách, je asi 70 druhů toxinogenních. Jestliže byla u některého kmene určitého druhu vláknitých mikroskopických hub dříve zjištěna produkce určitého mykotoxinu, je možné považovat všechny kmeny tohoto druhu za *potenciálně toxinogenní*, tj. schopné produkovat určitý mykotoxin. Stanovení reálné toxinogenity izolátů plísni se provádí kultivací na specifických živných půdách (např. YES médiu) s následným analytickým stanovením příslušných mykotoxinů. V posledních letech jsou ke stanovení toxinogenity používány metody molekulárně biologické (PCR). Pomocí nich lze detekovat specifické geny, které kódují enzymy, podílející se na biosyntéze mykotoxinů. Potraviny jsou vhodným substrátem pro kontaminaci, růst a rozmnožování toxinogenních plísni a následně pro produkci mykotoxinů. Potraviny kontaminované toxinogenními plísněmi tedy představují významné nebezpečí pro zdraví populace v ČR, zejména z hlediska tzv. pozdních toxických účinků (např. karcinogenních, vývojové toxicity). K nejvýznamnějším toxinogenním plísním patří na základě nejnovějších vědeckých poznatků producenti aflatoxinů, ochratoxinu A a citrininu.

Substudie „*Toxinogenní plísňe a potraviny*“ bezprostředně reaguje také na skutečnost, že v ČR nejsou k dispozici aktuální data o míře kvalitativní a kvantitativní kontaminace potravin plísněmi a ucelená spolehlivá data o výskytu toxinogenních plísni - producentů aflatoxinů, ochratoxinu A a citrininu v potravinách. A to za alarmující situace, kdy dochází k aktuální změně klimatu a ke globálnímu oteplování a možnému ovlivnění výskytu toxinogenních plísni a mykotoxinů v potravinách.

Přístup ke skupinovému výběru potravin z hlediska výskytu plísni/toxinogenních plísni byl proveden následovně:

1. *Potraviny (např. pepř černý, rozinky), kde se vyskytují plísňe/toxinogenní plísňe téměř vždy i při dodržení zásad správné zemědělské praxe (GAP), správné technologické praxe (GTP), správné hygienické praxe (GHP a funkčního systému HACCP (technologicky neovlivnitelné pozadí). Naopak v případě, že plísňe nejsou v potravině přítomny je důvodné podezření, že došlo k použití např. technologie radiačního ošetření nebo fumigace.*

2. *Potraviny (např. výživa kojenecká mléčná), kde by se při dodržení zásad GTP, GHP a funkčního systému HACCP plísně neměly ani v minimálním množství vyskytovat. V případě jejich výskytu, který je závažný, došlo k hrubému porušení GTP, GHP a systému HACCP.*
3. *Potraviny (např. chléb), kde by se při dodržení zásad GTP, GHP a funkčního systému HACCP plísně měly vyskytovat v minimálním množství. Jejich výskyt souvisí s kontaminací potraviny během manipulace v pekárně, distribuce z pekárny a manipulace a prodeje v obchodní síti.*
4. *Potraviny s kulturními plísněmi (např. sýry camembertského a roquefortského typu) kde by se při dodržení zásad GTP, GHP a funkčního systému HACCP kontaminující plísně neměly vyskytovat. V případě výskytu kontaminace došlo k porušení GTP, GHP a systému HACCP.*

Získaná data studie ("HYGIMON") a vyhodnocení výskytu toxinogenních plísní v potravinách jsou prvním předpokladem pro možnou realizaci recentního hodnocení dietární expozice a charakterizaci zdravotního rizika toxinogenních plísní izolovaných z potravin v ČR.

d.

Použitá metodika

Mykologická analýza (kvantitativní a kvalitativní stanovení toxinogenních plísní v potravinách) byla prováděna podle platných technických norem a doporučení Mezinárodní komise mykologie potravin (ICFM) k použití diagnostických živných půd pro identifikaci toxinogenních plísní. Metody použité ve studii byly validovány. Zkoušky byly akreditovány u Českého institutu pro akreditaci (ČIA) podle normy ČSN EN ISO/IEC 17025. Metody jsou zpracovány do formy Standardních operačních postupů (SOP). Při mykologické práci je používán certifikovaný referenční materiál a laboratoř se pravidelně úspěšně účastní mezinárodních mezilaboratorních porovnávacích zkoušek (Fapas® Fepas scheme, Fera, UK).

Výskyt toxinogenních plísní byl pro potřebu hodnocení kontaminace potravin charakterizován stanovením jejich celkového počtu plísní (KTJ/g) a indexem kontaminace (I_k), tzn. poměrem počtu potenciálně toxinogenních plísní (KTJ/g) k celkovému počtu plísní (KTJ/g). Jedná se o původní pomocný ukazatel, který byl zaveden pro potřeby studie. Index I_k nabývá hodnot 0 - 1. Čím více se index blíží číslu 1, tím je kontaminace potravin toxinogenními plísněmi závažnější. Při indexu $I_k = 1$ se toxinogenní plísně vyskytují v potravinách v monokultuře. V odborné literatuře se uvádí, že v monokultuře bývá mnohem vyšší produkce mykotoxinů (např. aflatoxinů a ochratoxinu A) než ve směsné kultuře, kde se mohou uplatnit kompetitivní (ochranné) vztahy mezi různými druhy plísní.

Interní metodiky:

Číslo SOP	Označení metody	Název SOP
T_12	KM_TP	Stanovení a identifikace toxinogenních plísní kultivační metodou
T_14	A_P_VP	Stanovení plísní metodou aktivního vzorkování aeroskopem
T_92	UCD_LMy	Provádění úklidu, čištění a dezinfekce v laboratoři mykologie

T_93	HMB_IZOL	Laboratorní uchování izolátů vláknitých mikroskopických hub (plísni) v hlubokomrazícím boxu
-------------	-----------------	---

Technické normy:

ČSN ISO 21517-1,2	Mikrobiologie potravin a krmiv - Horizontální metoda stanovení počtu kvasinek a plísni
ČSN ISO 6887	Všeobecné pokyny pro přípravu ředění při mikrobiologickém zkoušení
ČSN ISO 7667	Standardní struktura metod mikrobiologického zkoušení
ČSN ISO 6611	Mléko a mléčné výrobky – Stanovení počtu jednotek kvasinek a/nebo plísni tvořících kolonie
ČSN ISO 13681	Maso a masné výrobky – Stanovení počtu kvasinek a plísni – technika počítání kolonií
ČSN ISO 7698	Obiloviny, luštěniny a odvozené výrobky – Stanovení počtu bakterií, kvasinek a plísni

Mykologická analýza (detekce a identifikace toxinogenních plísni metodou PCR) byla prováděna na základě relevantních informací a metodik získaných ze studií publikovaných v relevantních vědeckých a odborných časopisech a knihách. Pro potřeby studie HYGIMON v letech 2018-2019 byla vypracována a použita, v návaznosti na klasické mykologické vyšetření, metoda detekce plísni *Aspergillus carbonarius* a *A. niger* v rámci jejich zastoupení a rozlišení v *Aspergillus* sekce *Nigri*.

Interní metodiky pro molekulárně biologické metody:

Číslo SOP	Označení metody	Název SOP
T_80	Izolace DNK plísni_01	Izolace DNK pro průkaz toxinogenních plísni z potravin
T_92	UCD_LMy	Provádění úklidu, čištění a dezinfekce v laboratoři mykologie
T_93	HMB_IZOL	Laboratorní uchování izolátů vláknitých mikroskopických hub (plísni) v hlubokomrazícím boxu
T_94	VAL_ALT_MET	Protokol pro validaci alternativních mykologických metod
T_96	PCR_PE_01	Detekce plísni rodu <i>Penicillium expansum</i> metodou PCR
T_98	PCR_ASP_01	Detekce plísni <i>Aspergillus carbonarius</i> a <i>A. niger</i> metodou PCR

e.

Výsledky laboratorní analýzy

V letech 2018-2019 byla studie zaměřena na výskyt toxinogenních plísni - producentů aflatoxinů a ochratoxinu A v potravinách, s cílem získat další data o kontaminaci potravin v ČR. V osmi

odběrových termínech bylo v letech 2018-2019 odebráno 38 druhů komodit na 12 odběrových místech v ČR, což představuje celkem 456 vzorků potravin. Přehled odebraných druhů komodit je uveden v tabulce 5.2.2.1.

Tab. 5.2.2.1: Přehled odebraných druhů komodit

Potravina	Termín odběru	Rok
Mouka polohrubá Mouka hladká Mouka hrubá Muesli Vločky ovesné Corn flakes Krupice pšeničná Kaše obilná dětská Sýr tvrdý Eidam Sýr s plísní na povrchu Sýr s plísní uvnitř hmoty	2	2018
Těsto listové Hrozny Koření paprika sladká Koření pepř Koření kmín Pizza (polotovar)	3	
Chléb pšenično-žitný Chléb žitný Chléb celozrnný Rohlíky celozrnné Rohlíky pšeničné Veka Čočka Hrách Ořechy vlašské Arašíd	4	

Salám trvanlivý tepelně opracovaný Salám trvanlivý fermentovaný Rozinky Těstoviny Rýže Džus	5	2019
Jablka	6	
Výživa kojenecká mléčná Kakao prášek	7	
Čaj černý Čaj ovocný	8	

V uvedených potravinách byla získána sada frekvenčních dat o kvalitativním a kvantitativním výskytu toxinogenních plísni producentů aflatoxinů a ochratoxinu A v potravinách, s cílem získat další data o kontaminaci potravin v ČR. Byl stanoven celkový počet kolonie tvořících jednotek plísni (KTJ/g) a mykologický profil vybraných toxinogenních plísni, který byl dále charakterizován indexem kontaminace (I_k).

e. 1

Stanovení celkového počtu plísni

Stanovení celkového počtu plísni (KTJ/g) v potravinách v letech 2018-2019 je uvedeno v tabulce 5.2.2.2.

Tab. 5.2.2.2: Stanovení celkového počtu plísni (KTJ/g) v potravinách v letech 2018 - 2019

Potravina	n	n+	n+%	Aritmetický průměr*		Medián*		Rozsah (min/max) (KTJ/g)
				(KTJ/g)		(KTJ/g)		
				LB	MB	LB	MB	
Arašídý	12	0	0	0	5	0	5	<10
Corn flakes	12	0	0	0	5	0	5	<10
Čaj černý	12	12	100	$6,6 \cdot 10^2$	$6,6 \cdot 10^2$	275	275	$80-3,7 \cdot 10^3$
Čaj ovocný	12	11	92	$1,1 \cdot 10^3$	$1,1 \cdot 10^3$	480	480	$<10-3,3 \cdot 10^3$
Čočka	12	2	17	5	9	0	5	<10-40
Džus	12	0	0	0	5	0	5	<10
Hrách	12	3	25	12	15	0	5	<10-68
Hrozny	12	6	50	$2 \cdot 10^3$	$2 \cdot 10^3$	5	8	$<10-1,9 \cdot 10^4$
Chléb celozrnný	12	0	0	0	5	0	5	<10
Chléb pšenično-žitný	12	1	8	1	5	0	5	<10-10
Chléb žitný	12	1	8	3	8	0	5	<10-38

Systém monitorování zdravotního stavu obyvatelstva České republiky ve vztahu k životnímu prostředí
Dietární expozice, Zpráva projektu IV, SZÚ, 2019

Jablka	12	8	67	30	31	20	20	<10-160
Kakao prášek	12	2	17	3	7	0	5	<10-22
Kaše obilná dětská	12	6	50	38	41	10	13	<10-150
Koření kmín	12	12	100	5,6·10 ³	5,6·10 ³	5,5·10 ³	5,5·10 ³	380-1,4·10 ⁴
Koření paprika sladká	12	8	67	9,1·10 ²	9,1·10 ²	35	35	<10-4,5·10 ³
Koření pepř	12	2	17	460	464	0	5	<10-5,5·10 ³
Krupice pšeničná	12	7	58	55	57	15	15	<10-270
Mouka hladká	12	10	83	5,1·10 ²	5,1·10 ²	160	160	<10-4,0·10 ³
Mouka hrubá	12	9	75	29	30	23	23	<10-110
Mouka polohrubá	12	11	92	61	61	43	43	<10-170
Müsli	12	2	17	75	79	0	5	<10-5,0·10 ²
Ořechy vlašské	12	12	100	1,0·10 ⁴	1,0·10 ⁴	2,2·10 ³	2,2·10 ³	25-8,7·10 ⁴
Pizza (polotovar)	12	6	50	5,3·10 ²	5,3·10 ²	5	8	<10-6,2·10 ³
Rohlíky celozrnné	12	1	8	2	7	0	5	<10-27
Rohlíky pšeničné	12	1	8	12	16	0	5	<10-140
Rozinky	12	5	42	5,4·10 ⁴	5,4·10 ⁴	0	5	<10-3·10 ⁵
Rýže	12	8	67	138	139	18	18	<10-7,8·10 ²
Salám trvanlivý F	12	1	8	2	7	0	5	<10-25
Salám trvanlivý TO	12	1	8	2	6	0	5	<10-20
Sýr s plísní na povrchu	12	12	100	6,1·10 ⁵	6,1·10 ⁵	6,2·10 ⁵	6,2·10 ⁵	3,4·10 ⁴ -1,1·10 ⁶
Sýr s plísní uvnitř hmoty	12	12	100	2,8·10 ⁷	2,8·10 ⁷	1,9·10 ⁷	1,9·10 ⁷	2·10 ⁶ -1,2·10 ⁸
Sýr tvrdý Eidam	12	0	0	0	5	0	5	<10
Těsto listové	12	6	50	43	46	5	8	<10-270
Těstoviny	12	0	0	0	5	0	5	<10
Veka	12	4	33	28	31	0	5	<10-170
Vločky ovesné	12	3	25	12	15	0	5	<10-80
Výživa kojenecká mléčná	12	0	0	0	5	0	5	<10

n: počet vzorků; *n+*: počet pozitivních vzorků; *n+%*: % pozitivních vzorků; * u celkového počtu plísní < 10 KTJ/g byl pro výpočet aritmetického průměru a mediánu použit přístup „lower bound - LB“ (dosazena hodnota KTJ/g = 0) a přístup „middle bound - MB“ (dosazena hodnota KTJ/g 1/2 limitu stanovitelnosti = 5); F: salám fermentovaný; TO: salám tepelně opracovaný.

Vysoká kontaminace plísněmi byla zjištěna v rozinkách, vlašských ořeších, kmínu, hroznech, ovocném čaji, sladké paprice, černém čaji a hladké mouce.

V černém pepři byl zjištěn výskyt kontaminujících plísní s nízkou frekvencí pouze v dvou vzorcích (17 %) v počtu 14 a 5,5·10³ KTJ/g. Nepotvrdili se tak naše předpoklady o vyšší frekvenci výskytu a významné kontaminaci černého pepře plísněmi.

Kontaminace plísněmi nebyla zjištěna v kojenecké mléčné výživě, džusu, corn flakes, těstovinách, sýru Eidam, celozrnném chlebu a arašídech. Všechny testované vzorky (100 %) byly pod mezí stanovitelnosti < 10 KTJ/g.

V dalších druzích pečiva (v pšenično-žitném chlebu, žitném chlebu, celozrnných rohlících a pšeničných rohlících) byla zachycena kontaminace plísněmi s nízkou frekvencí vždy pouze v jednom vzorku pečiva (8 %) v rozsahu 10 – 170 KTJ/g.

V jednotlivých druzích potravin (v kakaovém prášku, čočce, hrachu a vločkách ovesných) byla zjištěna kontaminace plísněmi s nízkou frekvencí vždy pouze v jednom vzorku potravin (8 %) v rozsahu 22 KTJ/g respektive 80 KTJ/g.

V trvanlivém tepelně opracovaném salámu a v trvanlivém fermentovaném salámu byla zjištěna kontaminace plísněmi s nízkou frekvencí vždy pouze ve dvou vzorcích (8 %) v počtu 20 a 25 KTJ/g.

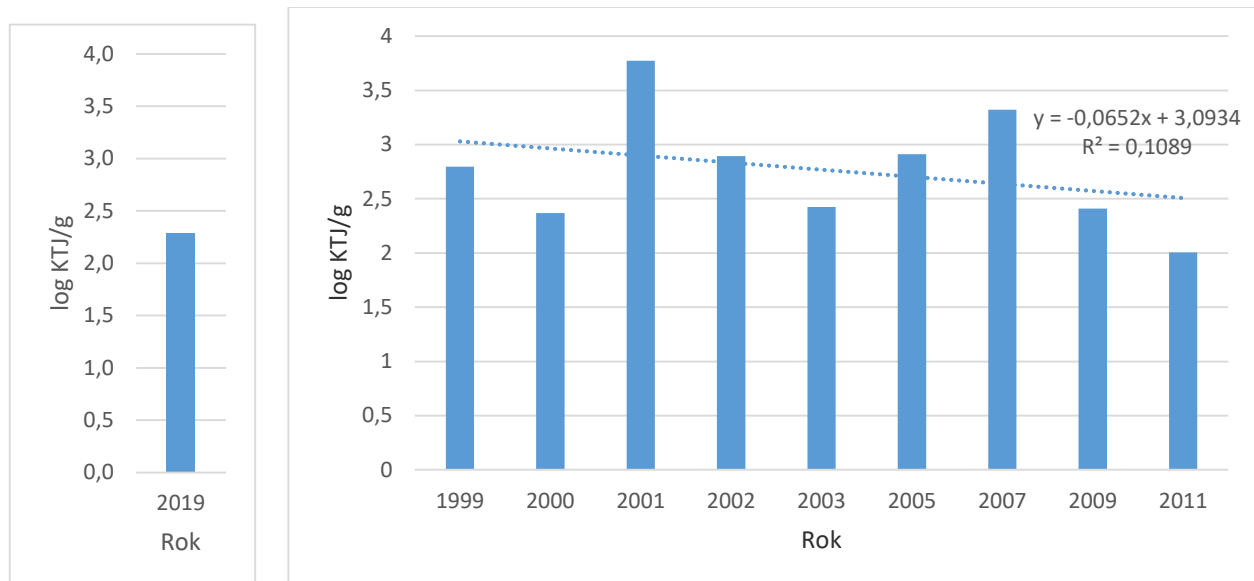
Výskyt kulturní plísně *Penicillium camemberti* v sýrech s plísní na povrchu se pohyboval v rozsahu $3,4 \cdot 10^4 - 1,1 \cdot 10^6$ KTJ/g (\bar{x} : $6,1 \cdot 10^5$ KTJ/g, medián: $6,2 \cdot 10^5$ KTJ/g). Výskyt kontaminujících plísní nebyl v testovaných vzorcích sýrů s plísní na povrchu zjištěn.

Výskyt kulturní plísně *Penicillium roqueforti* v sýrech s plísní uvnitř hmoty se pohyboval v rozsahu $2 \cdot 10^6 - 1,2 \cdot 10^8$ KTJ/g (\bar{x} : $2,8 \cdot 10^7$ KTJ/g, medián: $1,9 \cdot 10^7$ KTJ/g). V testovaných vzorcích sýrů s plísní uvnitř hmoty byly zjištěny kontaminující plísně *Penicillium* spp. ve 3 vzorcích (25 %) v rozsahu $1 \cdot 10^5 - 1 \cdot 10^6$ KTJ/g.

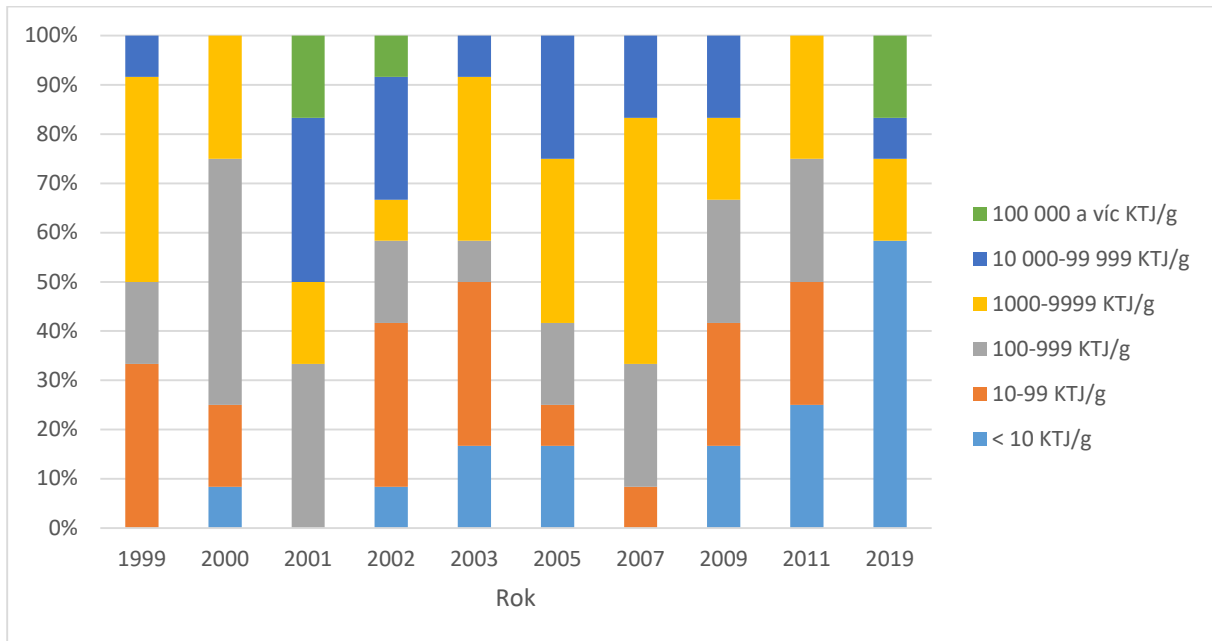
Porovnání získaných výsledků kontaminace plísněmi u vybraných potravin s vysokým počtem KTJ/g v letech 2018-2019 s výsledky získanými ve studii „MYKOMON“ realizované v letech 1999-2010.

o Rozinky

Porovnání výsledků stanovení celkového počtu plísní (\log_{10} KTJ/g) v rozinkách (aritmetický průměr, MB) je uvedeno v grafu 5.2.2.1.



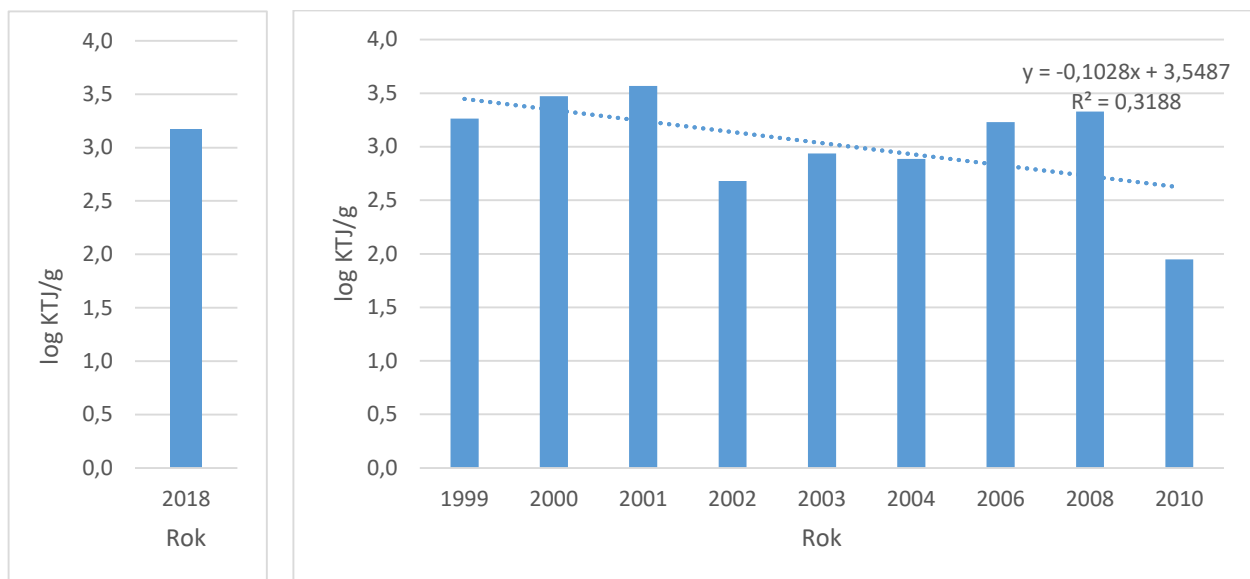
Graf 5.2.2.1: Porovnání výsledků stanovení celkového počtu plísní (\log_{10} KTJ/g) v rozinkách (aritmetický průměr, MB). Porovnání frekvence výskytu jednotlivých kvantitativních rozsahů KTJ/g u plísní v rozinkách je uvedeno v grafu 5.2.2.2.



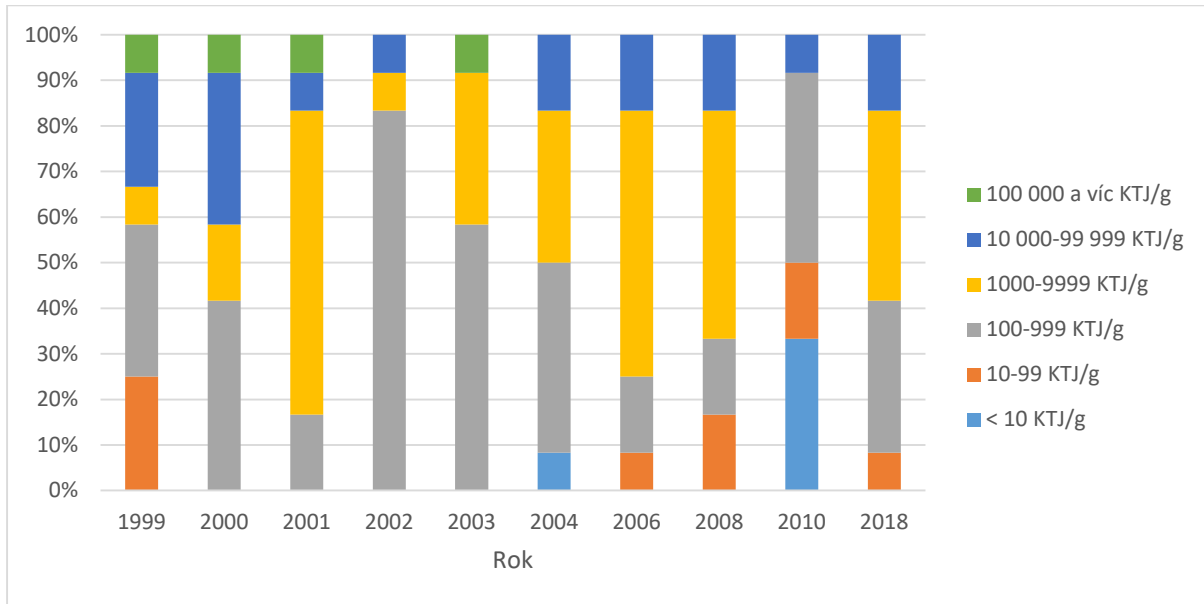
Graf 5.2.2.2: Porovnání frekvence výskytu jednotlivých kvantitativních rozsahů KTJ/g u plísní v rozinkách

o **Vlašské ořechy**

Porovnání výsledků stanovení celkového počtu plísní (\log_{10} KTJ/g) ve vlašských ořeších (aritmetický průměr, MB) je uvedeno v grafu 5.2.2.3.



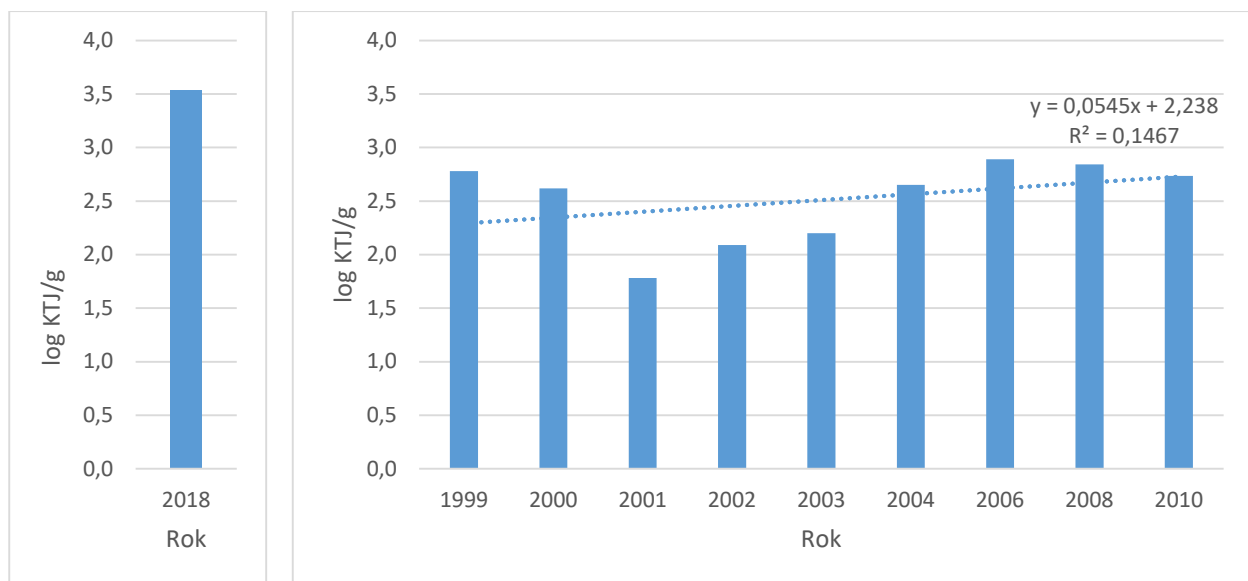
Graf 5.2.2.3: Porovnání výsledků stanovení celkového počtu plísní (\log_{10} KTJ/g) ve vlašských ořeších (aritmetický průměr, MB). Porovnání frekvence výskytu jednotlivých kvantitativních rozsahů KTJ/g u plísní ve vlašských ořeších je uvedeno v grafu 5.2.2.4



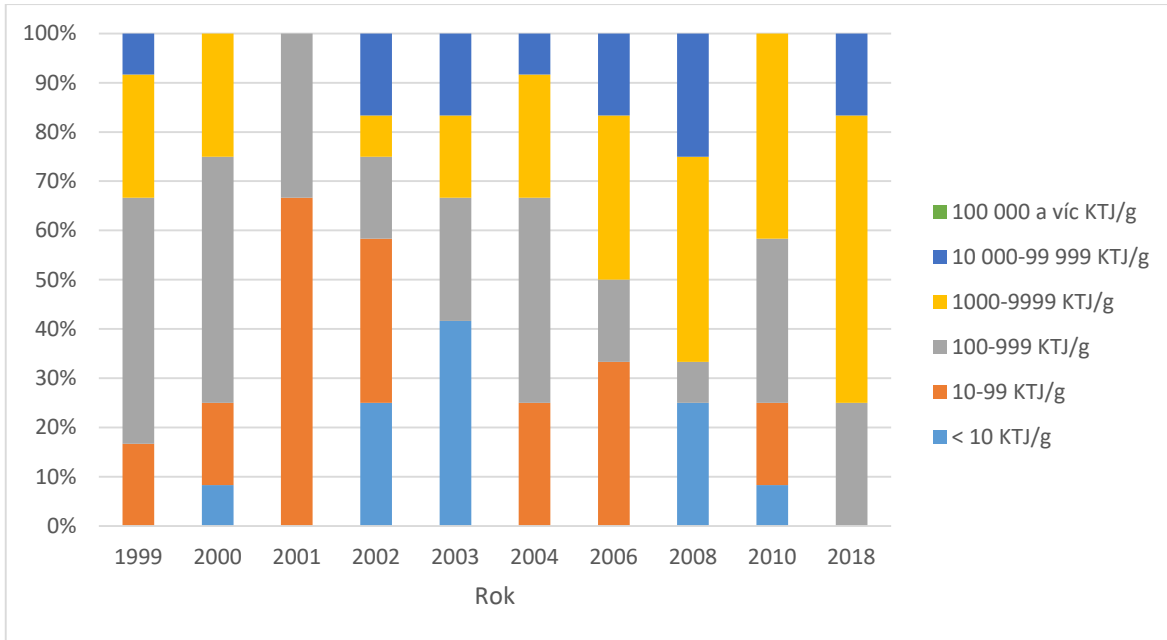
Graf 5.2.2.4: Porovnání frekvence výskytu jednotlivých kvantitativních rozsahů KTJ/g u plísní ve vlašských ořeších

o **Kmín**

Porovnání výsledků stanovení celkového počtu plísní (\log_{10} KTJ/g) v kmínu (aritmetický průměr, MB) je uvedeno v grafu 5.2.2.5



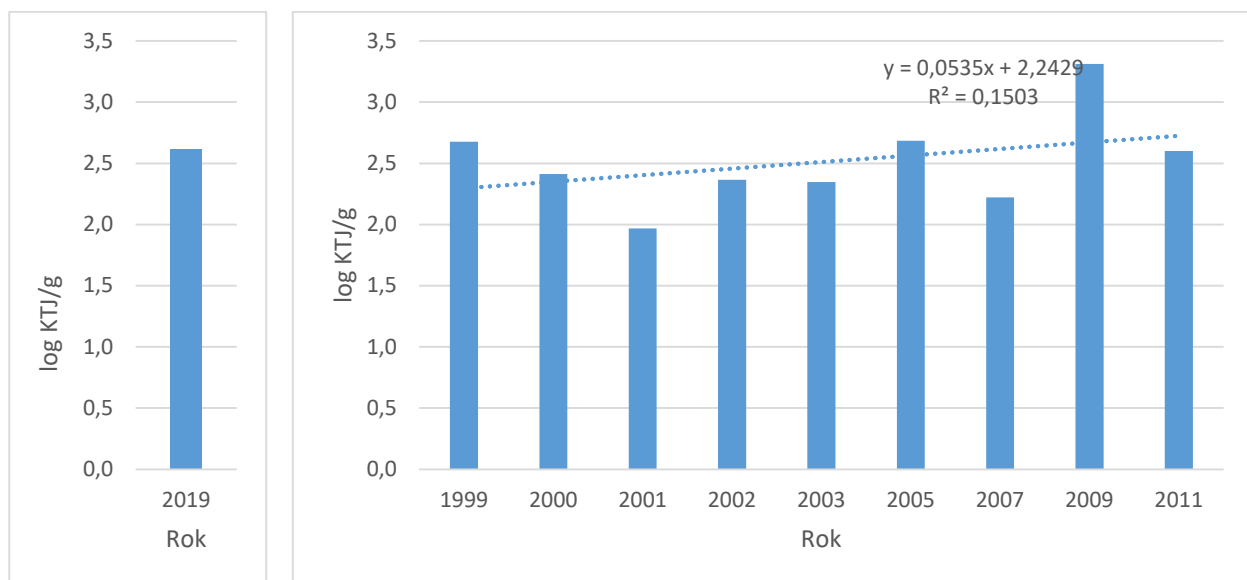
Graf 5.2.2.5: Porovnání výsledků stanovení celkového počtu plísní (\log_{10} KTJ/g) v kmínu (aritmetický průměr, MB) Porovnání frekvence výskytu jednotlivých kvantitativních rozsahů KTJ/g u plísní v kmínu je uvedeno v grafu 5.2.2.6



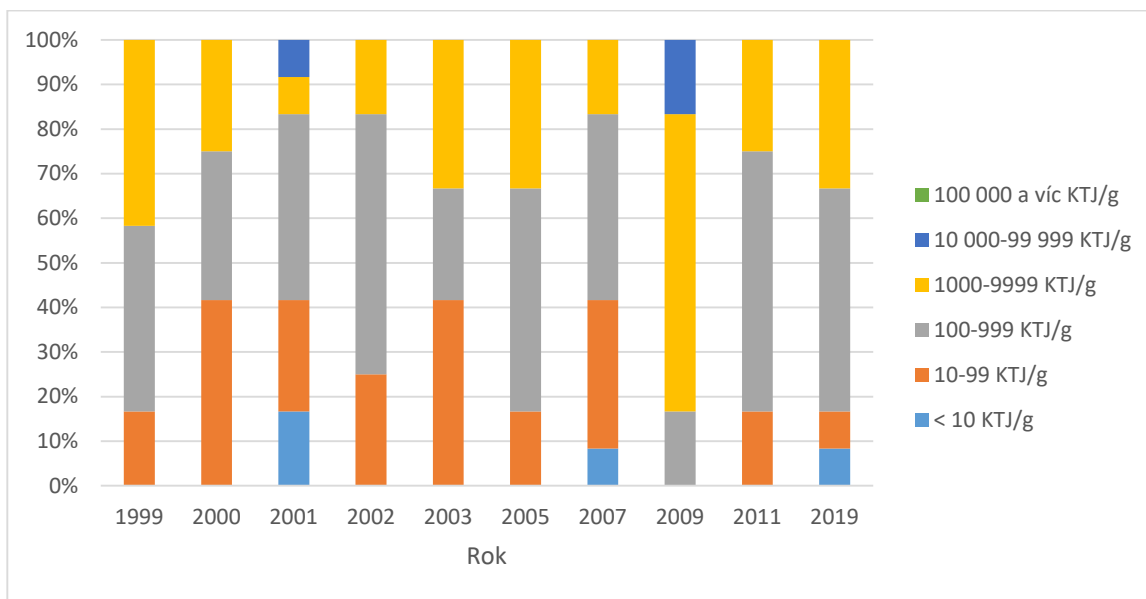
Graf 5.2.2.6: Porovnání frekvence výskytu jednotlivých kvantitativních rozsahů KTJ/g u plísní v kmínu

o **Ovocný čaj**

Porovnání výsledků stanovení celkového počtu plísní (\log_{10} KTJ/g) v ovocném čaji (aritmetický průměr, MB) je uvedeno v grafu 5.2.2.7.



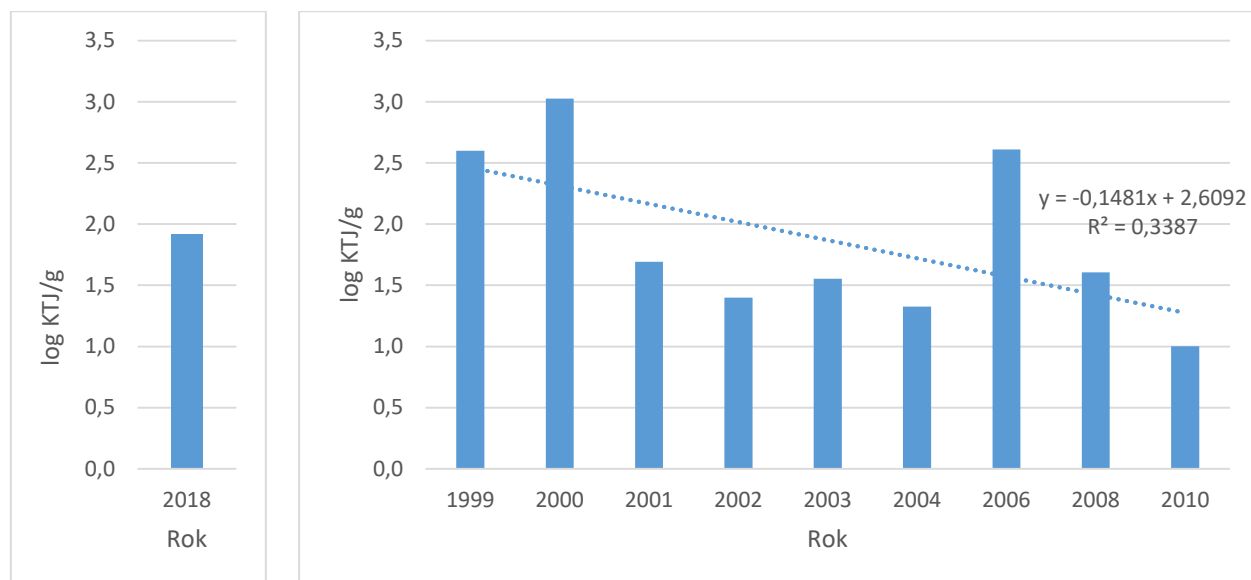
Graf 5.2.2.7: Porovnání výsledků stanovení celkového počtu plísní (\log_{10} KTJ/g) v ovocném čaji (aritmetický průměr, MB). Porovnání frekvence výskytu jednotlivých kvantitativních rozsahů KTJ/g u plísní v ovocném čaji je uvedeno v grafu 5.2.2.8.



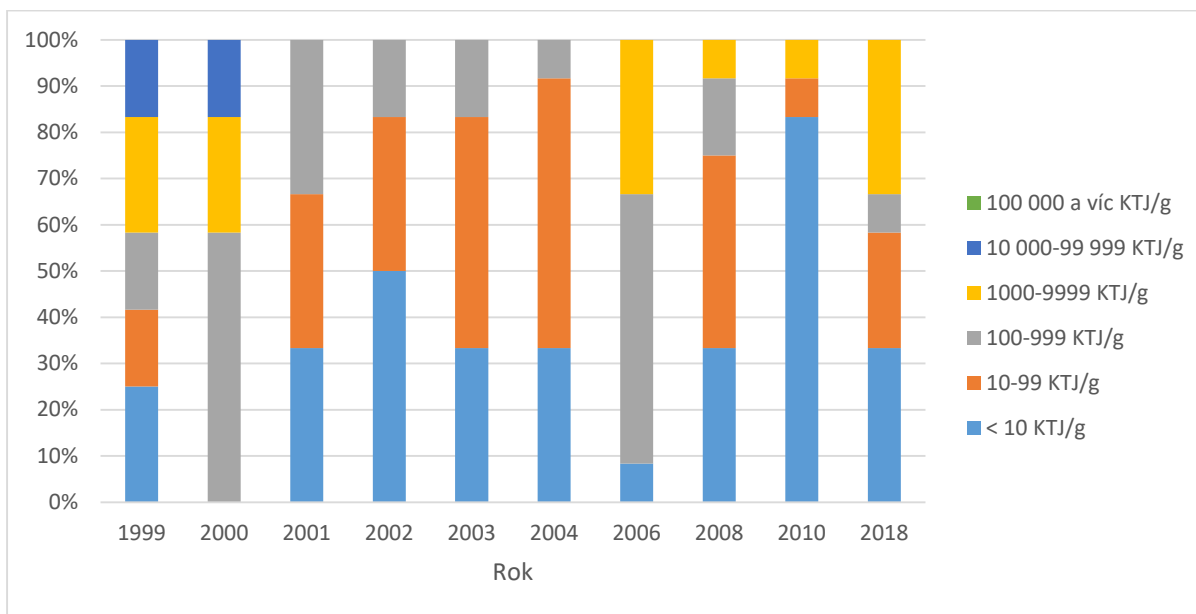
Graf 5.2.2.8: Porovnání frekvence výskytu jednotlivých kvantitativních rozsahů KTJ/g u plísní v ovocném čaji

o **Sladká paprika**

Porovnání výsledků stanovení celkového počtu plísní (\log_{10} KTJ/g) ve sladké paprice aritmetický průměr, MB) je uvedeno v grafu 5.2.2.9.



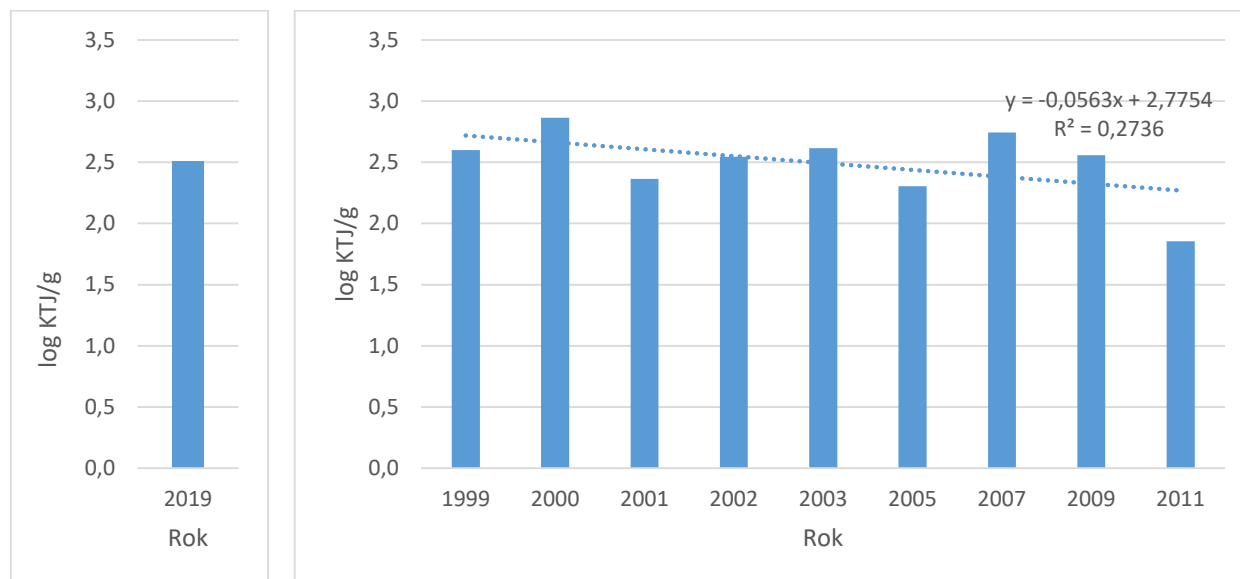
Graf 5.2.2.9: Porovnání výsledků stanovení celkového počtu plísní (\log_{10} KTJ/g) ve sladké paprice (aritmetický průměr, MB). Porovnání frekvence výskytu jednotlivých kvantitativních rozsahů KTJ/g u plísní v sladké paprice je uvedeno v grafu 5.2.2.10.



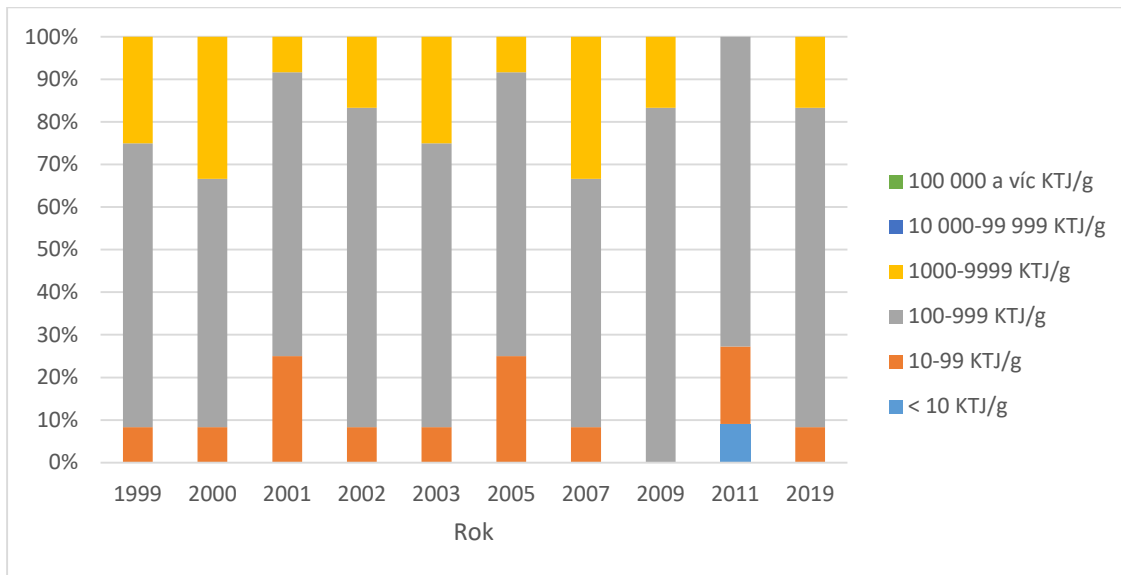
Graf 5.2.2.10: Porovnání frekvence výskytu jednotlivých kvantitativních rozsahů KTJ/g u plísní v sladké paprice

o **Černý čaj**

Porovnání výsledků stanovení celkového počtu plísní (\log_{10} KTJ/g) v černém čaji (aritmetický průměr, MB) je uvedeno v grafu 5.2.2.11.



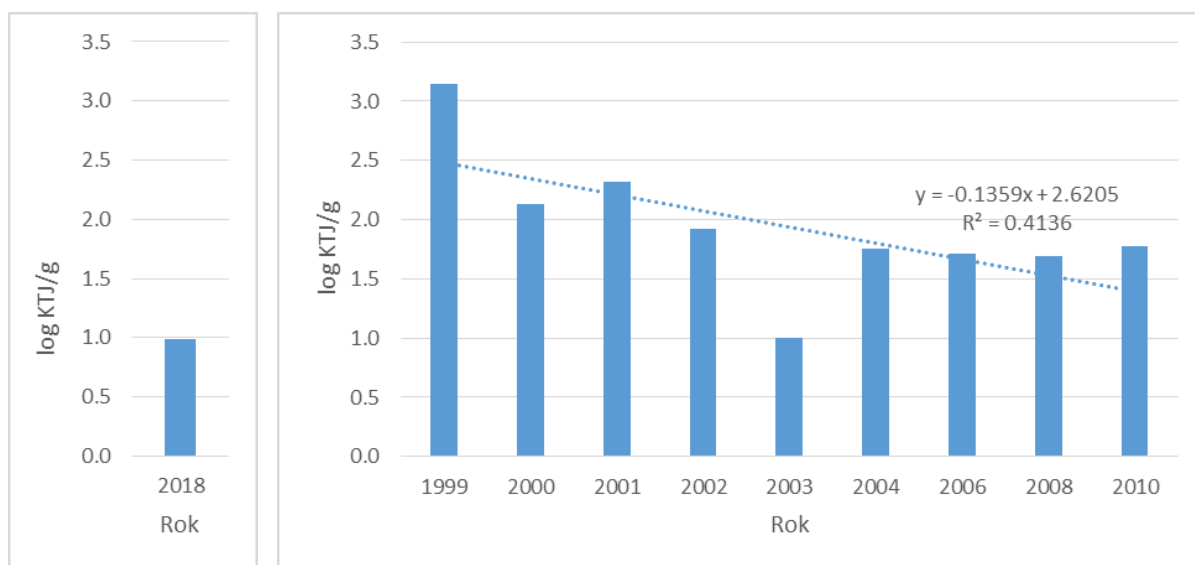
Graf 11: Porovnání výsledků stanovení celkového počtu plísní (\log_{10} KTJ/g) v černém čaji (aritmetický průměr, MB). Porovnání frekvence výskytu jednotlivých kvantitativních rozsahů KTJ/g u plísní v černém čaji je uvedeno v grafu 5.2.2.12.



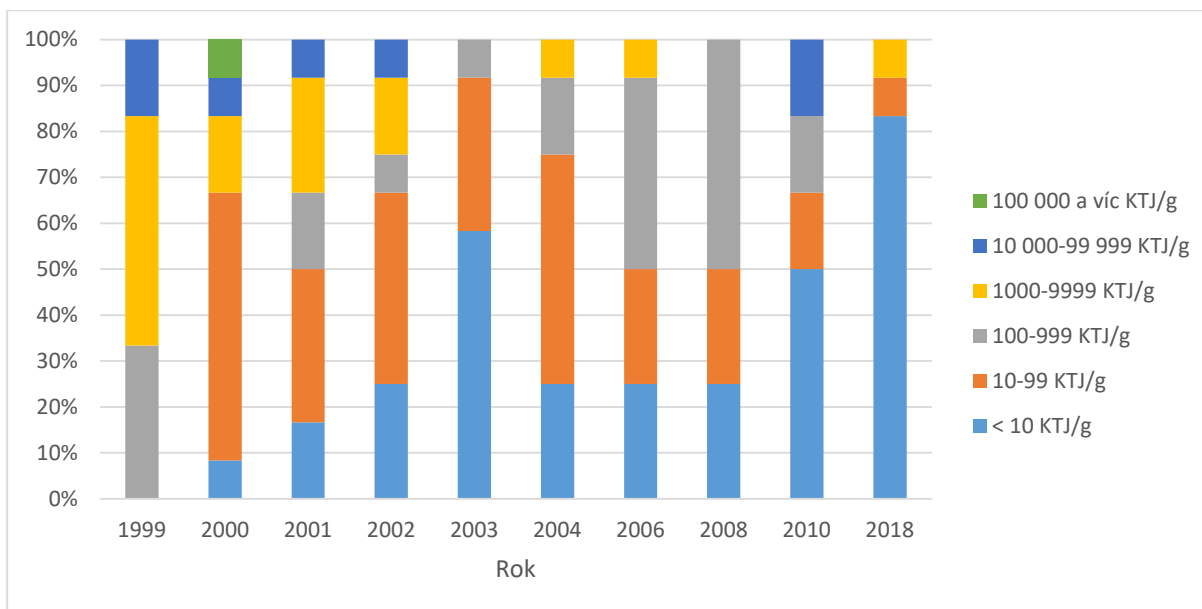
Graf 5.2.2.12: Porovnání frekvence výskytu jednotlivých kvantitativních rozsahů KTJ/g u plísní v černém čaji

o **Pepř**

Výsledky stanovení celkového počtu plísní (\log_{10} KTJ/g) v pepři v letech 2018-2019 nebyly překvapivě vysoké. Přesto bylo v grafu 5.2.2.13 provedeno porovnání s výsledky získanými ve studii „MYKOMON“ v letech 1999-2010 (aritmetický průměr, MB).



Graf 5.2.2.13: Porovnání výsledků stanovení celkového počtu plísní (\log_{10} KTJ/g) v pepři (aritmetický průměr, MB). Porovnání frekvence výskytu jednotlivých kvantitativních rozsahů KTJ/g u plísní v pepři je uvedeno v grafu 5.2.2.14.



Graf 5.2.2.14: Porovnání frekvence výskytu jednotlivých kvantitativních rozsahů KTJ/g u plísní v pepři

e. 2

Aspergillus flavus

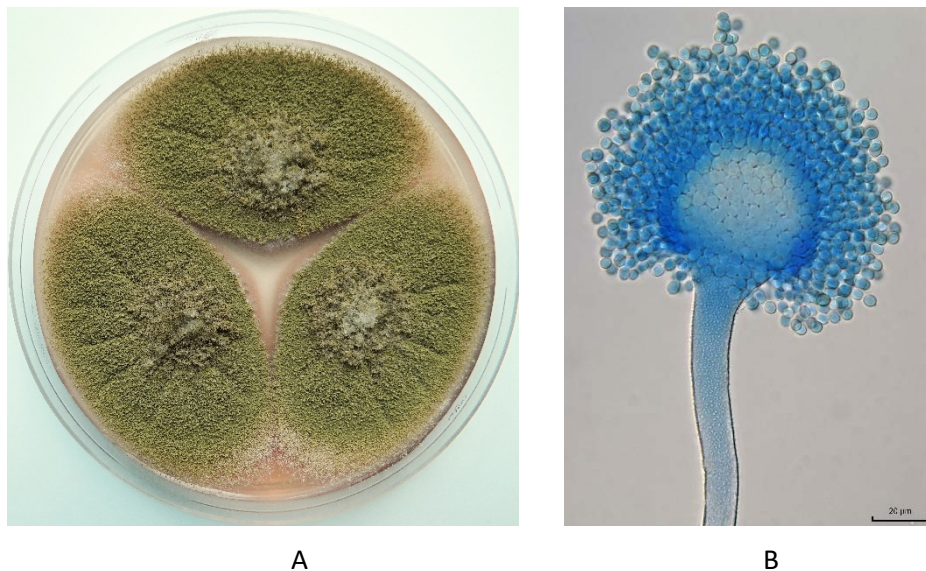
Byla prokázána přítomnost 9 izolátů potenciálně toxinogenních plísní *Aspergillus flavus*, producentů aflatoxinů, v 60 vzorcích (tj. 15 %) uvedených typů potravin: čaj černý, mouka polohrubá, mouka hladká, vločky ovesné a čaj ovocný (viz tabulka 5.2.2.3).

Tab. 5.2.2.3: Frekvence výskytu potenciálně toxinogenních kmenů *Aspergillus flavus* v potravinách v letech 2018-2019

Potravina	n_i	n	$n+$	$n+\%$
Čaj černý	4	12	4	25
Mouka polohrubá	2	12	2	17
Mouka hladká	1	12	1	8
Vločky ovesné	1	12	1	8
Čaj ovocný	1	12	1	8
Celkem	9	60	9	15

Pozn. n_i : počet izolátů; n : počet vzorků potravin; $n+$: počet pozitivních vzorků; $n+\%$: procento pozitivních vzorků

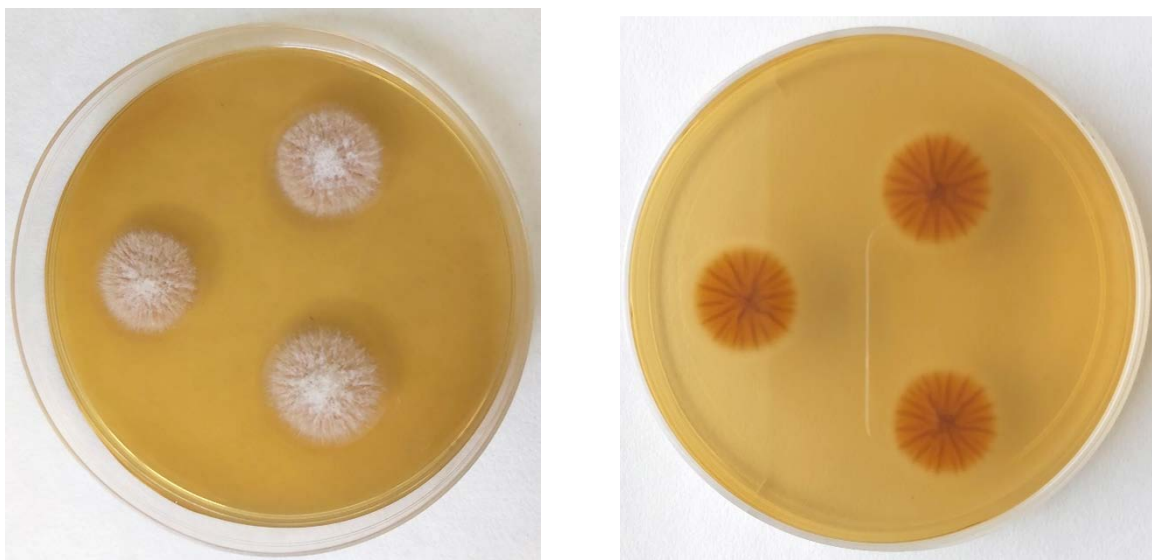
Obr. 5.2.2.1: Identifikace *Aspergillus flavus*



(A) Růst na sladinném agaru po 7 dnech inkubace při teplotě 25 °C

(B) Mikroskopický preparát v laktofenolu s anilínovou modří

Obr. 5.2.2.2: Identifikace *Aspergillus flavus* s využitím chromogenního média AFPA (*Aspergillus flavus* and *Parasiticus* Agar)



Detekce *Aspergillus flavus* na AFPA médiu na základě produkce jasně oranžové barvy na spodní straně kolonie po 2-3 dnech inkubace při 30 °C.

Index kontaminace (I_k) izolátů *Aspergillus flavus* je uveden v tabulce 5.2.2.4.

Tab. 5.2.2.4: Index kontaminace (I_k) izolátů *Aspergillus flavus* v letech 2018-2019

Počet izolátů	Označení izolátu	Izolován ze vzorku	Celkový počet <i>Aspergillus flavus</i> (KTJ/g)	I_k
1	M-74-18	mouka polohrubá	10	0,132
2	M-86-18	mouka hladká	100	0,025
3	M-96-18	mouka polohrubá	40	0,444
4	M-100-18	vločky ovesné	80	1,00
5	M-149-19	čaj černý	10	0,125
6	M-152-19	čaj ovocný	10	0,024
7	M-157-19	čaj černý	10	0,076
8	M-163-19	čaj černý	30	0,021
9	M-165-19	čaj černý	10	0,037

Pozn. Index kontaminace (I_k) je poměr počtu potenciálně toxinogenních plísní (KTJ/g) k celkovému počtu plísní (KTJ/g).

e. 3

Aspergillus sekce *Nigri*

Byla prokázána přítomnost 73 izolátů potenciálně toxinogenních plísní *Aspergillus* sekce *Nigri* producentů ochratoxinu A v 43 vzorcích (tj. 33 %) potravin: čaj černý, čaj ovocný, rozinky, paprika sladká, ořechy vlašské, müsli, kmín, hrozny, rohlíky celozrnné, veka, chléb pšenično-žitný (viz tabulka 5.2.2.5).

Tab. 5.2.2.5: Frekvence výskytu potenciálně toxinogenních kmenů *Aspergillus* sekce *Nigri* v potravinách v letech 2018-2019

Potravina	n_i	n	$n+$	$n+\%$
Čaj černý	28	12	12	100
Čaj ovocný	13	12	9	75
Rozinky	7	12	5	42
Paprika sladká	5	12	4	33
Ořechy vlašské	8	12	4	33

Müsli	5	12	2	17
Kmín	2	12	2	17
Hrozny	2	12	2	17
Rohlíky celozrnné	1	12	1	8
Veka	1	12	1	8
Chléb pšenično-žitný	1	12	1	8
Celkem	73	132	43	33

Pozn. n_i : počet izolátů; n : počet vzorků potravin; $n+$: počet pozitivních vzorků; $n+\%$: procento pozitivních vzorků

Identifikace izolátů *Aspergillus* sekce *Nigri* klasickými mykologickými metodami, metodou PCR a PCR-RFLP je uvedena v tabulce 5.2.2.6.

Tab. 5.2.2.6: Identifikace izolátů *Aspergillus* sekce *Nigri*

Počet izolátů	Označení izolátu	Izolován ze vzorku	Mykologická identifikace	PCR identifikace	RFLP identifikace	Výsledek confirmace
1	M-132A-18	müsli	<i>Aspergillus cf. carbonarius</i>	ITS: +, AN: -, AC: +	AC	<i>Aspergillus carbonarius</i>
2	M-132B-18	müsli	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
3	M-154A-18	müsli	<i>Aspergillus cf. carbonarius</i>	ITS: +, AN: -, AC: +	AC	<i>Aspergillus carbonarius</i>
4	M-154B-18	müsli	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
5	M-154C-18	müsli	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
6	M-208A-18	paprika sladká	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
7	M-208B-18	paprika sladká	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
8	M-216B-18	kmín	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
9	M-222-18	kmín	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
10	M-249-18	hrozny	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
11	M-261A-18	hrozny	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
12	M-262-18	paprika sladká	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
13	M-268-18	paprika sladká	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
14	M-280A-18	paprika sladká	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
15	M-309-18	rohlíky celozrnné	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>

Systém monitorování zdravotního stavu obyvatelstva České republiky ve vztahu k životnímu prostředí
Dietární expozice, Zpráva projektu IV, SZÚ, 2019

16	M-293A-18	ořechy vlašské	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
17	M-293B-18	ořechy vlašské	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
18	M-315A-18	ořechy vlašské	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
19	M-315B-18	ořechy vlašské	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
20	M-315C-18	ořechy vlašské	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
21	M-344-18	veka	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
22	M-348A-18	ořechy vlašské	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
23	M-348B-18	ořechy vlašské	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
24	M-366-18	chléb pšenično-žitný	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
25	M-371B-18	ořechy vlašské	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
26	M-165B-19	čaj černý	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
27	M-164B-19	čaj ovocný	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
28	M-164A-19	čaj ovocný	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
29	M-163D-19	čaj černý	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
30	M-163C-19	čaj černý	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
31	M-163B-19	čaj černý	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
32	M-163A-19	čaj černý	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
33	M-161B-19	čaj černý	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
34	M-161A-19	čaj černý	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
35	M-160B-19	čaj ovocný	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
36	M-160A-19	čaj ovocný	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
37	M-159C-19	čaj černý	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
38	M-159B-19	čaj černý	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
39	M-159A-19	čaj černý	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
40	M-158A-19	čaj ovocný	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>

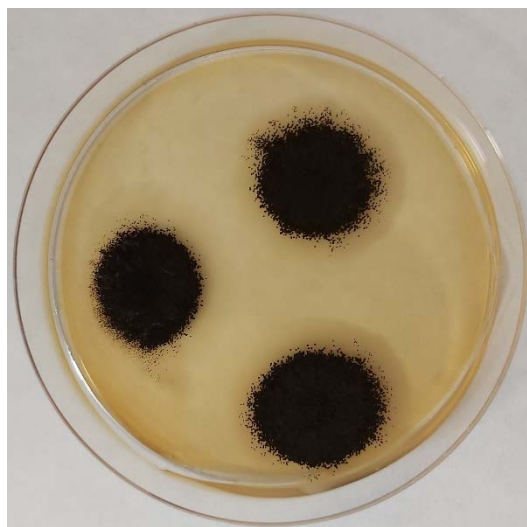
Systém monitorování zdravotního stavu obyvatelstva České republiky ve vztahu k životnímu prostředí
Dietární expozice, Zpráva projektu IV, SZÚ, 2019

41	M-157B-19	čaj černý	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
42	M-157A-19	čaj černý	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
43	M-155B-19	čaj černý	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
44	M-155A-19	čaj černý	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
45	M-153B-19	čaj černý	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
46	M-153A-19	čaj černý	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
47	M-152C-19	čaj ovocný	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
48	M-152B-19	čaj ovocný	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
49	M-151B-19	čaj černý	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
50	M-151A-19	čaj černý	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
51	M-150-19	čaj ovocný	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
52	M-149C-19	čaj černý	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
53	M-149B-19	čaj černý	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
54	M-148B-19	čaj ovocný	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
55	M-148A-19	čaj ovocný	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
56	M-147C-19	čaj černý	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
57	M-147B-19	čaj černý	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
58	M-147A-19	čaj černý	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
59	M-146A-19	čaj ovocný	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
60	M-145C-19	čaj černý	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
61	M-145B-19	čaj černý	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
62	M-145A-19	čaj černý	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
63	M-144B-19	čaj ovocný	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
64	M-114A-19	čaj ovocný	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
65	M-143B-19	čaj černý	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
66	M-143A-19	čaj černý	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>

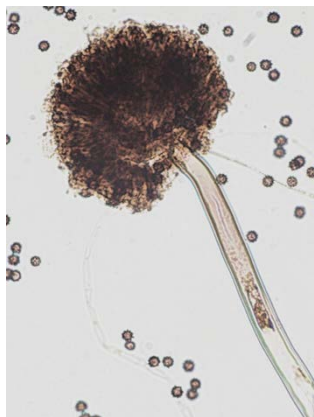
67	M-63-19	rozinky	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
68	M-48-19	rozinky	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
69	M-43-19	rozinky	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
70	M-13B-19	rozinky	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
71	M-13A-19	rozinky	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
72	M-3B-19	rozinky	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>
73	M-3A-19	rozinky	<i>Aspergillus cf. niger</i>	ITS: +, AN: +	AN	<i>Aspergillus niger</i>

Pozn. cf.: zkratka binomické nomenklatury znamená confer - srovnaj pro izolát připomínající některý známý taxon (např. *Aspergillus cf. niger* = připomíná *Aspergillus niger*); PCR: *Polymerase Chain Reaction* - polymerázová řetězová reakce; RFLP (*restriction fragment length polymorphism* - polymorfismus délky štěpných fragmentů), AC: *Aspergillus carbonarius*; AN: *Aspergillus niger*; ITS (*Internal transcribed spacer* - vnitřní transkribovaný mezerník)

Obr. 5.2.2.3: Identifikace *Aspergillus niger*



A

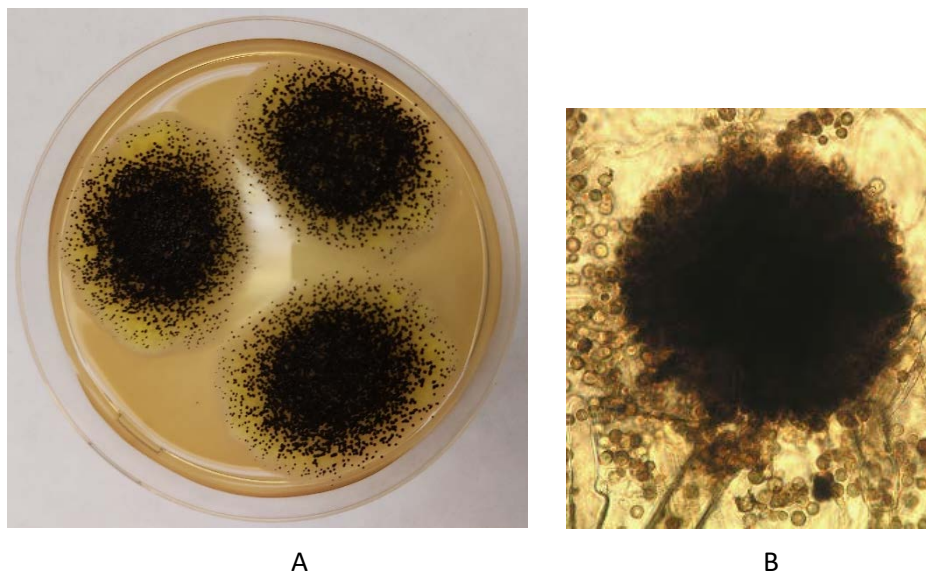


B

(A) Růst na sladivém agaru po 5 dnech inkubace při teplotě 25 °C

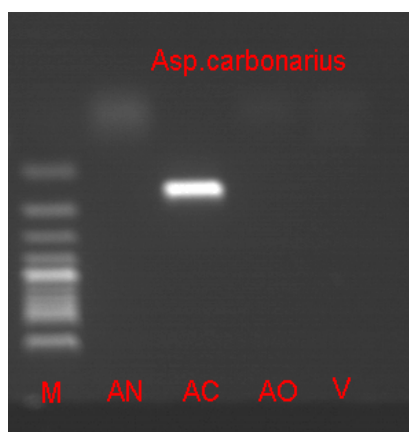
(B) Mikroskopický preparát v laktofenolu

Obr. 5.2.2.4: Identifikace *Aspergillus carbonarius*



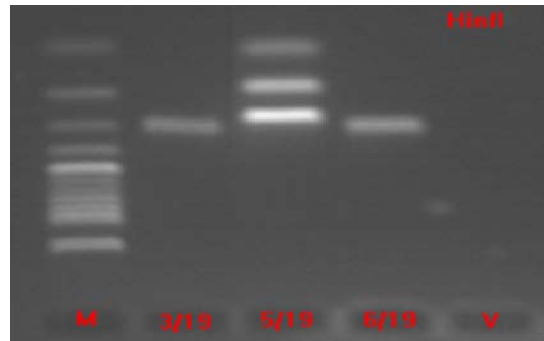
(A) Růst na sladínovém agaru po 5 dnech inkubace při teplotě 25 °C
(B) Mikroskopický preparát v laktofenolu

Obr. 5.2.2.5: Agarosová elektroforéza DNA. Detekce izolátů *Aspergillus carbonarius* (161 bp)



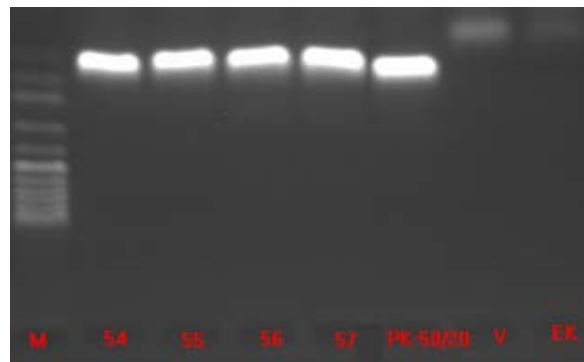
M-marker 100 bp; AN – *Aspergillus niger*; AC – *Aspergillus carbonarius*; AO – *Aspergillus ochraceus*; V – voda

Obr. 5.2.2.6: Agarosová elektroforéza PCR-RFLP. ITS region štěpený restriční endonukleázou HinfI (velikost fragmentů – *Aspergillus niger* 289+289 bp, *A. carbonarius* 284+195+113 bp)



M – marker 100 bp; 3/19 – sbírkový referenční kmen *Aspergillus niger* Tiegh CCF 3264; 5/19 – sbírkový referenční kmen *Aspergillus carbonarius* (Bainier) Thom. CCF2952; 6/19 – izolát *Aspergillus niger*; V – voda

Obr. 5.2.2.7: Agarosová elektroforéza DNA. Detekce *Aspergillus niger* (120 bp)



M-100 bp marker „equalized“; 54,55 – izolát z müsli; 56, 57 – izolát z papriky sladké; 50/20 - sbírkový referenční kmen *Aspergillus niger* Tiegh. CCF 3264; PK – pozitivní kontrola; V- voda; EK – extrakční kontrola

Index kontaminace (I_k) *Aspergillus carbonarius* a *Aspergillus niger* je uveden v tabulce 5.2.2.7 a 5.2.2.8.

Tabulka 5.2.2.7: Index kontaminace (I_k) izolovaných kmenů *Aspergillus carbonarius* v letech 2018-2019

Počet izolátů	Označení izolátu	Izolován ze vzorku	Celkový počet <i>Aspergillus carbonarius</i> (KTJ/g)	I_k
1	M-132A-18	müsli	100	0,2
2	M-154A-18	müsli	10	0,025

Pozn. Index kontaminace (I_k) je poměr počtu potenciálně toxinogenních plísní (KTJ/g) k celkovému počtu plísní (KTJ/g).

Tab. 5.2.2.8: Index kontaminace (I_k) izolovaných kmenů *Aspergillus niger* v letech 2018-2019

Počet izolátů	Označení izolátu	Izolován ze vzorku	Celkový počet <i>Aspergillus niger</i> (KTJ/g)	I_k
1	M-132B-18	müsli	100	0,2
2	M-154B-18	müsli	10	0,025
3	M-154C-18	müsli	10	0,025
4	M-208A-18	paprika sladká	200	0,044
5	M-208B-18	paprika sladká	200	0,044
6	M-216B-18	kmín	100	0,022
7	M-222-18	kmín	10	0,003
8	M-249-18	hrozny	20	0,2
9	M-261A-18	hrozny	10	0,008
10	M-262-18	paprika sladká	10	0,2
11	M-268-18	paprika sladká	300	0,15
12	M-280A-18	paprika sladká	50	0,17
13	M-309-18	rohlíky celozrnné	10	0,37
14	M-293A-18	ořechy vlašské	1000	0,3
15	M-293B-18	ořechy vlašské	1000	0,3
16	M-315A-18	ořechy vlašské	700	0,58
17	M-315B-18	ořechy vlašské	400	0,33
18	M-315C-18	ořechy vlašské	30	0,025
19	M-344-18	veka	10	0,071
20	M-348A-18	ořechy vlašské	3000	0,94
21	M-348B-18	ořechy vlašské	200	0,06
22	M-366-18	chléb pšenično-žitný	10	1,0
23	M-371B-18	ořechy vlašské	200	0,002

System monitorování zdravotního stavu obyvatelstva České republiky ve vztahu k životnímu prostředí
 Dietární expozice, Zpráva projektu IV, SZÚ, 2019

24	M-165B-19	čaj černý	260	0,96
25	M-164B-19	čaj ovocný	100	0,23
26	M-164A-19	čaj ovocný	100	0,23
27	M-163D-19	čaj černý	200	0,14
28	M-163C-19	čaj černý	500	0,36
29	M-163B-19	čaj černý	500	0,36
30	M-163A-19	čaj černý	100	0,071
31	M-161B-19	čaj černý	450	0,82
32	M-161A-19	čaj černý	100	0,18
33	M-160B-19	čaj ovocný	50	0,39
34	M-160A-19	čaj ovocný	30	0,23
35	M-159C-19	čaj černý	40	0,36
36	M-159B-19	čaj černý	20	0,18
37	M-159A-19	čaj černý	30	0,27
38	M-158A-19	čaj ovocný	100	0,071
39	M-157B-19	čaj černý	20	0,15
40	M-157A-19	čaj černý	90	0,69
41	M-155B-19	čaj černý	100	0,77
42	M-155A-19	čaj černý	10	0,08
43	M-153B-19	čaj černý	80	0,29
44	M-153A-19	čaj černý	200	0,71
45	M-152C-19	čaj ovocný	100	0,24
46	M-152B-19	čaj ovocný	300	0,73
47	M-151B-19	čaj černý	400	0,61
48	M-151A-19	čaj černý	200	0,303
49	M-150-19	čaj ovocný	100	0,036
50	M-149C-19	čaj černý	20	0,25
51	M-149B-19	čaj černý	50	0,625
52	M-148B-19	čaj ovocný	100	0,23
53	M-148A-19	čaj ovocný	100	0,23
54	M-147C-19	čaj černý	300	0,08
55	M-147B-19	čaj černý	1000	0,27
56	M-147A-19	čaj černý	1000	0,27
57	M-146A-19	čaj ovocný	10	0,01
58	M-145C-19	čaj černý	100	0,23
59	M-145B-19	čaj černý	200	0,45
60	M-145A-19	čaj černý	300	0,68
61	M-144B-19	čaj ovocný	500	0,15

62	M-114A-19	čaj ovocný	100	0,03
63	M-143B-19	čaj černý	40	0,27
64	M-143A-19	čaj černý	100	0,67
65	M-63-19	rozinky	300000	1,0
66	M-48-19	rozinky	3400	1,0
67	M-43-19	rozinky	1700	1,0
68	M-13B-19	rozinky	130000	0,5
69	M-13A-19	rozinky	130000	0,5
70	M-3B-19	rozinky	40000	0,5
71	M-3A-19	rozinky	40000	0,5

Pozn. Index kontaminace (I_k) je poměr počtu potenciálně toxinogenních plísní (KTJ/g) k celkovému počtu plísní (KTJ/g).

f.

Závěr

Substudie „*Toxinogenní plísně a potraviny*“ v rámci studie "HYGIMON" bude realizována pro možné srovnání výsledků ve stejném designu a ve stejné podobě i v dalším dvouletém monitorovacím období v letech 2020-2021.

Nově bude molekulárně biologická diagnostika toxinogenních plísní v potravinách zaměřena na identifikaci významných producentů aflatoxinů *Aspergillus flavus*, *A. parasiticus* a *A. nomius*.

Literatura

- BOTANA, L.M., SAINZ, M.J. (Eds.), 2015. Climate Change and Mycotoxins. De Gruyter, Berlin/Boston, 185 p. ISBN-13: 978-3110333053
- MORETTI, A., SUSCA, A. (Eds.), 2017. Mycotoxigenic Fungi – Methods and Protocols. Springer, 383 p. ISBN: 978-1-4939-6705-6