



Vědecký výbor pro potraviny

Klasifikace: Draft	<input type="checkbox"/>	<i>Pro vnitřní potřebu VVP</i>
Oponovaný draft	<input type="checkbox"/>	<i>Pro vnitřní potřebu VVP</i>
Finální dokument	<input type="checkbox"/>	<i>Pro oficiální použití</i>
Deklasifikovaný dokument	<input checked="" type="checkbox"/>	<i>Pro veřejné použití</i>

Název dokumentu:

INFORMACE VĚDECKÉHO VÝBORU PRO POTRAVINY VE VĚCI:
Výskyt mykotoxinu ochratoxinu A ve víně

Poznámka:

Informaci Výboru připravil: V. Ostrý
Informaci Výboru redigoval: J.Ruprich

Státní zdravotní ústav, Palackého 3a, 612 42 Brno
tel/fax +420541211764, URL: <http://www.chpr.szu.cz/vedvybor/vvp.htm>

Preambule

Informace Výboru byla připravena v souladu s „Procedurálním manuálem Vědeckého výboru pro potraviny“. Informace je přehledný nebo technický dokument, pokud není uvedeno jinak. Tato informace je určena pro odborníky pracující v oblasti potravinářství a hodnocení zdravotních rizik. Přípomínky a názory k tomuto dokumentu je možné zasílat na sekretariát Výboru.

Seznam členů Vědeckého výboru pro potraviny v abecedním pořadí:

J. Drápal, K. Ettlerová, J. Hajšlová, P. Hlúbik, M. Jechová, M. Kozáková, F. Malíř, D. Müllerová, V. Ostrý, J. Ruprich, J. Sosnovcová, V. Špelina, D. Winklerová.

Seznam osob / institucí, které se podílely na přípravě podkladů:

V.Ostrý, J. Škarková, J. Hajšlová

Právní odpovědnost

Podle článku 1, odstavec 2, Statutu, Výbor nemá právní subjektivitu. Jeho závěry a usnesení mají charakter doporučení a signálních informací pro členy a sekretariát KS. Výbor sám proto nenese právní odpovědnost za jakékoli škody způsobené jako důsledek použití jeho závěrů a usnesení.

© Vědecký výbor pro potraviny (reprezentovaný majoritou členů)

Všechna práva rezervována. Tento dokument Vědeckého výboru pro potraviny může být jako celek nebo jeho část reprodukován nebo překládán, pro nekomerční nebo komerční použití, pouze se souhlasem Vědeckého výboru pro potraviny (Státní zdravotní ústav, Palackého 3a, 612 42 Brno, tel/fax +420541211764, email: sekretariat@chpr.szu.cz). Další využití dokumentu není omezeno. Při citaci dokumentu by měl být vždy uveden kód publikace ze záhlaví tiskové strany. Za autory dokumentu se považují všichni členové Výboru bez určení prvního autora. Proto by měli být citováni všichni členové Výboru.

Klíčová slova:

Ochratoxin A, víno, réva vinná, mykobiota, *Aspergillus carbonarius*, *A. sekce Nigri*, toxicita, zdravotní riziko.

Obsah:

Kapitola:	str.
Seznam použitých zkratk	3
Vymezení úkolu a charakteristika problému	4
Přehled o stavu problému	4
Výsledky realizace pilotní studie	7
Závěry a doporučení	9
Základní literatura	10

Seznam použitých zkratk:

CAS	Chemical Abstracts Services Registry No., registrační číslo Chemical Abstracts
ČR	Česká republika
EFSA	European Food Safety Agency, Evropský úřad pro bezpečnost potravin
EK	Evropská komise
EU	Evropská unie
FAO	Food and Agriculture Organization, Organizace pro potraviny a zemědělství při WHO
FDA	Food and Drug Administration, Úřad pro kontrolu potravin a léčiv
GMP	Good Manufacturing Practice, správná výrobní praxe
GAP	Good Agriculture Practice, správná zemědělská praxe
GRAS	Generally recognized as safe, všeobecně považovaný za bezpečný
HACCP	Hazard Analysis Critical Control Point, systém kritických kontrolních bodů
HPTLC	High Performance Thin-Layer Chromatography, Vysoko účinná chromatografie na tenké vrstvě
IARC	International Agency for Research of Cancer, Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny
OTA	Ochratoxin A
PTDI	Provisional tolerable daily intake, provizorní tolerovatelný denní přívod
SCF EC	Scientific Committee for Food of European Commission, Vědecký výbor pro potraviny Evropské komise
SZÚ-CHPŘ	Státní zdravotní ústav – Centrum hygieny potravinových řetězců
USA	United States of America, Spojené Státy Americké
VVP	Vědecký výbor pro potraviny
WHO	World Health Organisation, Světová zdravotní organizace

1. VYMEZENÍ ÚKOLU A CHARAKTERISTIKA PROBLÉMU

1.

Dne 17. 2. 2005 rozhodlo plenární zasedání Vědeckého výboru pro potraviny (VVP) o účelnosti zpracování informace VVP k problematice výskytu ochratoxinu A (dále OTA) ve víně, která se stala zejména ve vinařských zemích Středomoří významným problémem. Víno je zde řazeno k významným expozičním zdrojům ochratoxinu A. Dovozy vína z těchto oblastí mohou být zdrojem expozice OTA i pro populaci v ČR.

2.

Rozhodnutí VVP o zpracování informace předcházela diskuse o průběžných závěrech projektu 5. rámcového programu EU WINE-OCHRA-RISK, nařízení EK č. 123/2005, v kterém je nově limitován ochratoxin A ve víně [1] a výsledky pilotní studie v uvedené problematice provedené v ČR.

VVP v připravené informaci:

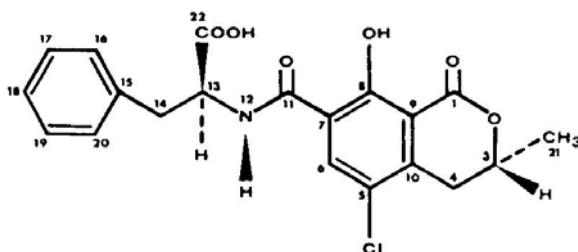
1. Shrnuje základní informace o ochratoxinu A a jeho výskytu ve víně
2. Hodnotí výsledky pilotní studie "Mykobiota hroznů révy vinné a stanovení ochratoxinu A v hroznové šťávě, moštu a víně v ČR"

2. PŘEHLED O STAVU PROBLÉMU

3.

Ochratoxin A (dále **OTA**) patří mezi významné mykotoxiny. Tento sekundární metabolit byl objeven a chemicky charakterizován při laboratorním testování toxinogenních kmenů vláknitých mikroskopických hub *Aspergillus ochraceus* v Jihoafrické republice v roce 1965 [2]. Patří do skupiny ochratoxinů, kam ještě řadíme další ochratoxiny (B, C, D a α). V této skupině je OTA dominantní. Lze ho obecně charakterizovat jako derivát 7-izokumarinu vázaný na aminoskupinu L- β -fenylalaninu [3]. Přesný název OTA je (R)-N-((5-chloro-3,4-dihydro-8-hydroxy-3-methyl-1-oxo-1H-benzo(c)pyran-7-yl)carbonyl)-3-phenylalanin (CAS No. 303-47-9). Strukturální vzorec OTA je uveden na obr.

Obr. Strukturální vzorec OTA



4.

Při produkci OTA se dosud uplatňují především dva rody, *Aspergillus* (*A. ochraceus*, *A. melleus*) a *Penicillium* (*P. verrucosum*, *P. nordicum*). V tropických a subtropických oblastech je OTA v potravinách produkován zejména vláknitými mikroskopickými houbami rodu *Aspergillus*.

Teplotní rozsah pro produkci OTA např. u *Aspergillus ochraceus* byl zjištěn v rozmezí 15-37 °C, optimální teplota se pohybuje okolo 28 °C. V chladnějších oblastech je OTA produkován vláknitými mikroskopickými houbami rodu *Penicillium*. Kmeny *Penicillium verrucosum* jsou schopny produkovat OTA již v rozmezí od 4 - 30 °C [4-6].

5.

Další významný producent OTA *Aspergillus niger* byl poprvé identifikován v roce 1994 [7]. Toto zjištění bylo překvapující, protože do té doby byly mikroskopické houby *Aspergillus niger* považovány z hlediska produkce významných mykotoxinů za bezpečné. Kmeny *Aspergillus niger* jsou běžně využívány v biotechnologiích při produkci různých hydrolytických enzymů (např. α -amylázy, glukoamylázy, lipázy, neutrální proteázy) a metabolitů (např. kyseliny citrónové a dalších organických kyselin). FDA v USA zařadila *Aspergillus niger* používaný k výrobě uvedených produktů mezi mikroorganismy se statutem GRAS (generally recognized as safe). Z hlediska taxonomie je *Aspergillus niger* řazen do *Aspergillus* sekce *Nigri*. Následně bylo prokázáno, že řada dalších zástupců *Aspergillus* sekce *Nigri* produkuje OTA [8, 9].

6.

Akutní i chronická toxicita OTA je odvozena od jeho schopnosti inhibovat syntézu proteinů na základě kompetice s fenylalaninem v reakcích katalyzovaných fenylalanin-t RNA syntetázou. Při studiu mechanismů účinku OTA bylo dále prokázáno zvýšení peroxidace lipidů, poškození metabolismu cukrů a vápníku a poškození mitochondriálních funkcí. Mezi hlavní toxické účinky OTA patří nefrotoxicita, imunotoxicita, genotoxicita, karcinogenita, teratogenita a neurotoxicita [10-12].

7.

K významným toxickým účinkům OTA patří nefrotoxicita, kdy cílovým orgánem jsou ledviny a vylučovací systém. Bylo prokázáno, že OTA by mohl hrát velkou roli v etiologii nefropatie prasat. Podobnost mezi patofyziologickým obrazem nefropatie u prasat a projevy Balkánské endemické nefropatie u člověka vedla k úvaze o společné příčině těchto onemocnění [10,12]. OTA je dále spojován s nádory ledvin a nádorovým onemocněním varlat [10,11]. Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny (IARC) FAO/WHO klasifikuje OTA jako možný karcinogen pro člověka (kategorie 2B) [13]. Mechanismus karcinogenity OTA není zatím dostatečně objasněn [14].

8.

Reálnou expozici člověka OTA dokládají jeho nálezy v lidské krvi, moči a tkáních. V Evropě byl OTA detekován v lidských krevních vzorcích v mnoha zemích, a to v koncentracích v rozsahu od 0,1 do 14,4 $\mu\text{g.l}^{-1}$ krevního séra nebo plazmy [15-17]. V České republice je OTA systematicky sledován od roku 1994 v krevním séru dárců krve okresů Benešov, Plzeň, Ústí nad Labem a Žďár nad Sázavou v rámci systému Monitoringu zdravotního stavu obyvatelstva ve vztahu k životnímu prostředí, jehož garantem je Státní zdravotní ústav Praha. Dosud bylo vyšetřeno na obsah OTA celkem 2 206 vzorků krevních sér, z tohoto počtu bylo 2 077 vzorků (94 %) pozitivních, ($\geq 0,1\mu\text{g.l}^{-1}$). Aritmetický průměr činil 0,28 $\mu\text{g.l}^{-1}$, medián 0,2 $\mu\text{g.l}^{-1}$ a 90 % percentil 0,5 $\mu\text{g.l}^{-1}$. Koncentrace OTA se pohybovaly v rozsahu 0,1-13,7 $\mu\text{g.l}^{-1}$ séra [18-20]. Získané koncentrace OTA v krevním séru odpovídají koncentracím zjištěným v obdobných studiích v Evropě [15, 16, 21].

9.

V roce 1998 SCF EC (Scientific Committee for Food of European Commission) stanovil provizorní tolerovatelný denní přívod (PTDI) pro OTA 5 $\text{ng.kg}^{-1} \text{ t. hm.den}^{-1}$.

10.

OTA se vyskytuje v řadě komodit jak rostlinného, tak i živočišného původu. Za hlavní zdroje OTA v potravinovém řetězci jsou pokládány obiloviny, produkty z obilovin, vepřové maso, krev a vnitřnosti (játra, ledviny, výrobky z krve), dále se nachází v kávě, pivu, luštěninách, koření, zeleném čaji, sušeném ovoci, např. fíkách či rozinkách, lékořici a grapefruitové šťávě, aj. [3].

11.

Zimmerli a Dick sledovali v roce 1995 v epidemiologické studii ve Švýcarsku výskyt OTA v lidském krevním séru. Překvapivě zjistili, že muži z oblastí jižněji od Alp v kantonu Ticino měli v krevním séru mnohem vyšší koncentrace OTA než ženy a muži žijící severněji od Alp a v jiných částech Švýcarska. Zamýšleli se nad těmito výsledky a z analýzy dostupných dat zjistili, že oproti jiným kantonům je kanton Ticino, sousedící s Itálií, specifický v tom, že se zde jí typicky italská jídla a pije se hodně vína [15]. Při vyhledávání dalších možných dietárních expozičních zdrojů OTA byl OTA poprvé stanoven ve víně a hroznové šťávě [22]. Toto významné nové zjištění vyvolalo další výzkum výskytu OTA ve víně v Evropě i ve světě.

12.

V roce 2001 byl iniciován multidisciplinární projekt "WINE-OCHRA RISK" v rámci 5. rámcového programu Evropské unie. Cílem projektu bylo vyhodnocení zdravotního rizika OTA ve víně a snížení výskytu OTA během produkce révy vinné a zpracování vína s využitím integrovaného systému řízení (správné zemědělské praxe /GAP/, správné technologické praxe /GTP/ a systému kritických kontrolních bodů /HACCP/). Projektu se účastnily středomořské státy Itálie, Francie, Španělsko, Portugalsko, Řecko a Izrael. V hroznech révy vinné byla izolována transevropská populace kmenů toxinogenních vláknitých mikroskopických hub produkujících OTA. Kmeny *Aspergillus* sekce *Nigri*, jako potenciální producenti OTA, byly dominantními druhy při mykologickém vyšetření révy vinné ve sledovaných vinohradech (viz tabulka č.1). *Aspergillus carbonarius* byl potvrzen jako významný producent OTA v révě vinné a ve víně [23].

Tabulka č.1.

Osídlení hroznů révy vinné ochratoxinogenními vláknitými mikroskopickými houbami

Stát	Producenti ochratoxinu A
Francie	<i>Aspergillus carbonarius</i>
Řecko	<i>Aspergillus carbonarius</i> , <i>Aspergillus</i> sekce <i>Nigri</i>
Izrael	<i>Aspergillus carbonarius</i> , <i>Aspergillus</i> sekce <i>Nigri</i>
Itálie	<i>Aspergillus carbonarius</i> , <i>Aspergillus</i> sekce <i>Nigri</i>
Portugalsko	<i>Aspergillus carbonarius</i> , <i>Aspergillus</i> sekce <i>Nigri</i> <i>Aspergillus ochraceus</i>
Španělsko	<i>Aspergillus carbonarius</i> <i>Aspergillus ochraceus</i>

13.

Výskyt OTA byl potvrzen v červených, rosé, bílých a dezertních vínech. Koncentrace OTA ve vzorcích vín se pohybovaly v závislosti na oblasti v rozsahu $<0,01-7,6 \mu\text{g.l}^{-1}$. Vyšší koncentrace OTA byly stanoveny zejména v červených a rosé vínech [23].

Projekt "WINE-OCHRA RISK" bude ukončen v říjnu 2005 na mezinárodní konferenci v Marsale na Sicílii v Itálii.

14.

Dne 26. ledna 2005 vyšlo Nařízení komise (EC) č. 123/2005. Zde je nově limitován mykotoxin OTA ve šťávě z hroznů révy vinné, v moštu a víně. Toto nařízení vstoupilo v platnost 1. dubna 2005 a týká se šťáv, moštů a vín ze sklizně roku 2005 a ze sklizní v dalších letech. Ve šťávě z hroznů révy vinné, v moštu a víně a nápojích na jejich bázi byl stanoven limit $2 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ [1].

3. VÝSLEDKY REALIZACE PILOTNÍ STUDIE

15.

V návaznosti na projekt "WINE-OCHRA RISK" byla v České republice realizována pilotní studie (hrazeno z prostředků SZÚ). Jejím cílem bylo studium osídlení hroznů révy vinné toxinogenními vláknitými mikroskopickými houbami se zaměřením na producenty OTA a případný výskyt OTA ve šťávě z hroznů révy vinné, v moštech a vínech.

16.

Pro realizaci pilotní studie bylo vybráno 5 viničních tratí s 22 odrůdami révy vinné ve Znojemské vinařské podoblasti (tabulka č. 2). Během sklizně, v říjnu roku 2004 bylo odebráno celkem 22 vzorků hroznů révy vinné. Jeden vzorek hroznů révy vinné tvořily tři dílčí vzorky odebrané vždy v levé části, uprostřed, a v pravé části vinohradu s jednotlivými odrůdami.

17.

Odběr vzorků hroznů byl prováděn do sterilních polyetylenových sáčků. Vzorky byly po odběru neprodleně dodány do laboratoře mykologie potravin SZÚ-CHPŘ v Brně.

Tabulka č. 2

Odběr vzorků hroznů révy vinné

Vinařská obec	Viniční trať	Odrůdy révy vinné
Hostěradice	Volné pole	Svatovavřínecké
		Ryzlink rýnský
		Rulandské modré
		Rulandské bílé
Miroslav	Weinperky	Sauvignon
		Frankovka
		Pálava
Podmolí	Šobes	Veltlínské zelené
		Ryzlink rýnský
		Rulandské bílé
		Rulandské šedé
Dobšice	U Hájku	Ryzlink vlašský
		Rulandské modré
		Sauvignon
Horní Dunajovice	Frédy	Frankovka
		Tramín červený
		Frankovka
		Cabernet moravia
		Svatovavřínecké
		Sauvignon
Ryzlink vlašský		
		Veltlínské zelené

18.

Pět náhodně odebraných bobulí z každého dílčího vzorku hroznu révy vinné bylo umístěno sterilní pinzetou na Petriho misku s Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol (DRBC) agarem a inkubováno při teplotě 25 °C po dobu 5-7 dní [24]. Izolované rody *Penicillium* a *Aspergillus* byly přeočkovány na Czapek Yeast Extract (CYA) agar, rody *Alternaria*, *Cladosporium*, *Rhizopus* a *Epicoccum* na Potato dextrose (PDA) agar k získání čistých kultur a k jejich další identifikaci. Identifikace izolovaných kmenů vláknitých mikroskopických hub byla provedena s použitím odborné mykologické literatury [4-6]. Izolované kmeny byly uchovány k dalšímu výzkumu v hlubokomrazicím boxu při -71 °C.

19.

Dále bylo odebráno 22 vzorků hroznové šťávy, 13 vzorků moštů a 13 vzorků mladého vína, které korespondují se vzorky hroznů révy vinné, u nichž bylo provedeno mykologické vyšetření.

20.

Hroznová šťáva byla připravena v laboratorních podmínkách lisováním hroznů révy vinné. Vylisovaná hroznová šťáva byla umístěna do sterilních plastových dóz. Plastové dózy se vzorky byly uchovány do doby zpracování v hlubokomrazicím boxu při -71 °C. Mošty byly odebrány do sterilních plastových dóz a mladá vína do skleněných lahví (200 ml) ve vinařském závodě Znovín Znojmo během výroby vína.

21.

Byla vyvinuta metoda instrumentalizované HPTLC (vysokoúčinné chromatografie v tenké vrstvě) pro stanovení nízkých koncentrací OTA v hroznové šťávě, moštu a víně [25]. Validace metody byla provedena podle principů obvyklých pro planární chromatografii [26]. Mez stanovitelnosti metody (LoQ) byla 8 ng.l⁻¹. Metoda stanovení ochratoxinu A je akreditována podle ČSN EN ISO/IEC 17025.

22.

Ze zkoumaných vzorků hroznů révy vinné byly izolovány následující druhy vláknitých mikroskopických hub: *Alternaria alternata* biotyp 1 a biotyp 2, *Cladosporium* (*C. herbarum*, *C. cladosporioides*), *Penicillium* (*P. expansum*, *P. aurantiogriseum*, *P. spinulosum*, *P. citrinum*), *Rhizopus nigricans*, *Aspergillus clavatus* a *Epicoccum nigrum*. Výsledky mykologického vyšetření hroznů révy vinné jsou uvedeny v tabulce č. 3.

Tabulka č. 3

Osídlení hroznů révy vinné ve Znojenské vinařské podoblasti v roce 2004

Viniční trať	Producenti ochratoxinu A	Vláknité mikroskopické houby rodu <i>Penicillium</i> a <i>Aspergillus</i>	Jiné druhy vláknitých mikroskopických hub
1	-	-	<i>Alternaria alternata</i> <i>Cladosporium herbarum</i> <i>Epicoccum nigrum</i> <i>Rhizopus nigricans</i>
2	-	<i>Penicillium aurantiogriseum</i>	<i>Alternaria alternata</i>
3	-	<i>Penicillium expansum</i> <i>Penicillium spinulosum</i>	<i>Alternaria alternata</i> <i>Cladosporium cladosporioides</i>
4	-	-	<i>Alternaria alternata</i> <i>Cladosporium herbarum</i>
5	-	<i>Penicillium griseofulvum</i> <i>Penicillium aurantiogriseum</i> , <i>Penicillium citrinum</i> <i>Aspergillus clavatus</i>	<i>Alternaria alternata</i> <i>Cladosporium herbarum</i> <i>Rhizopus nigricans</i>

23.

Izolované kmeny *Alternaria alternata* byly rozděleny na základě morfologických kritérií a mikroskopie konidií na biotyp 1 (delší dictyspóry) a biotyp 2 (kratší až střední dictyspóry).

24.

Při hodnocení frekvence výskytu izolátů vláknitých mikroskopických hub ve vzorcích hroznů bylo zjištěno, že *Alternaria alternata* biotyp 1 a biotyp 2 se vyskytují v 16 (73 %) vzorcích, *Cladosporium herbarum* v 9 (41 %) vzorcích, *Rhizopus nigricans* v 6 (27 %) vzorcích, *C. cladosporioides*, *Penicillium aurantiogriseum* a *P. griseofulvum* ve 3 (14 %) vzorcích, *P. expansum* ve 2 (10 %) vzorcích, *P. citrinum*, *P. spinulosum*, *Aspergillus clavatus* a *Epicoccum nigrum* v 1 (5 %) vzorku hroznů révy vinné.

25.

Ochratoxinogenní vláknité mikroskopické houby *Aspergillus carbonarius*, další druhy *Aspergillus* sekce *Nigri*, *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium verrucosum* a *Penicillium nordicum* nebyly ve vzorcích hroznů révy vinné izolovány.

26.

Jestliže srovnáme výsledky získané ze vzorků v našich zeměpisných šířkách s výsledky osídlení hroznů révy vinné v zemích Středomoří zjistíme, že jsou naprosto odlišné. Tam dominují zejména producenti ochratoxinu A *Aspergillus carbonarius*, *Aspergillus* sekce *Nigri* a *Aspergillus ochraceus* (viz tabulka č.1) [23].

27.

Zajímavé jsou dosud nepublikované výsledky z Maďarska, kde producenti OTA *Aspergillus carbonarius* a další druhy *Aspergillus* sekce *Nigri* byly izolovány z hroznů révy vinné pouze v nejjihnější části Maďarska [27].

28.

Výskyt ochratoxinu A ve vzorcích hroznové šťávy, moštu a vína (ČR) nebyl zjištěn. Všechny výsledky byly pod mezí stanovitelnosti (LoQ) použité metody.

4. ZÁVĚRY A DOPORUČENÍ

29.

Výsledky pilotní studie z ČR podporují hypotézu, že výskyt a koncentrace OTA ve vínech se pravděpodobně zvyšuje v jižních vinařských oblastech (v oblasti Středomoří) a snižuje v severních vinařských oblastech. Tuto hypotézu podporují i výsledky dalších studií v zahraničí [28, 29]. Zvýšený výskyt OTA ve víně z jižních vinařských oblastí souvisí s osídlením hroznů révy vinné toxinogenními vláknitými houbami *Aspergillus carbonarius* a dalšími druhy *Aspergillus* sekce *Nigri*.

30.

Výsledky pilotní studie jsou pro vinohradnictví v ČR dobrou zprávou. Příznivé výsledky je však potřebné confirmovat při sklizni hroznů révy vinné i v dalších letech a dalších vinařských podoblastech. Jedna sezona není dostatečně reprezentativní, výsledky není možné generalizovat.

31.

Riziko akutních toxických účinků OTA je obvykle považováno v podmínkách ČR za minimální. Jiná situace může být u tzv. pozdních toxických účinků, např. i souvislosti s karcinogenitou, které vyplývají z přívodu velmi nízkých jednorázových nebo opakovaných koncentrací OTA v potravinách. Proto je potřebné i nadále pokračovat v hodnocení dietární expozice a zdravotního rizika OTA se zaměřením na jeho významné expoziční zdroje - potraviny z obilovin, kávu, masné výrobky, rozinky, koření, grapefruitovou šťávu, pivo a víno dovážené z jižních oblastí.

5. ZÁKLADNÍ LITERATURA

1. COMMISSION REGULATION (EC) No 123/2005 of 26 January 2005 amending Regulation (EC) No 466/2001
2. VAN DER MERWE, K.J., STEYN, P.S., & FOURIE, L. Mycotoxins. Part II. The constitution of ochratoxins A, B, and C, metabolites of *Aspergillus ochraceus* Wilh. *J Chem Soc*, 1965, s. 7083-7088.
3. MALÍŘ, F., OSTRÝ, V. (Eds.): Vlákňité mikromycety (plísňe), mykotoxiny a zdraví člověka. NCONZO, Brno, 2003.
4. PITT, J.I., HOCKING, A.D.: Fungi and Food Spoilage. Chapman & Hall, Blackie Academic and Professional, London, UK, 1997.
5. SAMSON, R.A., PITT, J.I.: Integration of Modern Taxonomic Methods for *Penicillium* and *Aspergillus* Classification. Harwood Academic Publishers, Amsterdam, The Netherlands, 2000.
6. SAMSON, R.A., REENEN-HOEKSTRA, E.S.: Introduction to Food-Borne Fungi. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn, The Netherlands, 1988.
7. ABARCA, M.L., BRAGULAT, M.R., CASTELLA, G., CABAÑES, F.J. Ochratoxin A production by strains of *Aspergillus niger* var. *niger*. *Appl Environ Microbiol*, 1994, 60, s. 2650-2652.
8. ABARCA, M.L., ACCENSI, F., BRAGULAT, M.R., CASTELLA, G., CABAÑES, F.J. *Aspergillus carbonarius* as the main source of ochratoxin A contamination in dried vine fruits from the Spanish market. *J Food Prot*, 2003, 66, s. 504-506.
9. SAGE, L., GARON, D., SEIGLE-MURANDI, F.. Fungal microflora and ochratoxin a risk in French vineyards. *J Agric Food Chem*, 2004, 52, s. 5764-5768.
10. DIRHEIMER, G. Mechanistic approaches to ochratoxin toxicity. *Food Addit Contam*, 1996, 13, s. 45-48.
11. SCHLATTER, C.H., STRUDER-ROHR, J., RÁSONYI, T.H. Carcinogenicity and kinetic aspects of ochratoxin A. *Food Addit Contam* , 1996, 13, s. 43-44.
12. PETZINGER, E, WEIDENBACH, A. Mycotoxins in the food chain: the role of ochratoxins. *Livestock Prod Sci* , 2002, 76, s. 245-251.
13. IARC (International Agency for Research on Cancer/World Health Organization): IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Vol. 56: Some naturally occurring substances: food items and constituents, heterocyclic aromatic amines and mycotoxins. IARC, Lyon, France, 1993.
14. OPINION of the Scientific Panel on Contaminants in the Food Chain (EFSA) on a request from the Commission related to ochratoxin A (OTA) as undesirable substance in animal feed. (Request No EFSA-Q-2003-039), Brussel, 22 September 2004, 36 s.
15. ZIMMERLI, B. DICK, R. Determination of ochratoxin A at the ppt level in human blood, serum, milk and some foodsuffs by HPLC with enhanced fluorescence detection and immunoaffinity column cleanup: methodology and Swiss data. *J Chromatogr. B*, 1995, 666, s. 85-99.
16. GILBERT, J., BRERETON, P., MACDONALD, S. Assessment of dietary exposure to ochratoxin A in the UK using a duplicate diet approach and analysis of urine and plasma samples. *Food Addit. Contam.*, 2001, s. 1088-1093.
17. RUPRICH, J., OSTRY, V. Health risk assessment of the mycotoxin ochratoxin A to humans: Czech Republic- Brno - 1991/92. *Cent Eur J Public Health* , 1993, 1, s. 86-93.
18. MALÍŘ, F., JERGEOVÁ, Z. , SEVERA, J., ČERNÁ, M., ŠMÍD, J., BETBEDER, A. M., BAUDRIMONT, I., CREPPY, E.E. The level of ochratoxin A in blood serum of adults in the Czech Republic. *Revue Méd. Vét.*, 1998, 149, 6, s. 710.
19. MALIR, F., OSTRY, V., CERNA, M., KACEROVSKY, J., ROUBAL, T., SKARKOVA, J., BRNDIAR, M., FIXA, P. Monitoring the important mycotoxin biomarkers (ochratoxin A, aflatoxin M1) in the Czech population, *Cas. Lek. Cesk.*, 2004, 143, 691-696. (in Czech)

20. OSTRY, V., MALIR, F., ROUBAL T., SKARKOVA, J., RUPRICH J., CERNA M., CREPPY E. E. Monitoring of mycotoxins biomarkers in the Czech Republic. *Mycotoxin res.*, 21, 1, 2005, s. 49-52.
21. KOLLER, G., ROLLE-KAMPCZYK, U., LEHMANN, I., POPP, P., HERBARTH, O. Determination of Ochratoxin A in small volumes of human blood serum. *J Chromatogr. B Analyt Technol. Biomed. Life Sci.*, 2004, 804, s. 313-317.
22. ZIMMERLI, B., DICK, R. Ochratoxin A in table wine and grape-juice: occurrence and risk assessment. *Food. Addit. Contam.*, 1996, 13, s. 655-668.
23. BATTILANI, P., PIETRI, A., LOGRIECO, A. Risk assessment and management in practice: ochratoxin in grapes and wine. In MAGAN, N., OLSEN, M. (Eds.) *Mycotoxins in food*. CRC Press, Cambridge, England, 2004, s. 244-261.
24. KING, A.D.Jr., HOCKING, A.D., PITT, J.I. Dichloran-rose bengal medium for enumeration and isolation of molds from foods. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1979, 37, s. 959-964.
25. SKARKOVA, J., OSTRY, V., PROCHAZKOVA, I., RUPRICH, J. Development of HPTLC method for determination of OTA in must and wine. In *The XXIXth Symposium „Chromatographic Methods of Investigating the Organic Compounds“*, Katowice-Szczyrk, June 8th-10th, 2005, s.153.
26. ICH (International Conference on Harmonization of technical requirements for registration of pharmaceuticals for human use) Guideline Q2B (1996) Validation of analytical procedures: methodology (CPMP/ICH 281/95), Geneva, Switzerland.
27. VARGA, J. *Personal communications*, 2005.
28. OTTENEDER, H., MAJERUS, P. Occurrence of ochratoxin A in wines: influence of the type of wine and its geographical origin. *Food Addit. Contam.*, 2000, 17, s. 793-798.
29. BELLÍ, N., MARÍN, S., SANCHIS, V., RAMOS, A.J. Review: ochratoxin A (OTA) in wines, musts and grape juices: occurrence, regulations and methods of analysis. *Food Sci. Technol. Int*, 2002, 8, s. 325-335.