



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:

Pravděpodobnostní modelování přívodu zearalenonu z potravin na bázi obilovin

Poznámka:

Informaci Výboru připravil: V. Ostrý a J. Ruprich
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, 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. Ruprich, J. Hajšlová, F. Malíř, J. Škarková

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:

Zearalenon, potraviny, přívod, modelování, expozice, zdravotní riziko.

Obsah:

Kapitola:	str.
Seznam použitých zkratk	3
1. Vymezení úkolu a charakteristika problému	4
2. Přehled o stavu problému	5
Toxikologické hodnocení	6
Charakterizace nebezpečnosti	7
Expoziční limity	7
Výskyt v potravinách	7
Regulace ZEN v potravinách	8
Odhad dietární expozice	8
3. Pravděpodobnostní hodnocení obvyklého přívodu ZEN z potravin na bázi obilovin	9
4. Závěry a doporučení	13
5. Základní literatura	14
6. Příloha – parametry pro MCRA	16

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
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, enzymo-imunologické stanovení na pevném fází
EU	Evropská unie
FAO	Food and Agriculture Organization, Organizace pro potraviny a zemědělství při WHO
HPTLC	High Performance Thin-Layer Chromatography, Vysoko účinná chromatografie na tenké vrstvě
IARC	International Agency for Research of Cancer, Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny
LoQ	Limit of quantification, mez stanovitelnosti
MCRA	Monte Carlo Risk Assessment, cíleně vyvinutý software pro hodnocení dietární expozice
NOEL	No-observed-effect-level, Nejvyšší úroveň expozice, při které není pozorována žádná odpověď na statisticky významné úrovni ve srovnání s kontrolní skupinou
PTDI	Provisional tolerable daily intake, provizorní tolerovatelný denní přívod

SAFEFOODS	Akronym projektu 6. rámcového programu EU, Promoting Food Safety through a New Integrated Risk Analysis Approach for Foods, podpora bezpečnosti potravin prostřednictvím nového integrovaného přístupu v analýze rizika pro potraviny
SCF EC	Scientific Committee for Food of European Commission, Vědecký výbor pro potraviny Evropské komise
SZÚ-CHPŘ	Státní zdravotní ústav – Centrum hygieny potravinových řetězců
t.hm.	tělesná hmotnost
VVP	Vědecký výbor pro potraviny
WHO	World Health Organisation, Světová zdravotní organizace
ZEN	Zearalenon
ZEN-4-O-Glc	Zearalenon-4-O-glukosid
α , β ZEL	α , β zearalenol

1. VYMEZENÍ ÚKOLU A CHARAKTERISTIKA PROBLÉMU

1.

Dne 22. 2. 2007 rozhodlo 17. plenární zasedání Vědeckého výboru pro potraviny (VVP) o účelnosti zpracování informace VVP k problematice výskytu zearalenonu (dále **ZEN**) v potravinách na bázi obilovin. Tyto potraviny patří k významným expozičním zdrojům ZEN pro populaci v ČR. Z hlediska hodnocení dietární expozice je zatím k dispozici pouze bodový odhad průměrné expozice populace ČR. Není však zcela jasné zda se v populaci ČR vyskytuje nějaká populační skupina, která by byla exponována významně vyšší dávkou ZEN v důsledku např. vyšší spotřeby potravin z obilovin, či odlišného dietárního chování.

2.

Rozhodnutí VVP o zpracování informace předcházela diskuse o potřebě vyhodnocení aktuální expozice s využitím pravděpodobnostního modelování přívodu ZEN z potravin na bázi obilovin pro vybrané populační skupiny v ČR. Získané výsledky budou významným přínosem a podkladem pro regulaci ZEN v potravinách a pro aktivity EFSA v uvedené oblasti.

3.

VVP se rozhodl pro zpracování informace využít výstupů výzkumného programu řešeného v rámci projektu 6. rámcového programu EU „SAFEFOODS“, který využívá pravděpodobnostního modelování obvyklého přívodu vybraných chemických látek v dietě [1] a současně využívá k modelování i aktuální data charakterizující individuální spotřebu potravin pro populaci obou pohlaví ve věku 4 – 90 roků v ČR [2].

VVP v připravené informaci:

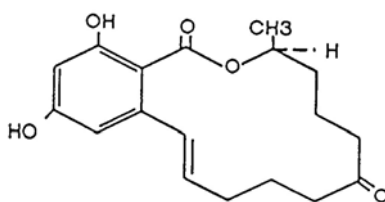
1. Shrnuje základní informace o ZEN a jeho výskytu v potravinách
2. Zabývá se pravděpodobnostním modelováním přívodu ZEN z potravin na bázi obilovin pro vybrané populační skupiny v ČR

2. PŘEHLED O STAVU PROBLÉMU

4.

ZEN ([6-(10-hydroxy-6-oxo-*trans*-1-undecenyl)-beta-resorcylic-acid-lactone] (CAS Number: 17924-92-4) patří k významným fuzáriovým mykotoxinům. Chemicky je charakterizován jako lakton kyseliny β -resorcylové. Strukturální vzorec ZEN je uveden na obrázku 1.

Obr. 1 - Strukturální vzorec ZEN



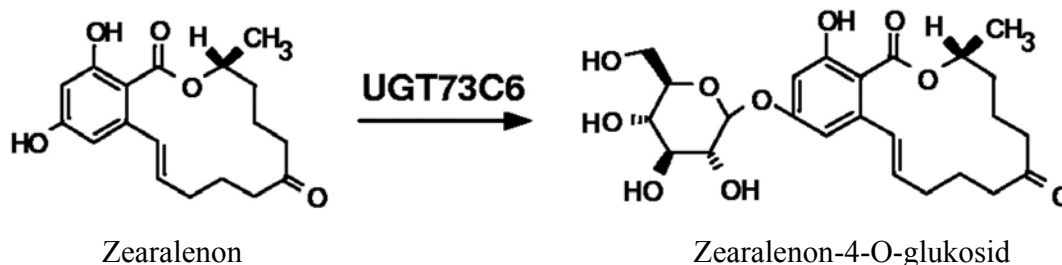
5.

V organismu je ZEN metabolizován na 7α - a 7β -zearalenol (ZEL) a glukuronid konjugáty. Kromě toho existuje dalších asi 18 derivátů zearalenonu (např. 7α -zearalanol, 7β -zearalanol, 11-hydroxyzearalenon, 14-hydroxyzearalenon, 4-acetylzearalenon, 5-formylzearalenon).

6.

V posledních letech se v odborné veřejnosti diskutuje význam konjugátu zearalenonu: zearalenon-4-O-glukosidu (ZEN-4-O-Glc) pro zdraví hospodářských zvířat a člověka [3-5]. ZEN-4-O-Glc byl poprvé popsán v roce 1986 Kamimurou [6] jako "nový" metabolit ZEN po jeho konverzi vláknitými mikroskopickými houbami rodu *Rhizopus*. Rostlina *Arabidopsis thaliana* (huseníček rolní) obsahuje *UGT73C* geny, které exprimují enzymy glukosyltransferázy, sloužící k inaktivaci zearalenonu vytvořením konjugátu ZEN-4-O-Glc (viz obr. 2) [7].

Obr. 2 Schéma transformace ZEN na ZEN-4-O-Glc



Konjugát ZEN-4-O-Glc se vyskytuje také v obilovinách, kde vzniká obdobným mechanismem a hovoří se o něm jako o tzv. "maskovaném" mykotoxinu [5, 32].

7.

V současné době se vede diskuse o osudu ZEN-4-O-Glc v trávicím traktu savců, zda je možná jeho transformace zpět na ZEN. Berthiller aj. 2007 [8] ve své experimentální studii konstatují, že hydrolýza ZEN-4-O-Glc v žaludku je nepravděpodobná. Při testování lidské a rostlinné β -glukosidázy a celulázy hydrolytický efekt nebyl také zjištěn. Nejednoznačný je i hydrolytický účinek vybraných bakterií trávicího traktu (*Enterococcus durans*, *E. mundtii* a *Lactococcus plantarum*). Autoři doporučují provést relevantní krmné studie se ZEN-4-O-Glc na laboratorních potkanech.

8.

ZEN je produkován toxinogenními kmeny rodu *Fusarium*: *F. culmorum*, *F. equiseti*, *F. graminearum*, *F. moniliforme*, *F. oxysporum*, *F. sambucinum*, *F. semiseptum*, *F. sporotrichioides*. Významnými producenty ZEN jsou *F. graminearum* (nepohlavní forma *Gibberella zeae*) a *F. culmorum*, které významně infikují obiloviny k výrobě potravin a krmiv [9, 10].

TOXIKOLOGICKÉ HODNOCENÍ

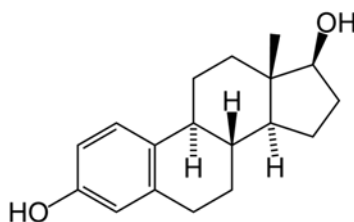
9.

ZEN není významně akutně toxický. U křečků byla prokázána velmi nízká toxicita > 2000 mg/kg t.hm. po perorálním podání. Po perorální aplikaci o koncentraci 20000 mg.kg⁻¹ nedošlo k úhynu pokusných myší ani potkanů [11-14].

10.

ZEN a jeho deriváty vykazují významné estrogení a anabolické účinky [9]. Estrogení potenciál ZEN byl testován na buněčných liniích MCF-7 nebo T-47D. Bylo konstatováno, že ZEN v porovnání s jinými estrogeny rostlinného původu patří mezi nejúčinnější xenoestrogeny. Ve srovnání se sexuální hormonem 17β -estradiolem se ZEN váže na estrogenové receptory živočišných buněk asi s 10-100x menší aktivitou [12, 13]. Strukturální vzorec 17β -estradiolu je uveden na obrázku 3.

Obr. 3 - Strukturální vzorec 17β -estradiolu



11.

ZEN vyvolává mykotoxikózy charakterizované hyperestrogenismem u prasat, skotu a drůbeže. Klinické příznaky spojené se ZEN u mladých prasnic byly poprvé popsány Buxtonem již v roce 1927 [15]. Prasata jsou k ZEN nejvzrostlivější, dále např. potkani, myši a opice. U samic ZEN vyvolává infertilitu (neplodnost), edém vulvy, vaginální prolaps, hypertrofii mléčných žláz, u samců pak dochází k atrofii varlat a zbytnění mléčných žláz. Zprávy o účincích zearalenonu u lidí jsou jen sporadické. Je popsán případ z Portorika z roku 1984, kdy u dětí, které konzumovaly

potraviny kontaminované vyššími koncentracemi ZEN docházelo k předčasné pubertě. V vzorcích krve uvedených dětí byly následně prokázány metabolity ZEN [9-14, 16].

12.

Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny (IARC) FAO/WHO v roce 1993 zařadila ZEN do kategorie 3 (ZEN není zatím klasifikován jako karcinogen pro člověka) [17].

CHARAKTERIZACE NEBEZPEČNOSTI

13.

K charakterizaci nebezpečnosti ZEN bylo provedeno několik toxikologických studií, které vedly ke stanovení NOEL. V 15 denní studii u prasniček krmených dietou obsahující ZEN v koncentraci 0, 40, 200 nebo 400 ug.kg⁻¹ se zaměřením na reprodukční toxicitu byl stanoven **NOEL 0,04 mg/kg t.hm./den**. Tento NOEL byl použit ke stanovení expozičních limitů pro ZEN. V 104 týdenní krmné studii zaměřené na chronickou toxicitu a karcinogenitu u laboratorních potkanů (FDRL Wistar) exponovaných ZEN v koncentraci 0, 0,1, 1,0 nebo 3 mg/kg t.hm./den byl stanoven **NOEL 0,1 mg/kg t.hm./den** [11-14, 18, 19].

EXPOZIČNÍ LIMITY

14.

Expoziční limity (PTDI) pro ZEN byly stanoveny na zasedáních Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives and Contaminants (JECFA FAO/WHO) v rámci Codex Alimentarius a Scientific Committee for Food of European Commission (EU SCF) v rámci zemí EU v roce 2000. Hodnoty expozičních limitů jsou stanoveny na základě analýzy zdravotního rizika ZEN a jsou vyjádřeny v hmotnostních jednotkách na kg tělesné hmotnosti a den. Scientific Committee for Food of European Commission (EU SCF) stanovil provizorní tolerovatelný denní přívod (PTDI) pro ZEN **0,2 ug/kg t.hm./den**. K výpočtu PTDI byl použit NOEL 0,04 mg/kg t.hm./den a bezpečnostní faktor 200 [11]. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives and Contaminants (JECFA) stanovil provizorní tolerovatelný denní přívod (PTDI) pro ZEN **0,5 ug/kg t.hm./den**. K výpočtu PTDI byl použit NOEL 0,04 mg/kg t.hm./den a bezpečnostní faktor cca 100 [12].

VÝSKYT V POTRAVINÁCH

15.

ZEN byl nalezen v následujících potravinách: obiloviny (pšenice, ječmen, oves, žito, kukuřice, rýže) a výrobky z nich (např. chléb, slad, cornflakes, popcorn, pivo), čirok, proso, boby, ořechy, banány, čili koření, čili omáčka, koriandr, kari, kari pasta, fenykl, pepř, amarant, olej sojový, kukuřičný a z pšeničných klíčků [9, 10, 19-21, 28]. Konjugát ZEN-4-O-Glc byl zachycen např. v pšenici v koncentraci 17-104 ug.kg⁻¹ [22]. Pro produkci ZEN vláknitými mikroskopickými houbami rodu *Fusarium* je v laboratorních podmínkách potřebná vodní aktivita 0,98, což odpovídá např. 25 % vlhkosti zrna pšenice. Vysoké koncentrace ZEN ve vzorcích obilovin a krmiv jsou spíše důsledkem nesprávného ošetření před uskladněním, než primárního vzniku před sklizní na poli [9, 11-14].

16.

ZEN je ve skladovaném obilí velmi stabilní, zůstává v podstatě nezměněn i po zpracování na mouku, či po fermentaci. V experimentálních studiích se uvádí, že po upečení chleba zůstává v chlebu 60 % a při výrobě sušenek 80 % původního množství ZEN [19, 29].

17.

Vzhledem k průměrným koncentracím ZEN v krmivech nepředstavuje přechod tohoto mykotoxinu a jeho metabolitů do tkání a mléka přežvýkavců a prasat významné zdravotní riziko pro člověka po konzumaci masa a mléka [10-14].

REGULACE ZEN V POTRAVINÁCH

18.

Přehled maximálních limitů ZEN v potravinách je uveden v Nařízení Komise (ES) č. 1881/2006. V Nařízení Komise (ES) č. 1126/2007, kterým se novelizuje Nařízení Komise (ES) č. 1881/2006 jsou upraveny a nově stanoveny maximální limity ZEN v kukuřici a ve výrobcích z kukuřice [23] (viz tabulka č. 1).

Tabulka č. 1.

Aktuální maximální limity ZEN v potravinách podle Nařízení Komise (ES) č. 1881/2006.

Potravinová surovina / potravina	ZEN ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)
Nezpracované obiloviny, jiné než kukuřice	100
Nezpracovaná kukuřice kromě nezpracované kukuřice určené ke zpracování mokrým mletím	350
Obiloviny určené k přímé lidské spotřebě, obilná mouka, otruby a klíčky ve formě konečného výrobku uváděného na trh pro přímou lidskou spotřebu	75
Rafinovaný kukuřičný olej	400
Pečivo (včetně malého běžného pečiva), jemné a trvanlivé pečivo, sušenky, svačinky z obilovin a snídaňové cereálie kromě svačinek z kukuřice a kukuřičných snídaňových cereálií	50
Kukuřice určená k přímé lidské spotřebě, svačinky z kukuřice a kukuřičné snídaňové cereálie	100
Obilné příkrmy (kromě kukuřičných příkrmů) a ostatní příkrmy určené pro kojence a malé děti	20
Kukuřičné příkrmy pro kojence a malé děti	20
Mleté frakce kukuřice s velikostí částic > 500 mikronů kódu KN 1103 13 nebo 1103 20 40 a ostatní výrobky z mleté kukuřice s velikostí částic > 500 mikronů nepoužívané k přímé lidské spotřebě kódu KN 1904 10 10	200
Mleté frakce kukuřice s velikostí částic \leq 500 mikronů kódu KN 1102 20 a ostatní výrobky z mleté kukuřice s velikostí částic \leq 500 mikronů nepoužívané k přímé lidské spotřebě kódu KN 1904 10 10	300

ODHAD DIETÁRNÍ EXPOZICE

19.

Odhad dietární expozice ZEN je možno provádět na základě stanovení ZEN v potravinách a spotřeby uvedených potravin. Odhad dietární expozice ZEN pro populaci v ČR byl poprvé proveden v 90. letech. Výsledky studie byly získány v rámci Systému monitorování zdravotního stavu obyvatelstva ve vztahu k životnímu prostředí, subsystému č. IV. s názvem: „Monitoring dietární expozice chemickým látkám“. Použitá data o spotřebě potravin vychází ze spotřebního koše potravin v ČR (1993 a 1997) [24, 25]. Bodový odhad dietární expozice ZEN pro populaci v ČR (pro průměrnou osobu 64 kg) činil pro potraviny z obilovin asi 4 ng/kg t. hm./den [26].

20.

Bodový odhad dietární expozice ZEN pro populaci v ČR byl proveden také v roce 2006. K popisu spotřeby potravin v ČR byla použita data ze spotřebního koše potravin /The National Household Budget Survey/ z roku 1997 [25]. Bodový odhad dietární expozice ZEN pro populaci v ČR (pro průměrnou osobu 64 kg) činil pro potraviny na bázi obilovin asi 2,8 ng/kg t.hm./den [27].

21.

U ZEN je provedený bodový odhad průměrného denního přívodu výrazně nižší než příslušná hodnota PTDI. Přesto je třeba věnovat určitou pozornost takovým skupinám populace, které mohou pravidelně a ve vyšších dávkách konzumovat potraviny s obsahem ZEN. Především jde o potraviny určené k výživě dětí, neboť rozmanitost položek v dietě malých dětí může být omezená [11-14].

22.

V kanadské studii je odhadována expozice ZEN z cereálních potravin pro průměrnou osobu 60 kg t.hm. 0,19 µg/den (3 ng/kg t.hm./den). V Dánsku je odhadována expozice ZEN z cereálních potravin 0,48 ug na osobu a den, respektive 8 ng/kg t.hm./den (pro průměrnou osobu 60 kg), v Norsku 1,46 ug na osobu a den respektive 24 ng/kg t.hm./den (pro průměrnou osobu 60 kg) [19, 30].

3. PRAVDĚPODOBNOSTNÍ HODNOCENÍ OBVYKLÉHO PŘÍVODU ZEN Z POTRAVIN NA BÁZI OBILOVIN

23.

V rámci projektu 6. rámcového programu EU „SAFEFOODS“ (Promoting Food Safety through a New Integrated Risk Analysis Approach for Foods) byla v roce 2006 realizována studie, která využívá metody pravděpodobnostního modelování obvyklého přívodu ZEN v potravinách na bázi obilovin nakoupených v obchodní síti v ČR. Celkem bylo v roce 2006 odebráno a analyzováno 152 vzorků 13 typů cereálních produktů. Přehled odebraných vzorků je uveden v tabulce č. 2.

Tabulka č. 2.

Přehled a počty odebraných vzorků cereálních potravin

Název potraviny	Počet vzorků (n)
Chléb	12
Chléb toustový	12
Bageta	12
Pečivo celozrnné	12
Corn flakes	12
Mouka hladká	12
Mouka hrubá	12
Mouka polohrubá	12
Müsli	12
Rýže	12
Těstoviny	12

Vločky ovesné	12
Snídaňové cereálie	8
Celkem	152

24.

K pravděpodobnostnímu hodnocení dietární expozice ZEN byla použita simulační metoda známá pod názvem „Monte Carlo“. Cíleně vyvinutý software pro hodnocení dietární expozice (MCRA, verze 6.0) [7] odhaduje obvyklý (chronický) přívod současně s hodnocením nejistot výpočtu. Pro hodnocení obvyklého přívodu ZEN byla použita metoda diskretní/semiparametrické transformace dat, celková nejistota byla hodnocena jako konfidenční interval (CI) pro jednotlivé vypočtené hodnoty expozičních dávek příslušné percentilu pro specifikovanou populaci či populační skupinu (tzv. bootstrapping). Více parametrů výpočtu je uvedeno v příloze č.1

25.

Jako data o spotřebě potravin v ČR byla použita nejnovější dostupná data charakterizující individuální spotřebu potravin pro populaci obou pohlaví ve věku 4 – 90 roků v letech 2003-2004 (SISP04) [3]. Jedná se o data z 2x opakovaného 24h recallu na souboru 2580 osob.

26.

Pro stanovení ZEN v potravinách byla použita validovaná a akreditovaná imunochemická metoda ELISA (ELISA Ridascreen® zearalenon). Mez stanovitelnosti (LoQ) byla $1,75 \text{ ug.kg}^{-1}$. Výsledky stanovení ZEN vyšší než 10 ug.kg^{-1} byly potvrzeny metodou HPTLC [31]. K zabezpečení kvality laboratorních výsledků byl použit certifikovaný referenční materiál (BCR-717). Nejistoty výsledku stanovení ZEN v potravinách v případě použití uvedeného typu ELISA soupravy jsou spojeny s výskytem křížových reakcí s α -ZEL (cca 41,6 %), β -ZEL (cca 13,8 %), zearanolu (zearalanolu) (cca 27,7 %). Křížové reakce s konjugátem ZEN-4-O-Glc nejsou v současnosti známy.

ODHAD CHRONICKÉ EXPOZIČNÍ DÁVKY

25.

Chronická expozice je také označována jako obvyklý přívod (usual intake). Vzhledem k předpokládané relativně nízké očekávané expoziční dávce pro populaci jako celek, byl první model založen na hodnocení všech 13 analyzovaných druhů cereálních potravin. Hodnoty pod mezí stanovitelnosti (LoQ) byly nahrazeny hodnotou $0,5 \cdot \text{LoQ}$. Při tomto konzervativním hodnocení byl obvyklý přívod ZEN pro populaci ČR (4–90 roků, obě pohlaví) odhadnut následovně:

Nejistota percentilů distribuce obvyklého přívodu ZEN (ug/kg t.hm./den) (bootstrapping – 100x resampling)

Percentil distribuce	(CI)	2.5%	25%	75%	97.5%
50.00		0.0009	0.0009	0.0010	0.0011
90.00		0.0016	0.0017	0.0019	0.0021
95.00		0.0019	0.0021	0.0023	0.0025
99.00		0.0025	0.0029	0.0033	0.0038
99.90		0.0033	0.0039	0.0047	0.0057
99.99		0.0041	0.0050	0.0063	0.0078

Jak je z výsledků patrné, s vysokou pravděpodobností (97,5%) je pouze 1 osoba z 10000 exponována maximální dávkou cca 8 ng/kg t.hm./den, která představuje asi 4% z navrženého PTDI (EU SCF). V této expoziční dávce představuje významný podíl příspěvek z chleba, u kterého však 12 individuálních hodnot bylo pod mezí stanovitelnosti analytické metody.

26.

Vzhledem k vysoké míře spotřeby chleba v typické české dietě, pak použití zástupné numerické hodnoty pro koncentraci ZEN ($0,5 \cdot \text{LoQ}$) představuje značný podíl v odhadu obvyklého přívodu (asi 39%). Proto byl model korigován a výpočet byl opakovaně proveden pouze s daty pro cereální potraviny s pozitivními analytickými výsledky (10 druhů potravin). V tomto případě byl obvyklý přívod ZEN pro populaci ČR (4–90 roků, obě pohlaví) odhadnut následovně:

Nejistota percentilů distribuce obvyklého přívodu ZEN (ug/kg t.hm./den)
(bootstrapping – 100x resampling)

Percentil distribuce	(CI)	2.5%	25%	75%	97.5%
50.00		0.0003	0.0004	0.0005	0.0006
90.00		0.0007	0.0008	0.0010	0.0012
95.00		0.0009	0.0010	0.0012	0.0015
99.00		0.0014	0.0016	0.0019	0.0024
99.90		0.0022	0.0026	0.0034	0.0042
99.99		0.0031	0.0038	0.0051	0.0063

Korigovaný výpočet naznačuje, že s pravděpodobností 97,5% je 1 osoba z 10000 osob v celé populaci exponována maximální dávkou cca 6 ng/kg t.hm./den (asi 3% z navrženého PTDI EU SCF).

27.

Takový nízký odhad obvyklého přívodu (srovnatelný s dalšími zeměmi, viz odstavec č. 22), ale i předchozím bodovým odhadem (viz odstavec č. 19) by neměl smysl, pokud by metoda hodnocení expozice neumožňovala jednoduše pracovat i s vybranými populačními skupinami. V tomto případě bylo rozhodnuto zabývat se populací ve věku 4-12 roků stáří. U této skupiny lze předpokládat jak zvýšenou expoziční dávku vzhledem k vyšší spotřebě potravin na jednotku tělesné hmotnosti, tak i vyšší vnímavost vůči toxickému efektu pro reprodukční systém (estrogenní efekt). Předchozí model byl proto aplikován pouze na tuto vybranou subpopulaci. Výsledky výpočtů byly následující:

Nejistota percentilů distribuce obvyklého přívodu ZEN (ug/kg t.hm./den)
(bootstrapping – 100x resampling)

Percentil distribuce	(CI)	2.5%	25%	75%	97.5%
50.00		0.0007	0.0008	0.0010	0.0012
90.00		0.0014	0.0017	0.0021	0.0026
95.00		0.0016	0.0021	0.0027	0.0036
99.00		0.0021	0.0029	0.0041	0.0064
99.90		0.0029	0.0044	0.0067	0.0126
99.99		0.0037	0.0060	0.0096	0.0183

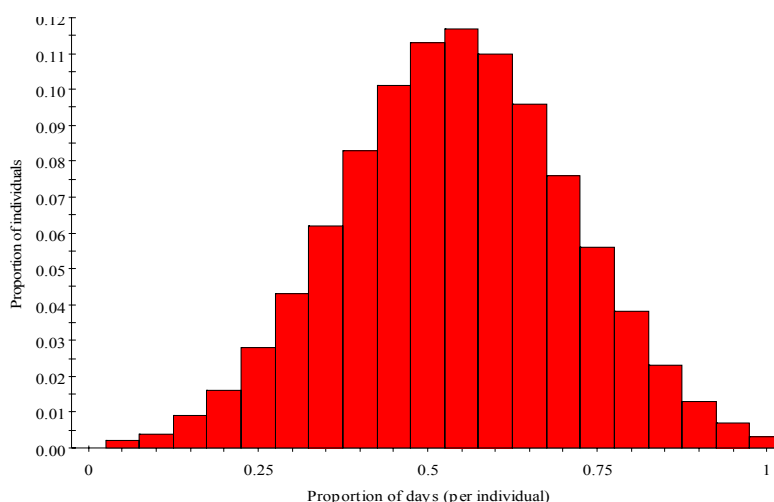
Výpočet ukazuje, že s pravděpodobností 97,5% je 1 osoba z 10000 osob v populační skupině 4 – 12 roků exponována maximální dávkou cca 18 ng/kg t.hm./den (asi 9% z navrženého PTDI EU SCF).

28.

Z hlediska odhadu četnosti dnů s pozitivní expozicí model naznačuje, že nejčastěji jsou osoby v populační skupině 4- 12 roků exponovány zhruba každý druhý den. Distribuci této proporce znázorňuje obr. č.4.

Obr. 4

Očekávaná proporce dnů s pozitivní expozicí ZEN a příslušné množství osob ve věku 4 – 12 roků. (pozn. protože byly sledovány pouze dva dny spotřeby, lze očekávat unimodální rozložení dnů s expozicí)

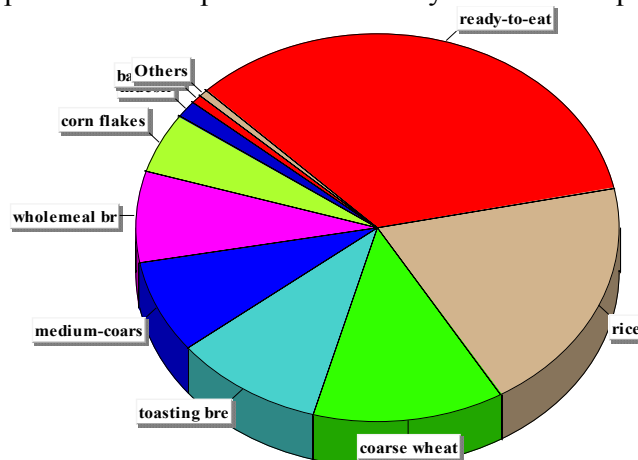


29.

Podíl jednotlivých druhů analyzovaných cereálních potravin na obvyklé expoziční dávce je dán součinem výše spotřeby a výše kontaminace. Podíl 9 největších příspěvků z celkového počtu 10 druhů pozitivně testovaných cereálních potravin k expozici ZEN znázorňuje obrázek č. 5. Největšími přispívajícími byly cereální výrobky k přímé spotřebě (snídaně) a rýže, které představovaly přibližně polovinu z odhadované expoziční dávky.

Obr. 5

Podíl 9 potravin s největším příspěvkem k obvyklé expoziční dávce ZEN pro osoby ve věku 4 – 12 roků (z celkového počtu 10 druhů pozitivně testovaných cereálních potravin).



4. ZÁVĚRY A DOPORUČENÍ

30.

Mladší věkové skupiny v populaci jsou exponovány vyšším dávkám ZEN a jeho dalším chemickým formám s více či méně známou toxicitou. Hodnocení obvyklého přívodu ZEN ukazuje, že pro uvažovanou kritickou skupinu osob ve věku 4 – 12 roků nehrozil z potravin cereálního původu přívod ve výši, který by představoval rozpoznatelné zdravotní riziko. Je ovšem nutné poznamenat, že jde o hodnocení reflektující omezené časové období z hlediska vzorkování potravin. Nic není známé o variabilitě obvyklého přívodu v delším časovém období (např. vliv roků se zhoršenými klimatickými podmínkami).

31.

Doporučení:

1. Pro organizace dozoru nad potravinami:
 - a. Provádět namátkovou kontrolu ZEN v surovinách a potravinách cereálního původu. Úroveň kontaminace se může měnit podle klimatu v jednotlivých letech a místu původu surovin.
2. Pro provozovatele potravinářských podniků:
 - a. Věnovat péči výběru vstupních surovin pro výrobu potravin cereální povahy
 - b. Věnovat péči technologiím, které přispívají ke snížení pravděpodobnosti kontaminace fusariiovými toxiny
3. Pro spotřebitele:
 - a. Spotřebitel nemá efektivní variantu ochrany před kontaminovanými cereálními potravinami. Vyšší kontaminaci ZEN lze očekávat u doporučovaných celozrnných cereálních potravin. Jedinou praktickou radou (s problematickou efektivitou) je nekonzumovat pečivo, které má změněnou chuť (zatuchlá příchut').
4. Pro výzkumná pracoviště:
 - a. Zabývat se dále výzkumem výskytu různých chemických forem / metabolitů ZEN v potravinách a krmivech.
 - b. Zkoumat toxikologické vlastnosti různých chemických forem ZEN

5. ZÁKLADNÍ LITERATURA

1. RUPRICH, J., ŘEHURKOVÁ, I., OSTRÝ, V. MONTE CARLO metoda v hodnocení dietární expozice": Hodnocení expozice glykoalkaloidům z brambor. In *Sborník sdělení z 10. konference Monitoringu a Konference Hygieny životního prostředí*. SZÚ Praha: 2005, 4-5.
2. NIPH (National Institute of Public Health), 2005. The Czech national database of food consumption for individuals - SISP04 transformed for the MCRA analyses. (<http://mcra.rikilt.wur.nl/mcra/home.asp?>)
3. ENGELHARDT, F., RUHLAND, M., WALLNÖFER, P. R. (1999) Metabolism of mycotoxins in plants. *Adv. Food Sci.*, 21, 3/4, s. 71-78.

4. WALLNÖFER, P. R., PREIß, U., ZIEGLER, W., ENGELHARDT, G. (1996) Konjugatbildung organischer Stoffe in Pflanzen; *UWSF – Z. Umweltchem Ökotox.* 8 (1), s. 43-46.
5. GAREIS, M., BAUER, J., THIEM, J., PLANK, G., GRABLEY, S., GEDEK, B. (1990) Cleavage of zearalenone-glycoside, a "masked" mycotoxin, during digestion in swine. *Zentralbl Veterinarmed B.* 37, 3, s. 236-240.
6. KAMIMURA, H. (1986) Conversion of zearalenone to zearalenone glycoside by *Rhizopus* sp. *Appl Environ Microbiol.* 52 (3) s. 515-519.
7. POPPENBERGER, B., BERTHILLER, F., BACHMANN, H., LUCYSHYN, D., PETERBAUER, C., MITTERBAUER, R., SCHUHMACHER R., KRŠKA R., GLÖSSL J., ADAM G. (2006) Heterologous Expression of *Arabidopsis* UDP-Glucosyltransferases in *Saccharomyces cerevisiae* for Production of Zearalenone-4-O-Glucoside. *Applied and Environmental Microbiology*, 72, 6, s. 4404-4410.
8. BERTHILLER, F., DOMIG, K. J., KNEIFEL, W., JUGE, N., KNASMULLER, S., ADAM, G., KRŠKA, R., SCHUMACHER (2006) Hydrolysis of deoxynivalenol-3-O-dlycoside. In Conference Abstracts on 29 th Mycotoxin Workshop, Society for Mycotoxin Research, Stuttgart-Fellbach, s. 43.
9. MALÍŘ, F., OSTRÝ, V. (Eds.): Vlákňité mikromycety (plísňě), mykotoxiny a zdraví člověka. NCONZO, Brno, 2003, 349 s..
10. DESJARDINS, A. E.: *Fusarium* Mycotoxins. Chemistry, genetics and Biology. APS Press, 2006, 260 s.
11. Stanovisko Vědeckého výboru pro potraviny o fusariových toxinech, část 2: Zearalenon (ZEN), (vydáno dne 22. června 2000), http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out65_en.pdf
12. JECFA (2000) Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 53rd Report. Safety evaluation of certain food additives. WHO Food Additives Series 44.
13. Opinion of the CONTAM Panel related to Zearalenone as undesirable substance in animal feed. (Question N° EFSA-Q-2003-037), 35.
http://www.efsa.europa.eu/etc/medialib/efsa/science/contam/contam_opinions/527.Par.0004.File.dat/opinion_contam06_ej89_zearalenone_v3_en1.pdf
14. EC (European Community) 2003. SCOOP Task 3.2.10. Collection of occurrence data on *Fusarium* toxins in foods and assessment of dietary intake by the population of EU Member States. April 2003. <http://europa.eu.int/comm/food/fs/scoop/task3210.pdf>
15. BUXTON, E. A. (1927) Mycotic vaginitis in gilts. *Veterinary Record*, 22, 451-452.
16. RYU, D., JACKSON, L.S., BULLERMAN, L.B. (2002) Effects of processing on zearalenone. In *Mycotoxins and Food Safety*, Trucksees M. W. et al (eds), Kluwer Academic/Plenum Publishers, s. 205-216.
17. IARC (1993) IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans, Vol. 56, Some Naturally Occurring Substances: Heterocyclic Aromatic Amines and Mycotoxins, Lyon, s. 397-444.

18. BECCI, P.J., VOSS, K.A., HESS, F.G., GALLO, M.A., PARENT, R.A., STEVENS, K.R. & TAYLOR, J.M. (1982) Long-term carcinogenicity and toxicity study of zearalenone in the rat. *J. Appl. Toxicol.*, 2, s. 247-254.
19. ALLDRICK, A.J., HAJSELOVA, M. (2004) Zearalenone. In MAGAN N, OLSEN M (eds), *Mycotoxins in food - detection and control*, CRC Press, 353-366.
20. KAPPENSTEIN, O., KLAFFKE, H. S., MEHLITZ, I., TIEBACH, R., WEBER, R., LEPSCHY, J., WITTKOWSKI, R. (2005) Bestimmung von Zearalenon in Speiseölen mit GPC und LC-ESI-MS/MS. *Mycotoxin Research*, 21, 1, 3-6.
21. KRSKA, R. (1999) Mycotoxins of Growing Interest. Zearalenone (MYC-CONF/99/5d), Third Joint FAO/WHO/UNEP International Conference on Mycotoxins, Tunis, 3-6 March.
22. SCHNEWEIS, I., K. MEYER, G. ENGELHARDT, AND J. BAUER. (2002) Occurrence of zearalenone-4- β -D-glucopyranoside in wheat. *J. Agric. Food Chem.*, 50, s.1736-1738.
23. Nařízení Komise (ES) č. 1881/2006 ze dne 19. prosince 2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách (Text s významem pro EHP) Úř. věst. L 364, 20.12.2006, s. 5-24.
Nařízení Komise (ES) č. 1126/2007 ze dne 28. září 2007, kterým se mění nařízení (ES) č. 1881/2006, kterým se stanoví maximální limity některých kontaminujících látek v potravinách, pokud jde o fusariové toxiny v kukuřici a ve výrobcích z kukuřice. (Text s významem pro EHP) Úř. věst. L 255/14, 29.9.2007, s. 14-17.
24. RUPRICH, J. et al. (1993) *Czech Food Basket*, National Institute of Public Health, Prague, 189 pp.
25. RUPRICH, J. et al. (1997) *Czech Food Basket*, National Institute of Public Health, Prague, 187 pp.
26. OSTRY, V., SKARKOVA, J., RUPRICH, J. (2001) The Mycotoxin Research in Foodstuffs in the Czech Republic in the 90th Years. *Mycotoxin Research*, 17A, 2, 183 - 186.
27. OSTRÝ, V. (2007) Osobní sdělení
28. KAPPENSTEIN, O., KLAFFKE, H. S., MEHLITZ, I., TIEBACH R., WEBER R., LEPSCHY J., WITTKOWSKI R. (2005) Bestimmung von Zearalenon in Speiseölen mit GPC und LC-ESI-MS/MS. *Mycotoxin Research*, 21, 1, 3-6.
29. RYU, D., JACKSON, L.S., BULLERMAN, L.B. (2002) Effects of processing on zearalenone. In TRUCKSEES, M.W. et al. (eds), *Mycotoxins and Food Safety* Kluwer Academic/Plenum Publishers, s. 205-216.
30. ERIKSEN, G.S., ALEXANDER, J. (1998) Fusarium Toxins in Cereals--A Risk Assessment (TemaNord, 502), Stockholm, Nordic Council of Ministers, s. 22-27.
31. OSTRY, V., SKARKOVA, J. (2003) A HPTLC Method for the Determination of the Mycotoxin Zearalenone in Cereal Products. *Mycotoxin Research*, 19, 1, 64-68.
32. BERTHILLER, F., LEMMENS, M., WERNER, U., KRSKA, R., HAUSER, M.T., ADAM, G., SCHUHMACHER, R. (2007) Short Review: Metabolism of the Fusarium mycotoxins deoxynivalenol and zearalenone in plants. *Mycotoxin Research*, 23(2), 68-72.

Příloha

Parametry použité při pravděpodobnostním hodnocení obvyklého přívodu ZEN pomocí programu MCRA, verze 6.0. (výběr z log file)

MCRA, Release _6.0 created on: 11/27/2007 11:46:28 AM
Data are selected on: 11/27/2007 4:59:12 PM
Selected survey is: sisp04
Selected data from the user (own) directory are:
donzea_v6.mdb: Foodconsumption
donzea_v6.mdb: Food
donzea_v6.mdb: Individual
donzea_v6.mdb: Compound
donzea_v6.mdb: Country
donzea_v6.mdb: Concentrationvalues
Compound code and label : 196 zearalenone
Acute reference dose (ARfD) : NaN
Acceptable daily intake (ADI) : 0.2
Population characteristics, minimum age : 4
mean age : 36
maximum age : 90
minimum weight: 11.5
mean weight: 64.8
maximum weight: 162
sex :female, male
Number of foods : 13
Number of detects :21
Number of nondetects :131
No percentage crop treated data available
No unit variability data available
Number of consumed foods : 13
No of individuals : 2590
Total no of consumption days : 5018

GENERAL SECTION

Compound code : zearalenone

EXPOSURE SECTION

Chronic risk assessment
Discrete/semiparametric (ISUF)
Power transformation
followed by spline transformation
No. of iterations to estimate theta: 5000
No. of binomial proportions (M): 20

CONCENTRATIONS SECTION

Units for concentration data are in: (mg/kg)
Units for intake are in : (microgr/kg bw/day)
Replace all nondetects
Multiplication factor for LOR: 0.5
Empirical modeling
Full data
Processing : None

UNCERTAINTY SECTION

Number of resampled sets: 100
Resample consumptions : True
Resample concentration data : True
Resample processing factors : False
Re-estimate probability distr. intake: False
Re-estimate transformation : False
Re-estimate number of knots : False

OUTPUT SECTION

Specified percentages :
50 90 95 99 99.9 99.99
Random seed : 5

Estimates of parameters (autoscaled covariable)

Parameter estimate
Between person variance 0.3041
Within person variance 0.6959