



Vědecký výbor pro potraviny

Klasifikace: Draft *Pro vnitřní potřebu VVP*
Oponovaný draft *Pro vnitřní potřebu VVP*
Finální dokument *Pro oficiální použití*
Deklasifikovaný dokument *Pro veřejné použití*

Název dokumentu:

INFORMACE VĚDECKÉHO VÝBORU PRO POTRAVINY VE VĚCI:

Alternářiové mykotoxiny: toxikologické informace a výskyt v potravinách

Poznámka:

Informaci Výboru připravil: V. Ostrý, J. Ruprich, F. Malíř
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, 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 nenes 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:

Alternárióvé mykotoxiny, *Alternaria alternata*, potraviny, dietární expozice, zdravotní riziko.

Obsah:

Kapitola:	str.
Seznam použitých zkratek	3
1. Vymezení úkolu a charakteristika problému	4
2. Přehled o stavu problému v oblasti alternáriových mykotoxinů	5
Chemická charakteristika	5
Producenti	8
Toxikologické hodnocení	10
Výskyt v potravinách	11
3. Závěry a doporučení	15
4. Základní literatura	16

Seznam použitých zkratek:

AFLP	Amplified fragment length polymorphism, polymorfismus délky amplifikovaných fragmentů
ALT	Altenuene
AME	Alternariol monometyl éter
AOH	Alternariol
ATX I	Altertoxin I
ATX II	Altertoxin II
a_w	Water aktivity, vodní aktivita
BfR	Bundesamt für Risikobewertung, Spolkový úřad pro hodnocení rizika
BMD	The Benchmark Dose
CAS	Chemical Abstracts Services Registry No., registrační číslo Chemical Abstracts
ČR	Česká republika
DNA	Deoxyribonucleic Acid, deoxyribonukleová kyselina
EFSA	European Food Safety Authority, Evropský úřad pro bezpečnost potravin
EK	Evropská komise
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

IzoALT	Izoaltenuen
LD ₅₀	Lethal Dosis 50, Letální dávka pro 50% testovaných organismů
LOAEL	Lowest observed adverse effect level, Nejnižší úroveň expozice, při které je ještě pozorována nepříznivá odpověď na statisticky významné úrovni ve srovnání kontrolní skupinou
LOEL	Lowest observed effect level, Nejnižší úroveň expozice, při které je ještě pozorována odpověď na statisticky významné úrovni ve srovnání s kontrolní skupinou
LoQ	Limit of quantification, mez stanovitelnosti
n	Počet vzorků
n+%	Procento pozitivních vzorků z celkového počtu vzorků
NOAEL	No observed adverse effect level, Nejvyšší úroveň expozice, při které ještě není pozorována žádná nepříznivá odpověď na statisticky významné úrovni ve srovnání s kontrolní skupinou
NOEL	No observed effect level, Nejvyšší úroveň expozice, při které není pozorována žádná odpověď na statisticky významné úrovni ve srovnání s kontrolní skupinou
PDA	Potato dextrose agar, bramborovo-dextrózový agar
PTDI	Provisional tolerable daily intake, provizorní tolerovatelný denní přívod
RFLP	Restriction fragment length polymorphism, polymorfismus délky restričních fragmentů
SCF EC	Scientific Committee for Food of European Commission, Vědecký výbor pro potraviny Evropské komise
SZÚ-CHPŘ	Státní zdravotní ústav – Centrum hygieny potravinových řetězců
TA	Kyselina tenuazonová
TDI	Tolerable daily intake, tolerovatelný denní přívod
VVP	Vědecký výbor pro potraviny
WHO	World Health Organisation, Světová zdravotní organizace
\bar{x}	Aritmetický průměr koncentrace
μM	Mikro mol

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 alternáriových mykotoxinů v potravinách.

2.

K problematice alternáriových mykotoxinů v potravinách vydal své stanovisko v roce 2003 Spolkový úřad pro hodnocení rizika (BfR) v Německu [1].

3.

V letech 2000–2004 byl, v rámci 5. rámcového programu EU, iniciován a řešen projekt "**SAFE ORGANIC VEGETABLES - THE CARROT – ALTERNARIA MODEL**" (QLK1-1999-

0986). Cílem projektu byl vývoj strategie k zajištění bezpečných biopotravin, minimalizace výskytu alternáriových mykotoxinů v biomrkvi a snížení jejich zdravotního rizika [2].

4.

Rozhodnutí VVP o zpracování informace předcházela diskuse o možných rizicích spojených s výskytem alternáriových mykotoxinů v potravinách v ČR.

5.

VVP v připravené informaci:

1. Shrnuje základní toxikologické informace o alternáriových mykotoxinech
2. Shrnuje údaje o výskytu alternáriových mykotoxinů v potravinách

2. PŘEHLED O STAVU PROBLÉMU

6.

Alternáriové mykotoxiny patří k významným mykotoxinům a fytotoxinům, kterým odborná veřejnost začíná věnovat v posledních letech stále větší pozornost. Alternáriové mykotoxiny jsou toxické pro živočichy, zejména je známá jejich toxicita u kuřat a psů [3-5].

7.

O uvedených mykotoxinech se hovoří také jako o "patotoxinech" vzhledem k tomu, že uvedené mykotoxiny s fytotoxickými účinky jsou zapojeny do procesu patogeneze onemocnění napadených rostlin [8-10].

8.

První alternáriové mykotoxiny, alternariol a alternariol monometyl éter, byly izolovány a chemicky charakterizovány v první polovině 50. let 20. století [11-14], kyselina tenuazonová v roce 1957 [15-16]. Altenuen byl izolován a chemicky charakterizován v roce 1971 [17-18]. Altertoxiny I-III byly izolovány v roce 1973. Jejich správná molekulová struktura však byla zjištěna a potvrzena až roku 1986 [19-20].

CHEMICKÁ CHARAKTERISTIKA

90.

Alternáriové toxiny představují více než 30 chemických individuů [11-20, 22-30].

10.

Alternáriové toxiny se z hlediska chemické struktury obvykle dělí do 3 základních skupin [21]:

- ❑ **Dibenzo- α -pyrony:** např. alternariol, alternariol monometyl éter, altenuen, izoaltenuen, epialtenuen, neoaltenuen, altenuisol, altenusin, dehydroaltenusin
- ❑ **Tetramické kyseliny:** např. kyselina tenuazonová
- ❑ **Perylenchinony:** např. altertoxin I – III

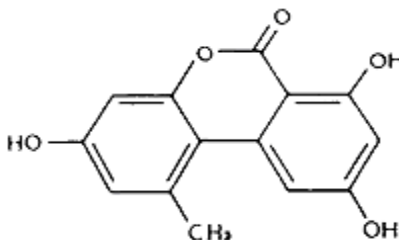
K významným alternáriovým mykotoxinům patří **alternariol**, **alternariol monometyl éter**, **altenuen**, **altertoxin I – II** a **kyselina tenuazonová**.

11.

Alternariol (AOH)

AOH (3,7,9-Trihydroxy-1-methyl-6H-dibenzo[b,d]pyran-6-one); CAS (Chemical Abstracts Services Registry No.): 641-38-3. Strukturní vzorec AOH je uveden na obrázku č 1.

Obr. 1 - Strukturní vzorec AOH

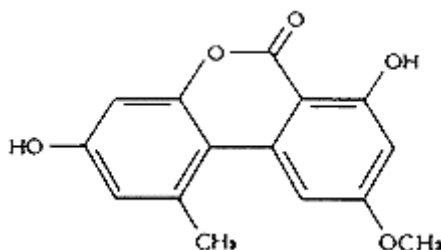


12.

Alternariol monometyl éter (AME)

AME (3,4'-Dihydroxy-5-methoxy-6'-methyl-dibenzo[a]pyrone); CAS (Chemical Abstracts Services Registry No.): 26894-49-5. Strukturní vzorec AME je uveden na obrázku č. 2.

Obr. 2 - Strukturní vzorec AME

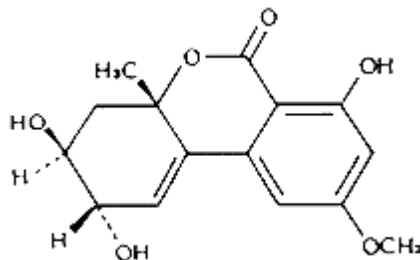


13.

Altenuen (ALT)

ALT (2',3',4',5'-Tetrahydro-3,4'β,5'α-trihydroxy-5-methoxy-2'β-methylbenzo[a]pyrone); CAS (Chemical Abstracts Services Registry No.): 29752-43-0. Strukturní vzorec ALT je uveden na obrázku č. 3.

Obr. 3 - Strukturní vzorec ALT

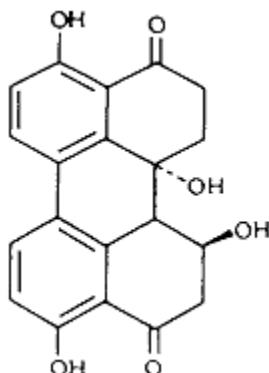


14.

Altoxin I (ATX I)

ATX I (1,2,7,8,12b-pentahydro-1,4,6b,10-tetrahydroxyperylene-3,9-dione); CAS (Chemical Abstracts Services Registry No.): 56258-32-3. Strukturní vzorec ATX I je uveden na obrázku č. 4.

Obr. 4 - Strukturní vzorec ATX I

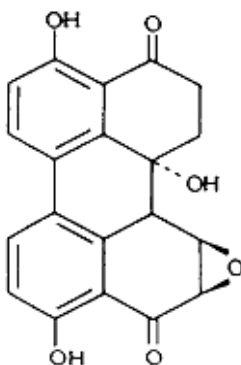


15.

Altertoxin II (ATX II)

ATX II ; CAS (Chemical Abstracts Services Registry No.): 56257-59-1. Strukturní vzorec ATX II je uveden na obrázku č. 5.

Obr. 5 - Strukturní vzorec ATX II

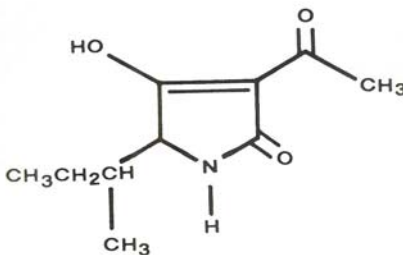


16.

Kyselina tenuazonová (TA)

TA (3-Acetyl-5-*sec*-butyl-4-hydroxy-3-pyrrolin-2-one); CAS (Chemical Abstracts Services Registry No.): 610-88-8. Strukturní vzorec TA je uveden na obrázku č. 6.

Obr. 6 - Strukturní vzorec TA



17.

V odborné veřejnosti se v poslední době diskutuje možný výskyt konjugátů – glukosidů s alternáriovými mykotoxiny zejména s AOH, AME a ALT [31].

PRODUCENTI

18.

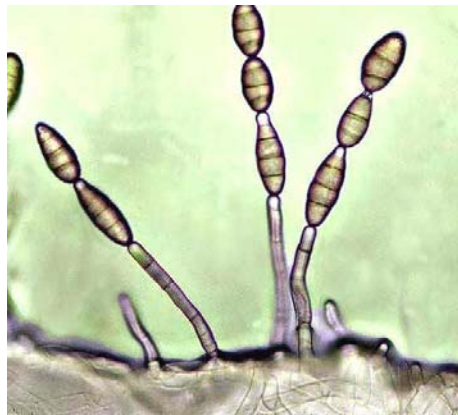
Alternárióvé mykotoxiny jsou produkovány toxinogenními kmeny vláknitých mikroskopických hub rodu *Alternaria* obvykle v předsklizňovém období. Nejčastěji se jedná o TA, AME, AOH, zatímco ALT, *izoALT* a ATX I-III se vyskytují méně často [32].

19.

K nejvýznamnějším producentům alternárióvých mykotoxinů patří *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler (= *Alternaria tenuis* Nees). Makrohabitus *Alternaria alternata* na PDA agaru při 25 °C po 5 dnech inkubace je uveden na obrázku č. 7.

Obr. 7 Makrohabitus *Alternaria alternata*

Dictyospóry *Alternaria alternata* jsou uvedeny na obrázku č. 8

Obr. 8 Dictyospóry *Alternaria alternata*

„Klasická“ mykologická taxonomie rodu *Alternaria* je dobře propracována a je použitelná i z hlediska současných potřeb [33-40]. Významné místo začíná stále více zaujímat i taxonomie rodu *Alternaria* založená na molekulárně biologických metodách (např. s využitím metod **AFLP**, **RFLP**) [41-45].

20.

Přehled významných alternáriových mykotoxinů produkovaných druhem *Alternaria alternata* je uveden v tabulce č. 1. [32, 46-56].

Tab. č. 1

Přehled důležitých alternáriových mykotoxinů produkovaných druhem *Alternaria alternata*

Druh	Mykotoxiny
<i>Alternaria alternata</i>	AOH
	AME
	ATX I, II, III
	ALT
	TA

21.

Alternaria alternata, nejznámější producent alternáriových mykotoxinů, patří k běžným saprobním vláknitým mikroskopickým houbám, které kontaminují různé kulturní rostliny a potravinové suroviny. Kontaminuje zejména zrno obilovin (např. pšenice), jablka a rajčata po vzdušném přenosu spór. Spóry začínají klíčit při vlhkosti vyšší než 70 %. Optimální teplota pro růst *Alternaria alternata* je 25 °C, minimální teplota -5 – +6,5 °C a maximální 36 °C [40, 57]. Minimální vodní aktivita (a_w) pro růst *Alternaria alternata* je 0,88 při teplotě 25 °C [58]. Optimální pH pro růst *Alternaria alternata* je 4-5,4 a rozsah pH pro růst je 2,7-8,0 [59]. Kmeny *Alternaria alternata* jsou schopny růst při koncentraci kyslíku minimálně 0,25 % (v/v) ve směsi s dusíkem a při nízké koncentraci kyslíku v atmosféře tvořené CO₂. [59-60].

22.

Tvorba alternáriových mykotoxinů (např. AOH, AME, ALT) je ovlivněna vodní aktivitou (a_w). Optimální pro tvorbu těchto toxinů je při vodní aktivitě (a_w) vyšší než 0,98 a při teplotě 25-28 °C [61-63]. Optimální vodní aktivita (a_w) pro produkci kyseliny tenuazonové je 0,9 při teplotě 25 °C [64].

23.

Na produkci alternáriových mykotoxinů se kromě *Alternaria alternata* podílejí i další druhy rodu *Alternaria* (viz tabulka č. 2) [65].

Tab. č. 2

Přehled dalších druhů rodu *Alternaria* produkujících významné alternáriové mykotoxiny

Druh	Mykotoxin	Reference
<i>A. cassiae</i>	ATX I, II	[66]
<i>A. citri</i>	AOH, AME, TA	[67, 68]
<i>A. cucumerina</i>	AOH, AME	[11, 67]
<i>A. dauci</i>	AOH, AME	[11, 67]
<i>A. japonica</i>	TA	[68]
<i>A. kikuchiana</i>	AOH, AME, TA	[14, 68, 69]
<i>A. longipes</i>	TA	[70]
<i>A. mali</i>	TA	[68]
<i>A. oryzae</i>	TA	[68]
<i>A. solani</i>	TA	[71, 72]
<i>A. tenuissima</i>	TA	[62, 73]

TOXIKOLOGICKÉ HODNOCENÍ ALTERNÁRIOVÝCH MYKOTOXINŮ

24.

Laboratorní kultury izolátů kmenů rodu *Alternaria* jsou po zkrmování toxické pro kuřata, myši a laboratorní potkany [3, 74]. Jejich extrakty jsou toxické pro kuřecí embrya a lidské buněčné kultury [5, 6]. Při testování polárních extraktů z *Alternaria* spp. byl zjištěn akutní letální účinek u myši při expozici 300 mg/kg t.hm. intraperitoneálně (do dutiny břišní). Laboratorní kultury izolátů rodu *Alternaria* vykazují teratogenní aktivitu a jsou fetotoxické u myši [3]. Toxinogenní kmeny *Alternaria alternata* na živné půdě s kukuřičnou moukou jsou po zkrmování karcinogenní pro laboratorní potkany. Po 28 denním přívodu krmiva s *Alternaria alternata* laboratorním potkanům se expozice projevila poškozením jejich jater a ledvin [75]. Nevyčištěné "hrubé" extrakty z kultur *Alternaria alternata* byly mutagenní v Amesově testu [76].

25.

V 80. a 90. letech minulého století se intenzivně diskutovalo podezření z podílu mykotoxinů *Alternaria alternata* v dietě z obilí na etiologii nádorů jícnu v regionu Linxian v Číně. V uvedeném regionu zemřelo na nádory jícnu 161 osob na 100000 obyvatel oproti 16 osobám na 100000 obyvatel v dalších částech Číny [77-79].

IDENTIFIKACE NEBEZPEČÍ

26.

Výsledky toxikologického hodnocení jednotlivých alternáριοvých mykotoxinů jsou zaměřeny zejména na akutní toxicitu, mutagenitu a karcinogenitu. Alternáριοvé mykotoxiny obecně nejsou významně akutně toxické [80].

27.

Kyselina tenuazonová (TA)

TA patří k nejvíce akutně toxickým alternáριοvým mykotoxinům. Inhibuje syntézu proteinů, může způsobit kardiovaskulární kolaps, vyvolává salivaci (slinění), anorexii (odmítání potravy), erytémy (zarudnutí), křeče, zvracení, tachykardii (zvýšenou tepovou frekvenci), masivní gastrointestinální hemoragii (krvácení) a smrt. LD₅₀ TA je 81 mg/kg t.hm. (u myších samic), 168 mg/kg t.hm. (u myších samců) při podání per os (úst). U psů způsobuje TA hemoragie v různých orgánech při denním přívodu 10 mg/kg t.hm. U drůbeže byla subakutní toxicita pozorována při koncentraci 10 mg.kg⁻¹ krmiva. TA není mutagenní v systému bakteriálních testů (např. v Amesově testu) [4]. Výskyt TA v prosu je spojován s mykotoxikózou Onyalai v centrální jižní Africe a je jejím pravděpodobným původcem [21]. Prekarcinogenní změny u myši na mukóze jícnu byly zjištěny u TA při přívodu krmiva 25 mg/kg t.hm./den po dobu 10 měsíců [81].

28.

Alertoxin I a II (ATX I a II)

Vyšší akutní toxicitu oproti dalším alternáριοvým mykotoxinům vykazují také ATX I a II, které vykazují cytotoxickou aktivitu. ATX I-II jsou více potentní akutní toxiny a mutageny u myši než AOH a AME [20, 80]. ATX I-II nesou také hlavní zodpovědnost za mutagenní aktivitu alternáριοvých mykotoxinů. ATX I-II byly pozitivně testovány jako tumorové promotory v buněčném testu [82].

29.

Alternariol (AOH) a Alternariol monometyl éter (AME)

Alternáριοvé mykotoxiny (AOH a AME) vykazují nízkou akutní toxicitu.

30.

AOH vykazuje cytotoxické, fetotoxické a teratogenní účinky. Po jeho intraperitoneální aplikaci v dávce 200 mg/kg t.hm. myším uhynulo 30 % pokusných myší. AOH vykazuje mutagenní aktivitu, genotoxicitu a pravděpodobně i karcinogenitu [83, 84]. AOH signifikantně zvyšuje při koncentraci $>1 \mu\text{M}$ počet zlomů DNA řetězce u lidských buněk karcinomu tlustého střeva [85]. AOH byl nově identifikován, že působí toxicky na enzym topoizomerázu I a II z hlediska inhibice její katalytické aktivity. Výsledkem je genotoxický efekt AOH a poškození DNA integrity u lidských buněk karcinomu tlustého střeva.

31.

AME vykazuje fetotoxické a teratogenní účinky. Po intraperitoneální aplikaci AME 200 mg/kg t.hm. zlatým křečkům byl zjištěn fetotoxický účinek. Žádné účinky nebyly zjištěny po dávce AME 50 a 100 mg/kg t.hm. [72, 87, 88]. Dále byly zjištěny u AME účinky mutagenní, genotoxické a pravděpodobně i karcinogenní [81, 89]. Prekarcinogenní změny u myší na mukóze jícnu byly zjištěny u AME při přívodu krmiva 50-100 mg/kg t.hm./den po dobu 10 měsíců [81]. AME signifikantně zvyšuje při koncentraci $25 \mu\text{M}$ počet zlomů DNA řetězce u lidských buněk karcinomu tlustého střeva [85]. Možnost synergických toxických účinků AME s dalšími alternáriovými mykotoxiny je vysoká [3].

32.

Altenuen (ALT)

ALT vykazuje nízkou akutní toxicitu. Experimentálně nebylo zjištěno, že by ALT signifikantně zvyšoval počet zlomů DNA řetězce u lidských buněk karcinomu tlustého střeva při koncentraci do $100 \mu\text{M}$ [17, 85].

CHARAKTERIZACE NEBEZPEČÍ

33.

V současné době nejsou k dispozici toxikologické studie pro alternáriové mykotoxiny, které by vedly ke stanovení NOEL/NOAEL, LOEL/LOAEL a BMD následně ke stanovení expozičních limitů [90].

EXPOZIČNÍ LIMITY

34.

Expoziční limity (TDI/PTDI) pro alternáriové mykotoxiny zatím nebyly na zasedáních EFSA a Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives and Contaminants (JECFA FAO/WHO) v rámci Codex Alimentarius stanoveny [90].

VÝSKYT V POTRAVINÁCH (EXPOZIČNÍ ZDROJE)

35.

AOH, AME a TA byly stanoveny v jablkách [50, 91, 92], výrobcích z jablek (v jablečném moštu) [93], rajčatech [21, 49, 50, 92, 94, 95, 96], výrobcích z rajčat (rajčatových protlacích, pastách) [97-99], mrkvi [100, 102], citrusových plodech (mandarinky, pomeranče, citróny) [23, 92, 101], melounech [10], malinách [10], jahodách [22], japonských hruškách („nashi“) [14], olivách [55, 61], pekanových ořechách [10], koření (pepř) [10], v obilninách (pšenice, ječmen, oves, žito, kukuřice) [18, 48, 51, 103-113], v čiroku [47, 74], v řepce [54, 114-116], v slunečnicovém semenu [64, 75, 105] a v jedlých olejích (slunečnicový, sezamový, olivový, řepkový olej) [117].

36.

AOH byl dále stanoven v hroznové šťávě, červeném víně, brusinkovém nektaru, švestkovém nektaru, malinovém džusu [10, 119-122] a v čočce [118].

37.

Příprava přehledu a interpretace výsledků stanovení alternáriových mykotoxinů v potravinových surovinách a potravinách získaných v průběhu více než 40 let není jednoduchá, protože v řadě případů byly výsledky získány cíleným vyšetřením vzorků infikovaných *Alternaria alternata*, u kterých již byly patrné černé stvrny („black spots“) a leze. V uvedených vzorcích potravinových surovin pak byly stanoveny velmi vysoké koncentrace alternáriových mykotoxinů.

38.

Např. v čerstvých, ale plesnivých rajčatech v USA byla stanovena TA do 70 mg.kg^{-1} (aritmetický průměr $4,9 \text{ mg.kg}^{-1}$) [49]. V přirozeně infikovaných rajčatech z jižní Itálie byla stanovena TA (do $7,2 \text{ mg.kg}^{-1}$), AME (do $0,27 \text{ mg.kg}^{-1}$), a AOH (do $1,3 \text{ mg.kg}^{-1}$) [21].

39.

V slunečnicovém semenu z infikovaných hlav slunečnice byl stanoven AOH (do $1,8 \text{ mg.kg}^{-1}$) a AME (do $0,13 \text{ mg.kg}^{-1}$). V pepři s černými skvrnami byla stanovena TA (54 ug.kg^{-1}), AME (49 ug.kg^{-1}) a AOH ($0,64 \text{ mg.kg}^{-1}$). U melounu povrchovými černými skvrnami („black spots“) byly stanoveny koncentrace TA (8 ug.kg^{-1}) a AME ($5,1 \text{ ug.kg}^{-1}$) [105].

40.

V plesnivých a poškozených olivách byl stanoven AME ($2,9 \text{ mg.kg}^{-1}$), AOH ($2,3 \text{ mg.kg}^{-1}$), ALT ($1,4 \text{ mg.kg}^{-1}$) a TA ($0,26 \text{ mg.kg}^{-1}$) [55].

41.

Další komplikací pro interpretaci výsledků je různý formát dat publikovaných výsledků alternáriových mykotoxinů v potravinách a potravinových surovinách v jednotlivých studiích, který neumožňuje jednoduše získat potřebné minimální údaje, jakými je např. rozsah koncentrace (min-max), aritmetický průměr a mez stanovitelnosti (LoQ).

42.

Výsledky novějších studií, které jsou k dispozici, to již více méně umožňují. V tabulce č. 3 jsou uvedeny výsledky, vyšetření rajčatového pyré na obsah vybraných alternáriových mykotoxinů (AOH, AME, TA) nakoupeného v obchodní síti v Argentině [98].

Tab. č. 3

Výsledky vyšetření **rajčatového pyré** na obsah vybraných alternáriových mykotoxinů v roce 2006

Toxin	AOH (ug.kg^{-1})	AME (ug.kg^{-1})	TA (ug.kg^{-1})
n	80	80	80
n+ %	6	26	29
min – max	187-8756	84-1734	29-4021
\bar{x}	141	157	227
LoQ	5	2	11

n = počet vzorků

n+% = procento pozitivních vzorků

\bar{x} = aritmetický průměr

43.

Výsledky stanovení alternáriových mykotoxinů v červeném víně nakoupeném v obchodní síti v Kanadě jsou uvedeny v tabulkách č. 4-5 [119].

Tab. č. 4

Výsledky vyšetření **kanadského červeného vína** na obsah vybraných alternáriových mykotoxinů (AOH, AME)

Toxin	AOH ($\mu\text{g.l}^{-1}$)	AME ($\mu\text{g.l}^{-1}$)
n	17	17
n+ %	76	76
min – max	0,03-5,02	0,01-0,23
\bar{x}	0,98	0,09
LoQ	0,01	0,01

Tab. č. 5

Výsledky vyšetření **červeného vína z dovozu** na obsah vybraných alternáriových mykotoxinů (AOH, AME)

Toxin	AOH ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)	AME ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)
n	7	7
n+ %	100	26
min – max	0,27-19,4	0,01-0,19
\bar{x}	4,7	0,06
LoQ	0,01	0,01

44.

V ČR jsou k dispozici výsledky vyšetření kečupu, rajčatového protlaku, rajčatové šťávy a konzervovaných loupaných rajčat na obsah vybraných alternáriových mykotoxinů (AOH, AME a ALT) [99].

Výsledky jsou uvedeny v tabulkách č. 6-9 .

Tab. č. 6

Výsledky vyšetření **kečupů** na obsah vybraných alternáriových mykotoxinů

Toxin	ALT ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)		AOH ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)		AME ($\mu\text{g.kg}^{-1}$)	
	2004	2006	2004	2006	2004	2006
n	8	21	8	21	8	21
n+ %	12,5	0	100	81	100	100
min – max	N	< 0,27	0,29-27,43	0,12-3,71	0,17-5,81	0,06-1,21
\bar{x}	1,15	-	6,89	0,97	1,56	0,36
LoQ	0,27	0,27	0,08	0,08	0,05	0,05

N= neuvedeno

Tab. č. 7

Výsledky vyšetření **rajčatového protlaku** na obsah vybraných alternáriových mykotoxinů

Toxin	ALT (ug.kg ⁻¹)	AOH (ug.kg ⁻¹)	AME (ug.kg ⁻¹)
n	10	10	10
n+ %	10	100	100
min – max	N	1,16-14,11	1,16-2,65
\bar{x}	0,39	7,91	1,33
LoQ	0,27	0.08	0,05

N= neuvedeno

Tab. č. 8

Výsledky vyšetření **rajčatové šťávy** na obsah vybraných alternáriových mykotoxinů

Toxin	ALT (ug.kg ⁻¹)	AOH (ug.kg ⁻¹)	AME (ug.kg ⁻¹)
n	2	2	2
n+ %	0	100	50
min – max	< 0,27	0,12-0,74	0,80
\bar{x}	-	0,43	0,80
LoQ	0,27	0.08	0,05

Tab. č. 9

Výsledky vyšetření **konzervovaných loupáných rajčat** na obsah vybraných AT

Toxin	ALT (ug.kg ⁻¹)	AOH (ug.kg ⁻¹)	AME (ug.kg ⁻¹)
n	5	5	5
n+ %	0	100	100
min – max	< 0,27	0,52-1,92	0,17-0,32
\bar{x}	-	1,17	0,22
LoQ	0,27	0,08	0,05

45.

V ČR jsou dále k dispozici výsledky vyšetření potravinářské pšenice na obsah vybraných alternáriových mykotoxinů (AOH, AME, ALT a TA) [106, 111, 123, 124]. Výsledky jsou uvedeny v tabulce č. 10.

Tab. č. 10

Výsledky vyšetření **potravinářské pšenice** na obsah vybraných alternáριοvých mykotoxinů

Toxin	ALT (ug.kg ⁻¹)			AOH (ug.kg ⁻¹)			AME (ug.kg ⁻¹)			TA (ug.kg ⁻¹)		
	2003	2004	2005	2003	2004	2005	2003	2004	2005	2003	2004	2005
Rok	2003	2004	2005	2003	2004	2005	2003	2004	2005	2003	2004	2005
n	56	73	40	56	73	40	56	73	40	56	73	40
n+ %	100	85	80	28,6	60	22,5	0	0	0	0	0	0
min-max	15-41	6-35	6-42	6-22	7-44	6-26	< 5	< 5	< 5	<25	<25	<25
\bar{x}	25	12	13	6	10	4	-	-	-	-	-	-
LoQ	5	5	5	5	5	5	5	5	5	25	25	25

46.

ATX I-II jsou na základě současných poznatků produkovány v potravinách (např. v kontaminovaných jablkách, pšenici a čiroku) v nízkých koncentracích [10, 125].

47.

V několika studiích byl sledován vliv technologických postupů na stabilitu vybraných alternáριοvých mykotoxinů (např. AOH, AME, TA) při výrobě potravin. Byla zjištěna stabilita uvedených mykotoxinů při zpracování potravinových surovin např. na rajčatovou pastu, ovocné šťávy a víno. Z malého počtu výsledků však není možné udělat jednoznačné závěry a je potřebné i nadále v uvedených studiích pokračovat [55, 75, 125, 126].

REGULACE ALTERNÁRIOVÝCH MYKOTOXINŮ V POTRAVINÁCH

48.

Alternáριοvé mykotoxiny nejsou limitovány v potravinách v ČR a EU.

ODHAD DIETÁRNÍ EXPOZICE

49.

Odhad dietární expozice alternáριοvým mykotoxinům z diety nebyl dosud proveden v ČR ani v zahraničí. Nejsou k dispozici žádné aktuální signály o přípravě projektu či současném záměru odborníků v zahraničí o provedení takového odhadu.

3. ZÁVĚRY A DOPORUČENÍ

50.

Vědecký výbor pro potraviny vyzdvihl pro současné období pouze doporučení pro další výzkum:

- ❑ Pokračovat ve výzkumu nebezpečných vlastností, včetně genotoxicity a karcinogenity alternáριοvých mykotoxinů (např. AOH a AME).
- ❑ Provést další relevantní toxikologické studie významných alternáριοvých mykotoxinů (např. AOH, AME, ALT, TA, ATX I-II), s cílem stanovení NOAEL/LOAEL/BMD a následně expozičních limitů.

4. ZÁKLADNÍ LITERATURA

1. Bundesamt für Risikobewertung (BfR) Stellungnahme vom 30. Juli 2003: *Alternaria*-Toxine in Lebensmitteln, 2 s.
2. http://www.seedcentre.nl/Projects/EU_SafeOrganicVegetables/safe_organic_vegetables.htm#Links
3. PERO, R. W., POSNER, H., BLOIS, M., HARVAN, D., SPALDING, J. W. 1973. Toxicity of metabolites produced by the "*Alternaria*". *Environ. Health Perspect.* **4**, 87-94.
4. STEYN, P.S., RABIE, C.J. 1976. Characterisation of magnesium and calcium tenuazonate from *Phoma sorghina*. *Phytochemistry*, **15**, 1977-1979.
5. GRIFFIN, G.F., CHU, F.S. 1983. Toxicity of the *Alternaria* metabolites alternariol, alternariol monomethyl ether, altenuene and tenuazonic acid in the chicken embryo assay. *Appl. Environ. Microbiol.*, **46**, 1420-1422.
6. HARVAN, D.J., PERO, R.W., 1976. The structure and toxicity of the *Alternaria* metabolites. In: RODRICKS, J.V., ed., *Mycotoxins and other fungal related food probleme: American Chemical Society, Washington, D.C., Advances in Chemistry series.* **149**, 344-355.
7. SCHADE, J.E., KING, D. Jr. 1984. Analysis of the major *Alternaria* toxins. *Journal of Food Protection*, **47**, 978-995.
8. TEMPLETON, G.E. 1972. *Alternaria* toxins related to pathogenesis in plants. In: Kadis, S., Ciegler, A., and Ajl, S.J. ed., *Microbial Toxins VIII*, Academic Press, 169-192.
9. CHELKOWSKI, J., VISCONTI, A. (eds) 1992, *Alternaria*. Biology, Plant Diseases and Metabolites, Amsterdam, Elsevier.
10. SCOTT, P. M. 2001. Analysis of agricultural commodities and foods for *Alternaria* mycotoxins, *J. AOAC Int.*, **84**(6), 1809-1817.
11. RAISTRICK, H., STICKINGS, C.E., THOMAS, R. 1953. Studies in the biochemistry of micro- organismus 90. Alternariol and alternariol monomethyl ether, metabolic products of *Alternaria tenuis*. *Biochemical Journal*, **55**, 421-433.
12. THOMAS, R. 1961. Studies in the biosynthesis of fungal metabolites. 4. Alternariol methyl ether and its relation to other phenolic metabolites of *Alternaria tenuis*. *Biochemical Journal*, **80**, 234-240.
13. PERO, R.W., MAIN, C.E. 1969. Chlorosis of tobacco induced by alternariol monomethyl ether produced by *Alternaria tenuis*. *Phytopathology*, **60**, 1570-1573.
14. TIROKATA, H., OHKAWA, M., SASSA, T., YAMADA, T., OHKAWA, H., TANAKA, H., AOKI, H. 1969. Studies on resistance of Japanese pears to black spot disease fungus (*Alternaria kikuchiana*) VIII. Alternariol and its monomethyl ether. *Annals of Phytopathological Society of Japan*, **35**, 62-66.
15. ROSSET, T., SHANKHLA, R.H., STICKINGS, , C.E., TAILOR, M.E.V., THOMAS, R. 1957. Studies in the biochemistry of microorganismus. 103. Metabolite sof *Alternaria tenuis* auct.: Culture filtrate products. *Biochemical Journal*, **67**, 390-400.

16. JANARDHANAN, K.K., HUSEIN, A. 1975. Isolation of tenuazonic acid, a phytotoxin from *Alternaria alternata* causing leaf blight of *Datura innoxia* Mill. *Indian Journal of Experimental Biology*, **13**, 321-322.
17. PERO, R.W., OWENS, R.G., DALE, S.W., HARVAN, D. 1971. Isolation and identification of a new toxin, altenuene, from the fungus *Alternaria tenuis*. *Biochimica et Biophysica Acta*, **230**, 170-179.
18. RIZK, A.M., HAMMOUDA, F.M., EL-MISSIRY, M.M., MAYERGI, H.A., LASHIN, S.M., NOFAL, M.A. 1985. Mycotoxins of Lolium seeds in response to fungal infections. *Annals of Agricultural Science*, Ain Shamá University, **30**, 607-615.
19. CHU, F.S. 1981. Isolation of Altenuisol and altertoxins I. and II., minor mycotoxins elaborated by *Alternaria*. *Journal of American Oil Chemical Society*, **58**, 1006A- 1008A.
20. STACK, M.E., MAZZOLA, E. P., PAGE, S.W., POHLAND, A.E., HIGHER, R.J., TEMPESTA, M.S., CHORLEY, D.G. 1986. Mutagenic perylenequinones metabolites of *Alternaria alternata*: altertoxins I, II and III. *Journal of Natural Products*, **49**, 866-871.
21. BOTTALICO, A., LOGRIECO, A. 1998. Toxicogenic *Alternaria* species of economic importance. In: Sinha, K.K. and Bhatnagar, D. (eds) *Mycotoxins in Agriculture and Food Safety*, Marcel Dekker, Inc, New York. pp. 65-108.
22. MAEKAWA, N., YAMAMOTO, M., NISHIMURA, S., KOHMOTO, K., KAWADA, M., AND WATANABE, Y. 1984. Studies on host- specific AF- toxins produced by *Alternaria alternata* strawberry pathotype causing *Alternaria* black spot of strawberry. (1) Production of host- specific toxins and their biological activities. *Annals of Phytopathological Society of Japan*, **50**, 600-609.
23. LOGRIECO, A., VISCONTI, A., BOTTALICO, A. 1990. Mandarin fruit rot caused by *Alternaria alternata* and associated mycotoxins. *Plant Disease*, **74**, 415-417.
24. PERO, R.W., HARVAN, D., BLOIS, M.C. 1973. Isolation of the toxin altenuisol, from the fungus, *Alternaria tenuis* Auct. *Tetrahedron Letters*, **12**, 945-948.
25. TADAKAZU, N., UENO, T., FUKAMI, H., TAGA, T., MASUDA, H., OSAKI, K. et.al. 1985. Isolation and structures of AK- toxins I. And II., host- specific phytotoxic metabolites produced by *Alternaria alternata* Japanese pear pathotype. *Agricultural and Biological Chemistry*, **49**, 807-816.
26. UENO, T., NAKASHIMA, T., HAYASHI, Y., AND FUKAMI, H. 1975. Structures of AM- toxin I. and II., host- specific phytotoxic metabolites produced by *Alternaria mali*. *Agricultural and Biological Chemistry*, **39**, 1115-1122.
27. LIEBERMANN, B., IHN, W., BAUMANN, E., TRESSELT, D. 1988. Dihydrotentoxin related dipeptide produced by *Alternaria alternata*. *Phytochemistry*, **27**, 357-359.
28. VISCONTI, A., BOTTALICO, A., SOLFRIZZO, M., PALMISANO, F. 1988. Isoaltenuene, a new metabolite of *Alternaria alternata*, *Proceedings of the Japanese Association of Mycotoxicology*, No. 1, 139-140.
29. COOMBE, R.G., JACOBS, J.J., WATSON, T.R. 1970. Metabolites of some *Alternaria* species. The structures of altenuisin and dehydroaltenuisin. *Australian Journal of Chemistry*, **23**, 2343-2351.

30. TEMPLETON, G.E., GRABLE, C.I., FULTON, N.D., MEYER, W.L. 1967. Tentoxin from *Alternaria tenuis*: its isolation and characterization. In. Proceedings of the Mycotoxin Research Seminar, USDA, Washington D.C., 27-29.
31. SCOTT, P.M., OSTRY, V. 2007, osobní sdělení
32. KING, A.D., SCHADE, J.E. 1984. Alternaria toxins and their importance in food. *J. Food Prot.* **47**, 886-901.
33. SIMMONS, E.G. 1967. Typification of *Alternaria*, *Stemphylium* and *Ulocladium*. *Mycologia* **59**: 67-92.
34. SIMMONS, E.G. 1990. *Alternaria* themes and variations (27-53). *Mycotaxon* **37**, 79-119.
35. SIMMONS, E.G. 1986. *Alternaria* themes and variations (22-26). *Mycotaxon* **25**, 287-308.
36. SIMMONS, E.G. 1992. *Alternaria* taxonomy: current status, viewpoint, challenge. In: *Alternaria Biology, Plant Diseases and Metabolites*. CHELKOWSKI, J., VISCONTI, A.(eds.) Amsterdam, Netherlands: Elsevier Science Publishers, 1-35.
37. SIMMONS, E.G. 1995. *Alternaria* themes and variations (112-114). *Mycotaxon* **55**, 55-163
38. ELLIS, M.B. 1971 Dematiaceous Hyphomycetes. England Commonwealth Mycological Institute, 608 p.
39. ELLIS, M.B. 1976 More Dematiaceous Hyphomycetes. England Commonwealth Mycological Institute, 507 p.
40. DOMSCH, K.H., GAMS, W., ANDERSON, T.-H. 1980. Compendium of Soil Fungi, 2 vols. London: Academic Press.
41. BOCK, C. H., P. H. THRALL, C. L. BRUBAKER, AND J.J. BURDON. 2002. Detection of genetic variation in *Alternaria brassicicola* using AFLP fingerprinting. *Mycological Research* **106**, 428-434.
42. SOON GYU HONG, S.G., MACCARONI, M., FIGULI, P., BARRY, J., PRIOR, M., BELISARIO A. 2006 Polyphasic classification of *Alternaria* isolated from hazelnut and walnut fruit in Europe. *Mycol. Res.* **110**, 11, 1290-1300.
43. GANNIBAL, P.B., KLEMSDAL, S. S., LEVITIN, M. M. 2007. AFLP analysis of Russian *Alternaria tenuissima* populations from wheat kernels and other hosts. *Eur. J. Plant Pathol.* **119**, 2, 175-182.
44. SHARMA, T. R., TEWARI, J. P. 1998. RAPD analysis of three *Alternaria* species pathogenic to crucifers. *Mycol. Res.* **102**, 807-814.
45. MONOD, M., BONTEMS, O., ZAUGG CH., LE'CHENNE, B., FRATTI M., PANIZZON, R. 2006. Fast and reliable PCR/sequencing/RFLP assay for identification of fungi in onychomycoses. *J. Med. Microbiol.* **55**, 1211-1216
46. ANDERSEN, B., THRANE, U. 1996. Differentiation of *Alternaria infectoria* and *Alternaria alternata* based on morphology, metabolite profiles, and cultural characteristics. *Canada Journal Microbiology* **42**, 685-689.
47. ANSARI, A.A., SHRIVASTAVA, A.K. 1990. Natural occurrence of Alternaria mycotoxins in sorghum and ragi from North Bojar, India. *Food Addit. Contam.* **7**, 815-820.

48. LOGRIECO, A., BOTTALICO, A., SOLFRIZZO, M., MULE, G. 1990. Incidence of *Alternaria* species in grains from Mediterranean countries and their ability to produce mycotoxins. *Mycologia* **82**, 501-505.
49. MISLIVEC, P.B., BRUCE, V.R., STACK, M.E., BANDLER, R. 1987. Molds and tenuazonic acid in fresh tomatoes used for catsup production. *J. Food Prot.* **50**, 38-41.
50. OZCELIK, S., OZCELIK, H., BEUCHAT, L.R. 1990. Toxin production by *Alternaria alternata* in tomatoes and apples stored under various conditions and quantitation of the toxin by high-performance liquid chromatography. *Int. J. Food Microbiol.* **11**, 187-194.
51. THALMANN, A. 1988. Zum vorkommen von *Alternaria* spp. und deren Toxine in getreide und mögliche Zusammenhänge mit Leistungsminderungen landwirtschaftlicher Nutztiere. *Landwirtsch. Forsch.* **41**, 11-29.
52. SANCHIS, V., SANCLEMENTE, A., USALL, J., VINAS, I. 1993. Incidence of mycotoxigenic *Alternaria alternata* and *Aspergillus flavus* in barley. *J. Food Prot.* **56**, 246-248.
53. MÜLLER, M. 1992. Toxinbildungsvermögen von Schimmelpilzen der Gattung *Alternaria*. *Zentralbl. Mikrobiol.* **147**, 207-213.
54. VINAS, I., SIBILIA, A., SALA, N., SANCHIS, V., VISCONTI, A. 1993. Mycotoxins and toxigenic species incidence in oilseed rape. *Food Control* **4**, 79-82.
55. VISCONTI, A., LOGRIECO, A., BOTTALICO, A. 1986. Natural occurrence of *Alternaria* mycotoxins in olives – their production and possible transfer into the oil. *Food Addit. Contam.* **3**, 323-330.
56. BILGRAMI, K.S., ANSARI, A.A., SINHA, A.K., SHRIVASTAVA, A.K., SINGH, K.K. 1994. Mycotoxin production by some Indian *Alternaria* species. *Mycotoxin Res.* **10**, 56-59.
57. HASIJA, S.K. 1970. Physiological studies of *Alternaria citri* and *A. tenuis*. *Mycologia*, **62**, 289-295.
58. HOCKING, A.D., MISCAMBLE, B.F., PITT, J.I. 1994. Water relations of *Alternaria alternata*, *Cladosporium cladosporioides*, *Cladosporium sphaerospermum*, *Curvularia lunata* and *Curvularia pallescens*. *Mycol. Res.* **98**, 91-94.
59. FOLLSTAD, M.N. 1966. Mycelial growth rate and sporulation of *Alternaria tenuis*, *Botrytis cinerea*, *Cladosporium herbarum*, and *Rhizopus stolonifer* in low oxygen atmospheres. *Phytopathology* **56**, 1098-1099.
60. WELLS, J.M., UOTA, M. 1970. Germination and growth of five fungi in low-oxygen and high-carbon dioxide atmospheres. *Phytopathology* **60**, 50-53.
61. MAGAN, N., CAYLEY, G.R., LACEY, J. 1984. Effect of water activity and temperature on mycotoxin production by *Alternaria alternata* in culture and on wheat grain. *Appl. Environ. Microbiol.* **47**, 1113-1117.
62. YOUNG, A.B., DAVIS, N.D., DIENER, U.L. 1980. The effect of temperature and moisture on tenuazonic acid production by *Alternaria tenuissima*. *Phytopathology*, **70**, 607-609.
63. HASAN, H. A. (1996). *Alternaria* mycotoxins in black rot lesion of tomato fruit: conditions and regulation of their production. *Acta microbiologica et immunologica Hungarica.* **43**, 125-133.

64. ETCHEVERRY, M., CHULZE, S., DALCERO, A., VARSAVSKY, E., MAGNOLI, C. 1994. Effect of water activity and temperature on tenuazonic acid production by *Alternaria alternata* on sunflower seeds. *Mycopathologia* **126**, 179-182.
65. ANDERSEN, B., DONGO, A., PRIOR, B. M. 2007. Secondary metabolite profiling of *Alternaria dauci*, *A. porri*, *A. solani*, and *A. tomatophila*. *Mycological Research*, *In Press*.
66. HRADIL, C.M., HALLOCK, I.F., CLARDY, J., KENFIELD, D.S., STROBEK, G. 1989. Phytotoxins of *Alternaria cassiae*. *Phytochemistry*, **28**, 73-75.
67. FREEMAN, G.G. 1965. Isolation of alternariol and alternariol monomethyl ether from *Alternaria dauci* (Kükn) Groves and Skolko. *Phytochemistry*, **5**, 719-721.
68. KINOSHITA, T., RENBUTSU, Y., KHAN, I., KOHMOTO, K., NISHIMURA, S. 1972. Distribution of tenuazonic acid production in the genus *Alternaria* and its phytopathological evaluation. *Annals of Phytopathological Society of Japan*, **38**, 397-404.
69. KAMEDA, K., AOKI, H., TANAKA, H., NAMIKI, M. 1973. Studies on metabolites of *Alternaria kikuchiana* Tanaka, a Phytopathogenic fungus of Japanese pear. *Agricultural and Biological Chemistry*, **37**, 2137-2146.
70. MIKAMI, Y., NISHIJIMA, T., IMURA, H., SUŽUJI, A., TAMURA, S. 1971. Chemical studies on brown-spot disease of tobacco plants. Part I. tenuazonic acid as vivotoxin of *Alternaria longipes*. *Agricultural and Biological Chemistry*, **35**, 611-618.
71. STOESSL, A. 1969. Metabolites of *Alternaria solani*. *Canadian Journal of Chemistry*, **47**, 767-776.
72. POLLOCK, G. A., DiSABATINO, C. E., HEIMSCH, R. C., HILBELINK, D. R. (1982). The subchronic toxicity and teratogenicity of alternariol monomethyl ether produced by *Alternaria solani*. *Food Chem Toxicol* **20**, 899-902.
73. DAVIES, N.D., DIENER, U.L., MORGAN-JONES, G. 1977. Tenuazonic acid production by *Alternaria alternata* and *Alternaria tenuissima* isolated from cotton. *Applied and Environmental Microbiology*, **34**, 155-157.
74. SAUER, D.B., SEITZ, L.M., BURROUGHS, R., MOHR, H.E., WEST, J.L., MILLERET, R.J., ANTHONY, H.D. 1978. Toxicity of *Alternaria* metabolites found in weathered sorghum grain at harvest. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **26**, 1380-1383.
75. COMBINA, M., DALCERO, A., VARSAVSKY, E., TORRES, A., ETCHEVERRY, M., RODRIGUEZ, M., GONZALEZ QUINTANA, H. 1999. Effect of heat treatments on stability of alternariol, alternariol monomethyl ether and tenuazonic acid in sunflower flour, *Mycotoxin Res.*, **15**(1), 33-8.
76. SCOTT, P.M., STOLTZ, D.R. 1980. Mutagens produced by *Alternaria alternata*. *Mutation Research*, **78**, 33-40.
77. LI, B., LI, J. Y. 1980. National survey of cancer mortality in China. *Zhonghua zhong liu za zhi* [*Chinese journal of oncology*] **2**, 1-10.
78. DONG, Z.G., LIU, G.T., DONG, Z.M., QIAN, Y.Z., AN, Y.H., MIAO, J., ZHEN, Y.Z. 1987. Induction of mutagenesis and transformation by the extract of *Alternaria alternata* isolated from grains in Linxian, China, *Carcinogenesis*, **8**, 989-991.

79. LIU, G. T., QIAN, Y. Z., ZHANG, P., DONG, Z. M., SHI, Z. Y., ZHEN, Y. Z., MIAO, J., XU, Y. M. 1991. Relationships between *Alternaria alternata* and oesophageal cancer. IARC Sci Publ, 258-262.
80. SCHRADER, T. J., CHERRY, W., SOPER, K., LANGLOIS, I., VIJAY, H. M. 2001. Examination of *Alternaria alternata* mutagenicity and effects of nitrosylation using the Ames Salmonella test, *Teratogen. Carcinogen. Mutagen.*, **21**(4), 261-74.
81. YEKELER, H., BITMIS, K., ÖZCELIK, N., DOYMAZ, M. Z., CALTA, M. 2001. Analysis of toxic effects of *Alternaria toxins* on esophagus of mice by light and electron microscopy, *Toxicol. Pathol.*, **29**(4), 492-497.
82. OSBORNE, L. C., JONES, V. I., PEELER, J., TAND LARKIN, E. P. 1988. Transformation of C3H/10T½ cells and induction of EBV- early antigen in Raji cells by altertoxins I and III, *Toxicol. in vitro*, **2**(2), 97-102.
83. BRUGGER, E.M., WAGNER, J., SCHUMACHER, D.M., KOCH, K., PODLECH, J., METZLER, M., LEHMANN, L. 2006. Mutagenicity of the mycotoxin alternariol in cultured mammalian cells. *Toxicol Lett.* **164**(3):221-30.
84. PFEIFFER, E., SCHEBB, N.H., PODLECH, J., METZLER, M. 2007. Novel oxidative in vitro metabolites of the mycotoxins alternariol and alternariol methyl ether. *Mol. Nutr. Food Res.*, **51**(3), 307-316.
85. MARKO, D. 2007. Mechanisms of the genotoxic effect of *Alternaria* toxins. In: 29th Mycotoxin Workshop, Stuttgart - Fellbach, Society for Mycotoxin research, 48.
86. FEHR, M., PAHLKE, G, FRITZ, J., MARKO, D. 2007. Alternariol acts as a topoisomerase poison. In: 29th Mycotoxin Workshop, Stuttgart - Fellbach, Society for Mycotoxin research, 123.
87. COULOMBE, R.A., HEIMSCH, R.C. 1980. Alternariol and alternariol monomethyl ether from *Alternaria solani* and related fungi. *Presented at the Annual Meeting of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, Anaheim. March. 39, 621.
88. POLLOCK, G. A., DiSABATINO, C. E., HEIMSCH, R. C., AND COULOMBE, R. A. (1982). The distribution, elimination, and metabolism of 14C-alternariol monomethyl ether. *J Environ Sci Health B* **17**, 109-124.
89. PFEIFFER, E., ESCHBACH, S, METZLER, M. 2007. *Alternaria* toxins: DNA strand-breaking activity in mammalian cells *in vitro*. In: 29th Mycotoxin Workshop, Stuttgart - Fellbach, Society for Mycotoxin research, 129.
90. OSTRY, V., 2007, osobní sdělení
91. ROBIGLIO, A. L., LOPEZ, S. E. 1995. Mycotoxin production by *Alternaria alternata* strains isolated from red delicious apples in Argentina. *Int. J. Food Microbiol.* **24**, 413-417.
92. STINSON, E.E., OSMAN, S.F., HEISLER, E.G., SICILIARO, J., AND BILLS, D.D. 1981. Mycotoxin production in whole tomatoes, apples, oranges, and lemons. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **29**, 790-792.
93. DELGADO, T., GOMEZ-CORDOVES, C. 1998. Natural occurrence of alternariol and alternariol monomethyl ether in Spanish apple juice concentrates. *J. Chromatogr.* **815**, 93-97.

94. HARWIG, J., SCOTT, P.M., STOLTZ, D.R., BLANCHFIELD, B.J. 1979. Toxins of molds from decaying tomato fruit. *Appl. Environ. Microbiol.* **38**, 267-274.
95. ZITTER, T.A., WIEN, H.C. 1984. Outbreak of *Alternaria alternata* causing fruit rot of tomatoes in upstate New York. *Plant Dis. Reprtr* **68**, 628.
96. VISCONTI, A., LOGRIECO, A., VURRO, M., BOTTALICO, A. 1987. Tenuazonic acid in blackmold tomatoes: occurrence, production by associated *Alternaria* species, and phytotoxic properties. *Phytopathologia- Mediterranea*, 26, 125-128.
97. da MOTTA, S., SOARES, L. M. V. 2001. Survey of Brazilian tomato products for alternariol, alternariol monomethyl ether, tenuazonic acid and cyclopiazonic acid, *Food Addit. Contam.*, **18**(7), 630-634.
98. TERMINIELLO, L., PATRIARCA, A., POSE, G., FERNANDEZ PINTO, V., 2006. Occurrence of alternariol, alternariol monomethyl ether and tenuazonic acid in Argentinean tomato puree. *Myc. Res*, **22**, 4, 236-240.
99. HAJŠLOVÁ, J., 2007, osobní sdělení č. 1
100. SOLFRIZZO M., DE GIROLAMO A., VITTI C., VISCONTI A., VAN DEN BULK R. 2004. Liquid chromatographic determination of *Alternaria* toxins in carrots. - *J. A.O.A.C.* **87**(1), 101-106.
101. MAGNANI, R.F., DE SOUZA, G.D., RODRIGUES-FILHO, E. 2007. Analysis of alternariol and alternariol monomethyl ether on flavedo and albedo tissues of tangerines (*Citrus reticulata*) with symptoms of *alternaria* brown spot. *J. Agric. Food Chem.* **55**(13), 4980-4986.
102. SOLFRIZZO, M., GIROLAMO, A. D., VITTI, C., TYLKOWSKA, K., GRABARKIEWICZ-SZCZESNA, J., SZOPINSKA, D., DORNA, H. (2005). Toxicogenic profile of *Alternaria alternata* and *Alternaria radicina* occurring on umbelliferous plants. *Food Addit. Contam.* **22**, 302-308.
103. KOSIAK, B., TORP, M., SKJERVE, E., ANDERSEN, B. 2004. *Alternaria* and *Fusarium* in Norwegian grains of reduced quality - a matched pair sample study. *Int. J. Food Microbiol.* **93**(1): 51-62.
104. ARESTA, A., CIOFFI, N., PALMISANO, F., ZAMBONIN, C. G. 2003. Simultaneous determination of ochratoxin A and cyclopiazonic, mycophenolic, and tenuazonic acids in cornflakes by solid phase microextraction coupled to high-performance liquid chromatography, *J. Agric. Food Chem.*, **51**(18), 5232-5237.
105. BOTTALICO, A., LOGRIECO, A. 2001. Occurrence of toxigenic fungi and mycotoxins in Italy. In: Logrieco, A. (ed.) Occurrence of Toxigenic Fungi and Mycotoxins in Plants, Food and Feeds in Europe, European Commission, COST Action 835, EUR 19695: 69-104
106. OSTRÝ V., ŠKARKOVÁ J., NEDĚLNÍK J, RUPRICH J., MORAVCOVÁ H. 2005. Occurrence of *Alternaria* and *Fusarium* mycotoxins in winter wheat from domestic crop in year 2003-2004 *Mycotoxin Res.* 21(1), 23-25.
107. LI, F., YOSHIZAWA, T. (2000). *Alternaria* mycotoxins in weathered wheat from China. *J Agric. Food Chem.* **48**, 2920-2924.

108. SOUTHWELL, R.J., BROWN, J.F., AND WONG, P.T.W. 1980. Effect of inoculum density, stage of plant growth and dew period on the incidence of black point caused by *Alternaria alternata* in durum wheat. *Annals of Applied Biology*, **96**, 29-35.
109. REES, R.G., MARTIN, D.J., AND LAW, D.P. 1984. Black point in bread wheat: effects on quality and germination, and fungal associations. *Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry*, **24**, 601-605.
110. KLEIN, T.A. 1987. Fungi associated with discoloured wheat grain in northern New South Wales. *Australasian Plant Pathology*, **16**, 69-71.
111. OSTRY, V., SKARKOVA, J., RUPRICH J., PROCHAZKOVA, I. 2005. The Searching of dietary exposure sources of *Alternaria* mycotoxins - the comparison of their occurrence in winter wheat from domestic crop in years 2003 - 2004. In: 27th Mycotoxin Workshop, Dortmund, Society for Mycotoxin research, 58.
112. SANCHIS, V., SANCLEMENTE, A., USALL, J., VINAS, I. 1993. Incidence of mycotoxigenic *Alternaria alternata* and *Aspergillus flavus* in barley. *J. Food Prot.* **56**, 246-248.
113. MÜLLER, M. 1992. Toxinbildungsvermögen von Schimmelpilzen der Gattung *Alternaria*. *Zentralbl. Mikrobiol.* **147**, 207-213.
114. VINAS, I., PALMA, J., GARZA, S., SIBILIA, A., SANCHIS, V., VISCONTI, A. 1994. Natural occurrence of aflatoxin and *Alternaria* mycotoxins in oilseed rape from Catalonia (Spain): incidence of toxigenic strains. *Mycopathologia* **128**, 175-179.
115. VISCONTI, A., SIBILIA, A., SABIA, A. 1992. *Alternaria alternata* from oilseed rape: Mycotoxin production and toxicity to *Artemis salina* larvae and rape seedlings. *Mycotoxin Research* **8**, 9-12.
116. OSTRÝ, V., ŠKARKOVÁ, J. 1998. Možnosti stanovení alternariových mykotoxinů v potravinách rostlinného původu. XIII. seminář „Kontaminanty a další rizikové látky v potravinách a ekosystémech, Praha, 149-151.
117. KOCHER, U. 2007. Determination of 7 *Alternaria*-Toxins in edible oil and oilseeds by LC-MS-MS. In: 29th Mycotoxin Workshop, Stuttgart - Fellbach, Society for Mycotoxin research, 72.
118. OSTRY, V., SKARKOVA, J., RUPRICH J. 2004. Occurrence of *Alternaria* mycotoxins and *Alternaria* spp. in lentils and human health. In: 26th Mycotoxin Workshop, Herrsching,, Society for Mycotoxin research, 87.
119. SCOTT P. M., LAWRENCE G. A., LAU B. P.-Y. 2006. Analysis of wines, grape juices and cranberry juices for *Alternaria* toxins. *Mycotoxin Res.* **22**(2), 142-147.
120. OSTRY, V. 2006. Výskyt alternariových mykotoxinů v červeném víně. *Vinařský obzor*, **99**, 6, 284-285.
121. OSTRY, V., SKARKOVA, J., RUPRICH J. 2006. Analysis of grape fresh juice, must and young wine for *Alternaria* toxins. In: 28th Mycotoxin Workshop, Bydgoszcz, Society for Mycotoxin research, 79.
122. LAU B. P., SCOTT P. M., LEWIS D. A., KANHERE S. R., CLEROUX C., ROSCOE V. A. 2003. Liquid chromatography-mass spectrometry and liquid chromatography-tandem mass

- spectrometry of the *Alternaria* mycotoxins alternariol and alternariol monomethyl ether in fruit juices and beverages. *J. Chromatogr. A.* **998**(1-2), 119-131.
123. MORAVCOVÁ, H., NEDĚLNÍK, J., OSTRÝ, V. 2006. Kontaminace pšenice fuzáriovými a alternáriovými toxiny. *Úroda*, 9, 20-23.
124. NEDELNIK, J., MORAVCOVÁ, H., OSTRY, V., SKARKOVA, J., HAJŠLOVA, J., LANCOVA, K., VANOVA, M. 2006. Wheat contamination with mycotoxins. In *Book of Abstract of Czech and Slovak Plant Protection Conference Prague* Czech Agriculture University in Prague, 72-74.
125. SCOTT, P. M., LANGERE, S. R. 2001. Stability of *Alternaria* toxins in fruit juices and wine, *Mycotoxin Res.*, **17**(1), 9-14.
126. Hajšlová, J. 2007, osobní sdělení č. 2