

PRVÉ VÝSLEDKY ANALÝZY OCHRATOXÍNU-A V MATERSKOM MLIEKU NA SLOVENSKU

Jela ČAJDOVÁ, Aurel DOSTÁL

Súhrn: Autori analyzovali vzorky materského mlieka na zistenie možnej kontaminácie mykotoxínom ochratoxín A. Použili rýchlu a vysoko účinnú separačnú metódu kvapalinovej chromatografie HPLC. Materské mlieko poskytli matky dobrovoľne a bolo odobraté priamo na detskej klinike. Výsledky prvých analýz tohto druhu u nás sú zhrnuté v tabuľke. K údajom získaným uvedenou chromatografickou metódou sú doložené podmienky analýz.

KLúčové slová: materské mlieko, ochratoxín A, analýza HPLC, výsledky analýz

Úvod

Z množstva xenobiotík vyskytujúcich sa v potravinách predstavuje ochratoxín A jeden zo závažných mykotoxínov. Tento mykotoxín tvoria plesne rastúce a množiace sa zvlášť na niektorých druhoch potravín. Vhodné živné prostredie sú cereálie, ktoré sú základnou surovinou pre produkciu potravín každodenného konzumu.

Mykotoxíny sa z ľudského organizmu vylučujú aj materským mliekom. V závislosti od znečistenia životného prostredia a konzumovaných potravín xenobiotikami môže byť aj materské mlieko kontaminované.

Podmienky kvalitatívneho a kvantitatívneho určenia ochratoxínu A

K analýze sme použili zariadenie HPLC Merck Hitachi v zostave s fluorescenčným detektorom L-7480

Pracovný postup:

Analyzovaný podiel vzorky materského mlieka sme extrahovali n-hexánom. Extrakciou bola odstránená tuková zložka mlieka.

Následnou extrakciou elučným činidlom vodného roztoku 1 % NaHCO₃ sme z beztukovej zložky mlieka získali ochratoxín A.

Prefiltovaný podiel zmiešaný s tlmivým roztokom sme purifikovali a ochratoxín A sme zakoncentrovali na imunoafinitnej kolónke (IAC) špecifickej pre tento mykotoxín.

Ochratoxín A sme z prečisteného a zakoncentrovaného extraktu separovali v HPLC systéme s reverznými fázami a s použitím fluorescenčného detektora bol urobený jeho dôkaz a stanovenie.

Podmienky v systéme HPLC:

- teplota v termostate s umiestnenou analytickou kolónou: 35 °C
- použitá analytická kolóna: LiChroCART 125-4 s náplňou LiChrospher RP-18, zloženie mobilnej fázy: acetonitril – voda – kyselina octová v objemovom pomere 51:47:2
- prietok mobilnej fázy: 1 ml/min.
- fluorescenčný detektor: 333 nm excitačná vlnová dĺžka, 433 nm emisná vlnová dĺžka
- nástrek, injektážny objem: 80 µl

Výsledky dôkazu a stanovenia ochratoxínu A v materskom mlieku

Tabuľky nameraných hodnôt ochratoxínu A vo vzorkách materského mlieka a vysvetlivky použitých skratiek

Namerané hodnoty ochratoxínu A vo vzorkách materského mlieka

Označenie vzorky MM	Objem vzorky na analýzu [ml]	Počet IAC [ks]	Hmotnostná koncentrácia ochratoxínu A [ng/l]	Dátum analýzy
1	60	2	9,7	05.04.07
2	25	1	ND (4,8)	29.03.07
3	50	2	ND (4,8)	05.04.07
4	30	1	ND (4,8)	29.03.07
5	70	3	ND (4,8)	05.04.07
6	25	1	ND (4,8)	14.08.07
7	60	2	ND (4,8)	11.04.07
8	60	2	2,3	11.04.07
9	50	2	47,6	23.03.07
10	25	1	ND (4,8)	29.03.07
11	25	1	ND (4,8)	14.08.07
12	25	1	ND (4,8)	14.08.07
13	25	1	ND (4,8)	14.08.07
14	25	1	ND (4,8)	16.08.07
15	25	1	ND (4,8)	14.08.07
16	25	1	ND (4,8)	14.08.07
17	25	1	< 14,4 (6,4)	14.08.07

18	25	1	ND (4,8)	14.08.07
19	25	1	< 14,4 (5,7)	14.08.07
20	25	1	ND (4,8)	16.08.07
21	25	1	ND (4,8)	16.08.07
22	25	1	ND (4,8)	16.08.07
23	25	1	< 14,4 (5,3)	16.08.07
24	25	1	ND (4,8)	16.08.07
25	25	1	ND (4,8)	14.08.07
26	25	1	ND (4,8)	14.08.07
27	50	1	5,0	14.08.07
28	50	1	5,4	14.08.07
29	25	1	< 14,4 (6,8)	14.08.07
30	50	1	0,6	14.08.07
31	25	1	ND (4,8)	14.08.07
32	25	1	ND (4,8)	14.08.07

Použité skratky		
ND (4,8)	Nedetekovateľné použitou metódou	
< 14,4	Menej ako hodnota LOQ, ale vyššie ako LOD	
LOD	Limit detekcie metódy	Pre danú metódu LOD = 4,8 ng/l
LOQ	Limit kvantifikácie metódy	Pre danú metódu LOQ = 14,4 ng/l

Zabezpečenie kvality meraní

	Druh materiálu	Certifikovaná hodnota ochratoxínu A µg/kg	Povolený interval hodnôt ochratoxínu A µg/kg	Nameraná hodnota ochratoxínu A µg/kg	Výťažnosť%
1	T1742 Baby Food (FAPAS®)	0,60	0,34 - 0,87	0,49	81,7
				0,54	90,0
2	Matricový prídavok štandardu ochratoxínu A ku vzorkám				

Záver

Materské mlieko môže byť kontaminované rozmanitými škodlivinami a nie je možné uviesť celé škálu týchto látok. Vzhľadom k tomu, že materské mlieko je prvá výživa dieťaťa, významne ovplyvňujúca jeho ďalší vývoj, domáce a zahraničné štúdie sú zamerané nielen na obsahnosť najtoxickejších, ale aj menej toxických xenobiotík.

V rámci nášho výskumu sme sa zamerali na sledovanie výskytu nefrotoxického mykotoxínu ochratoxín A. Sú to nielen naše prvé výsledky, ale aj prvé zistenia na Slovensku. Podľa doposiaľ zistených hodnôt môžeme konštatovať, že nie sú alarmujúce. Najvyšší obsah sme zistili 47,6 ng ochratoxínu A v jednom litri materského mlieka, pričom z 32 analyzovaných vzoriek sme toxín dokázali v 31 % podrobených rozboru. V analytickom určení ochratoxínu A pokračujeme.

Literatúra

- ACTA hygienica epidemiologica et microbiologica, príloha č. 6, 1997. *Mykotoxin ochratoxin A: hodnocení nebezpečnosti a zdravotního rizika*. Praha: SZÚ, 1997. ISSN 0862-5956.
- APOSTOLOU, E.; EL-NEZAMI, H. S.; AHOKA, J. T.; DONOHUE, D. D. The evaluation of ochratoxin A in breast milk in Victoria (Australia). *Revue Med Vet*. 1998, 149, No. 6, s. 709.
- CHURÁČEK, J.; JANDERA, P. *Úvod do vysokoúčinné kapalínové kolonové chromatografie*. Praha: SNTL–nakladatelství technické literatury, 1984, 192 s.
- MALÍŘ, F.; OSTRÝ, V a kol. *Vláknité mikromicety (plísňe), mykotoxiny a zdraví člověka*. Brno: Národní centrum ošetrovatelství a nelékařských zdravotnických oborů v Brně, 349 s. ISBN 80-7013-395-3.
- TURCONI, G.; GUARCELLO, M.; LIVIERI, CH.; COMIZZOLI, S.; CASTELLEZZI, M. A.; PIETRI, A.; PIVA, G.; ROGGI, C. Evaluation of xenobiotics in human milk and ingestion by the newborn. An epidemiological survey in Lobardy (Northern Italy). *Eur J Nutr*. 2004, 43, s. 191–197.

Táto práca je súčasťou projektu VEGA č. 1/4247/07 „Výživa matiek vo vzťahu k výskytu vybraných mykotoxínov v materskom mlieku a ich vplyv na klinické parametre novorodencov a dojčiat“.

THE FIRST RESULTS OF ANALYSES OF OCHRATOXIN A IN HUMAN MILK IN SLOVAKIA

Abstract: The authors analysed samples of human milk with a view to find potential contamination with a mycotoxin - ochratoxin A. A rapid and effective separative method the HPLC was used. Donors offered their human milk voluntarily and it was taken right at the clinic of children. The results of such kind of analyses in our country are summarized in the table. The analysis conditions are added to the data obtained by the referred chromatographic method.

Key words: human milk, ochratoxin A, HPLC analysis, results of analyses