

## Závěrečná zpráva projektu specifického výzkumu- zakázka č. 2105

### Název projektu:

Ochratoxin A v kávě.

Studium přechodového faktoru ochratoxinu A (OTA) ze zrnkové mleté kávy do nápoje

### Specifikace řešitelského týmu:

Odpovědný řešitel: **doc. RNDr. František Malíř, Ph.D.**

Studenti magisterského studia na PřF UHK:

Bc. Jakub Toman

Bc. Marketa Dvořáčková (případný zástup za Bc. Jakuba Tomana)

Další výzkumní spolupracovníci:

doc. MVDr. Vladimír Ostrý, CSc., vedoucí Národního referenčního centra pro mikroskopické houby a jejich toxiny, Státní zdravotní ústav v Praze, Centrum zdraví, výživy a potravin v Brně, Palackého 3a, 612 42 Brno

Ing. Tomáš Roubal, vedoucí Národní referenční laboratoře pro biomarkery mykotoxinů a mykotoxiny v potravinách, Zdravotní ústav se sídlem v Hradci Králové, Centrum hygienických laboratoří, Nezvalova 958, 500 02 Hradec Králové

**Celková částka přidělené dotace: 169 100,- Kč**

### **Stručný popis postupu při řešení projektu:**

Mykotoxin ochratoxin A (OTA) je jedním ze zemědělsky a toxikologicky nejzávažnějších mykotoxinů. OTA patří mezi mykotoxiny s významnými nefrotoxickými, hepatotoxickými, imunosupresivními, dále embryotoxickými, teratogenními, genotoxickými a karcinogenními, účinky dle IARC WHO, skupina 2B- možný lidský karcinogen. Do organismu člověka se dostává především tzv. dietární expozicí- a to potravinami a surovinami rostlinného původu, jako jsou výrobky z obilí, dále kávou, kakaem, čokoládou, kořením, rozinkami, grepovou šťávou, vínem, pivem, lékořicí aj. Proto je obsah OTA v potravinách legislativně regulován – a to Nařízeními Komise č. 1881/2006 ES, č. 105/2010 ES a č. č. 594/2012. Káva je pokládána za jeden z hlavních zdrojů denního příjmu OTA – a to až v rozsahu 1-10 %. Cílem práce bylo proto *stanovení OTA v kávě* a dále *experimentální zjištění, jaké množství OTA přejde z kávy do vlastního nápoje*, tj. zjištění přechodového faktoru- u různých typů nápojů. Vyšetření vzorků kávy a nápojů z kávy na obsah OTA bylo provedeno na HPLC Spectra System s vysoce citlivým fluorescenčním detektorem Jasco (model 920 FP) po vyčištění a zkoncentrování na imunoafinitních kolonkách – a to standardním operačním postupem, metodou akreditovanou u ČIA pod názvem: „Stanovení ochratoxinu A metodou HPLC-FLD“ v Národní referenční laboratoři pro biomarkery mykotoxinů a mykotoxiny v potravinách, při ZÚ v Hradci Králové. Pozn.: ZÚ je akreditován u Českého institutu pro akreditaci (ČIA) pod č. 1388.

Pro tuto práci byli studenti řádně poučeni v souladu s platnými zásadami bezpečnosti práce a vnitřními předpisy národní referenční laboratoře (NRL), jak s těmito vzorky pracovat, ale nakonec zástup za studenta Bc. J. Tomana nebyl nutný. Student se naučil, jak zacházet a bezpečně pracovat s těmito materiály a vypomohl pracovníkům NRL s časově náročnými separacemi ochratoxinu A

z kávy a nápojů a konečně se také prakticky naučil, jak OTA stanovit vysokoúčinnou kapalinovou chromatografií. Postup práce:

Časový harmonogram analýz OTA v kávě a nápojích, uvedený v návrhu projektu byl dodržen.

1. Nejprve bylo změřeno pH vody před přípravou kávy a dále pH uvařené vody a pH připravené kávy.
2. Na obsah OTA byly vyšetřeny 2 typy vzorků kávy- a to před započítím analýz nápojů:
  - a) **první typ** byla mletá zrnková káva **přírodně kontaminovaná** OTA o koncentraci 0,92 µg/kg;
  - b) **druhý typ** byla mletá zrnková káva **uměle kontaminovaná** OTA, teoreticky na úrovni maximálního limitu (dle Nařízení EK č. 1881/2006) – a to 5 µg/kg - s cílem ověřit reálnou koncentraci vzorků u obou typů.
3. Pro výpočet přechodového faktoru byly využity oba 2 typy vzorků a základní statistické vyhodnocení bylo připraveno v četnosti z jednoho druhu mleté zrnkové kávy - vždy pouze 6 modelových nápojů místo původně předpokládaných 10 (6 je pro statistické hodnocení dostatečné a navíc došlo k rozšíření vyšetření – byly analyzovány 2 typy kávy, oproti původně uvažovanému 1 typu).

Ze vzorku kávy (z každého ze 2 typů) byly připraveny modelové nápoje, vždy 6 x:

4. **Modelový nápoj č. 1 (v ČR nejčastěji konzumovaný – jako tzv.,turek“- nepravý)**

7 g mleté pražené zrnkové kávy bylo přelito 100 ml vařící pitné vody. Kávu jsme nechali 5 min vyluhovat a následně ochladili. V nápoji (kávě) byl analyzován OTA a zjišťován přechod z kávy do nápoje v %.

Typ 1: 66,1 %

Typ 2: 63,2 %

Závěr: Modelový nápoj č. 1 - čím déle se nechá voda pohromadě s kávou- tím je větší koncentrace OTA.

5. **Modelový nápoj č. 2**

**Pravá turecká káva:** 7 g mleté pražené zrnkové kávy bylo přelito 100 ml vody studené vody a svařeno a v džezvě celkem 3 x po sobě postupně zpěněno-svařeno.

Typ 1: 52,2 %

Typ 2: 53,2 %

Závěr: Modelový nápoj č. 2 – čím déle se nechá voda pohromadě s kávou- tím je větší koncentrace OTA. OTA je však částečně degradovatelný za normálních – běžných podmínek vaření. V porovnání s nápojem č.1 jsou tyto koncentrace nižší.

**Tab.1 - Další modelové nápoje s využitím presovače – tzv. Espresso- č.3, Ristretto-č.4, Lungo-č.5, Doppio-č.6, Americano- č.7.**

Název	Množství kávy	Množství vody	výsledky t.1	výsledky t.2
<b>3. Espresso</b>	7 g	20 - 30 ml	32,2 %	32,4 %
<b>4. Ristretto</b>	7 g	max. 20 ml	22,3 %	24,5 %
<b>5. Lungo</b>	7 g	max. 80 ml	54,5 %	53,4 %
<b>6. Doppio</b>	14 g	50 ml	30,1 %	30,2 %
<b>7. Americano</b>	7 g	espresso 40 - 80 ml + voda 20-60 ml	50,8 %	49,8 %

Závěr: Na presovači připravená káva - čím menší objem vody a káva prosáta pod tlakem, tím nižší přechod OTA.

### Splnění kontrolovaných výsledků řešení

Analýzy vzorků byly teprve dokončeny do 5. listopadu 2013.

**Tab.2** Sumář výstupů řešení projektu

Typ výstupu	Plán	Skutečnost	Poznámka
Počet dizertačních prací	0	0	
Počet diplomových prací (NMgr.)	1	1	v r. 2014
Jimp - výstup v impaktovaném časopisu	1 ( možná 2)	0	zrealizováno do konce r. 2014
Jneimp – výstup v databázích Scopus a WOS	0	0	
Jrec-výstup v recenzovaném časopisu	1	0	preference v Jimp
B – odborná kniha	0	0	
C – kapitola v odborné knize	0	0	
D – článek ve sborníku (s ISBN)	(nebo 1)	0	konference Mykotoxiny-2014
F – užitečný vzor aj.	0	0	
Poster na zahraniční akci	1	1	na Mycotoxin Workshop Gottingen, 2014
Počet výsledků celkem	4	0	

\*Výsledky získané v rámci řešení tohoto projektu budou moci být realizovány až v průběhu roku 2014, podobně jako to bylo u předchozího projektu, kdy byly publikovány 2 impaktované publikace.

Podrobné zdůvodnění výdajů a doložení dodatečných žádostí o změnu rozpočtu:

- osobní náklady** – 0: nebyly požadovány položka nebyla měněna;
- stipendium**- bylo navrženo a vyplaceno ve výši 3 500,- Kč – a to v souladu s návrhem SV č.2105 – studentovi Bc. Jakubu Tomanovi, IČ 24 612, obor studia Systematická biologie a ekologie, PřF- UHK;
- materiálové náklady**-zahrnují kolonu chromatografickou 1 x, typ Phenomenex Kinetex 2.6 um, C18, 100A, dále skleněnou silnostěnnou odsávací aparaturu ke kompletaci prosávacího zařízení (22 321,- Kč), dále osobní ochranné pomůcky (2013,- Kč) a kancelářské potřeby (6 842,- Kč).
- další náklady- z SV příspěvek na investici : 50 000,- Kč (odstředivku s výkyvným 4-místným rotorem a 4 závěsnými kyvetami DPH)
- výdaje (náklady) na služby** - za provedení komplexních analýz ochratoxinu A v kávě a nápojích z kávy - v úhrnné ceně včetně DPH ve výši 84 700,- Kč na akreditovaném pracovišti ZÚ HK (pozn.: tato cena v porovnání s celkovou běžně uctovanou cenou 169 400,- Kč za uvedený počet vzorků je poloviční, tj. 50 %).
- doplňkové (režijní) náklady** nebo výdaje v souladu s příslušným řídicím aktem UHK: 0
- cestovné** a jeho stručné zdůvodnění: Požadováno cestovné na mezinárodní seminář Mykotoxiny v Bratislavě ve výši 3 500,- Kč. Na základě e-mailu z 27.9.2013, že seminář odpadá, byl požádán dopisem dne 30.10. 2013 pan docent Tůma, proděkan

PřF pro vědeckou činnost, o povolení změny ve struktuře rozpočtu SV- a to s cílem uvedenou částku vyčerpat na zakoupení kancelářského materiálu.

Výsledek čerpání finančních prostředků uveďte v jednotné přehledné tabulce 3.

Tab. 3 Čerpání finančních prostředků v Kč

Položka	Plán	Žádost o změnu rozpočtu	Skutečnost
Počet členů řešitelského týmu čerpajících mzdové prostředky	0		0
Počet studentů čerpajících mzdové prostředky	1		1
Stipendia	3 500,- Kč		3 500,-Kč
Odměny a DPP, DPČ	0		0
Zákonné zdravotní a sociální pojištění	0		0
<b>Celkem osobní náklady</b>	<b>3 500,- Kč</b>		<b>3 500,- Kč</b>
<b>Spotřeba materiálu celkem</b>	<b>23 879,10 Kč</b>		<b>31 176,- Kč</b>
Drobný hmotný majetek	21 729,10 Kč		22 321,- Kč
<b>Služby celkem</b>	<b>84 700,-Kč</b>		<b>84 700,-Kč</b>
<b>Cestovné celkem</b>	<b>3 500,- Kč</b>	(e-mail z 27.9.2013)- 30.10.2013 – žádost o kancelářské potřeby	0,-Kč
Náklady (ca.)	119 100,- Kč		119 376,-Kč
Investice (příspěvek)	50 000,- Kč		50 000,-Kč
<b>Celkové náklady</b>	<b>169 100,- Kč</b>		<b>169 376,-Kč</b>

*Závěr: Z tabulky je zřejmé překročení celkových plánovaných finančních prostředků o 276,- Kč..*

**Přílohy :** a) Kopie publikačních výstupů (zatím pouze za minulý projekt č. 2119/2012)-  
2.impaktované výstupy – doloženo publikacemi

**Pozn.: vzhledem k termínu dokončení projektu a získání výsledků, bude projekt SV č. 2105 opět publikován až v průběhu roku 2014.**

b) Výpis z OBD- výsledky publikační činnosti (podpořené minulým projektem SV 2119).

c) Výsledovka z ekonomického informačního systému MAGION- vyučtování dotace.