

Andrzej Starski, Małgorzata Jędra

OCENA ZAWARTOŚCI WIELOPIERŚCIENIOWYCH WĘGLOWODORÓW AROMATYCZNYCH (WWA) W OLEJU RZEPAKOWYM PRODUKOWANYM W POLSCE

Zakład Badania Żywności i Przedmiotów Użytku
Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego – Państwowy Zakład Higieny
Kierownik: dr *J. Postupolski*

Zbadano zawartość WWA w próbkach oleju rzepakowego pobranych z obrotu w ramach badań monitoringowych. Wyniki porównano z danymi uzyskanymi w innych krajach Unii Europejskiej. Poziom WWA w oleju wytwarzanym przez krajowych producentów oceniono w aspekcie planowanych zmian w ustawodawstwie UE.

Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA) są liczną grupą związków stanowiących zanieczyszczenie środowiskowe. Powstawanie WWA może mieć charakter naturalny (erupcje wulkanów, pożary lasów) jednak w większym stopniu związane jest z rozwojem cywilizacyjnym i aktywnością człowieka – spalaniem paliw płynnych i stałych (energia elektryczna, transport i ogrzewanie domów), stosowaniem preparatów ropopochodnych – asfaltu, mas bitumicznych, lepików i smół (drogi, budownictwo) oraz wypalaniem lasów i łąk. WWA powstają również podczas palenia tytoniu. Związki te tworzą się w procesie niepełnego spalania węgla, podczas którego przy niewystarczającym dostępie tlenu możliwe jest formowanie i zamykanie łańcuchów węglowych w wielopierścieniowe układy aromatyczne.

Często dokonuje się podziału tej grupy związków na WWA lekkie – zawierające od 2 do 4 skondensowanych pierścieni aromatycznych oraz ciężkie – zawierające 5 lub więcej pierścieni. Lekkie np. naftalen, acenaften czy fluoren są substancjami umiarkowanie lotnymi, natomiast ciężkie np. benzo(*a*)piren są nielotne. Związki te ulegają adsorpcji na powierzchni pyłów i mogą być transportowane na znaczne odległości. Doskonała rozpuszczalność w tłuszczach sprzyja migracji WWA do tkanek roślin i zwierząt.

Działanie toksyczne

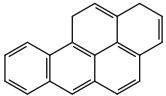
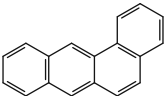
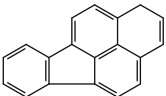
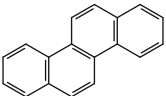
Wiele WWA, szczególnie ciężkich, jest genotoksycznymi kancerogenami (1). U zwierząt doświadczalnych, którym podawano paszę zawierającą mieszaninę WWA obserwowano wystąpienie nowotworów układu pokarmowego, wątroby oraz płuc (2, 3). U ludzi narażonych na WWA na stanowisku pracy (np. w koksowniach) odnotowano zwiększoną zapadalność na nowotwory płuc i pęcherza moczowego (4, 5).

Benzo(*a*)piren został zaklasyfikowany przez IARC do grupy 1 – związków o udowodnionym działaniu rakotwórczym na człowieka. Benz(*a*)antracen,

benzo(*b*)fluoranten i chryzen są przypisane do grupy 2B – czynników przypuszczalnie rakotwórczych dla ludzi. Toksyczność każdego z tych związków względem toksyczności benzo(*a*)pirenu wyraża parametr TEF (toxic equivalent factor) (tab. I). Należy jednak zwrócić uwagę, że wielu badaczy krytycznie odnosi się do parametrów TEF, ponieważ działanie toksyczne WWA oceniano w oparciu o narażenie na mieszaniny związków, nie zaś na pojedyncze substancje podawane drogą pokarmową. Przekrojowy materiał dotyczący różnych modeli wskaźników toksyczności WWA i ich pochodnych opracował *Collins* i współpr. (6).

Tab e l a 1. Ocena działania toksycznego wybranych 4 WWA

Table 1. Evaluation of toxicity of selected 4 PAHs

Nazwa związku	Wzór chemiczny	Klasyfikacja rakotwórczości wg IARC	Względna toksyczność związku (TEF)
Benzo(<i>a</i>)piren		1	1
Benz(<i>a</i>)antracen		2B	0,1
Benzo(<i>b</i>)fluoranten		2B	0,1
Chryzen		2B	0,01

Źródła narażenia człowieka

W raporcie Komitetu Naukowego ds. Żywności Unii Europejskiej (7) dokonano oszacowania narażenia ludzi w Europie na WWA ze względu na drogę pobrania. W przypadku benzo(*a*)pirenu narażenie dzienne pochodzące z żywności oceniono na 50–290 ng/kg (w zależności od kraju), z wody na 0,2–20 ng/dzień i powietrza ok. 20 ng/dzień. Inne WWA wykazywały podobne zależności chociaż w przypadku lżejszych WWA wzrasta znaczenie inhalacyjnej drogi narażenia np. dla fluorantenu pobranie z diety oszacowano na 600–1660 ng/dzień, z wodą 2–200 ng/dzień i z powietrzem na 100 ng/dzień. Na podstawie przytoczonych wyników oszacowania można przyjąć, że głównym źródłem narażenia na WWA dla osób nie będących palaczami tytoniu oraz nie narażonych na stanowisku pracy jest żywność (7). Dobra rozpuszczalność WWA w tłuszczach wpływa na zanieczyszczenie produktów spożywczych zawierających ten składnik pokarmowy. WWA ulegają wchłanianiu z przewodu pokarmowego, ich dostępność wynosi od 30 do 99% w zależności od związku oraz składu diety, a w szczególności zawartości w niej tłuszczu (8).

Bezpieczeństwo żywności

Przyjmuje się, że poziom zawartości WWA w środkach spożywczych powinien być możliwie niski – spełniać regułę „ALARA” (*as low as reasonably achievable*). Jako substancję wskaźnikową obecności WWA przyjęto benzo(a)piren. Aktualne przepisy Unii Europejskiej limitują jego poziom w środkach spożywczych a w preparatach dymu wędzarniczego – praktycznie niedostępnych dla konsumenta w postaci produktu detalicznego – limitowany jest ponadto benz(a)antracen (9).

W latach 2005–2009 zgodnie z Zaleceniem Komisji Europejskiej (10) w wielu Państwach Członkowskich podjęto badania monitoringowe mające na celu oznaczanie zawartości 15. WWA (tzw. lista Komisji Europejskiej, dodatkowo listę uzupełniono o benzo(c)fluoren zaproponowany przez JECFA). Zgromadzone przez Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) wyniki wskazują, że benzo(a)piren nie jest wystarczającym markerem do oceny zanieczyszczenia żywności przez WWA. Stanowił on ok. 8% zawartości badanych WWA, natomiast 33% badanych środków spożywczych, w których stwierdzono poziom innych WWA powyżej granicy wykrywalności, nie zawierało benzo(a)pirenu (poziom poniżej granicy wykrywalności) (11).

Obecnie dobiegają końca prace nad nowelizacją Rozporządzenia Komisji nr 1881/2006, mającą wprowadzić limitowanie zawartości benzo(a)pirenu oraz zawartości sumy czterech WWA: benz(a)antracenu, benzo(b)fluorantenu, benzo(a)pirenu i chryzenu. Pomimo zróżnicowanego występowania tych związków w różnych środkach spożywczych stwierdzono, że ich suma pokrywa ok. 60% zawartości kancerogennych 15 WWA (wg listy Komisji Europejskiej). W odniesieniu do olejów roślinnych najwyższe dopuszczalne zanieczyszczenie benzo(a)pirenem pozostanie na poziomie 2,0 µg/kg, natomiast dodatkowym kryterium będzie suma 4 WWA wynosząca maksymalnie 10 µg/kg. Publikacja nowego Rozporządzenia jest przewidziana na wrzesień 2011 r. z terminem obowiązywania limitów od 1 września 2014 r.

Istotnym źródłem narażenia na WWA w diecie w Polsce są tłuszcze zwierzęce i oleje roślinne, których spożycie jest u nas większe niż średnia europejska. Olej rzepakowy, najbardziej popularny w Polsce, jest spożywany przez 50% konsumentów, średnio w ilości 16,9 g/osobę/dzień. (maksymalnie 140 g/osobę/dzień). Znacznie mniej osób spożywa inne rodzaje tłuszczów roślinnych: olej słonecznikowy lub sojowy ok. 4%, oliwę z oliwek jedynie ok. 1,5% konsumentów (12). Zawartość WWA w tłuszczach roślinnych jest wyższa niż w zwierzęcych co wynika głównie z zanieczyszczenia upraw roślin oleistych. Zanieczyszczenie w okresie wegetacji (zależne od stopnia zanieczyszczenia środowiska), podobnie jak zanieczyszczenie podczas łuskania i transportu, dotyczy zewnętrznej warstwy nasion. Przechowywanie surowca w silosach, a następnie proces dezodoryzacji i oczyszczania oleju mogą wpłynąć na obniżenie poziomu tego zanieczyszczenia. Zwiększenie zawartości WWA w produkcie finalnym może być wynikiem nieprawidłowości w procesie produkcyjnym takich, jak: działanie bezpośrednie gazów spalinowych podczas suszenia ziaren (suszenie bezprzeponowe, niedozwolone w krajach Unii Europejskiej), stosowanie wysokiej temperatury podczas suszenia ziaren i ekstrakcji oleju. Zaobserwowano różnice w poziomie WWA w różnych partiach produkcyjnych takiego samego rodzaju oleju (13, 14, 15).

W Zakładzie Badania Żywności i Przedmiotów Użytku NIZP-PZH przeprowadzono badania zawartości WWA w oleju rzepakowym produkcji krajowej. Wyniki pozwalają na ocenę jakości oleju w odniesieniu do projektowanej zmiany wymagań w ustawodawstwie Unii Europejskiej.

MATERIAŁ I METODY

Materiał stanowiły 182 próbki oleju roślinnego pobrane z obrotu detalicznego w ramach monitoringu przez przedstawicieli Państwowej Inspekcji Sanitarnej na terenie kraju. Zbadano 168 próbek oleju rzepakowego i 14 oleju rzepakowego z kilkuprocentowym dodatkiem oliwy z oliwek lub innych olejów: słonecznikowego, sojowego, z siemienia lnianego, z kielków pszenicy. Oleje te występowały w obrocie pod 27 różnymi nazwami handlowymi należącymi do 13 producentów.

Badania wykonano zgodnie z opracowaną w Zakładzie Badania Żywności i Przedmiotów Użytku procedurą badawczą. Probki oleju o masie 2 g ekstrahowano trzykrotnie mieszaniną rozpuszczalników acetonitryl/aceton (6+4 v/v), po każdej ekstrakcji próbkę odwirowywano, a następnie przenoszono rozpuszczalnik z nad oleju do oddzielnego naczynia. Połączone ekstrakty odparowywano w łagodnym strumieniu azotu. Zatężony ekstrakt oczyszczano na kolumnach SPE (*solid phase extraction*): w pierwszym etapie wypełnionych fazą C18 (o masie 2 g, rozpuszczalnik acetonitryl/aceton mieszanina jw.) w celu usunięcia pozostałości tłuszczu, a w drugim etapie na kolumnach z wypełnieniem Florisil (500 mg, rozpuszczalnik heksan/dichlorometan 3+1 v/v). Uzyskany przesącz ponownie zatężano w łagodnym strumieniu azotu i rozpuszczano w 1 cm³ mieszaniny acetonitryl/tetrahydrofuran (9+1, v/v) i poddawano analizie chromatograficznej z wykorzystaniem HPLC. Stosowano kolumnę Varian „Pursuit PAH” 250 × 4,6 mm, ziarno 5 μm, fazę ruchomą do elucji gradientowej stanowiły acetonitryl i woda. Jako detektor zastosowano spektrofluorymetr, badane związki obserwowano przy następujących czasach retencji oraz długościach fali wzbudzenia i emisji: benz(*a*)antracen 18,8 min, 286 nm/408 nm; chryzen 20,0 min, 266 nm/408 nm; benzo(*b*)fluoranten 26,5 min, 304 nm/433 nm, benzo(*a*)piren 32,5 min, 380 nm/406 nm. W celu oceny wydajności i powtarzalności procesu ekstrakcji i oczyszczania stosowano metodę wzorca wewnętrznego, dodając roztwór benzo(*b*)chryzenu do próbki przed rozpoczęciem ekstrakcji; odzysk wynosił w granicach 72–84%.

Dla zastosowanej metody granice oznaczalności (LOQ) wynosiły: benz(*a*)antracen 0,22 μg/kg, chryzen 0,22 μg/kg, benzo(*b*)fluoranten 0,41 μg/kg, benzo(*a*)piren 0,18 μg/kg; zakres roboczy metody mieścił się w zakresie od LOQ do 50,00 μg/kg. Odzyski mierzone w każdej serii pomiarowej dla poszczególnych związków wynosiły: dla benz(*a*)antracenu 81–92%, dla chryzenu 83–95%, dla benzo(*b*)fluorantenu 73–86%, dla benzo(*a*)pirenu 70–82%.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Zawartość benzo(*a*)pirenu w 25 próbkach (13,7%) była niższa od granicy wykrywalności, a jedynie w 2 próbkach przekroczyła najwyższy dopuszczalny dla

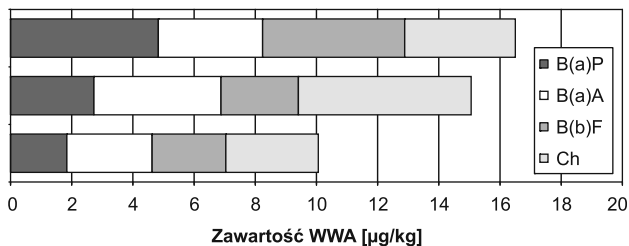
olejów poziom 2,0 µg/kg (uzyskano wyniki 2,73 i 4,83 µg/kg). Zawartość pozostałych badanych WWA również w wielu przypadkach była niższa od granicy ich wykrywalności: benz(a)antracenu w 15 próbkach (8,2%), benzo(b)fluorantenu w 32 próbkach (17,6%), a chryzenu w 21 próbkach (11,5%).

Stwierdzono, że 26 (14%) próbek oleju odznaczało się stosunkowo wysokim poziomem sumy 4 WWA, w zakresie od 5 µg/kg do 10 µg/kg a wśród nich 5 (2,7%) poziomem wyższym niż 7 µg/kg. W tych 5 próbkach zawartość B(a)P przekraczała 1,7 µg/kg. Suma 4 WWA była wyższa niż 10 µg/kg w 3 próbkach i wynosiła 10,06, 15,06 i 16,50 µg/kg, w 2 z tych próbek oleju przekroczony był dopuszczalny poziom zanieczyszczenia benzo(a)pirenem. Zawartość badanych WWA w tych próbkach przedstawia ryc. 1.

Analiza zawartości poszczególnych WWA w tych trzech próbkach wskazuje na istnienie zależności między poziomem benzo(a)pirenu a łączną zawartością 4 WWA. Istnienie takiej korelacji wykazano też w odniesieniu do całej populacji zbadanych próbek (współczynnik korelacji *Pearsona* $r = 0,9488$) (ryc. 2).

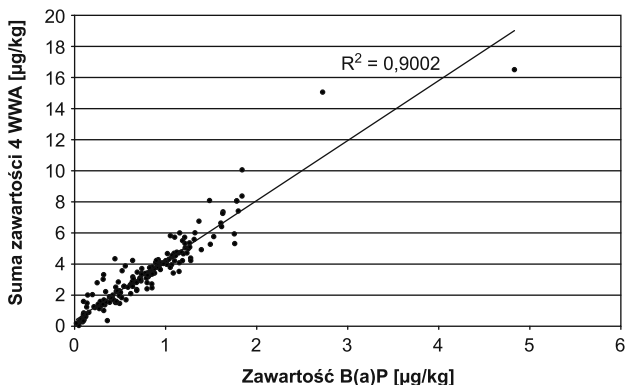
Na podstawie analizy poszczególnych próbek stwierdzono, że stosunek benzo(a)pirenu do sumy 4 WWA nie jest wartością stałą i możliwy jest zarówno przeważający udział w zanieczyszczeniu B(a)P lub pozostałych badanych WWA (w większości próbek benzo(b)fluorantenu). Wraz ze wzrostem zawartości benzo(a)pirenu obserwowano wzrost sumy 4 badanych związków (ryc. 3).

W badaniach stwierdzono różnice w poziomie WWA w olejach wytwarzanych przez różnych producentów. Może to wynikać przede wszystkim z rejonizacji upraw rzepaku dostarczanego do zakładów przemysłu tłuszczowego. Dane piśmiennictwa wskazują, że najwyższe zanieczyszczenie WWA występuje w nasionach rzepaku uprawianego w woj. podkarpackim oraz w rejonie północno-zachodnim i zachodnim (14).



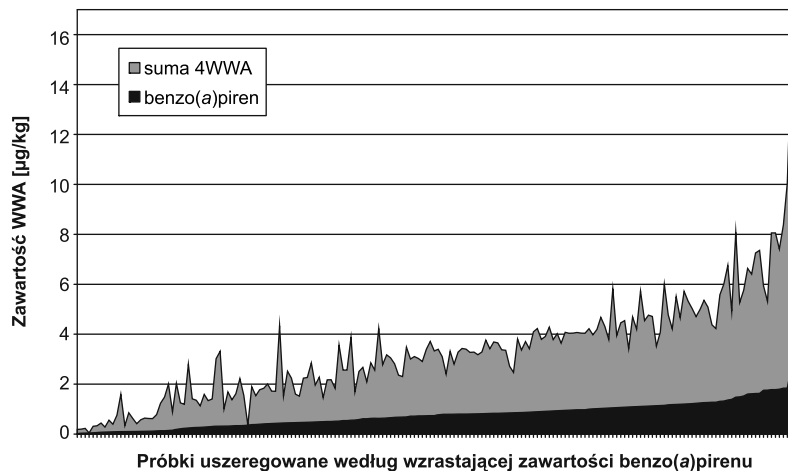
Ryc. 1. Zawartość benz(a)antracenu, benzo(b)fluorantenu, benzo(a)pirenu i chryzenu w olejach, w których suma WWA była wyższa od 10 µg/kg.

Fig. 1. The content of benz(a)anthracene, benzo(b)fluoranthene, benzo(a)pyrene and chrysene in oils, in which the sum of PAHs was higher than 10 µg/kg.



Ryc. 2. Zależność sumy zawartości 4 WWA od zawartości benzo(a)pirenu.

Fig. 2. Dependence of the total content of 4 PAHs on the content of benzo(a)pyrene



Ryc. 3. Udział benzo(*a*)pirenu w zanieczyszczeniu sumą 4 WWA próbek olejów.

Fig. 3. The contribution of benzo(*a*)pyrene in the sum of 4 PAHs contamination in oil samples.

W krajowych olejach rzepakowych objętych badaniami monitoringowymi poziom zanieczyszczenia sumą 4 WWA wynosił średnio 3,42 µg/kg. Był on zbliżony do średniego stężenia 4 WWA w tłuszczach i olejach (z wyłączeniem masła kakaowego) 3,63 µg/kg stwierdzonego w badaniach europejskich (16). Uwzględniając średnie dzienne spożycie oleju rzepakowego w Polsce (12) można oszacować, że narażenie na sumę 4 WWA pochodzących z tego źródła wynosi 0,058 µg/osobę/dzień tj. 0,96 ng/kg masy ciała/dzień. Stanowi to jedynie ok. 5% dziennego narażenia na 4 WWA pochodzące z całej żywności, które zostało oszacowane na 19,5 ng/kg masy ciała/dzień dla mieszkańców Europy (16).

WNIOSKI

1. Poziom zanieczyszczenia krajowych olejów rzepakowych benzo(*a*)pirenem, benz(*a*)antracenenem, benzo(*b*)fluorantenem i chryzenem (suma 4 WWA) był zbliżony do średniego poziomu czterech WWA w tłuszczach i olejach badanych w krajach UE.
2. Stwierdzono korelację między zawartością benzo(*a*)pirenu i łączną zawartością czterech badanych WWA.

A. Starski, M. Jędra

ASSESSMENT OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS LEVEL
IN RAPESEED OILS MANUFACTURED IN POLAND

Summary

Considered the contents of four polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in 182 samples of rapeseed oil origin from domestic production. The study concerned the PAH levels in food which will soon be limited in accordance with novel EU legislation such as benzo(*a*)pyrene, benz(*a*)anthracene,

benzo(*b*)fluoranthene and chryzene. The method of high-performance liquid chromatography (HPLC) with fluorescence detection was used.

The content of benzo(*a*)pyrene in 25 samples (13.7%) was lower than the detection limit and only in two samples exceeded the maximum level of 2.0 µg/kg.

The contents of the other PAHs studied in many cases was below the limit of detection: benz(*a*)anthracene in 15 samples (8.2%), benzo(*b*)fluoranthene in 32 samples (17.6%) and chryzene in 21 samples (11.5%).

It was found that 26 (14%) oil was characterized by a relatively high sum of 4 PAHs, ranging from 5 µg/kg to 10 µg/kg. Among them in 5 samples (2.7%) level was higher than 7 µg/kg. In these five samples of the contents of B(*a*)P exceeded 1.7 µg/kg. The sum of 4 PAHs was higher than 10 µg/kg in 3 oils, in 2 of these oils level of benzo(*a*)pyrene exceeded maximum level.

Correlation was shown between the level of benzo(*a*)pyrene and sum of 4 PAHs content ($r = 0.9488$, $p=0,05$). In most samples of oil content of benzo(*b*)fluoranthene were dominant. The level of contamination of rapeseed oils sum of 4 PAHs averaged 3.42 µg/kg. This level close to the average concentration of four PAHs in fats and oils amounting to 3.63 µg/kg according to European research.

Exposure to 4 PAHs from rapeseed oil in Poland was estimated on 58 ng/person/day, i.e. 0.96 ng/kg bw/day and representing about 5% of the daily exposure to 4 PAHs from whole foods.

The results show that the proposed change in legislation on PAHs contamination in vegetable oils may not affect on increasing on domestic market the number of rapeseed oils, which will be not authorized.

PIŚMIENNICTWO

1. *World Health Organization*: Environmental Health Criteria. Selected non heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons. WHO Geneva, 2003; 202. – 2. *Culp S.J., Gaylor D.W., Sheldon W.G., Goldstein L.S., Beland F.A.*: A comparison of the tumors induced by coal tar and benzo[*a*]pyrene in a 2-year bioassay. *Carcinogenesis*, 1998; 19: 117-124. – 3. *Schneider K., Roller M., Kalberlah F., Schuhmacher-Wolz U.*: Cancer risk assessment for oral exposure to PAH mixtures. *J. Appl. Toxicol.*, 2002; 22(1): 73-83. – 4. *World Health Organization, International Agency for Research on Cancer*: IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Some Non-heterocyclic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Some Related Exposures. IARC Lyon, 2010; 92. – 5. *WHO/IPCS*: Safety evaluation of certain contaminants in food. Polycyclic aromatic hydrocarbons. WHO Food Additives Series, 2006; 55: 563-744. – 6. *Collins J.F., Brown J.P., Alexeeff G.V., Salmon A.G.*: Potency equivalency factors for some polycyclic aromatic hydrocarbons and polycyclic aromatic hydrocarbon derivatives. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, 1998; 28(1): 45-54. – 7. *Scientific Committee on Food*: Opinion of the Scientific Committee on Food on the risks to human health of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in food. 2002, EC DG SANCO Scientific Committee on Food. – 8. *Van Schooten F.J., Moonen E.J., van der Wal L., Levels P., Kleinjans J.C.*: Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) and their metabolites in blood, feces, and urine of rats orally exposed to PAH contaminated soils. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, 1997; 33(3): 317-322. – 9. Rozporządzenie Komisji (WE) Nr 1881/2006 z dnia 19 grudnia 2006 roku ustalające najwyższe dopuszczalne poziomy niektórych zanieczyszczeń w środkach spożywczych. (Dziennik Urzędowy UE, L/364 z dnia 20.12.2006: 5-24. – 10. Zalecenie Komisji Nr 2005/08/WE z dnia 4 lutego 2005 r. w sprawie dalszego badania poziomów wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w niektórych środkach spożywczych. Dz. Urz. UE L 34 z 8.02.2005: 43-45.
11. *EFSA*: Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Food. Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain. The EFSA Journal, 2008; 724: 1-114. – 12. *Szponar L., Sekuła W., Rychlik E., Oltarzewski M., Figurska K.*: Badania indywidualnego spożycia i stanu odżywienia w gospodarstwach domowych. Wydawnictwo Prace IŻŻ Nr 101, Warszawa, 2003. – 13. *Cejpek K., Hajslova J., Kocourek V., Tomaniova M., Cmolik J.*: Changes in PAH levels during production of rapeseed oil. *Food Addit. Contam.* 1998; 15(5): 563-74. – 14. *Jankowski P., Obiedziński M.W.*: Badania nad występowaniem wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w rzepaku i produktach olejarskich. *Tuszcze Jadalne*, 2000; 35: 112-125. – 15. *Guillen M.D., Sopolana P.*: Load of polycyclic aromatic hydrocarbons in edible vegetable oils: importance of alkylated derivatives. *J. Food Prot.* 2004; 67(9): 1904-1913. – 16. *EFSA*: A Report from the Unit of Data Collection and Exposure on a Request from the European Commission. Findings of the EFSA Data Collection on Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Food. 31/07/2008.