

Artur Ciemniak, Marta Alicja Ochwat

PORÓWNANIE ZAWARTOŚCI WIELOPIERŚCIENIOWYCH WĘGLOWODORÓW AROMATYCZNYCH W WYBRANYCH PRODUKTACH PRZEZNACZONYCH DO ŻYWIENIA NIEMOWLĄT I MAŁYCH DZIECI

Katedra Toksykologii Wydziału Nauk o Żywności i Rybactwa
Akademii Rolniczej w Szczecinie
Kierownik: prof. dr hab. M. Protasowicki

Przeprowadzono analizę zawartości 23 wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w wybranych artykułach przeznaczonych do żywienia niemowląt i małych dzieci. Stwierdzone poziomy WWA, a zwłaszcza benzo(a)pirenu są niewielkie i nie przekraczają maksymalnych dopuszczalnych zawartości BaP obowiązujących w Unii Europejskiej. Mleko w proszku zawiera jednak najwyższy wśród przebadanych produktów udział procentowy WWA kancerogennych.

Hasła kluczowe: wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne, WWA, benzo(a)piren, żywność.

Key words: polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs, benzo(a)pyrene, food.

W środowisku człowieka spotyka się powszechnie szereg różnego rodzaju związków chemicznych mających często niekorzystny wpływ na jego zdrowie. Wiele z nich, zwłaszcza chlorowane węglowodory, np. dioksyny, PCBs czy DDT pojawiło się stosunkowo niedawno i jest efektem przemysłowej działalności człowieka. Znaczna ilość zanieczyszczeń jest jednak stale obecna w otoczeniu człowieka od początku jego istnienia. Zaliczają się do nich wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA). Jest to grupa kilkuset związków organicznych zbudowanych z połączonych pierścieni benzenowych. Spośród nich 33 zostało uznane przez Naukowy Komitet ds. Żywności (SCF) (1) za szczególnie toksyczne. Właściwości kancerogennych WWA nabywają w wyniku przemian metabolicznych zachodzących w organizmie człowieka. Przy współudziale m.in. cytochromu P450 powstaje szereg toksycznych metabolitów o charakterze m.in. epoksydów. Szczególnie toksyczne są metabolity benzo(a)pirenu, którego zawartość w żywności z tego powodu jest szczególnie często analizowana.

Tworzą się w wyniku zachodzących w środowisku procesów naturalnych (działalność wulkaniczna, pożary itp.) oraz w wyniku działalności człowieka, najczęściej jako uboczny efekt procesów technologicznych związanych ze spalaniem materii organicznej oraz katastrof przemysłowych. Najintensywniej powstają w zakresie temp. 600–900°C, natomiast optymalną temperaturą powstawania benzo(a)pirenu jest 710°C (2). Ich źródłem w produktach spożywczych może być zanieczyszczone powietrze, woda i gleba. Szczególnie żywność z rejonów uprzemys-

łowionych lub narażonych na katastrofy przemysłowe może zawierać znaczne ilości WWA (3). W niezanieczyszczonych rejonach wiejskich stwierdza się np. wielokrotnie niższe zawartości WWA w żywności niż w rejonach zurbanizowanych (1, 4).

W żywności WWA powstają ponadto podczas jej przetwarzania, a zwłaszcza w wyniku takich procesów, jak wędzenie grillowanie czy smażenie (5, 6). W żywności grillowanej stwierdzono nawet powyżej 200 µg/kg benzo(a)pirenu (7), podczas gdy jego zawartość w żywności nieprzetworzonej mieści się w zakresie 0,01–1 µg/kg (1, 8). Głównym źródłem WWA w diecie człowieka są przede wszystkim oleje i tłuszcze, ze względu na znaczną lipofilność WWA oraz spożywane w dużych ilościach produkty zbożowe. Związki te w bardzo szerokim zakresie stężeń spotyka się praktycznie we wszystkich rodzajach żywności, a nawet w ludzkim mleku, w którym poszczególne WWA stwierdzano w ilości 5–15 ng/kg (1).

W przypadku WWA nie ustalono do tej pory dawki progowej nie wywołującej szkodliwego działania. Zgodnie z opinią SCF (1) zaleca się redukcję zawartości WWA w żywności w takim stopniu, jak to jest racjonalnie możliwe do osiągnięcia. W 2005 r. UE opierając się na opinii SCF uznała benzo(a)piren za marker występowania kancerogennych WWA w żywności (9). Wprowadzono normy zawartości BaP w niektórych produktach spożywczych, a zwłaszcza zawierających wysoką zawartość tłuszczu oraz w żywności, w której skażenie środowiska mogło spowodować wysoki poziom zanieczyszczenia, zwłaszcza ryb i małży (tab. I).

Szczególne uwagę zwrócono na produkty przeznaczone do żywienia niemowląt i małych dzieci, zwłaszcza, że codzienne pobranie WWA w przeliczeniu na kilogram masy ciała może być w ich przypadku niemal dwukrotnie większe niż u dorosłych.

Tabela I. Maksymalne zawartości benzo(a)pirenu w żywności wg Rozporządzenia Komisji (WE) Nr 208/2005 i 1881/2006 (numeracja grup żywności jest zgodna ze stosowaną w Rozporządzeniu)

Table I. Maximum acceptable levels of benzo(a)pyrene in food, specified in Commission Regulation (EC) No. 208/2005 and No. 1881/2006 (numbering of food groups is identical with that applied in the Regulation)

Środki spożywcze		Najwyższe dopuszczalne poziomy (µg/kg świeżej masy)
6.1.1	Oleje i tłuszcze (z wyłączeniem masła kakaowego)	2,0
6.1.2	Mięso wędzone i produkty mięsne wędzone	5,0
6.1.3	Mięso ryb wędzone i produkty rybołówstwa wędzone	5,0
6.1.4	Mięso ryb innych niż wędzone	2,0
6.1.5	Skorupiaki, głowonogi inne niż wędzone	5,0
6.1.6	Małże	10,0
6.1.7	Przetworzona żywność na bazie zbóż oraz żywność dla niemowląt i małych dzieci	1,0
6.1.8	Preparaty do początkowego żywienia niemowląt i preparaty do dalszego żywienia niemowląt w tym mleko początkowe i następne	1,0
6.1.9	Produkty dietetyczne specjalnego przeznaczenia medycznego przeznaczone specjalnie dla niemowląt	1,0

Zgodnie z Rozporządzeniem Komisji (WE) Nr 208/2005 i 1881/2006 (9, 10) żywność przeznaczona dla niemowląt i małych dzieci może zawierać maksymalnie 1 µg/kg benzo(*a*)pirenu.

Wraz z benzo(*a*)pirenem rozporządzenie Komisji Europejskiej wymienia szereg innych kancerogennych WWA, których obecność w żywności powinna być poddawana stałemu monitoringowi: benzo(*a*)antracen, benzo(*b*)fluoranten, benzo(*j*)fluoranten, benzo(*k*)fluoranten, benzo(*g,h,i*)perylen, chryzen, cyklopenta(*c,d*)piren, dibenzo(*a,h*)antracen, dibenzo(*a,e*)piren, dibenzo(*a,h*)piren, dibenzo(*a,i*)piren, dibenzo(*a,l*)piren, indeno(1,2,3-*cd*)piren i 5-metylochryzen. W ten sposób została stworzona europejska lista 15 WWA cechująca się odmiennym podejściem do problemu WWA niż powszechnie stosowana amerykańska lista 16 WWA (11). Na liście EPA znajdują się węglowodory najczęściej spotykane, także te nie uznawane za szczególnie kancerogenne, np naftalen. Ustawodawstwo europejskie skupia się wyłącznie na WWA o potwierdzonej silnej kancerogenności, niezależnie od powszechności ich występowania.

MATERIAŁ I METODY

Jako materiał do badań wybrano powszechnie dostępne w handlu detalicznym w Szczecinie pokarmy i napoje przeznaczone do żywienia niemowląt i małych dzieci. Przebadano 4 rodzaje zup, 4 dania mięsno warzywne, 6 deserów owocowych, 3 kaszki i 2 rodzaje mleka w proszku: początkowe i następne. Analizie poddano także napoje: 4 rodzaje soków owocowych i 3 herbaty rozpuszczalne. Łącznie, poddano analizie 26 różnego rodzaju produktów. Każdy asortyment składał się z trzech próbek zakupionych wiosną 2006 r. w sklepach położonych na terenie Szczecina, które następnie homogenizowano tworząc jedną próbkę zbiorczą. Analizę każdego asortymentu wykonano w trzech powtórzeniach, a wyniki uśredniono.

Celem przeprowadzonych badań była analiza zawartości 23 WWA (16 z listy EPA i 7 nowych WWA zalecanych do analizy zgodnie z rozporządzeniem KE z 04.02.2005 r.)

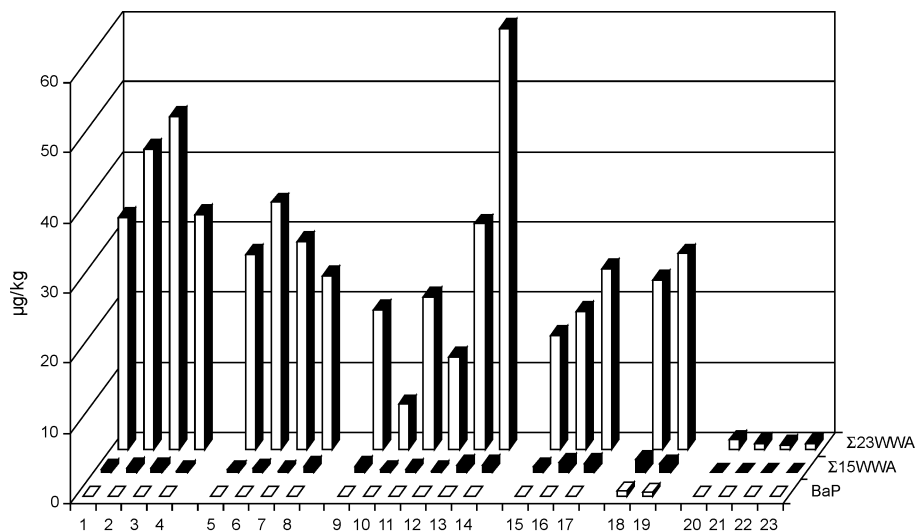
Zastosowana metoda analityczna oparta została na klasycznej metodzie Grimmera i Böhnkego (12), polegającej na hydrolizie próbek za pomocą metanolowego roztworu KOH o stęż. 2 mol/dm³. WWA ekstrahowano heksanem, a otrzymane ekstrakty oczyszczano na kolumnach wypełnionych florisilem i poddano analizie GC-MS.

W przypadku napojów, etap hydrolizy został pominięty, a WWA ekstrahowano bezpośrednio z soku heksanem i poddawano dalszej obróbce tak, jak inne produkty.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Benzo(*a*)piren już od wielu lat jest traktowany jako wskaźnik obecności kancerogennych WWA w żywności. Analizę zawartości BaP oraz pozostałych WWA z listy EPA przeprowadza się w rozmaitych rodzajach żywności, zwłaszcza

grillowanej na węglu drzewnym lub wędzonej oraz olejach i tłuszczach, a także w roślinach. Stosunkowo uboga jest jednak literatura dotycząca zawartości WWA w tak szczególnym rodzaju żywności jakim są produkty przeznaczone dla dzieci. Jest to niepokojące, zwłaszcza że dzienne pobranie WWA w przeliczeniu na masę ciała jest u dzieci znacznie większe niż u dorosłych. *Wilson* (13) w badaniach narażenia dzieci na trwałe zanieczyszczenia organiczne w przedszkolach stwierdza, że żywność w tych ośrodkach zawiera $1,87 \div 9,15 \mu\text{g}/\text{kg}$ w przypadku sumy 19 WWA (16 EPA + benzo(e)piren + koronen + cyklopenta[cd]piren), w tym $0,05 \div 1,01 \mu\text{g}/\text{kg}$ WWA kancerogennych oraz poniżej $0,04 \mu\text{g}/\text{kg}$ BaP. Według raportu SCF (1) dzienne pobranie benzo(a)pirenu we Francji w grupie wiekowej dzieci 3 ÷ 14 lat wynosi $2,4 \text{ ng}/\text{kg}/\text{dzień}$, a w przypadku dorosłych $1,4 \text{ ng}/\text{kg}/\text{dzień}$. Podobnie przedstawia się sytuacja w przypadku sumy węglowodorów kancerogennych [benzo(a)antracen + benzo(b)fluoranten + benzo(k)fluoranten + benzo(a)piren + dibenzo(a,h)antracen + benzo(g,h,i)perylen]: $16,1 \text{ ng}/\text{kg}/\text{dzień}$ w przypadku dzieci i $9,1 \text{ ng}/\text{kg}/\text{dzień}$ w przypadku dorosłych. Podobne dane dotyczące Wielkiej Brytanii wykazują, że najbardziej narażoną grupą wiekową są najmłodsze dzieci od 1,5 do 2,5 roku życia, dla których dzienne pobranie BaP wynosi średnio $3,8 \text{ ng}/\text{kg}/\text{dzień}$. Są to ilości 2,5-krotnie wyższe niż w przypadku dorosłych. Stwierdzono ponadto, że wraz z wiekiem maleje pobranie WWA, osiągając najniższą wartość w grupie wiekowej 15 ÷ 18 lat. Dane Brytyjskie zebrane w latach 1979 ÷ 2000 wskazują ponadto na ciągły spadek zawartości WWA w diecie, co ma niewątpliwie związek ze stałym doskonaleniem metod produkcji i kontroli żywności.



Ryc. 1. Zawartość WWA [$\mu\text{g}/\text{kg}$] w analizowanych produktach: 1 ÷ 4 zupki, 5 ÷ 8 dania mięsne, 9 ÷ 14 desery, 15 ÷ 17 kasze, 18, 19 mleko, 20 ÷ 23 soki.

Fig. 1. PAHs in the analysed samples: 1 ÷ 4 soup, 5 ÷ 8 dish of meat, 9 ÷ 14 dessert, 15 ÷ 17 porridge, 18, 19 milk, 20 ÷ 23 juice.

Wyniki zawartości WWA uzyskane w pracy przedstawiono na ryc.1. Większość WWA w tym benzo(a)piren stwierdzono we wszystkich badanych próbkach. Stężenia są jednak stosunkowo niewielkie, a w najwyższych ilościach występują WWA uznawane za stosunkowo nietoksyczne, np. fenantren czy antracen. Najbardziej zróżnicowaną grupą pod względem zawartości WWA okazały się desery owocowe, w których sumaryczna zawartość 23 WWA wynosiła od 6,38 $\mu\text{g}/\text{kg}$ w deserze jabłkowo-dyniowym do 60,56 $\mu\text{g}/\text{kg}$ w deserze wieloowocowym z ziarnami zbóż, co było najwyższą stwierdzoną ilością WWA. Paradoksem jest to, że produkt ten był oznaczony jako pochodzący z upraw ekologicznych!

Pozostałe rodzaje żywności zawierały bardziej ujednolicone zawartości WWA. W grupie produktów zupy jarzynowe z mięsem (kurczak, królik, cielęcina) stwierdzono WWA w zakresie 33,06 ÷ 47,33 $\mu\text{g}/\text{kg}$ przy niewielkim ok. 1,5% udziale WWA kancerogennych. Około dwukrotnie niższe zawartości WWA stwierdzono w pozostałych produktach, np. 16,1 ÷ 19,6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ w kaszkach ryżowych, czy 27,7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ w daniu: kurczak w potrawce z jarzynami.

WWA pomimo wysokiej lipofilności w niewielkich ilościach stwierdzano nawet w napojach (14), stąd stwierdzenie ich w badanych sokach, które zawierały je na poziomie 0,61 ÷ 1,29 $\mu\text{g}/\text{dm}^3$ nie budzi zdziwienia. Są to jednak ilości wyższe niż stwierdzane w naparach z herbat czarnych czy zielonych (14). Na szczęście w najwyższych ilościach występują w nich uznawane za nietoksyczne lekkie WWA odznaczające się względnie dobrą rozpuszczalnością w wodzie: naftalen, fluoren, fenantren, fluoranten, antracen i piren. Pozostałe węglowodory stwierdzono na poziomie kilku ng/dm^3 . Wyższe zawartości WWA stwierdzono w sokach przecierowych (mętnych) niż w klarownych. Stosunkowo wysoką zawartość WWA stwierdzono w herbatach rozpuszczalnych: od 15,58 $\mu\text{g}/\text{kg}$ suchego produktu w herbacie lipowej do 34,62 w herbacie z kopru włoskiego. Niepokojące jest stwierdzenie stosunkowo wysokich w porównaniu z innymi produktami zawartości WWA w mleku w proszku początkowym i następnym: odpowiednio 20,37 $\mu\text{g}/\text{kg}$ i 24,11 $\mu\text{g}/\text{kg}$. W obu produktach stwierdzono ponadto wysoki udział procentowy WWA kancerogennych, który w mleku początkowym osiągnął 7,6%, co jest najwyższą stwierdzoną wartością wśród przebadanych produktów. Znacznie wyższe, przekraczające obecnie obowiązujące normy zawartości WWA w mleku w proszku stwierdzili *Lawrens* i *Weber* (1,2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ benzo(a)pirenu) (15). Sugerują oni ponadto, że zawartość WWA w mleku w proszku zależy bezpośrednio od sposobu jego suszenia. Suszenie pośrednie, prowadzone w prawidłowych, kontrolowanych warunkach daje produkt, w którym stwierdza się co najwyżej śladowe zawartości kancerogenów, natomiast podwyższone ilości kancerogenów (WWA i NDMA) pojawiają się w produktach suszonych metodami bezpośrednimi. W zwykłym mleku WWA występują w nieznacznym ilościach. Dla porównania, benzo(a)piren w zwykłym mleku występuje w stężeniach nie przekraczających 0,02 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (16), a nawet w mleku pochodzącym z rejonów zanieczyszczonych można stwierdzić przede wszystkim niewielkie ilości WWA uznawanych za niekancerogenne (17).

Wysoki udział procentowy WWA kancerogennych (5 ÷ 7,4%) stwierdzono także w kaszkach ryżowych, przy zawartości benzo(a)pirenu 0,04 ÷ 0,09 $\mu\text{g}/\text{kg}$, podczas gdy w pozostałych produktach ich zawartość na ogół nie przekracza 2%. Są to jednak ilości znacznie niższe od spotykanych w ryżu. *Tao* i współpr. stwierdził

w ryżu 13,2 µg/kg WWA kancerogennych, co stanowi 21,3% całkowitej zawartości 15 WWA. Samego benzo(a)pirenu stwierdzono wówczas aż 3 µg/kg (18).

Pocieszające jest, że zawartość benzo[a]pirenu we wszystkich badanych produktach jest znacznie mniejsza od granicznego limitu wynoszącego 1 µg/kg. Najwyższe zawartości tego związku stwierdzono jednak w obu próbkach mleka w proszku, które zawierały $0,13 \div 0,21$ µg/kg BaP.

Przeprowadzone badania potwierdziły, że WWA są powszechnym zanieczyszczeniem żywności, a nie jest od nich wolna nawet żywność dla dzieci.

A. Ciemniak, M. A. Ochwat

A COMPARISON OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS CONTENT IN SELECTED FOOD PRODUCTS FOR INFANTS AND YOUNG CHILDREN

Summary

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are a group of organic chemicals that are formed during the incomplete burning of organic substances. PAHs can be man-made or occur naturally. They are ubiquitous environmental pollutants. Some PAHs are both genotoxic and carcinogenic. They are found as contaminants in different food categories: vegetables, fruit, cereals, oils and fats, especially barbecued and smoked food. Processing at high temperatures increases the amount of PAHs in food. Vegetables grown in contaminated soil may also contain PAHs. Numerous studies have shown that atmospheric deposit of PAHs onto grains, leafy vegetables, fruits, and oil plants constitutes an important source of PAHs in human diet. Therefore, cereals and vegetables rather than meat constitute the major dietary source of PAHs, except for populations with a high intake of meat processed over open flame.

According to the opinion of Scientific Committee on Food, benzo(a)pyrene can be used as a marker for the carcinogenic PAHs in food. The new EU legislation enacted in 2005 sets the maximum levels for benzo(a)pyrene in foodstuffs, including food for infants and young children.

The present study was carried out to determine levels of 23 PAHs in 26 selected food products for infants and young children. The analytical procedure comprised alkaline digestion, extraction with n-hexane and clean-up in a florisil cartridge. All targeted compounds were determined by gas chromatography/mass spectrometry (HP 6890/5973). Most of the PAHs were detected in all samples. The concentration of the total 23 PAHs was low and varied between 0.61 µg/kg and 60.56 pg/kg. Benzo[a]pyrene, the most carcinogenic PAH, was detected in all samples at levels ranging from 0.002 pg/kg (fruit juice) to 0.75 µg/kg (milk powder).

PIŚMIENNICTWO

1. Scientific Committee on Food: Opinion of the Scientific Committee on Food on the risk to human health of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in food. SCF/CNTM/ PAH/29 Final 4 December 2002. – 2. *Moret S., Dudine A., Conte L.S.*: Processing effects on the polyaromatic hydrocarbon content of grapeseed oil. *JAOCS*, 2000; 77(12): 1289-1292. – 3. *Saaed T., Al-Yakoob S., Al-Hashas H., Al-Bahloul M.*: Preliminary exposure assessment for Kuwaiti consumers to polycyclic aromatic hydrocarbons in seafood. *Environ. Internation.*, 1995; 21: 255-263. – 4. *Larsson B., Sahlberg G.*: Polycyclic aromatic hydrocarbons in lettuce. Influence of a highway and an aluminum smelter. *Polynuclear Aromatic Hydrocarbons: Physical and biological chemistry* (Cooke M., Denis A.J. and Fisher G.I., Eds.) 1982; 417-426. – 5. *Szteke B., Jędrzejczak R.*: Problem zanieczyszczenia żywności benzo(a)pirenem w procesach termicznych. *Przem. Ferm. i Ow. Warz.*, 1996; 2; 7-9. – 6. *Mottier P., Parisod V., Turesky R.J.*: Quantitative determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in barbecued meat sausages by gas chromatography coupled to mass spectrometry. *J. Agric Food Chem.*, 2000; 48(4): 1160-1166. – 7. *Larsson B.K., Sahlberg G., P., Erikson A., T., Busk L.Å.*: Polycyclic aromatic hydrocarbons in grilled food. *J. Agric Food Chem.* 1983; 31(4): 867-873. – 8. *Ciemniak A., Protasowicki M.*: Wielopierś-

cieniowe węglowodory aromatyczne w mięsnych i drobiowych artykułach spożywczych. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2002; 35(2): 121-125. – 9. Rozporządzenie Komisji (WE) Nr 208/2005 Dz. U. L 34/3 z 04.02.2005 r. – 10. Rozporządzenie Komisji (WE) Nr 1881/2006 z 19.12.2006 r. Dz. U. L 364/5.

11. EPA/5401/1-86/013, 1984. – 12. *Grimmer G., Böhnke H.*: Polycyclic aromatic hydrocarbon profile analysis of high protein foods, oils and fatty by gas chromatography. *J. Ass. of Anal. Chem.*, 1975; 58: 725-733. – 13. *Wilson N.K., Chuang J.C., Lyu C.*: Levels of persistent organic pollutants in several child day care centers. *J. Expos. Anal. Environ Epidemiol* 2001; 11(6): 449-458. – 14. *Ciemniak A.*: Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA) w naparach herbat ziołowych i owocowych. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2004; 37(1): 25-35. – 15. *Lawrence J.F., Weber D.F.*: Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in Canadian samples of processed vegetable and dairy products by liquid chromatography with fluorescence detection. *J. Agric. Food Chem.* 1984; 32: 794-797. – 16. *Kazerouni N., Sinha R., Che-Han Hsu, Greenberg A., Rothman N.*: Analysis of 200 food items for benzo[a]pyrene and estimation of its intake in an epidemiologic study. *Food Chem. Toxicol.*, 2000; 39: 423-436. – 17. *Grova N., Feidt C., Crepineau C., Laurent C., Lafargue P.E., Hahimi A., Rychen G.*: Detection of polycyclic aromatic hydrocarbon levels in milk collected near potential contamination sources. *J. Agric. Food Chem.* 2002; 50: 4640-4642. – 18. *Tao S., Jiao X.C., Chen S.H., Liu W.X., Coveney Jr. R.M., Zhu L.Z., Luo Y.M.*: Accumulation and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in rice (*Oryza sativa*). *Environ. Pollut.* 2006; 140: 406-415.

Adres: 71-459 Szczecin, ul. Papieża Pawła VI 3.