

HANNA MOJSKA, IWONA GIELECIŃSKA, LUCJAN SZPONAR

## BADANIA NAD ZAWARTOŚCIĄ AKRYLOAMIDU W PRZETWORACH ZBOŻOWYCH

### Streszczenie

Akryloamid jest związkem szkodliwym dla zdrowia, dlatego też zgodnie z zaleceniem Komisji UE nr 2007/331/WE istnieje potrzeba monitorowania jego zawartości w produktach spożywczych wysoko węglowodanowych.

Celem badań było określenie zawartości akryloamidu w wybranych grupach produktów zbożowych. Oznaczenie wykonywano metodą chromatografii gazowej sprzężonej z tandemową spektrometrią mas, która charakteryzowała się dobrym współczynnikiem zmienności metody (RSD < 5,9 %) i granicą oznaczalności w przetworach zbożowych (z wyłączeniem pieczywa) na poziomie 37 µg/kg produktu.

Największą zawartością akryloamidu wśród przebadanych przetworów zbożowych charakteryzowały się krakersy – 859 µg/kg, najmniejszą natomiast płatki owsiane – 23 µg/kg produktu.

**Słowa kluczowe:** akryloamid, przetwory zbożowe, metoda GC-MS/MS, monitoring

### Wprowadzenie

Akryloamid jest związkiem powstającym przede wszystkim w produktach wysoko węglowodanowych, poddanych obróbce termicznej (temp. > 120 °C), jako jeden z produktów reakcji Maillarda zachodzącej pomiędzy wolną asparaginą i cukrami redukującymi [9, 11]. W licznych badaniach, zarówno zwierząt doświadczalnych, jak i ludzi, wykazano, że akryloamid ma działanie neurotoksyczne [3, 6, 8]. W przypadku zwierząt doświadczalnych wykazano również jego działanie genotoksyczne i kancerogenne [1, 4, 5].

Ze względu na potencjalnie niekorzystne działanie akryloamidu, w maju 2007 r. zostało wydane zalecenie Komisji UE nr 2007/331/WE w sprawie monitorowania poziomów akryloamidu w żywności w latach 2007 – 2009, we wszystkich krajach UE, z zastosowaniem metod o granicy oznaczalności 30 µg/kg w pieczywie oraz 50 µg/kg w innych przetworach zbożowych.

Najczęściej stosowanymi technikami do oznaczania zawartości akryloamidu w żywności są chromatografia gazowa sprzężona ze spektrometrią mas (GC-MS) oraz chromatografia cieczowa sprzężona z tandemową spektrometrią mas (LC-MS/MS).

Celem pracy było określenie zawartości akryloamidu w wybranych grupach produktów zbożowych z wykorzystaniem metody GC-MS/MS z derywatyzacją.

### **Material i metody badań**

Material do badań stanowiły próbki przetworów zbożowych losowo pobranych na terenie całego kraju w 2006 r. Łącznie przebadano 53 produkty, w tym: po 10 próbek płatków kukurydzianych i owsianych, 10 próbek krakersów, 11 próbek paluszków oraz 12 próbek ciastek. Jedną próbkę stanowiły dwa opakowania handlowe danego produktu, z tej samej daty i serii produkcji, w ilości nie mniejszej niż 250 g.

Do homogenizowanej próbki przetworów zbożowych (3 g) dodawano 100  $\mu$ l roztworu wzorcowego – akryloamidu deuterowanego ( $d_3$  – akryloamidu;  $c = 100 \mu\text{g/ml}$ ). Próbkę ekstrahowano wodą destylowaną i heksanem, odwirowywano (10 000 obr./min, 10 min), usuwano warstwę heksanową, a warstwę wodną ogrzewano w łaźni wodnej (temp. 60 °C, 2 h) i poddawano całonocnemu bromowaniu (KBr, HBr +  $\text{KBrO}_3$ ) w temp.  $\sim 0$  °C. Nadmiar bromu zobojętniano 1 M roztworem tiosiarczanu sodu, a następnie 2-krotnie ekstrahowano octanem etylu. Po rozdzieleniu się warstw, każdorazowo pobierano warstwę organiczną i przenoszono do ampulki szklanej. Po odparowaniu do sucha pod azotem, do próbki dodawano octan etylu i przenoszono do autosamplera [2, 12].

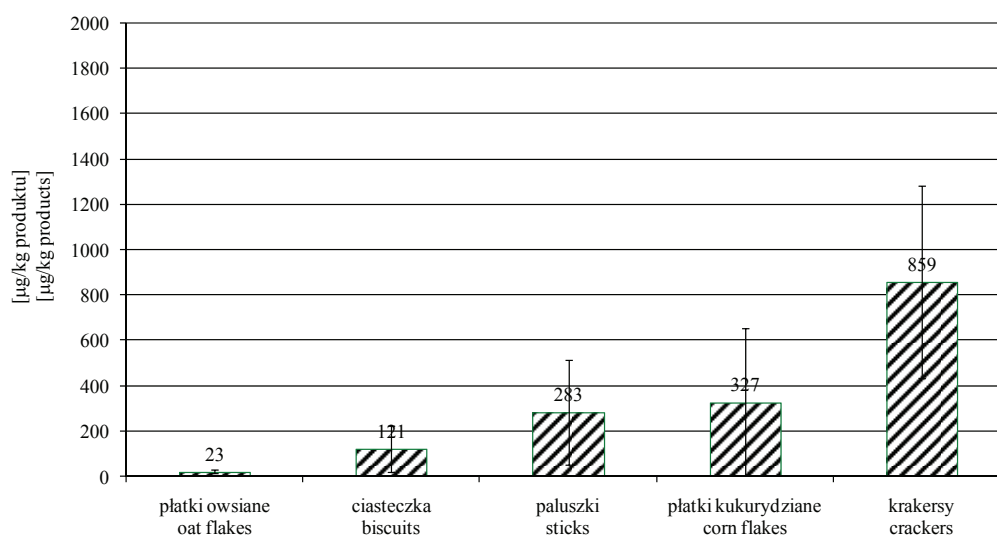
Oznaczenie zawartości dibromowych pochodnych akryloamidu wykonywano metodą chromatografii gazowej z użyciem aparatu GCQ firmy Finnigan wyposażonego w detektor masowy z pułapką jonową oraz dozownik typu split/splitless. Próbkę w ilości 1  $\mu$ l analizowano techniką MS/MS z wykorzystaniem EI (70 eV). Analizę zawartości akryloamidu prowadzono w kolumnie chromatograficznej (DB-35MS): dł. 30 m, śr. 0,25 mm, film 0,25  $\mu\text{m}$ . Pierwszym krokiem było uzyskanie jonu prekursora  $m/z$  152 pochodzącego od dibromopochodnej akryloamidu oraz  $m/z$  155 pochodzącego od dibromopochodnej akryloamidu deuterowanego, a następnie w wyniku kolizji MS/MS, uzyskiwano jony potomne:  $m/z$  152  $\rightarrow$   $m/z$  135 i  $m/z$  155  $\rightarrow$   $m/z$  137. Stosunek pola powierzchni pod pikiem pochodzącym od jonów  $m/z$  135 i  $m/z$  137 był użyty do obliczeń ilościowych. Warunki analizy chromatograficznej [2, 12]:

- gaz nośny: He, przepływ gazu stały: 40  $\text{cm}^3/\text{s}$ ,
- program temperaturowy pieca: temp. nastrzyku 65 °C, wzrost temp. 1 °C przez 15 min do 250 °C, czas analizy 23,33 min, linia transferowa: 250 °C, temperatura źródło jonów: 180 °C.

Identyfikację badanych związków przeprowadzano na podstawie czasu ich retencji i widma masowego. Wynik został przyjęty jako średnia z trzech równoległych oznaczeń.

### Wyniki i ich omówienie

Metoda GC-MS/MS z derywatyzacją, zastosowana do oznaczania zawartości akryloamidu w przetworach zbożowych, charakteryzowała się dobrym współczynnikiem zmienności (RSD), który wynosił odpowiednio: 2,38 % (płatki owsiane), 2,97 % (krakersy), 3,19 % (słone paluszki), 4,88 % (płatki kukurydziane) i 5,86 % (ciastka). Przyjęta granica oznaczalności w tych produktach, wynosząca 37  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , jest zgodna z zaleceniem Komisji UE (2007/331/WE). Biegłość analityczną potwierdzono w porównaniach międzynarodowych, w zakresie zawartości akryloamidu w pieczywie chrupkim (FAPAS/2006/3014/-1,5).



Rys. 1. Średnia zawartość akryloamidu w wybranych grupach produktów zbożowych, pobranych z rynku na terenie całej Polski w 2006 r. (n = 53).

Fig. 1. Acrylamide content in the selected groups of cereal products, collected from the markets across Poland in 2006 (n = 53).

Najmniejszą zawartością akryloamidu wśród badanych przetworów zbożowych charakteryzowały się płatki owsiane, które zawierały średnio 23  $\mu\text{g}/\text{kg}$  tej substancji, przy czym wartości te wahały się od 11 do 41  $\mu\text{g}/\text{kg}$  w zależności od produktu (rys. 1). Ponad 12-krotnie wyższą zawartość akryloamidu stwierdzono w płatkach kukurydzianych. Średnia zawartość akryloamidu w tej grupie produktów wynosiła 327  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Szczegółowa analiza wyników wykazała, że badane próbki płatków kukurydzianych

zawierały od 70 do 429  $\mu\text{g}$  akryloamidu na kg produktu, jedynie w 1 próbce było 1186  $\mu\text{g}/\text{kg}$  produktu. Wyniki badań własnych były zbliżone do danych z innych ośrodków europejskich, w których uzyskano zawartość akryloamidu np. w płatkach śniadaniowych w zakresie od 30 do około 1400  $\mu\text{g}/\text{kg}$  [7, 10].

Wśród produktów przekąskowych największą zawartość akryloamidu stwierdzono w krakersach – 859  $\mu\text{g}/\text{kg}$  produktu (zakres 566 ÷ 2017  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ). W słonych paluszkach było ponad 3-krotnie mniej akryloamidu niż w krakersach – 267  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (91 ÷ 742  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ). Najmniejszą zawartość akryloamidu w grupie zbożowych przekąsek stwierdzono w ciastkach – 121  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (28 ÷ 355  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) (rys. 1). W jednej próbce krakersów zawartość akryloamidu była ponad 2,5 raza większa od wartości średniej, osiągając 2017  $\mu\text{g}/\text{kg}$  produktu. Podobną sytuację stwierdzono w grupie paluszków i ciastek, w których zawartość tej substancji była w jednej próbce ponad 2-krotnie większa od wartości średniej całej grupy i wynosiła 742  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (paluszki) oraz 355  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (ciastka). Podobne wyniki uzyskano w innych krajach europejskich, gdzie stwierdzano zawartość akryloamidu w ciastkach, krakersach, itp. produktach w zakresie od 30 do nawet 3200  $\mu\text{g}/\text{kg}$  [7, 10].

W badanych przetworach zbożowych zaobserwowano zależność między stopniem przypieczenia a zawartością akryloamidu w produkcie. Im ciemniejsza była barwa produktu tym większa zawartość akryloamidu.

Przeprowadzone badania dowodzą, że konieczne jest dalsze prowadzenie oznaczeń akryloamidu w większej liczbie produktów, aby można było monitorować rynek produktów wysoko węglowodanowych w sposób ciągły.

## Wnioski

1. Zastosowana metoda oznaczania akryloamidu (GC-MS/MS) z derywatyzacją jest odpowiednia do badania przetworów zbożowych, ale ze względu na liczne etapy przygotowania próbki do analizy jest metodą bardzo czasochłonną.
2. Największą zawartość akryloamidu wśród przebadanych przetworów zbożowych stwierdzono w krakersach – 859  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Prawie 3-krotnie mniejszą zawartością badanego związku charakteryzowały się płatki kukurydziane – 327  $\mu\text{g}/\text{kg}$  oraz słone paluszki – 283  $\mu\text{g}/\text{kg}$ .
3. Najmniejszą zawartość akryloamidu oznaczono w ciastkach – 121  $\mu\text{g}/\text{kg}$  oraz w płatkach owsianych – 23  $\mu\text{g}/\text{kg}$ .
4. Ze względu na powszechność występowania akryloamidu w produktach zbożowych poddawanych obróbce cieplnej, konieczne jest stałe monitorowanie zawartości tego związku w produktach rynkowych.

*Praca była prezentowana podczas VI Konferencji Naukowej nt. „Nowoczesne metody analityczne w zapewnieniu jakości i bezpieczeństwa żywności”, Warszawa, 6 - 7 grudnia 2007 r.*

## Literatura

- [1] Bull R.J., Robinson M., Laurie R.D., Stoner G.D., Greisiger E., Meier J.R.J., Stober J.: Carcinogenic effects of acrylamide in Sencar and A/J mice. *Cancer Res.* 1984, **44**, 107.
- [2] Castle L.: Determination of acrylamide monomer in mushrooms grown on polyacrylamide gel. *J. Agric. Food Chem.* 1993, **41**, 1261-1263.
- [3] Costa L.G.: Biomarker research in neurotoxicology: the role of mechanistic studies to bridge the gap between the laboratory and epidemiological investigation. *Environ. Health Perspect.* 1996, **104**, suppl. 1, 55-67.
- [4] Friedman M.A., Dulak L.H., Stedham M.A.: A lifetime oncogenicity study in rats with acrylamide. *Fundam. Appl. Toxicol.* 1995, **27** (1), 95-105.
- [5] Granath F.N., Vaca C.E., Ehrenberg L.G., Tornqvist M.A.: Cancer risk estimation of genotoxic chemicals based on target dose and multiplicative model. *Risk Anal.* 1999, **19** (2), 309-320.
- [6] He F.S., Zhang S.L., Wang H.L., Li G., Zhang Z.M., Li F.L., Dong X.M., Hu F.R.: Neurological and electroneuromyographic assessment of the adverse effects of acrylamide on occupationally exposed workers. *Scand. J. Work Environ. Health* 1989, **15** (2), 125-129.
- [7] Scientific Committee on Food: Opinion of the on new finding regarding the presence of acrylamide in food. SCF/CS/CNTM/CONT/4 Final. 3 July 2002. Brussels, Belgium [http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out131\\_en.pdf](http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out131_en.pdf).
- [8] Sickles D.W., Stone J.D., Friedman M.A.: Fast axonal transport: A site of acrylamide neurotoxicity? *Neurotoxicology*, 2002, **23**, 223-251.
- [9] Stadler R.H., Scholz G.: Acrylamide: An update on current knowledge in analysis, levels in food, mechanisms of formation, and potential strategies of control. *Nutr. Rev.* 2004, **62**, 449-467.
- [10] Svenson K., Abramsson L., Becker W., Glynn A., Hellenäs K.-E., Lind Y., Rosén J.: Dietary intake of acrylamide in Sweden. *Food Chem. Toxicol.* 2003, **41**, 1581-1586.
- [11] Taeymans D., Wood J.: A review of acrylamide: An industry perspective on research, analysis, formation, and control. *Critic. Rev. Food Sci. Nutr.*, 2004, **44**, 323-347.
- [12] Takere E., Rydberg P., Karlsson P., Eriksson S., Tornqvist M.: Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated foodstuffs. *J. Agric. Food Chem.* 2002, **50**, 4998-5006.

### STUDY ON THE ACRYLAMIDE CONTENT IN PROCESSED CEREAL PRODUCTS

#### Summary

Acrylamide is a compound detrimental to health, therefore, pursuant to the EU Commission Recommendation No. 2007/331/EC, it is necessary to monitor its content in food products with high levels of carbohydrates.

The objective of the paper was to determine the content level of acrylamide in some selected groups of cereal products. The determination was performed using a method of gas chromatography coupled with a tandem mass spectrometry (GC-MS/MS). The method applied was characterized by a good coefficient of variation (RSD < 5.9%) and by a limit of determining this compound in processed cereal products (except for bread products) represented by the detection limit of 37 µg/kg.

Among all the processed cereal products tested, crackers were the products with the highest amount of acrylamide: 859 µg/kg, whereas oat flakes has the lowest level of acrylamide: 23 µg/kg.

**Key words:** acrylamide, processed cereal products, GC-MS/MS method, monitoring 