

DOROTA KOWALSKA, ELIZA GRUCZYŃSKA, MAŁGORZATA KOWALSKA,
MARIOLA KOZŁOWSKA, BOLESŁAW KOWALSKI

CHLOROPROPAÑOŁE, CHLOROPROPAÑODIOŁE I ICH ESTRY W ŻYWNOŚCI

Streszczenie

Związki: 3-monochloropropano-1,2-diol (3-MCPD), 2-monochloropropano-1,3-diol (2-MCPD), 1,3- i 2,3-dichloropropanole (1,3-DCP i 2,3-DCP) oraz ich estry należą do grupy tzw. zanieczyszczeń procesowych żywności. 3-MCPD wykryto jako pierwszy, w 1978 roku w produktach kwasowej hydrolizy białek roślinnych, a jego estry zidentyfikowano w 1980 r. W 2006 roku stwierdzono obecność dużych ilości estrów 3-MCPD w rafinowanych olejach roślinnych. Od ponad 35 lat prowadzone są badania nad mechanizmami powstawania wymienionych związków w żywności bogatej w tłuszcz, ogrzewanej do wysokiej temperatury. Do produktów narażonych na zanieczyszczenie związkami 3-MCPD i jego estrami w trakcie procesu technologicznego należą m.in. oleje rafinowane, frytki, chipsy, pieczywo, produkty wędzone. W pracy przedstawiono stan badań dotyczący powstawania 3-MCPD i jego estrów, występowania w żywności, aspektów analitycznych i toksykologicznych oraz uregulowań prawnych. Opisano także sposoby redukcji zawartości 3-MCPD i jego estrów w żywności.

Słowa kluczowe: chloropropanole, chloropropanodiole, 3-MCPD, estry 3-MCPD, zanieczyszczenia procesowe żywności

Wprowadzenie

Produkowane w skali przemysłowej i stosowane w wielu gałęziach gospodarki związki: 3- i 2-chloropropanole (3-CP, 2-CP), 1-chloroizopropanol, 1,3- i 2,3-dichloropropanole (1,3-DCP i 2,3-DCP) oraz 3-chloro-1,2-propanodiol (3-MCPD) i 2-chloro-1,3-propanodiol (2-MCPD) są szkodliwe, a nawet potencjalnie kancerogenne, co wykazano w badaniach z udziałem zwierząt doświadczalnych [72]. Obecność

Dr D. Kowalska, dr hab. inż. E. Gruczyńska, dr M. Kozłowska, prof. dr hab. B. Kowalski, Katedra Chemii, Wydz. Nauk o Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa, dr inż. M. Kowalska, Katedra Chemii, Wydz. Materiałoznawstwa, Technologii i Wzornictwa, Uniwersytet Technologiczno-Humanistyczny, ul. Chrobrego 27, 26-600 Radom. Kontakt: dorota_kowalska@sggw.pl

3-MCPD wykryto w 1978 roku w kwasowych hydrolizatach białek roślin oleistych (HVP), a obecność 2- i 3-MCPD, 1,3-DCP i 2,3-DCP oraz estrów tych związków z kwasami tłuszczowymi stwierdzono w różnych hydrolizatach i w badaniach modelowych acylogliceroli w roku 1980 [13, 73].

Celem pracy było przedstawienie stanu badań dotyczących obecności w żywności chloropropanoli, chloropropanodiolu oraz ich estrów. Szczególną uwagę zwrócono na mechanizmy oraz warunki powstawania tych związków, ich analityczne oznaczenie i możliwości eliminowania z żywności.

Powstawanie chloropropanodiolu i dichloropropanoli w żywności

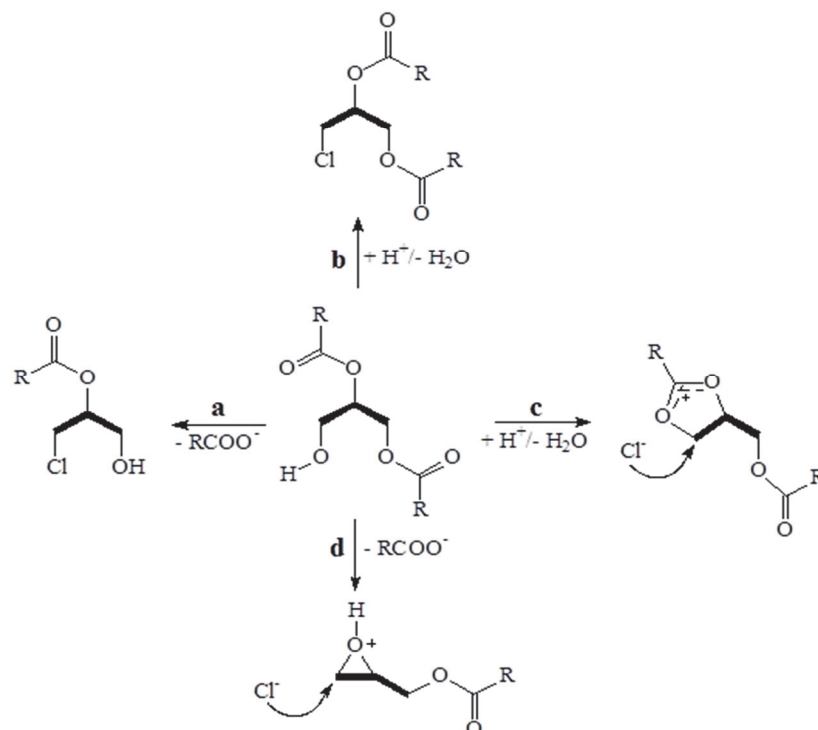
Związki: 3-MCPD, 2-MCPD, 1,3-DCP i 2,3-DCP należą do grupy tzw. zanieczyszczeń procesowych żywności [77]. Powstają w procesach produkcyjnych niektórych typów żywności, zwłaszcza w technologiach, w których stosuje się ogrzewanie, takich jak: hydroliza, odwanianie olejów, smażenie, pieczenie itp. Temperatura tych procesów zwykle przekracza 150 °C, przy jednocześnie niskiej aktywności wody ($0,15 \leq a_w \leq 0,30$). Oprócz przypadków stwierdzenia obecności estrów 3-MCPD w mleku kóz [6] i w mleku kobiet [81], wynikających z akumulacji tych związków, które pochodziły z paszy czy diety, uważa się, że obecność 3- i 2-MCPD oraz 1,3 i 2,3-DCP w żywności jest wynikiem reakcji anionów chlorkowych z acyloglicerolami. Główne chloroorganiczne zanieczyszczenia żywności to 3-MCPD i jego estry, natomiast 2-MCPD, 1,3- i 1,2-DCP występują w znacząco mniejszych ilościach lub są nieobecne [44, 66]. Z tego względu większość analityków koncentruje się na badaniu i oznaczaniu 3-MCPD. Obecnie przyjmuje się, że istnieją cztery podstawowe mechanizmy powstawania estrów 3-MCPD, głównie w schemacie: diacyloglicerol + jon chlorkowy \rightarrow ester 3-MCPD. Mechanizmy te polegają na substytucji nukleofilowej SN2 anionu chlorkowego w cząsteczkach acylogliceroli [34, 59]. Dwa z proponowanych mechanizmów polegają na bezpośrednim nukleofilowym oddziaływaniu Cl^- na glicerolowy atom węgla w acyloglicerolu, połączony z grupą estrową albo z grupą hydroksylową (rys. 1a i 1b).

Pozostałe dwa mechanizmy zakładają powstanie jonu acylooksoniowego albo pierścienia epoksydowego przed działaniem jonu Cl^- (rys. 1c i 1d). Glicydol (2,3-epoksy-propan-1-ol) w obecności HCl i pod wpływem ciepła może ulegać interkonwersji pomiędzy 3-MCPD i 2-MCPD. Mechanizmy powstawania MCPD i DCP oraz ich estrów zostały przedstawione w wielu publikacjach [9, 14, 34, 59, 60, 67, 71]. Analizowana jest także możliwość udziału związków chloroorganicznych rozpuszczalnych w fazie olejowej w powstawaniu 3-MCPD i jego estrów [53, 58]. Nagy i wsp. [55] stwierdzili, że związki chloroorganiczne występujące w palmie oleistej ulegają rozkładowi w procesie otrzymywania oleju palmowego z wydzieleniem HCl, co zwiększa stężenie jonów chlorkowych. W 2006 roku oznaczono znaczące zawartości 3-MCPD

(> 0,02 mg/kg) w wędzonych kiełbasach, szynkach, rybach i innych wędzonkach. Uznano, że w przeciwieństwie do HVP, pieczywa czy olejów rafinowanych, powstawanie 3-MCPD w wędzonkach wynika z obecności 3-hydroksyacetonu w dymie wędzarniczym [45].

Estry chloropropanoli i chloropropanodioli

Wcześniejsze (do 2004 roku) prace badawcze i monitoring produktów spożywczych koncentrowały się na problemach powstawania i oznaczania głównie 3-MCPD, w mniejszym zaś stopniu na 2-MCPD oraz 1,3- i 2,3-DCP. W pracach prowadzonych od 2004 roku podkreśla się, że związki te, zwłaszcza 3-MCPD i 2-MCPD, występują w niektórych typach żywności (oleje rafinowane, frytki, chipsy, pieczywo, pączki itp.) w postaci mono- lub diestrów kwasów tłuszczowych. Podawane są przykłady żywności, w której estry 3-MCPD z kwasami tłuszczowymi występują w stężeniu kilku lub nawet kilkuset razy większym niż wolny 3-MCPD [70]. Wprowadzono termin "chloropropanodiole związane" [70], np. 3-MCPD związany, oznaczany jako 3-MCPD-E (E – od ester) czy 3-MCPD-PP lub 3-MCPD-O, co oznacza odpowiednio: dipalmitynian lub oleinian 3-MCPD. Seefelder i wsp. [65] oraz Schilter i wsp. [64] wykazali, że ze względu na analogie strukturalne acylogliceroli oraz estrów kwasów tłuszczowych z 3-MCPD, estry te są hydrolizowane lipazami jelitowymi w układzie *in vitro*. Z lipolizy przeprowadzonej w układzie modelowym wynika, że wydajność powstającego 3-MCPD z jego monoestrów wynosi powyżej 95 % po 1 min procesu. Diestry 3-MCPD hydrolizują oporniej, osiągając wydajność 3-MCPD: 45, 65 i 95 % po inkubacji w ciągu odpowiednio: 1, 5 i 90 min. Burke i wsp. [5], wykorzystując badania z linią komórkową Caco-2, wskazują także na różnice w hydrolizie, przyswajaniu i dalszym metabolizmie mono- i diestrów 3-MCPD. W badaniach zawartości estrów 3-MCPD w typowych tłuszczach spożywczych stwierdzono, że zawierają one 7 ÷ 15 % monoestrów, resztę stanowią diestry. Stwierdzono również, że w warunkach rzeczywistej lipolizy w organizmie człowieka nie można oczekiwać 100-procentowej hydrolizy diestrów 3-MCPD. Założenie o całkowitej hydrolizie estrów 3-MCPD przez lipazy jelitowe jest jednak nadal formułowane w różnych projektach. Karasek i wsp. [40] oraz Matthäus i wsp. [52] podają przyjmowanie 100-procentowej hydrolizy estrów 3-MCPD przez Niemiecki Instytut Oceny Ryzyka oraz przez Europejski Urząd Bezpieczeństwa Żywności (EFSA) w obliczaniu potencjalnej zawartości 3-MCPD w żywności. W miarę rozwoju metod badań i aparatury zagadnienie zanieczyszczeń żywności przez estry MCPD i DCP jest opisywane bardziej szczegółowo [40, 65, 76].



Rys. 1. Schemat powstawania estrów 3-MCPD. Bezpośredni atak nukleofilowy anionu chlorkowego na: a) glicerolowy atom węgla połączony z grupą estrową, b) glicerolowy atom węgla połączony z grupą hydroksylową, c) powstały jon acylooksoniowy, d) powstały pierścień epoksydowy (szkielet glicerolowy pogrubiono)

Fig. 1. Pathways of 3-MCPD esters formation. Direct nucleophilic attack of chloride anion on: a) glycerol carbon atom bonded with ester group, b) glycerol carbon atom bonded with hydroxyl group, c) acyloxonium ion d) epoxide ring (glycerol backbone bolded)

Opracowano na podstawie: / Based on: [59]

Regulacje prawne

Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (IARC) klasyfikuje wolny 3-MCPD i glicydotol odpowiednio jako “możliwe, że kancerogeny – Grupa 2B” i “prawdopodobnie kancerogeny – Grupa 2A” [37]. Podkreślana jest waga problemu ze względu na powszechność, częstotliwość i ilość spożywanych produktów, jeżeli nawet jednostkowa zawartość 3-MCPD, 2-MCPD, 1,3-DCP czy 2,3-DCP w danym produkcie nie jest zbyt duża. Szczególne znaczenie mają takie produkty, jak: rafinowane oleje roślinne, pieczywo, sosy, chipsy i frytki. Dotychczas określono wymagania odnoszące się do hydrolizowanych roślinnych preparatów białkowych oraz sosów so-

jowych i produktów pochodnych. Nadal brak jest regulacji dotyczących estrów chloropropanoli, chloropropanodioli i glicydołu.

Związek 3-MCPD metabolizowany jest albo przez aldehyd β -chlorooctowy i utlenienie grupy aldehydowej do kwasu szczawiowego, albo przez glicydol do glicerolu lub do N-acetylo-S-(2,3-dihydroksypropylo)-cysteiny [72]. Schilter i wsp. [64] oraz Burke i wsp. [5] zwracają uwagę na to, że mimo braku bezpośrednich badań dotyczących ludzi, możliwość hydrolizy estrów 3-MCPD i związków pokrewnych w układzie jelitowym nie może być rozpatrywana bez uwzględnienia problemów toksykologicznych. Z uwagi na opinie ekspertów i organizacji legislacyjnych, że 3-MCPD jest genotoksyczny *in vitro*, chociaż brak jest dowodów jego genotoksyczności *in vivo*, w marcu 2001 roku Komisja Europejska przyjęła rozporządzenie nr 466/201 zmodyfikowane w 2006 r. [63], w którym określono limit dopuszczalnej zawartości 3-MCPD w kwasowych hydrolizatach białek roślin oleistych (HVP) i w sosie sojowym. W rozporządzeniu nr 1881/2006 z 19 grudnia 2006 roku [63] ustanowiono tzw. dopuszczalne dzienne spożycie 3-MCPD z HVP lub z sosu sojowego na poziomie 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ masy ciała konsumenta. Maksymalna dopuszczalna zawartość 3-MCPD w HVP i w sosie sojowym może wynosić do 20 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Limit zawartości 3-MCPD został wyznaczony przy założeniu, że ciekły produkt zawiera 40 % suchej masy, co odpowiada zawartości w niej 50 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 3-MCPD. W przepisach krajowych dopuszczalną zawartość 3-MCPD w HVP i w sosie sojowym reguluje rozporządzenie Ministra Zdrowia z 13 stycznia 2003 roku [62]. Zgodnie z nim maksymalny poziom zanieczyszczenia 3-MCPD w hydrolizowanym białku roślinnym i w sosie sojowym może wynosić do 0,02 mg/kg, co odpowiada 0,05 mg/kg produktu o 40-procentowej zawartości suchej masy. Nie ustalono ani unijnych, ani krajowych regulacji dotyczących zawartości 3-MCPD w innych produktach spożywczych. Nie ma też uregulowań dotyczących innych niż 3-MCPD chloropochodnych propanoli i propanodioli. Obecnie 3- i 2-MCPD i ich estry oraz estry glicydowe monitorowane są zgodnie z zaleceniem Komisji UE z dnia 10.09.2014 [79].

Występowanie 3-MCPD w produktach spożywczych

W literaturze przedmiotu analizowane są warunki powstawania 3-MCPD i dane dotyczące zawartości 3-MCPD i jego estrów w takich produktach, jak: oleje roślinne [47, 80], pieczywo i produkty zbożowe [20, 33], ciasta [30 - 32], smażone produkty ziemniaczane [38, 82], kawa [19], substytuty kawy i ekstrakty słodowe [18], śmietanki do kawy [41], żywność dla niemowląt i dla dzieci [83]. Na uwagę zasługują krajowe prace zespołu z Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego [26, 68] dotyczące zawartości estrów MCPD w artykułach spożywczych pochodzących z handlu detalicznego oraz badania prowadzone przez zespół z Politechniki Gdańskiej [27, 39].

Przykładowe zawartości niezwiązanego 3-MCPD w różnych produktach spożywczych opublikowali Hamlet i wsp. [29], a 3-MCPD związanego w postaci estrów w żywności – także Hamlet i wsp. [34]. Nowe dane dotyczące zawartości estrów 3-MPCD w żywności zawierają prace grupy autorów stowarzyszonych w Międzynarodowym Instytucie Nauk o Życiu [12] oraz MacMahona i wsp. [47]. Chung i wsp. [7] podają wyniki oznaczeń 3-MCPD i DCP w 318 próbkach artykułów spożywczych z handlu detalicznego w Hongkongu.

Oznaczanie 3-MCPD i jego estrów

Ilościowe oznaczanie zawartości chloropochodnych propanodioli i propanoli (na poziomie mikrogramów na kg produktu) jest zagadnieniem złożonym i analitycznie trudnym. 3-MCPD, 2-MCPD, 1,3 DCP i 2,3 DCP mimo prostej budowy chemicznej odznaczają się pewnymi specyficznymi właściwościami. Związki te nie zawierają odpowiedniej grupy chromoforowej, są wysokowrzące, silnie polarne i mają małą masę molową. To wyklucza lub znacząco utrudnia zastosowanie technik eksperymentalnych i detekcyjnych typowych w metodach chromatografii gazowej (GC) bądź zmusza do stosowania oznaczeń pośrednich poprzez syntezę pochodnych. Najczęściej stosowane są metody oznaczeń GC z detekcją MS czy MS/MS, po przeprowadzeniu 3-MCPD w jego lotne pochodne w reakcjach z heptafluorobutyro-imidazolem (HFBI) lub kwasem fenyloborowym (PBA). Rzadziej otrzymywane są pochodne ketonowe, głównie acetonowe, prowadzące do lotnych dioksolanów.

W USA (AOAC Official Method 2000.01 [4]) i w Europie (EN 14573 [56]) opracowano robocze procedury oznaczeń, dlatego według wielu opinii metoda z użyciem HFBI jest obecnie najczęściej stosowana. Dodatkową zaletą tej metody jest możliwość jednoczesnego oznaczenia 3-MCPD, 2,3-DCP i 1,3-DCP. Jest to podkreślane w porównaniach ww. metody z otrzymywaniem lotnych pochodnych 3-MCPD z PBA, która nie nadaje się do oznaczeń 1,3- i 2,3- dichloropropanoli. Heptafluorobutyroimidazol (HFBI) jest jednak nieodporny na wilgoć, co powoduje konieczność otrzymywania pochodnych 3-MCPD w środowisku bezwodnym. Dodatkowo pochodne DCP z HFBI są nietrwałe i wymagają natychmiastowego oznaczenia po derywatywacji. Kaze i wsp. podają [43], że z wymienionych powodów odczynnikiem najczęściej stosowanym do derywatywacji 3-MCPD jest PBA. Związek ten może być jednak stosowany tylko do derywatywacji dioli, co uniemożliwia jego użycie do jednoczesnego oznaczania MCPD i DCP.

Stosowane metody oznaczeń dzielą się na bezpośrednie i pośrednie. Metody bezpośrednie, niewymagające otrzymywania pochodnych, to głównie techniki chromatografii cieczowej (LC). Wymagają one jednak stosowania dużej liczby wzorców analitycznych (estrów 3-MCPD z różnymi kwasami tłuszczowymi), w tym wzorców izotopowo znakowanych. Haines i wsp. [28] opisują zastosowanie bezpośrednich

oznaczeń estrów kwasów tłuszczowych z 3-MCPD i z glicydołem w systemie LC-TOF-MS (TOF – *Time of Flight*). Metodę bezpośredniego, jednoczesnego oznaczania estrów 3-MCPD i estrów glicydolu techniką LC-TOF-MS zastosowali Hori i wsp. [35]. MacMahon i wsp. [47 - 49] opublikowali serię prac dotyczących bezpośredniego oznaczania estrów MCPD, w tym: zasady oznaczania monoestrów 3-MCPD oraz estrów glicydolu w olejach rafinowanych [49]. Autorzy opracowali metodę (z walidacją) bezpośredniego oznaczania diestrów 3-MCPD. Przedstawili także wyniki oznaczeń diestrów nasyconych kwasów tłuszczowych (C12 - C18) oraz kwasów C18:1, C18:2 i C18:3 z 3-MCPD w różnych matrycach [48]. Podsumowaniem tej serii jest publikacja [47], w której autorzy przytaczają wyniki bezpośrednich oznaczeń sumarycznej zawartości estrów 3-MCPD, z podziałem na zawartość estrów poszczególnych kwasów tłuszczowych w 116 próbkach różnych olejów jadalnych oraz szorteningów pochodzących z handlu detalicznego USA. Praca ta zawiera również wyniki oznaczeń estrów glicydolu w ww. olejach. Xu i wsp. [78] opisali sposób oznaczania 1,3-DCP, 2,3-DCP, 3-MCPD, 2-MCPD) w sosach sojowych metodą GC-MS/MS bez otrzymywania ich pochodnych. Granice wykrywalności wymienionych wyżej związków wynosiły $1,0 \div 5,0 \mu\text{g/kg}$. W metodach pośrednich próbka przed derywatyzacją i oznaczeniem 3-MCPD musi być poddana hydrolizie (lub częściej transestryfikacji z metanolem) uwalniającej z estru niezwiązany 3-MCPD, który dalej przekształcany jest w lotne pochodne. Stosowane są metody hydrolizy lub transestryfikacji kwasowej [17] z użyciem kwasu siarkowego jako katalizatora lub transestryfikacji zasadowej katalizowanej metanolanem sodowym [75]. Procesy hydrolizy i przeestryfikowania kwasowego, jako reakcje osiągające stan równowagi, wymagają długotrwałych zabiegów laboratoryjnych w celu uzyskania zadowalających wydajności. Stosowanie katalizatorów alkalicznych (MeONa), jakkolwiek szybkie (do 10 min), może powodować straty analitu. Uwalniany z estru 3-MCPD może w obecności MeONa rozkładać się poprzez glicydol do glicerolu [36]. Próby opóźniania tego rozkładu przez obniżanie temperatury skutkowały wydłużaniem czasu reakcji do kilkunastu godzin, a więc utratą podstawowej zalety przeestryfikowania w środowisku alkalicznym. Wadą tej metody jest jej niespecyficzność, ponieważ oprócz związanego 3-MCPD obejmuje także acyloglicerole i estry kwasów tłuszczowych z glicydołem. Oczywiście MeONa nie może być używany do przeestryfikowań w olejach “kwaśnych” tj. o dużej zawartości wolnych kwasów tłuszczowych. W 2011 roku Kuhlmann [44] przedstawił metodę równoległego oznaczania w oleju roślinnym estrowo związanym 3-MCPD, 2-MCPD i glicydolu. Metoda ta (znana jako metoda Kuhlmann lub metoda SGS) polega na ulepszeniu alkalicznego sposobu uwalniania wolnego glicydolu i chloropropanodioli z ich estrów, a następnie przekształceniu glicydolu w monobromopropanodiol (MBPD). Po derywatyzacji z PBA, otrzymane pochodne MBPD i MCPD są oznaczane metodą GC-MS z wykorzystaniem izotopowo znakowanych wzorców analitycznych. Przeprowadzona została

walidacja metody dotycząca glicydotu i 3-MCPD z użyciem stearynianu glicydotu i dipalmitynianu-3-MCPD. W tej samej pracy przedstawiono wyniki zawartości 2- i 3-MCPD oraz glicydotu w różnych rafinowanych i nierafinowanych olejach roślinnych i tłuszczach zwierzęcych. Nie stwierdzono obecności MCPD i glicydotu w olejach surowych i typu virgin oraz w tłuszczach zwierzęcych. Stwierdzono natomiast obecność estrów MCPD i glicydotu w 17 rodzajach olejów rafinowanych. Problem oceny jakości metod przygotowywania próbek do pośredniego oznaczania chloropochodnych propanolu i ich estrów jest przedmiotem zainteresowania analityków. Hrnčirik i wsp. [36] wykazali, że metody oznaczeń pośrednich, polegające na konwersji estrów 3-MCPD do wolnego 3-MCPD, zawierają szereg krytycznych etapów, mających wpływ na końcowe wyniki oznaczeń. Szczególnie ważne okazały się etapy transestryfikacji i wysalania. Po przeprowadzeniu oznaczeń porównawczych z zastosowaniem hydrolizy alkalicznej i kwasowej wykazano przewagę jakościową wyników oznaczeń 3-MCPD po hydrolizie kwasowej. W szczególności wykazano mniejszą stabilność 3-MCPD w warunkach hydrolizy alkalicznej. Stwierdzono także, że wyniki oznaczeń po pierwszych 2 - 3 min transestryfikacji zasadowej były o 10 ÷ 20 % wyższe od uzyskanych po dłuższym (5 - 10 min) czasie transestryfikacji. Oznaczenia kontrolne z użyciem roztworów wzorcowych wykazały zawyżone o 7 ÷ 15 % zawartości wzorca (deuterowany 3-MCPD). Wykorzystując te wyniki, Ermacora i Hrnčirik [21] przeprowadzili szczegółową analizę metody oznaczania 3-MCPD po transestryfikacji kwasowej. Oceniano powtarzalność metody i jej etapy, a także stabilność pochodnych 3-MCPD otrzymywanych w reakcji z PBA. Nie stwierdzono istotnych różnic w wynikach oznaczeń 3-MCPD w próbkach po derywatywacji, przechowywanych przez 0 - 7 dni w temperaturze pokojowej i w próbkach przechowywanych przez 0 - 60 dni w temp. -20 °C. Badano także ewentualne powstawanie 3-MCPD w reakcji Cl⁻ z glicydotem (wysalanie z NaCl). Stwierdzono, że stężenie jonów chlorkowych w próbce nie powinno przekraczać 1,7 mmola/kg oleju. Wyniki przeprowadzonych badań umożliwiły stwierdzenie, że rekomendowany zwykle 16-godzinny czas inkubacji próbek podczas transestryfikacji kwasowej może być skrócony do 4 h, bez istotnego wpływu na dokładność i powtarzalność wyników oznaczeń związanego 3-MCPD. Przeprowadzone badania pozwoliły autorom [22] na optymalizację i walidację metody jednoczesnego oznaczania estrów 2-MCPD, 3-MCPD i glicydotu. Oznaczenia wymienionych trzech analitów w wielu różniących się składem i pochodzeniem próbkach wykazały dużą dokładność, powtarzalność, czułość i wydajność opracowanej metody. Zdaniem autorów metoda nadaje się do rutynowych oznaczeń w laboratoriach badawczych i jednostkach kontroli jakości. Oznaczanie trzech analitów w jednym eksperymencie sprawiło, że w środowisku analityków metoda ta nazywana jest "trzy w jednym". Opracowana została także wersja metody oznaczania estrów 1,3- i 2,3-MCPD i estrów

glicydołu w tłuszczach do smarowania pieczywa, w margarynach, śmietanach i majonezach używanych w gospodarstwach domowych [23].

Alternatywne do hydrolizy kwasowej stosowanie lipaz i preparatów lipolitycznych jako katalizatorów hydrolizy czy przeestryfikowania jest w zasadzie na etapie badań naukowych. W nielicznych pracach opisano wykorzystanie lipaz z *Aspergillus oryzae* i *Candida rugosa* [54]. Chung i Chan [8] opisali metodę jednoczesnego oznaczania metodą GC-MS estrów 2-MCPD i 3-MCPD z kwasami tłuszczowymi po enzymatycznej hydrolizie (lipaza z *Candida antarctica*) tłuszczu wyekstrahowanego z badanej próbki.

W latach 2009 - 2011 Niemieckie Towarzystwo Tłuszczowe (DGF) wydało kilka standardowych procedur oznaczania estrowo związanego 3-MCPD: DGF Standard Method C III 18/2009 [15], DGF Standard Method C-VI 18/2011 [16], które są obecnie stosowane w Europie. Metody te są ulepszane i modyfikowane głównie w zakresie doboru rozpuszczalników i ekstrahentów [42, 43].

Küsters i wsp. [46] opracowali szybką mikrometodę oznaczania 3-MCPD i jego estrów. Po przeprowadzeniu estrów 3-MCPD w reakcji z MeONa w niezwiązany 3-MCPD i jego derywatyzacji z PBA powstałe pochodne oznaczane są metodą GC-MS. Metoda została sprawdzona w analizie różnych produktów spożywczych – pieczywa, przetworów mięsnych, ryb, koncentratów i przypraw.

Zapobieganie powstawaniu i redukcja zawartości 3-MCPD i jego estrów w żywności

Działania podejmowane w celu uzyskania danego produktu o możliwej do przyjęcia zawartości wolnych i związanych chloropropanoli można podzielić na dwie grupy. Pierwsza to zapobieganie powstawaniu DCP i MCPD, natomiast druga to ich usuwanie z wytworzonego produktu spożywczego. Ze względu na dominujący ilościowo udział 3-MCPD i jego estrów z kwasami tłuszczowymi, opis badań jest zwykle ograniczony do tych związków chemicznych.

W zakresie zapobiegania powstawaniu 3-MCPD i jego estrów podejmowane działania dzieli się na bezpośrednio związane z technologią wytwarzania i rafinacji oleju, a więc z zakładem produkcyjnym oraz na dodatkowe, specyficznie związane z danym produktem spożywczym. Stwierdzono, że głównym źródłem 3-MCPD są jego estry powstające w wyniku rafinacji oleju, a krytyczną dla zawartości 3-MCPD w oleju operacją rafinacji jest odwanianie. Proces przebiegający w zakresie temp. 200 ÷ 270 °C w ciągu kilku godzin i przy niskiej aktywności wody stwarza korzystne warunki powstawania estrów 3-MCPD. Dowiedziono, że głównymi prekursorami powstawania estrów chloropropanodioli są: lecytyna, diacyloglicerole, glicerol, triacyloglicerole, monoacyloglicerole [74]. W badaniach, przeprowadzonych w tej samej pracy, wykazano, że najbardziej skutecznymi związkami zapobiegającymi powstawaniu 3-MCPD

były: wodorowęglan i węglan sodu oraz cysteina i glutation. Związki te redukowały zawartość 3-MCPD w układzie glicerol + NaCl do poziomu odpowiednio: 8, 14, 42 i 80 % zawartości 3-MCPD powstającego bez stosowania inhibitorów. W doświadczeniu symulującym proces odwaniania oleju palmowego (temp. 240 °C) Freudenstein i wsp. [25] stwierdzili, że największy wpływ na powstawanie 3-MCPD i jego estrów z kwasami tłuszczowymi mają di- i monoacyloglicerole znajdujące się w oleju. Destillats i wsp. [14] wykazali, że w temp. >150 °C i w warunkach symulujących odwanianie triacyloglicerole (TAG), czyli główny składnik olejów roślinnych, są najbardziej reaktywnymi substratami w reakcjach powstawania diestrów MCPD. Rahn i Yaylayan [60] przedstawili spektroskopowe (IR) dowody na to, że w temp. 100 °C tripalmitynian glicerolu tworzy jon acylooksoniowy, reagujący z anionem chlorkowym do estrów 3-MCPD (rys. 1c). Obecność w oleju surowym tri- i diacylogliceroli (TAG i DAG) oraz jonów chlorkowych determinuje powstawanie estrów 3-MCPD [54]. W rafinacji niektórych olejów, np. palmowego, ważna dla powstawania 3-MCPD jest obecność związków chloroorganicznych rozpuszczalnych w fazie olejowej. Stąd zalecane jest staranne dobieranie jakościowe surowców do produkcji oleju (owoców, nasion), skracanie czasu od zbioru do produkcji i możliwie szybka deaktywacja enzymów lipolitycznych (szczególnie w pulpach), aby zawartość DAG w surowym oleju była poniżej 4 %, co uznaje się za wartość progową względem finalnej zawartości 3-MCPD i 3-MCPD-E w produkcie po odwanianiu [25, 50]. Niektóre surowce oleiste, np. owoce palmy, orzechy kokosowe, ziarna kukurydzy, oliwki, zawierają, w zależności od regionu pochodzenia i lokalnych warunków agrotechnicznych, duże ilości związków chloroorganicznych rozpuszczalnych w oleju i stanowiących, obok jonów Cl⁻ pochodzenia nieorganicznego, ważne źródło drugiego prekursora powstawania 3-MCPD-E. Z tego względu zalecane są ekstrakcje (płukania) surowców wodą czy roztworami wodno-alkoholowymi. W produkcji oleju palmowego dobre rezultaty uzyskuje się po płukaniu surowego oleju wodą lub roztworami alkoholu, co pozwala na zmniejszenie zawartości estrów 3-MCPD o 30 ÷ 35 % w gotowym oleju po odwanianiu [9, 50]. Podobną skuteczność wykazywało stosowanie środków wspomagających rafinację, tj. niskocząsteczkowych alkoholi [21] i diacetyny (1,3-dioctanu-glicerolu) [50, 51].

W planowaniu strategii minimalizowania zawartości chloropochodnych propanodioli i propanoli w produktach finalnych zalecane są analizy na zawartość Cl/Cl⁻ w surowcach i w oleju przed rafinacją, a także w środkach pomocniczych, jak: woda, ziemie bielące, związki chemiczne [50].

Drugim obszarem działania na terenie zakładu produkcyjnego jest optymalizacja procesów rafinacji oleju, a w szczególności etapu jego odwaniania i ewentualnie etapów wcześniejszych (odśluzowywania, bielenia). Ramli i wsp. [61] badali odśluzowywanie kwasowe (0,02 ÷ 0,1 % H₃PO₄) i wodne (2 % H₂O) oraz bielenie różnymi ziemiami bielącymi (1 %) surowego oleju palmowego (CPO). Olej CPO po odśluzowaniu

i bieleniu poddawano odwanianiu w temp. 260 °C przez 90 min. Po tych operacjach olej zawierał estry 3-MCPD, jednak w przypadku uprzedniego odśluzowania wodnego i bielenia ziemiami aktywowanymi kwasowo, zawartość estrów 3-MCPD nie przekraczała 0,25 ppm. Korzystny wpływ wcześniejszych etapów rafinacji oleju (odśluzowywanie, bielenie, adsorpcyjne usuwanie niepożądanych związków chemicznych i metali ciężkich) na zawartość estrów 3-MCPD w oleju po odwanianiu podkreślają Pudiel i wsp. [57]. Zawartość chloropropanoli i chloropropanodioli w finalnym oleju zależy głównie od temperatury i czasu odwaniania. Optymalizacja temperatury procesu odwaniania i skracanie jego czasu powoduje zwykle zmniejszenie zawartości 3-MCPD i 3-MCPD-E. Zalecany jest dwustopniowy proces odwaniania, tzn. wysoka temperatura (270 °C) i krótki czas (30 min), a następnie obniżona temperatura (około 200 ÷ 220 °C) i wydłużony czas (4 h) bądź odwrotność tych etapów [52]. Zmiany pH układów zawierających procesowo powstałe 3-MCPD i jego estry korzystnie wpływają na zmniejszanie zawartości tych zanieczyszczeń. Procesowi odwaniania prowadzonemu w wysokiej temperaturze towarzyszą reakcje izomeryzacji 3-MCPD, odchlorowania i deacylacji [24].

Dobre wyniki uzyskuje się po zastosowaniu specjalnych środków filtrujących, zawierających składniki chemicznie aktywne względem zanieczyszczeń. Kontaktowanie oleju zawierającego 3-MCPD z karboksymetylocelulozą, żywicami jonowymiennymi, kalcynowanymi zeolitami czy adsorbentami silikonowymi zawierającymi krzemiany magnezu i/lub wapnia powoduje zmniejszenie zawartości 3-MCPD od kilkunastu do nawet 40 % początkowej jego zawartości [69].

Stosowanie innych technologii do usuwania 3-MCPD i związków pokrewnych jest przedmiotem nielicznych publikacji. Sygnalizowane są prace dotyczące usuwania związków szkodliwych i niepożądanych z oleju poprzez "stripping" azotem [2]. Craft i wsp. [10] przedstawili ogólną ocenę stosowania różnych metod fizykochemicznych do poprawy jakości i bezpieczeństwa żywnościowego olejów jadalnych przez zmniejszanie zawartości 3-MCPD. Inną metodą usuwania 3-MCPD i jego estrów z oleju może być stosowanie technologii enzymatycznych. Opracowana w skali laboratoryjnej metoda polega na enzymatycznej konwersji 3-MCPD poprzez glicydol do glicerolu w układzie dwufazowym woda/olej, z użyciem tzw. kaskady enzymatycznej. Proces polega na hydrolizie enzymatycznej (*Candida antarctica*) i kolejnym traktowaniu uwolnionego 3-MCPD dehydrogenazą halohydrynową, otrzymywaną z *Arthrobacter* sp. AD2 i hydrolazą epoksydową z *Agrobacterium radiobacter* AD1 [3].

Kulinarna obróbka żywności bezpośrednio przed spożyciem, to ostatni etap możliwego unikania powstawania i zmniejszania zawartości chloropropanodioli. Unikanie zbędnego przegrzewania, właściwa kolejność dodawania soli i przypraw, dobór procesów obróbki (np. tostowanie czy grillowanie) może zdecydowanie zmniejszyć ilość spożywanego 3-MCPD i jego estrów. Crews i wsp. [11] oznaczyli zawartość 3-MCPD

w żywności (sosy, buliony, ciasta, naleśniki, pieczywo, sery, mięso) przygotowanej kulinarnie w warunkach symulujących domowe przyrządzanie dań (smażenie, pieczenie, grillowanie). We wszystkich przypadkach zawartość 3-MCPD wzrastała po obróbce cieplnej, najbardziej krytyczne okazały się procesy grillowania i opiekania. Baer i wsp. [1] zwracają uwagę na przyczyny powstawania 3-MCPD i jego estrów w takich grupach produktów, jak: chleb i ciastka, kawa, sery topione i grillowane, wędzonki mięsne i rybne. W tej samej pracy [1] podano sposoby redukcji zawartości 3-MCPD i jego estrów, jak: zwiększanie pH uwodnionych produktów, obniżanie temperatury i zawartości soli, unikanie obróbki w warunkach niska wilgotność – wysoka temperatura, ograniczanie obecności glicerolu i niepełnych acylogliceroli, stosowanie ekstraktów roślin i przypraw, redukcja obciążenia bakteriologicznego z naturalnych dodatków, deaktywacja lipaz/esteraz, eliminowanie prekursorów powstawania 3-MCPD.

Podsumowanie

Występowanie i zawartość 3- i 2-MCPD w żywności dokumentowane są od ponad 35 lat. Informacje o obecności znaczących ilości estrów kwasów tłuszczowych i 3-MCPD w olejach rafinowanych pojawiły się w 2006 roku. Spowodowało to w stosunkowo krótkim czasie opublikowanie wielu prac naukowych dotyczących chloropochodnych propanolu i propanodiolu.

W pracy omówiono problematykę dotyczącą powstawania i analitycznego oznaczania chloropochodnych propanolu i propanodiolu w żywności. W sposób szczególny podkreślono chemiczne aspekty poruszanych zagadnień. Przedstawiono informacje dotyczące toksykologii i regulacji prawnych. Omówiono również metody i procesy w zakresie możliwości eliminacji 3-MCPD i związków pokrewnych z żywności.

Literatura

- [1] Baer I., Calle B., Taylor P.: 3-MCPD in food other than soy sauce hydrolysed vegetable protein (HVP). *Anal. Bioanal. Chem.* 2010, **396**, 443-456.
- [2] Bertoli C., Cauville F.: A deodorized edible oil or fat with low levels of bound mcpd and process of making using an inert gas (Nestec S.A., Switzerland). *PCT Int. Appl.* 2011. CODEN: PIXXD2 WO 20110098 A1, 20110127.
- [3] Bornscheuer U.T., Hesseler M.: Enzymatic removal of 3-monochloro-1,2-propanediol (3-MCPD) and its esters from oils. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2010, **112**, 552-556.
- [4] Brereton P., Kelly J., Crews C., Honour S., Wood R., Davies A.: Determination of 3-chloro-1,2-propanediol in foods and food ingredients by GC/MS detection. *J. AOAC Int* 2001, **84**, 455-465
- [5] Burke T., Weisshaar R., Lampen A.: Absorption and metabolism of the food contaminant 3-MCPD and its fatty acid esters by human intestinal Caco-2 cells. *Arch. Toxicol.*, 2011, **85**, 1201-1208.
- [6] Cerbulis J., Parks O.W., Liu R., Piotrowski G., Farrell H.: Occurrence of diesters of 3-chloro-1,2-propanediol in the neutral lipid fraction of goats' milk. *J. Agric. Food Chem.*, 1984, **32**, 474-476.
- [7] Chung S.W.C., Kwong K.P., Yau J.C.W., Wong A.M.C., Xiao Y.: Chloropropanols levels in food-stuffs marketed in Hong Kong. *J. Food Composition Anal.*, 2008, **21**, 569-573.

- [8] Chung S.W.C., Chan B.T.P.: Simultaneous determination of 2- and 3-MCPD esters in foods by enzymatic hydrolysis and GC-MS detection. *Chromatographia*, 2012, **75**, 1049-1056.
- [9] Craft B.D., Nagy K., Sandoz L., Destaillets F.: Factors impacting the formation of monochloropropanediol (MCPD) fatty acid diesters during palm (*Elaeis guineensis*) oil production. *Food Addit. Contamin.*, 2012, **29**, 354-361.
- [10] Craft B.D., Chiodini A., Garst J., Granvogl M.: Fatty acid esters of monochloropropanediol (MCPD) and glycidol in refined edible oils. *Food Addit. Contamin. Part A*, 2013, **30**, 46-51.
- [11] Crews C., Brereton P., Davies A.: The effects of domestic cooking on the levels of 3-monochloropropanediol in foods. *Food Addit. Contamin. Part A*, 2001, **18**, 271-280.
- [12] Crews C., Chiodini A., Granvogl M., Hamlet C., Hrnčirik K., Kuhlman J., Lampen A., Scholtz G., Weißhaar R., Wenzl T., Jasti P.R., Seefelder W.: Analytical approaches for MCPD esters and glycidyl esters in food and biological samples: a review and future perspectives. *Food Addit. Contamin. Part A*, 2013, **30**, 11-45.
- [13] Davidek J., Velisek J., Kubelka V., Janicek G., Simicowa Z.: Glycerol chlorohydrins and their esters as products of the hydrolysis of tripalmitin, tristearin and triolein with hydrochloric acid. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 1980, **171**, 14-17.
- [14] Destaillets F., Craft B.D., Sandoz L., Nagy K.: Formation mechanism of MCPD fatty acid diesters in refined palm (*Elaeis guineensis*) oil and related fractions. *Food Addit. Contamin. Part A*, 2012, **29**, 29-37.
- [15] DGF Standard Method C III 18 (2009). Determination of ester bound 3-MCPD esters and 3-MCPD forming substances in fats and oils by means of GC/MS. Stuttgart, 2009.
- [16] DGF Standard Method C VI 18/2011. Fatty-acid-bound 3-chloropropane-1,2-diol (3-MCPD) and 2,3-epoxypropane-1-ol (glycidol). Determination in oils and fats by GC/MS. Federal Institute for Risk Assessment, Berlin, 2011.
- [17] Divinova V., Svejtkovska B., Dolezal M., Velisek J.: Determination of free and bound chloropropane-1,2-diol by gas chromatography with mass spectrometric detection using deuterated 3-chloropropane-1,2-diol as internal standard. *Czech J. Food Sci.*, 2004, **22**, 182-189.
- [18] Divinova V., Dolezal M., Velisek J.: Free and bound 3-chloropropane-1,2-diol in coffee surrogates and malts. *Czech J. Food Sci.*, 2007, **25**, 39-47.
- [19] Dolezal M., Chaloupska M., Divinova V., Svejtkovska B., Velisek J.: Occurrence of 3-chloropropane-1,2-diol and its esters in coffee. *Eur. Food Res. Technol.*, 2005, **221**, 221-225.
- [20] Dolezal M., Kortisova J., Zelinkova Z., Velisek J.: Analysis of bread lipids for 3-MCPD esters. *Czech J. Food Sci.*, 2009, **27**, S417-S419.
- [21] Ermacora A., Hrnčirik K.: Evaluation of an improved indirect method for the analysis of 3-MCPD esters based on acid trans-esterification. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2012, **89**, 211-217.
- [22] Ermacora A., Hrnčirik K.: A novel method for simultaneous monitoring of 2-MCPD, 3-MCPD and glycidyl esters in oils and fats. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2013, **90**, 1-8.
- [23] Ermacora A., Hrnčirik K.: Development of an analytical method for the simultaneous analysis of MCPD and glycidyl esters in oil-based foodstuffs. *Food Addit. Contamin. Part A*, 2014, **31**, 985-994.
- [24] Ermacora A., Hrnčirik K.: Study on the thermal degradation of 3-MCPD esters in model systems simulating deodorization of vegetable oils. *Food Chem.*, 2014, **150**, 158-163.
- [25] Freudenstein A., Weking J., Matthäus B.: Influence of precursors on the formation of 3-MCPD and glycidyl esters in a model oil under simulated deodorization conditions. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2013, **115**, 286-294.
- [26] Gawarska H., Sawilska-Rautenstrauch D., Starski A., Karłowski K.: Występowanie 3-MCPD w produktach spożywczych. *Roczniki PZH.*, 2009, **60**, 213-216.
- [27] Gromadzka J., Biernacka P., Namieśnik J.: 3-monochloro-1,2-propandiol w produktach żywnościowych. Problemy i wyzwania analityczne. *Analityka*, 2013, **3 (14)**, 44-50.
- [28] Haines T.D., Adlaf K.J., Pierceal R.M., Lee I., Venkatasubramanian P., Collison M.W.: Direct determination of MCPD fatty acid esters and glycidyl fatty acid esters in vegetable oils by LC-TOFMS. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2011, **88**, 1-14.

- [29] Hamlet C.G., Saad P.A., Crews C., Velisek J., Baxter D.E.: Occurrence of 3-chloropropane-1,2-diol (3-MCPD) and related compounds in foods. *Food Addit. Contamin. Part A.*, 2002, **17**, 619-631.
- [30] Hamlet C.G., Saad P.A., Gray D.A.: Influence of composition, moisture, pH and temperature on the formation and decay kinetics of monochloropropanediols in wheat flour dough. *Eur. Food Res. Technol.*, 2003, **216**, 122-128.
- [31] Hamlet C.G., Saad P.A., Gray D.A.: Generation of monochloropropanediols (MCPDs) in model dough systems. Leavened doughs. *J. Agric. Food Chem.*, 2004, **52**, 2059-2066.
- [32] Hamlet C.G., Saad P.A., Gray D.A.: Generation of monochloropropanediols (MCPDs) in model dough systems. Unleavened doughs. *J. Agric. Food Chem.*, 2004, **52**, 2067-2072.
- [33] Hamlet C.G., Saad P.A.: Chloropropanols and their esters in cereal products. *Czech J. Food Sci.*, 2004, **22**, 259-262.
- [34] Hamlet C.G., Asuncion L., Velisek J., Doležal M., Zelinkova Z., Crews C.: Formation and occurrence of esters of 3-chloro-propane -1,2-diol (3-CPD) in foods: What we know and what we assume. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2011, **113**, 279-303.
- [35] Hori K., Koriyama N., Omori H., Kuriyama M., Arishima T., Tsumura K.: Simultaneous determination of 3-MCPD fatty acid esters and glycidol fatty acid esters in edible oils using liquid chromatography time-of-flight mass spectrometry. *LWT – Food Sci. Technol.*, 2012, **48**, 204-208.
- [36] Hrnčirik K., Zelinkova Z., Ermacora A.: Critical factors of indirect determination of 3-chloropropane-1,2-diol esters. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2011, **113**, 361-367.
- [37] IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Some chemicals present in industrial and consumer products, food and drinking-water. Vol. **101** pp. 349-374. Published by IARC, Lyon 2012. Distributed by WHO Press, Geneva.
- [38] Ilko V., Zelinkova Z., Doležal M., Velisek J.: 3-Chloropropane-1,2-diol fatty acid esters in potato products. *Czech J. Food Sci.*, 2011, **29**, 411-419.
- [39] Jędrkiewicz R., Kupka M., Głowacz A., Gromadzka J., Namieśnik J.: 3-MCPD: A world wide problem of food chem. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 2015, **4**, DOI: 10.1080/10408398.2013.829414.
- [40] Karasek L., Wenzl T., Ulberth F.: Determination of 3-MCPD esters in edible oil – methods of analysis and comparability of results. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2011, **113**, 1433-1442.
- [41] Karsulinova L., Folprechtova B., Dolezal M., Dostalova J., Velisek J.: Analysis of the lipid fraction of coffee creamers, cream aerosols, and bouillon cubes for their health risk associated constituents. *Czech J. Food Sci.*, 2007, **25**, 257-264.
- [42] Kaze N., Sato H., Yamamoto H., Watanabe Y.: Improvement of accuracy in quantification of 3-monochloropropane-1,2-diol by Deutsche Gesellschaft für Fettwissenschaft standard methods C-III 18. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2011, **113**, 1168-1171.
- [43] Kaze N., Sato H., Yamamoto H., Watanabe Y.: Bidirectional conversion between 3-MCPD and 1,2-MCPD and glycidol in the Procedure of DGF Standard. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2011, **88**, 1143-1151.
- [44] Kuhlman J.: Determination of bound 2,3-epoxy-1-propanol (glycidol) and bound monochloropropanediol (MCPD) in refined oils. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2011, **113**, 335-344.
- [45] Kuntzler J., Weisshaar R.: The smoking process – A potent source of 3-chloropropane-1,2-diol (3-MCPD) in meat products. *Deutsche Lebensmittel Rundschau*, 2006, **102**, 397-400.
- [46] Küsters M., Bimber U., Ossenbrüggen A., Reeser S., Gallitzendörfer, Gerhartz M.: Rapid and simple micromethod for the simultaneous determination of 3-MCPD and 3-MCPD esters in different food-stuffs. *J. Agric. Food Chem.*, 2010, **58**, 6570-6577.
- [47] MacMahon S., Begley T.H., Diachenko G.W.: Occurrence of 3-MCPD and glycidyl esters in edible oils in the United States. *Food Addit. Contamin. Part A.*, 2013, **30**, 2081-2092.
- [48] MacMahon S., Begley T.H., Diachenko G.W.: Analysis of processing contaminants in edible oils. Part 2. Liquid chromatography – tandem mass spectrometry method for the direct detection of 3- and 2-Monochloropropanediols diesters. *J. Agric. Food Chem.*, 2013, **61**, 4748-4757.
- [49] MacMahon S., Mazola E., Begley T.H., Diachenko G.W.: Analysis of processing contaminants in edible oils. Part 1. Liquid Chromatography – Tandem Mass Spectrometry Method for the direct detection of 3-Monochloropropanediol monoesters and glycidyl esters. *J. Agric. Food Chem.*, 2013, **61**, 4737-4747.

- [50] Matthäus B., Pudel F., Fehling P., Vosmann K., Freudenstein A.: Strategies for the reduction of 3-MCPD esters and related compounds in oils. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2011, **113**, 380-386.
- [51] Matthäus B., Freudenstein A., Pudel P., Fehling P.: Final results of the German FEI research project concerning 3-MCPD esters and related compounds – mitigation strategies. Paper presented at: 9th Eurofed Lipid Congress, 18-21 September 2011, Rotterdam, the Netherlands.
- [52] Matthäus B., Freudenstein A., Vosmann K., Pudel F., Rudolph T., Franke K., Strijowski U.: Mitigation of 3-MCPD esters in refined vegetable oils. *Sweet Baking* 2012, **1**, 12-15.
- [53] Matthäus B.: Organic or not organic – that is the question: How the knowledge about the origin of chlorinated compounds can help to reduce formation of 3-MCPD esters. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2012, **114**, 1333-1334.
- [54] Miyazaki K., Koyama K., Sasako K., Hirao T. Indirect method for simultaneous determination of 3-chloro-1,2-propanediol and glycidol fatty acid esters. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2012, **89**, 1403-1407.
- [55] Nagy K., Sandoz L., Craft B.D., Destailats F. Massdefect filtering of isotope signatures to reveal the source of chlorinated palm oil contaminants. *Food Addit. Contamin. Part A*, 2011, **28**, 1492-1500.
- [56] PN-EN 14573:2005. Artykuły żywnościowe. Oznaczanie 3-MCPD metodą GC/MS.
- [57] Pudel F., Benecke P., Fehling P., Freudenstein A., Matthäus B., Schwar A.: On the necessity of edible oil refining and possible sources of 3-MCPD and glycidyl esters. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2011, **113**, 368-373.
- [58] Rahn A.K.K., Yaylayan V.A.: Thermal degradation of sucralose and its potential in generating chloropropanols in the presence of glycerol. *Food Chem.*, 2010, **118**, 56-61.
- [59] Rahn A.K.K., Yaylayan V.A., What do we know about the molecular mechanism of 3-MCPD esters formation. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2011, **113**, 323-329.
- [60] Rahn A.K.K., Yaylayan V.A.: Monitoring cycling acyloxonium ion formation in palmitin systems using IR spectroscopy and isotope labeling. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2011, **113**, 330-334.
- [61] Ramli M.R., Siew W.L., Ibrahim N.A., Hussein R., Kuntom A., Raazak R.A.A., Nesaratnam K.: Effects of degumming and bleaching on 3-MCPD esters formation during physical refining. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2011, **88**, 1839-1844.
- [62] Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 13.01.2003 w sprawie maksymalnych poziomów zanieczyszczeń chemicznych i biologicznych. *Dz. U.* nr 37, poz. 326. Załącznik nr 5.
- [63] Rozporządzenie Komisji UE nr 1881/2006 z dnia 19 grudnia 2006 ustalające najwyższe dopuszczalne poziomy niektórych zanieczyszczeń w środkach spożywczych. *Dz. U. L* 364 z 20.12.2006 s. 5.
- [64] Schilter B., Scholtz G., Seefelder W.: Fatty acid esters of chloropropanols and related compound in food: Toxicological aspects. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2011, **113**, 309-313.
- [65] Seefelder W., Varga N., Studer A., Williamson G., Scanlan F.P., Stadler R.H.: Esters of 3-chloro-1,2-propanediol (3-MCPD) in vegetable oils: significance in the formation of 3-MCPD. *Food Addit. Contamin.*, 2008, **25**, 391-400.
- [66] Seefelder W., Scholz G., Schilter B.: Structural diversity of dietary fatty esters of chloropropanols and related substances. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2011, **113**, 319-322.
- [67] Smidrkal J., Ilko V., Filip V., Doležal M., Zelinkova Z., Kyselka J., Hradkova I., Velisek J.: Formation of acylglycerol chloro-derivatives in vegetable oils and mitigation strategy. *Czech J. Food Sci.*, 2011, **29**, 449-456.
- [68] Starski A., Jędra M., Gawarska H., Postupolski J.: Assessing exposure to 3-MCPD of bakery products based on studies undertaken throughout Poland. *Rocz. PZH*, 2013, **64**, 277-283.
- [69] Strijowski U., Heinz V., Franke K.: Removal of 3-MCPD esters and related substances after refining by adsorbent material. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2011, **113**, 387-392.
- [70] Svejkskova B., Novotny O., Divinova V., Reblova Z., Dolezal M., Velisek J.: Esters of 3-chloropropane-1,2-diol in foodstuffs. *Czech J. Food Sci.*, 2004, **22**, 190-196.
- [71] Svejkskova B., Doležal M., Velisek J.: Formation and decomposition of 3-chloropropane-1,2-diol esters in models simulating processed foods. *Czech J. Food Sci.*, 2006, **24**, 172-179.
- [72] Tomar R.S., Tsai F.C., Sandy M.S.: Evidence on the carcinogenicity of 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD). Reproductive and Cancer Hazard Assessment Branch. Office of Environmental Health Hazard Assessment (OEHHA). California Environ. Protection Agency. Sept. 2010, pp. 1-38.

- [73] Velisek J., Davidek J., Haislova J., Kubelka V., Janicek G., Mankova G.: Chlorohydrins in protein hydrolyzates. *Z. Lebensmittel Unters. Forsch.*, 1978, **167**, 241-244.
- [74] Velisek J., Calta P., Crews C., Hasnip S., Doležal M.: 3-Chloropropane-1,2-diol in models simulating processed foods: Precursors causing its decomposition. *Czech J. Food Sci.*, 2003, **21**, 153-161.
- [75] Weißhaar R.: Determination of total 3-chloropropane-1,2-diol (3-MCPD) in edible oils by cleavage of 3-MCPD esters with sodium methoxide. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2008, **110**, 183-186.
- [76] Weißhaar R.: Fatty acid esters of 3-MCPD: overview of occurrence and exposure estimates. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 2011, **113**, 304-308.
- [77] Wenzl T., Lachenmeier D.W., Gökmen V.: Analysis of heat-induced contaminants (acrylamide, chloropropanols and furan) in carbohydrate-rich food. *Anal. Bioanal. Chem.*, 2007, **389**, 119-137.
- [78] Xu X.-M., Wu H.-W., He H.-L., Huang B.-F., Han J.-L., Ren Y.-P.: Study of chloropropanols in soy sauce by gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry with coupled column separation without derivatisation. *Food Addit. Contamin. Part A.*, 2013, **30**, 421-429.
- [79] Zalecenie Komisji UE z dnia 10.09.2014 w sprawie monitorowania występowania w żywności 2 i 3-monochloropropano-1,2-diolu (2 i 3-MCPD), estrów kwasów tłuszczowych 2 i 3-MCPD oraz estrów glicydowych kwasów tłuszczowych. *Dz. U. L 271/93 z 12.09.2014*.
- [80] Zelinkova Z., Svejkskova B., Velisek J., Doležal M.: Fatty acid esters of 3-chloropropane-1,2-diol in edible oils. *Food Addit. Contamin.*, 2006, **23**, 1290-1298.
- [81] Zelinkova Z., Novotny O., Schurek J., Velisek J., Hajslova J., Doležal M.: Occurrence of 3-MCPD fatty acid esters in human breast milk. *Food Addit. Contamin. Part A.*, 2008, **25**, 669-678.
- [82] Zelinkova Z., Doležal M., Velisek J.: 3-Chloropropane-1,2-diol fatty acid esters in potato products. *Czech. J. Food Sci.*, 2009, **27**, S421-S424.
- [83] Zelinkova Z., Doležal M., Velisek J.: Occurrence of 3-chloropropane-1,2-diol fatty acid esters in infant and baby formulas. *Eur. Food Res. Technol.*, 2009, **228**, 571-578.

CHLOROPROPANOLS, CHLOROPROPANDIOLS AND THEIR ESTERS IN FOOD – FORMATION, OCCURRENCE, DETERMINATION, REDUCTION OF CONTENT

S u m m a r y

3-MCPD, 2-MCPD, 1,2- and 2,3-DCP and their esters belong to the group of well known process-induced contaminants. The 3-MCPD was first identified in 1978 in acid-hydrolyzed vegetable proteins and its corresponding esters in 1980. Since their discovery more than 35 years later the exact mechanisms of their formation in foods is still studied. 3-MCPD and its esters occur in fat rich food that was thermally processed. In 2006 the huge quantities of 3-MCPD esters were detected in refined vegetable oils. The presented paper contains information on 3-MCPD and its esters formation, occurrence in foods, and on analytical and toxicological aspects. The strategies for the reduction of content of 3-MCPD and 3-MCPD-esters in foods are also briefly discussed.

Key words: chloropropanols, chloropropandiols, 3-MCPD, 3-MCPD-esters, food processed contaminants

