

JOANNA MASŁOWSKA, MARIA BIELAWSKA

BADANIE POZIOMU AMIN AROMATYCZNYCH W WYBRANYCH PRODUKTACH SPOŻYWCZYCH

STUDY OF THE LEVEL OF AROMATIC AMINES IN FOOD PRODUCTS

Z Zespołu Chemii Bionieorganicznej i Analitycznej
Instytutu Podstaw Chemii Żywności Politechniki Łódzkiej
Kierownik: prof. dr hab. J. Masłowska

Metodą spektrofotometryczną badano zawartość amin aromatycznych w produktach spożywczych, takich jak: kawa mielona, orzechy ziemne świeże i solone, orzechy włoskie, laskowe i pistacjowe oraz masło roślinne.

WSTĘP

Ames i Gold w pracy opublikowanej w 1991 r. [1] podali, że żywność przetworzona (np.: kawa palona, mięso wędzone, mięso pieczone i inne) jest głównym źródłem czynników rakotwórczych, dostarczając około 200 mg różnych związków karcinogennych w ciągu dnia. Wśród nich są policykliczne węglowodory aromatyczne (PAH), aminy aromatyczne, aminy heterocykliczne [11, 12] oraz nitrozoaminy. Zespół Chemii Bionieorganicznej i Analitycznej Instytutu Podstaw Chemii Żywności Politechniki Łódzkiej od wielu lat zajmuje się badaniami zawartości związków toksycznych w różnych surowcach i produktach przemysłowych [2, 4–10].

W ostatnim czasie postanowiliśmy sprawdzić i zoptymalizować opracowane przez nas wcześniej metody oznaczania amin aromatycznych w barwnikach i dostosować je do oznaczania w produktach spożywczych. W pierwszym etapie naszych badań podjęto prace mające na celu przystosowanie dla potrzeb przemysłu spożywczego metody spektrofotometrycznej opracowanej przez nas na początku lat osiemdziesiątych [4]. Ze względu na prostotę tej metody przystosowanie jej pozwoli na szybką ocenę środków spożywczych.

MATERIAŁ I METODYKA

Charakterystyka badanych produktów

Jako materiał do badań użyto artykułów spożywczych, ogólnie dostępnych na rynku (Tabela I). Wszystkie badane próbki charakteryzowały się typowym zapachem i smakiem.

Tabela 1. Zestawienie i charakterystyka badanych próbek.
Specification of tested products.

Lp.	Próbka badana	Producent lub firma handlowa	Uwagi
1.	Cafe Prima	Przedsiębiorstwo Prima S.A. Poznań, Polska	Kawa drobno mielona, opakowanie 100 g
2.	Pedros Specjal	Pedro Kaffe GmbH, Hamburg, Niemcy	Kawa mielona pakowana próżniowo, 250 g
3.	Sahara	Palarnia kawy Union-Swadzin k. Poznania, Polska	Kawa drobno mielona, opakowanie 100 g
4.	Leopard Pur Arabica Moulu Cafe	S.C. Galec B.P. 2392132 Issy Les Mac Line aux Ledex EMB 63193	Kawa mielona, pakowana próżniowo, 250 g
5.	Orzeszki ziemne w łupinach	Przedsiębiorstwo „RMD” S.C. Szczecin, Polska	Pakowane w celofanie 333 g netto
6.	Orzeszki ziemne solone	Chio Lilly Snack Foods LTD Sp. z o.o., Sękocin Stary, Polska	Pakowane w folię metalizowaną
7.	Orzechy włoskie	Produkt rynkowy, Łódź, Polska	Świeże, zakupione na wagę
8.	Orzechy laskowe	Produkt rynkowy, Łódź, Polska	Świeże, zakupione na wagę
9.	Orzechy pistacjowe	Internut Handels GmbH + Co KG, Lippeltstr. 1, D-20097, Hamburg, Niemcy	Solone prażone, łupiny popęka- ne, w środku zielone, skórka róż- żowa, 100 g
10.	Masło roślinne	Zakłady Przemysłu Tłuszczowego, Warszawa, Polska	Świeże bez objawów zjełczenia, 250 g

Zasada metody

Metoda oznaczania sumarycznej zawartości amin aromatycznych oparta jest na pomiarze absorpcji (A) roztworu zawierającego barwny produkt reakcji sprzęgania zdwuazowanych amin aromatycznych z α -naftolem [4]. W wyniku tej reakcji powstaje związek barwy żółtej o charakterystycznym paśmie absorpcji $\lambda = 570$ nm.

Odczynniki i roztwory

1) Wodorotlenek sodu cz.d.a. (POCh-Gliwice), roztwory: 30%-wy oraz 1 mol/dm³; 2) kwas solny cz.d.a. (POCh-Gliwice) roztwór 1 mol/dm³; 3) azotyn sodu cz.d.a. (POCh-Gliwice) roztwór 1 mol/dm³; 4) etanol rektyfikowany, firmy „Polmos” w Łodzi; 5) α -naftol cz.d.a. (POCh-Gliwice) roztwór 2%-owy w etanolu, trwały 2 tygodnie. Roztwór roboczy 35 cm³ 2%-owego α -naftolu odmierzyć do zlewki o poj. 100 cm³ i dodać 50 cm³ roztworu NaOH o stężeniu 1 mol/dm³. Odczynnik przygotowuje się bezpośrednio przed użyciem; 6) anilina cz.d.a. (POCh-Gliwice). Roztwór podstawowy 1 mg aniliny/cm³. Odważyć 1 g $\pm 0,0001$ g świeżo przedestylowanej aniliny (t.w. 184,64°C) i przenieść ilościowo do kolby miarowej o poj. 1000 cm³, spłukując 20 cm³ 1 molowego roztworu HCl. Całość wymieszać i uzupełnić wodą destylowaną do kreski. Roztwór jest trwały w ciągu 2 miesięcy. Roztwór roboczy: z roztworu podstawowego pobrać 10 cm³ do kolby na 1000 cm³ i uzupełnić wodą destylowaną do kreski. Roztwór zawiera 10 μ g aniliny w 1 cm³ roztworu.

Aparatura

Zestaw do destylacji z parą wodną, spektrofotometr „Spekol” 220, firmy Carl Zeiss-Jena (Niemcy) oraz kiuwety szklane o grubości $d = 1$ cm.

Sporządzenie krzywej wzorcowej

Do 10 kolbek Erlenmayera o poj. 25 cm³ odmierzyć pipetą 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9 i 1,0 cm³ roztworu roboczego aniliny (co odpowiada 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9 i 10 µg aniliny) i dopełnić każdą kolbkę wodą destylowaną do 10 cm³. Następnie do każdej kolbki dodać po 0,2 cm³ 1 molowego HCl, 0,1 cm³ 1 molowego NaNO₂ i wytrząsać w ciągu 3 min. Do otrzymanych roztworów dodać po 5 cm³ roztworu roboczego α-naftolu i wymieszać. Zmierzyć absorbancję (A) powstałych zabarwionych na żółto roztworów przy długości fali λ=570 nm stosując kiuwetę szklaną o grubości d=1 cm. Jako próbkę odniesienia stosuje się roztwór, w którym zamiast roztworu roboczego aniliny użyto 10 cm³ wody redestylowanej. Doświadczenia nasze wskazują, że nie należy używać roztworów z większą ilością aniliny niż 10 µg, gdyż wówczas nie jest spełnione prawo *Lamberta-Beera*.

Wykonanie oznaczenia

Oznaczyć 5 g ± 0,0001 g badanej próbki produktu spożywczego (olej, orzechy, kawa, masło roślinne lub inny produkt spożywczy) i przenieść ją do kolby destylacyjnej o poj. 1000 cm³. Następnie dodać 50 cm³ wody destylowanej, 15 cm³ 30%-owego NaOH i destylować z parą wodną. Zebrać ~50 cm³ destylatu, z którego pobrać 10 cm³ i umieścić w kolbie stożkowej o poj. 25 cm³. Do kolbki dodać 0,2 cm³ 1 molowego HCl i 0,1 cm³ 1 molowego NaNO₂ i całość wytrząsać w ciągu 3 min. Następnie dodać 5 cm³ świeżo przygotowanego roztworu α-naftolu. Po wymieszaniu powstaje żółto zabarwiony roztwór, którego absorbancję (A) mierzy się przy długości fali świetlnej λ=570 nm względem próbki zerowej zawierającej 10 cm³ wody redestylowanej zamiast destylatu. Sumaryczną wartość amin aromatycznych w przeliczeniu na anilinę w próbce badanej odczytuje się z krzywej wzorcowej A=f(c).

OMÓWIENIE WYNIKÓW

W tabeli II przedstawiono uzyskane wyniki dla badanych próbek. Są one średnią z pięciu powtórzeń. Ponieważ otrzymywane wstępne wyniki były bardzo niskie i leżały poniżej pierwszego punktu krzywej, z tej przyczyny zwiększono 10-krotnie próbkę pobieraną do badań (do 50g) i dalej postępowano tak jak opisano wyżej. Przedstawione wyniki są podane w przeliczeniu na anilinę.

Tabela II. Wyniki oznaczania sumarycznej zawartości amin aromatycznych w badanych produktach spożywczych metodą spektrofotometryczną; λ=570 nm, d=1 cm.

The total level of aromatic amines in selected food products determined by UV method (λ=570 nm, d=1 cm).

Lp.	Próbka badana	Liczba próbek badanych	Sumaryczna zawartości amin aromatycznych [g/kg]
1.	Cafe Prima	5	3 × 10 ⁻⁶
2.	Kawa Sahara	5	4 × 10 ⁻⁶
3.	Leopard Pour Arabica Moulu	5	3 × 10 ⁻⁶
4.	Pedros Specjal	5	2,6 × 10 ⁻⁶
5.	Orzeszki ziemne w łupinach	5	poniżej 1 × 10 ⁻⁸
6.	Orzeszki ziemne solone	5	3,5 × 10 ⁻⁶
7.	Orzechy włoskie	5	3,5 × 10 ⁻⁶
8.	Orzechy laskowe	5	3,5 × 10 ⁻⁶
9.	Orzechy pistacjowe	5	3,0 × 10 ⁻⁶
10.	Masło roślinne	5	poniżej 1 × 10 ⁻⁸

Z uzyskanych danych wynika, że sumaryczna zawartość amin aromatycznych we wszystkich badanych produktach jest bardzo niska, rzędu kilku $\mu\text{g}/\text{kg}$, a w orzeszkach ziemnych świeżych i maśle roślinnym wynosi tylko dziesiąte części $\mu\text{g}/\text{kg}$.

Według aktów prawnych obowiązujących w Anglii i podawanych w dostępnym piśmiennictwie [3] dopuszczalna zawartość wolnych amin aromatycznych wynosi $1 \times 10^{-1} \text{ g}/\text{kg}$ w barwnikach stosowanych do produkcji kosmetyków. Natomiast w Polsce dopuszczalna zawartość amin w barwnikach spożywczych wynosi $2 \times 10^{-2} \text{ g}/\text{kg}$ [13].

Na tej podstawie można wyciągnąć wniosek, iż zbadane produkty żywnościowe są praktycznie wolne od zanieczyszczeń aminami aromatycznymi i nie stwarzają zagrożenia. Natomiast porównanie wyników w orzechach ziemnych świeżych i solonych sugerowałoby iż przyczyną wzrostu zawartości amin aromatycznych może być proces technologiczny. Informacje zawarte w pracy *Amesa i Golda* [1] iż kawa palona zawiera 826 lotnych i podobną liczbę nielotnych związków chemicznych, przy czym wśród nich jest aż 17 związków rakotwórczych takich, jak np.: kwas kofeinowy, katechol, furfural, hydrochinon i inne, obligują nas do dalszych badań w tym zakresie oraz wskazują na konieczność opracowywania bardziej doskonałych metod oznaczania amin aromatycznych. Problemy te będą rozwiązywane w dalszych naszych pracach.

WNIOSKI

1. Doświadczalnie wykazano, że opracowana spektrofotometryczna metoda oznaczania sumarycznej zawartości amin w barwnikach, może być stosowana także do oznaczania tych zanieczyszczeń w żywności.

2. Proponowana przez nas metoda jest stosunkowo prosta i szybka, daje powtarzalne wyniki, a ponadto nie wymaga drogich odczynników i specjalnej aparatury.

Jako metoda wygodna i szybka może być stosowana we wszystkich laboratoriach analitycznych.

3. Wykorzystując w badaniach w/w metodę wykazano, że poziom amin aromatycznych w kawie, orzechach i maśle roślinnym jest bardzo niski i mieści się w zakresie od 4×10^{-6} do $1 \times 10^{-7} \text{ g}/\text{kg}$.

J. Masłowska, M. Bielawska

DETERMINATION OF AROMATIC AMINES LEVEL IN SELECTED FOOD PRODUCTS

Summary

The aim of this study was to adapt the method of total aromatic amines determination in dyes for food purposes and application in food industry. The level of total aromatic amines, expressed as aniline, was found in the range of 2,6 to $4,0 \times 10^{-6} \text{ g}/\text{kg}$ in selected food products – coffee, walnuts, hazelnuts, peanuts.

The proposed method is simple, easy to perform and reliable, therefore may be recommended to use in food industry laboratories.

PIŚMIENNICTWO

1. *Ames B.N.* and *Gold L.S.*: Endogenous mutagens and the causes of orging and cancer. *Mutation Research*, 1901, 250, 3-16. – 2. *Bazylak G., Masłowska J.*, HPLC determination of PAHs in mineral oils used as dispersing agents for herbicides, *Fresenius Z. Anal. Chem.*, 1990, 190, 336, 205. – 3. Dyestuff Commision German Research Society: *Colours For Cosmetics* Harald Boldt Verlag KG, Boppard, 1977, 45. – 4. *Masłowska J., Bielawska M.*: Metoda oznaczania śladowych ilości amin aromatycznych w barwnikach stosowanych do produkcji kosmetyków. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 1982, 15, 125. – 5. *Masłowska J., Bazylak G.*: Ocena całkowitej zawartości wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w syntetycznych barwnikach kosmetycznych., *Pollena TŚPK*, 1984, 28, 207. – 6. *Masłowska J., Swat B.*: Metoda oznaczania śladowych ilości amin aromatycznych w tkaninach bawełnianych barwionych. *Roczn. PZH*, 1990, 41, 285. – 7. *Masłowska J., Swat. B.*: Badania nad zawartością wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w olejach stosowanych do produkcji środków ochrony roślin., *Roczn. PZH*, 1992, 43, 139. – 8. *Masłowska J.*: Toksyczne związki organiczne oraz pierwiastki chemiczne w środowisku naturalnym człowieka. *Zeszyty naukowe P.Ł. Techn. i Chem. Spoż.*, 1990, 47, 47-66. – 9. *Masłowska J.*: Analiza śladowa składników toksycznych żywności, *Wyd. P.Ł., Łódź* 1992. – 10. *Masłowska J.*: Postęp w analizie związków rakotwórczych w surowcach kosmetycznych i kosmetykach. *Pollena TSPK*, 1993, 37, 5, 222-237.

11. *Sugimura T.*: Succesful use of short-term tests for academic purposes: their use in identification of new environmental carcinogens with possible risk for humans. *Mutation Research*, 1988, 205, 33-39. – 12. *Takayama S., Nakatsura Y., Sato S.*: Carcinogenic effect of the simultaneous administration of five heterocyclic amines to F 344 rats., *Jpn. J. Cancer. Res.*, 1987, 78, 1068. – 13. Zarządzenie Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z dn. 31.03.1993 w sprawie wykazu substancji dodatkowych dozwolonych i zanieczyszczeń technicznych w środkach spożywczych i użytkach. *Monitor Polski* 1993, nr 22 z dn. 11 maja 1993, poz. 233.

Dn. 1994.04.10

90-924 Łódź, ul. B. Stefanowskiego 4/10