

JOLANTA WIECZOREK¹, WACŁAW MOZOLEWSKI¹, KRYSZYNA SMOCZYŃSKA¹,
ZBIGNIEW WIECZOREK²

WYSTĘPOWANIE WIELOPIERŚCIENIOWYCH WĘGLOWODORÓW
AROMATYCZNYCH (WWA) W NAPARACH KAWY NATURALNEJ,
ZBOŻOWEJ I KAKAO^{*)}

THE OCCURRENCE OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS (PAHs)
IN INFUSIONS OF NATURAL COFFEE, ERSATZ COFFEE AND COCOA

¹ Instytut Towaroznawstwa i Oceny Jakości Żywności,

² Katedra Fizyki i Biofizyki

Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

10–957 Olsztyn, Pl. Cieszyński 1

Kierownik: prof. dr hab. S. S. Smoczyński

Przedstawiono wyniki oznaczeń zawartości wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w naparach kawy naturalnej i napojach sporządzonych z kawy zbożowej i kakao. Do oznaczenia i detekcji związków zastosowano chromatografię gazową.

Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne pochodzą ze źródeł naturalnych i antropogennych: powstają we wszystkich procesach niepełnego spalania i pirolizy substancji organicznych. Oprócz opadania suchych pyłów zawieszonych w powietrzu na których zaadsorbowane są te związki oraz opadów atmosferycznych, ich źródłem w wodach powierzchniowych i glebie są odpady olejowe, wycieki z instalacji kanalizacyjnych, wody deszczowe spływające z dróg asfaltowych [5, 14]. Niektóre z tych związków jako zanieczyszczenia wtórne, powstają także podczas procesów technologicznych w przemyśle spożywczym [10]. Produkcja środków spożywczych i używek z zastosowaniem wysokich temperatur np. w procesie prażenia, wędzenia może prowadzić do zwiększenia zawartości wielopierścieniowych węglowodorów w otrzymanych produktach. Tak, więc na stopień zanieczyszczenia środków spożywczych tymi związkami będzie miała wpływ suma czynników środowiskowych i zastosowane procesy technologiczne. Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne obecne są w różnych grupach żywności: np.: przetworach zbożowych, wędzonym mięsie, tłuszczach spożywczych pochodzenia roślinnego, a także napojach bezalkoholowych. W przypadku olejów roślinnych wymieniane są następujące źródła skażenia produktu: a) zanieczyszczenia atmosferyczne materiału roślinnego, b) pobieranie przez rośliny oleiste zanieczyszczeń z gleby, c) bezpośrednie suszenie materiału roślinnego dymem przed ekstrakcją, d) zanieczyszczenie rozpuszczalnika użytego do ekstrakcji [10, 13].

^{*)} badania wykonano w ramach Uczelnianego Tematu Badawczego nr 070400.207.

Ze względu na stosunkowo dużą trwałość w środowisku niektórych związków z tej grupy zaliczane są one do tzw. trwałych zanieczyszczeń organicznych – *Persistent Organic Pollutants* [12]. Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne są to związki o silnych właściwościach hydrofobowych i lipofilowych, które mogą kumulować się w ogniwach łańcucha pokarmowego [15]. Przyjmowane drogą pokarmową, od pięćdziesięciu lat uznawane są za potencjalne kancerogeny [13]. Działanie kancerogenne związków z grupy wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych następuje dopiero po ich aktywacji metabolicznej z udziałem hydrolazy epoksydowej i powstaniu tlenków dihydrodiolowych z wysoko reaktywnym ugrupowaniem epoksydowym w rejonie zatoki B (*bay region*). Również rejon K (*K-region*) w epoksydach zwiększa ich cytotoxycyzość i aktywność mutageną [7, 9, 16].

Metabolity planarnych węglowodorów reagują przede wszystkim z grupami aminowymi reszt deoksyguaninowych, podczas gdy metabolity węglowodorów nieplanarnych, w niektórych przypadkach, z większą wydajnością reagują z grupami aminowymi reszt deoksyadenozynowych. Konformacje tworzonych adduktów DNA zależą od badanego węglowodoru oraz *cis* lub *trans* otwarcia się pierścienia epoksydowego podczas tworzenia adduktu [9]. Równocześnie z aktywacją metaboliczną tych związków w organizmach żywych następuje uruchomienie mechanizmów prowadzących przy udziale transferaz S-glutationu do detoksykacji. Dlatego tylko znikoma część genotoksycznych metabolitów tworzy addukty [9, 16].

Celem przeprowadzonych badań było określenie zawartości wielopierścieniowych węglowodorów w wybranych popularnych używkach spożywanych w formie napojów, gdzie zastosowanie wysokiej temperatury w technologicznym procesie prażenia ziaren może wzbogacać finalny produkt w WWA. Oznaczono stężenie tych związków w naparach kawy naturalnej zaparzonej metodą tradycyjną (poprzez zalanie zmielonego ziarna wrzącą wodą) bądź przy użyciu filtra oraz w napojach sporządzonych z kakao i kawy zbożowej.

MATERIAŁ I METODYKA

200 ml naparu kawy naturalnej sporządzono poprzez zalanie 12 g zmielonych ziaren wodą destylowaną o temperaturze 95°C. Po upływie 10 minut napar zlanano z osadu. W przypadku kawy naturalnej filtrowanej zmielone ziarno umieszczono na papierowym filtrze i zalano gorącą wodą. Do filtrowania naparów wybranych gatunków kaw zastosowano bielone filtry papierowe zakupione w handlu detalicznym. Pozostałe napoje przygotowano zgodnie z zaleceniami producenta. Wszystkie używki zakupiono w 1999 roku w handlu detalicznym. Do badań pobrano po trzy próbki każdego produktu. Otrzymane napary i napoje (o objętości około 200 ml) uzupełniono wodą destylowaną do objętości 1000 cm³. Następnie, aby uniknąć adsorpcji WWA na granicy faza wodna-ściana naczynia, do uzupełnionych wodą destylowaną naparów dodano 12 µg detergentu kationowego Hyaminy 1622 firmy J.T. Baker B.V. Ekstrakcję i zateżnienie WWA do fazy stałej badanych próbek wykonano na kolumnkach firmy Baker typ Bakerbond spe PAH 6 cm³ – 500 mg amino/1000 mg octadecyl dokładnie według procedury proponowanej przez producenta i stosowanej przez *Kicinski* [5]. Kolejne etapy procedury to:

- 1) Kondycjonowanie kolumnek poprzez przepuszczenie 4 cm³ cykloheksanu i 4 cm³ dichlorometanu. Po każdym rozpuszczalniku kolumnki suszono przez ok. 15 sekund powietrzem. Następnie nanoszono 5 cm³ 2-propanolu oraz 5 cm³ mieszaniny woda/2-propanol (92:8).
- 2) Nanoszenie próbki o objętości 1000 cm³.

- 3) Elucja trzema porcjami dichlorometanu: 3 cm³, 3 cm³ i 2 cm³.
- 4) Do 8 cm³ eluatu dodawano 2 cm³ acetonitrylu i wymieszano. Następnie roztwór zatężono do objętości 0,5 cm³.

Wszystkie stosowane odczynniki o czystości HPLC zakupiono w firmie J.T. Baker. Wartości odzysku poszczególnych WWA, uzyskane dla stosowanej metody, przyjęto na podstawie pracy *Kicinski* [5].

Do rozdzielania i detekcji WWA w badanych próbkach użyto chromatografu gazowego HP 6890 z detektorem masowym (MSD) – temperatura detektora 250°C, napięcie EM 1700 V i kolumną kapilarną HP-101 długości 25 m, średnicy wewnętrznej 0,20 mm i grubości filmu 0,20 mm; z gradientem temperatury od 100°C do 270°C: 4°C na minutę; jako gaz nośny zastosowano hel o przepływie 1 cm³/minutę [2]. Na kolumnę nastrzykiwano dwukrotnie ekstrakt z każdej próbki. Zastosowano standard – mieszaninę 16 wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (acenaften, acenaftylen, antracen, benz[a]antracen, benzo[b]fluoranten, benzo[k]fluoranten, benzo[ghi]perylen, benzo[a]piren, chryzen, dibenz[a,h]antracen, fluoranten, fluoren, indeno[1,2,3-cd]piren, naftalen, fenantren, piren) o stężeniach związków od 5 do 100 mg w cm³ acetonitrylu wg EPA Method 610 firmy J.T. Baker. Roztwór wzorcowy posłużył do sporządzenia kilku rozcieńczeń celem przygotowania krzywej wzorcowej.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

WWA wykryto we wszystkich naparach kawy naturalnej sporządzonych w sposób tradycyjny (poprzez zalanie zmielonego ziarna wrzącą wodą). Przyjmując ekstrakcję WWA do naparów w granicach do 10% uzyskane dane są w dobrej zgodności z wynikami oznaczeń tych związków bezpośrednio w mielonych ziarnach kawy naturalnej [1, 6]. W badanych, nie poddanych filtrowaniu, naparach kawy stwierdzono obecność: benzo(a)antracenu, fluorantenu, pyrenu, benzo(b)fluorantenu, fenantrenu oraz z mniejszą częstością wykrywano fluoren, antracen i chryzen (tabela I). Sumaryczne stężenia tych związków dla poszczególnych nie filtrowanych naparów kaw mieściły się w przedziale od 0,1 do 0,37 mg w 1 l naparu. Przefiltrowanie naparu pozwoliło na znaczące, bo w ponad 75% zmniejszenie sumarycznego stężenia tych związków z napoju. We wszystkich naparach kawy naturalnej, bez względu na sposób parzenia, oznaczono prawdopodobnie rakotwórczy dla ludzi benzo(a)antracen [3, 6, 14, 16].

W analizowanych próbkach używek najwyższe sumaryczne stężenie WWA oznaczono w dwóch rodzajach kakao (0,82 µg/l i 0,52 µg/l). W kakao wykryto obecność: fenantrenu, fluorantenu, pyrenu, chryzenu, benzo(b)fluorantenu i benzo(g,h,i)peryleny (tabela II).

Kilkakrotnie niższe stężenie WWA w stosunku do kakao stwierdzono w napojach sporządzonych z kawy zbożowej. W najwyższym sumarycznym stężeniu związki te występowały w kawie zbożowej „Kujawianka” (0,3 µg/l). W jej naparze oznaczono obecność: fenantrenu, fluorantenu, pyrenu, benzo(a)antracenu i benzo(ghi)peryleny. W pozostałych napojach kawy zbożowej stężenie WWA było kilkakrotnie niższe. Najprawdopodobniej wynika to z faktu, że były to napoje sporządzone z kawy rozpuszczalnej. Z danych literaturowych wynika, iż na przykład w rozpuszczalnej kawie naturalnej zawartość WWA ulega zmniejszeniu o około 90% [6].

W badanych naparach i napojach wykryto obecność dziewięciu związków z szesnastu stanowiących mieszaninę wzorcową. Nie stwierdzono między innymi obecności benzo(a)pirenu, chociaż często uznawany jest za substancję wskaźnikową zawartości WWA w badanych próbkach [8]. Wynika to najprawdopodobniej z faktu, iż w zależności od

Tabela I. Zawartość* WWA w naparach kawy naturalnej w μg na litr naparu.
PAH content in infusions of natural coffee in μg per litre.

WWA	Jacobs Merido	Bastek	Tchibo Family	Tchibo Family filtrowana	Tchibo Mild	Tchibo Mild filtrowana
Fluoren	n.w.	n.w.	n.w.	n.w.	0,06	n.w.
Fenantren	n.w.	n.w.	0,04	n.w.	0,03	n.w.
Antracen	n.w.	n.w.	n.w.	n.w.	0,03	n.w.
Fluoranten	0,10	0,04	0,12	0,03	0,04	n.w.
Piren	0,07	0,04	0,10	0,03	0,02	n.w.
Benzo(a)antracen	0,01	0,02	0,07	0,02	0,05	0,01
Chryzen	n.w.	n.w.	n.w.	n.w.	0,03	n.w.
Benzo(b)fluoranten	0,05	n.w.	0,04	n.w.	0,03	n.w.

n.w. – nie wykryto, granica wykrywalności wynosiła 0,01 μg na litr naparu.

* W tabeli podano średnie stężenie z sześciu wyników dla każdego asortymentu kawy (trzy próby po dwa nastrzyknięcia). Odchylenie standardowe pojedynczego wyniku nie przekraczało 50% wartości średniej.

Tabela II. Zawartość* WWA w naparach kawy zbożowej i kakao w μg na litr napoju.
PAH content in ersatz coffee and cocoa in μg per litre.

WWA	Inka „Nowość”	Inka	Kawa zboż. Kujawianka	Kawa zboż. Expres.	Kakao 1	Kakao 2
Fluoren	n.w.	n.w.	0,09	n.w.	0,08	0,05
Fluoranten	0,02	0,03	0,05	0,03	0,20	0,13
Piren	0,01	0,02	0,06	0,03	0,16	0,11
Benzo(a)antracen	n.w.	0,01	0,06	n.w.	0,02	n.w.
Chryzen	n.w.	n.w.	n.w.	n.w.	0,02	n.w.
Benzo(b)fluoranten	n.w.	n.w.	n.w.	n.w.	0,15	0,23
Benzo(ghi)perylen	0,04	n.w.	0,04	0,06	0,19	n.w.

n.w. – nie wykryto, granica wykrywalności wynosiła 0,01 μg na litr naparu.

* W tabeli podano średnie stężenie z sześciu wyników dla każdego asortymentu kawy zbożowej i kakao (trzy próby po dwa nastrzyknięcia). Odchylenie standardowe pojedynczego wyniku nie przekraczało 50% wartości średniej.

źródła WWA w pobranym do analiz materiale, otrzymujemy ich różne profile. Ze względu więc na zmienny udział poszczególnych składników we frakcji WWA nie można dokonać wyboru jednego węglowodoru – reprezentanta, którego obecność byłaby miarą zanieczyszczenia badanej próbki. Wyniki badań nad obecnością WWA w olejach roślinnych, ziarnach kawy palonej, naparach herbat potwierdzają zróżnicowanie ilościowe i jakościowe profilów tej grupy związków. Dla przykładu benzo(a)piren w herbatkach występuje w ilościach kilkanaście razy mniejszych niż np. fluoranten

i piren (11). Zdarza się, iż benzo(a)piren nie jest oznaczany w próbkach materiału pobranego do analizy, mimo wykazania obecności innych WWA, takich jak np.: fluoranten, piren, chryzen i inne [4, 6, 8, 14].

WNIOSKI

Przedstawione wyniki wskazują na obecność WWA w naparach kawy naturalnej, kakao i kawie zbożowej. Systematyczne spożywanie tych używek może mieć wpływ na zwiększenie pobrania przez człowieka wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych drogą pokarmową. Na szczególną uwagę zasługuje fakt występowania tych związków w kakao, napoju często podawanego małym dzieciom. Uzyskane wyniki wskazują na możliwość znacznego ograniczenia ilości pobieranego WWA obecnego w naparach kawy sporządzanych metodą tradycyjną poprzez zmianę przyzwyczajzeń konsumentów na spożywanie kawy filtrowanej.

J. Wieczorek, W. Mozolewski, K. Smoczyńska, Z. Wieczorek

THE OCCURRENCE OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS (PAH) IN INFUSIONS OF NATURAL COFFEE, ERSATZ COFFEE AND COCOA

Summary

The content of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in chosen condiments commercially available was investigated. The concentration of these compounds in infusion of natural coffee, ersatz coffee and cocoa was determined by gas chromatography. Fluoranthene, pyrene and benz(a)anthracene were the PAHs, which the most frequently were present in infusions of unfiltered natural coffee. Assuming the extraction of PAHs into infusion of natural coffee of about several percent, obtained results are in good agreement with the amount of those compounds in coffee beans. These compounds were found at similar concentration in infusions of ersatz coffee. The highest concentrations of investigated PAHs were found in cocoa and their amount was 0.82 mg per litre of beverage. The content of these compounds in cocoa was several times higher than the content of those in infusion of unfiltered natural coffee.

PIŚMIENICTWO

1. *Bracco U.*: Determination des hydrocarbures polycycliques aromatiques: technique et application aux huiles de cafe, Riv. It. Sost. Grasse 1973, 50, 166–176.
2. Chromatography Users Catalog 1993. The Source for Analytical Columns and Supplies, 1993, 113.
3. Dziennik Ustaw R. P. Nr 121, poz. 571. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 11 września 1996 roku w sprawie czynników rakotwórczych w środowisku pracy oraz nadzoru nad stanem zdrowia pracowników zawodowo narażonych na te czynniki. Wykaz czynników prawdopodobnie rakotwórczych dla ludzi.
4. *Eskinja M., Eskinja I., Soljic Z., Schmid E. R.*: Bestimmung von polycyclischen aromatischen Kohlenwasserstoffen in teeähnlichen Erzeugnissen (Lindenblüten, Kamillen und Malvenwurzeln). Ernährung 1995, 12, 600–602.
5. *Kicinski H-G.*: PAH-Festphasenextraktion aus Wasserproben (Trinkwasser und mäßig belastetes Oberflächenwasser) durch Hyaminzusatz. Z. Wasser-Abwasser-Forsch. 1992, 25, 289–294.
6. *Klein H., Speer K., Schmidt E.*: Polyzyklische aromatische Kohlenwasserstoffe (PAK) in Roh- und Rostkaffee, Bundesgesundhbl. 1993, 3, 98–100.

7. *Klimaszewska K.*: Występowanie i biodegradacja wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w osadach dennych. *Biotechnologia* 1998, 40, 140–148.
8. *Masłowska J., Swat B.*: Badania nad zawartością wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w olejach stosowanych do produkcji środków ochrony roślin. *Roczn. PZH*, 1992, 2, 139–143.
9. *Peltonen K., Dipple A.*: Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Chemistry of DNA adduct formation, *J. Occup. Environ. Med.* 1995, 37: 52–58.
10. *Pupin A.M., Toledo M.C.*: Benzo(a)pyrene in Brazilian vegetable oils. *Food Addit. Contam.* 1996, 13, 639–646.
11. *Schlemitz S., Pfannhauser W.*: Supercritical fluid extraction of mononitrated polycyclic aromatic hydrocarbons from tea – correlation with the PAH concentration. *Z. Lebensm. Unters. Forsch. A.* 1997, 205, 305–310.
12. *Smreczak B.*: Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA) w układach gleba – roślina wyższa. *Roczn. Glebozn.* 1997, 48, 37–47.
13. *Szteke B.*: Wpływ skażeń chemicznych na zdrowotność surowców i przetworów owocowo-warzywnych. *Przemysł Ferm.* 1992, 8, 13–17.
14. *Tsibulsky V.*: MSC-E Contribution to the HM and POP Emission Inventories. Polycyclic aromatic hydrocarbon emission inventories and emission expert estimates. *Techn. N.* 2001, 7, 5–27.
15. *Wild S.R., Jones K.C.*: The significance of polynuclear aromatic hydrocarbons applied to agricultural soils in sewage sludges in the U.K. *Waste Manag. Res.* 1994, 12, 49–59.
16. *Zielińska-Psujka B.*: Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne jako środowiskowy czynnik nowotworowy. IV Krajowy Kongres Ekologiczny Tarnów 1997, 193–206.

Otrzymano: 2002.05.16