

ARTUR CIEMNIAK

WIELOPIERŚCIENIOWE WĘGLOWODORY AROMATYCZNE (WWA)  
W HERBATACH ZIOŁOWYCH I OWOCOWYCH

POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS (PAHs) IN HERBS  
AND FRUIT TEAS

Katedra Toksykologii Wydziału Nauk o Żywności i Rybactwa  
Akademia Rolnicza w Szczecinie  
71-550 Szczecin, ul. Kazimierza Królewicza 4  
e-mail: arthur@tz.ar.szczecin.pl  
Kierownik Katedry: prof. dr hab. M. Protasowicki

*Przeprowadzono analizę 16 podstawowych wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) w herbatach owocowych i ziołowych. WWA w badanym materiale występowały na poziomie 48,23 do 1703 µg/kg. Najwięcej BaP stwierdzono w herbacie lipowej (74,19 µg/kg).*

**Słowa kluczowe:** wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA), herbaty, benzo[a]piren, GC-MS

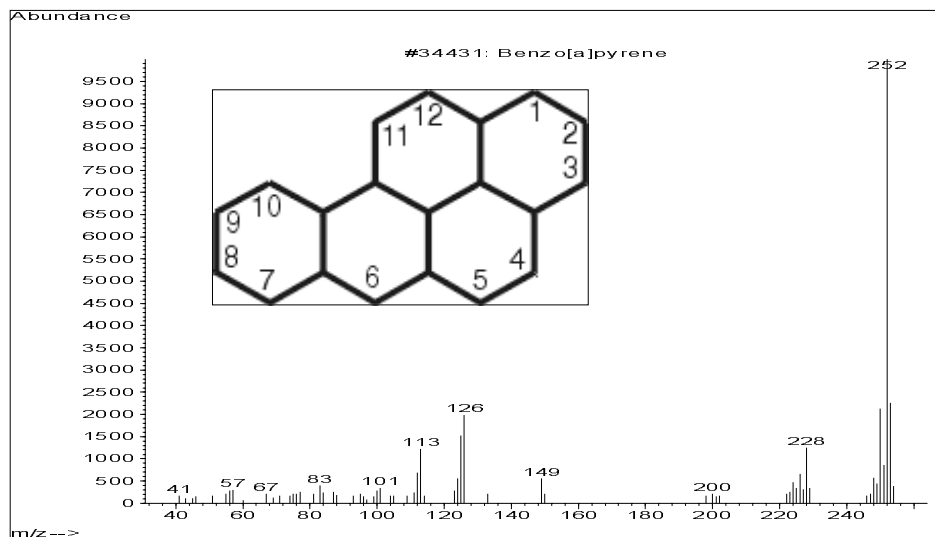
**Key words:** polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), teas, benzo[a]piren, GC-MS

WSTĘP

Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA) są grupą związków organicznych składających się z dwu lub więcej sprzężonych pierścieni aromatycznych występujących w rozmaitych konfiguracjach geometrycznych. W środowisku identyfikuje się ponad 100 WWA. 16 z nich zostało sklasyfikowanych jako „główne zanieczyszczenia” zgodnie z zaleceniami Agencji Ochrony Środowiska (EPA) [11]. Z tych 16 WWA benzo[a]piren (Ryc. 1) jest uznany za najbardziej rakotwórczy.

Związki te występują w wysoko wrzących frakcjach ropy naftowej, smoły z węgla kamiennego, dymie tytoniowym oraz są wynikiem niepełnego spalania paliw i odpadów. Naturalnymi źródłami emisji WWA są niekontrolowane procesy spalania: pożary lasów i łąk, wypalanie pastwisk, aktywność wulkaniczna.

Rośliny bez względu na ich pochodzenie i gatunek są zanieczyszczone przez WWA [8, 13]. WWA pobierane są przez system korzeniowy roślin z zanieczyszczonej gleby, znajdujące się w atmosferze osiadają na powierzchni liści a następnie mogą rozpuszczać się w woskowej warstwie kutikuli pokrywającej liście. WWA w formie gazowej wnikają do wnętrza rośliny poprzez aparaty szparkowe, mogą być także produktem biosyntezy wewnątrz tkanek roślinnych.



Ryc. 1. Widmo masowe i wzór strukturalny benzo[a]pirenu.  
Mass spectrum and structure of benzo[a]pyrene.

Mechanizm procesu oraz drogi przenikania WWA do roślin zależą od szeregu parametrów fizykochemicznych (masa cząsteczkowa, rozpuszczalność w wodzie, prężność par, prawo *Henry'ego*), warunków środowiskowych (temperatura, zawartość materii organicznej w glebie) oraz gatunku rośliny. Znacznie bardziej narażone na zanieczyszczenie są rośliny mające dużą powierzchnię liści. Zawartość lipidów w tkankach roślinnych ostatecznie określa ilość lipofilnych zanieczyszczeń, jakie roślina jest w stanie zaadsorbować z powietrza [5]. Obserwowane są także sezonowe zmiany zawartości WWA w roślinach [8, 1]. W korzeniach obserwowane są przede wszystkim lekkie frakcje WWA (2-4 pierścienie) pozostałe WWA występują w nadziemnych częściach roślin, które mogą być znaczącym źródłem WWA dla człowieka.

## MATERIAŁ I METODY

Złożoność matryc organicznych stwarza szereg problemów analitycznych. Związki te występują na poziomie ppb lub ppt, co znacznie utrudnia ich ekstrakcję. Wiele związków organicznych występujących w żywności jest ekstrahowanych wraz z WWA i może następnie z nimi interferować podczas dalszej analizy. Większość WWA jest strukturalnie podobna i obecna w formach izomerycznych, które utrudniają ich rozdzielenie i identyfikację. Analizie najczęściej poddaje się kilkanaście najbardziej rozpowszechnionych przedstawicieli WWA, lub tylko benzo[a]piren uznając go za węglowodór wskaźnikowy dla całej grupy związków. Pierwsze przybliżenie daje jednak pełniejszy obraz skażenia żywności przez WWA [6, 3]. Stąd też w niniejszej pracy przeprowadzono analizę 16 WWA sklasyfikowanych jako „najważniejsze zanieczyszczenia”, zgodnie z zaleceniami Agencji Ochrony Środowiska (EPA) [11].

Badaniom poddano 34 rodzaje herbaty zakupione w handlu detalicznym w Szczecinie w 2002 r. Przebadano 4 rodzaje herbaty miętowej, 5 rumiankowych, 4 z hibiskusa oraz 1 rodzaj herbaty lipowej. Ponadto 12 próbek stanowiły herbaty owocowe, w skład których wchodziły mieszanki różnych

ziół oraz kawałków owoców: kwiat hibiskusa, jabłka, porzeczka, aronia, bez czarny, dzika róża, skórka pomarańczy i cytryny, ananas, kiwi, marakuja. Herbaty owocowe zawierały ponadto syntetyczne aromaty identyczne z naturalnymi. Analizie poddano także 3 rodzaje herbat zielonych oraz 5 rodzajów herbaty czarnej, w tym 1 typu Earl Grey oraz 3 aromatyzowane truskawkowe i malinową.

WWA z suszu ekstrahowano za pomocą n-heksanu. Do kolby 100 ml odważano około 5 g herbaty, dodawano 30 ml n-heksanu. W celu uwzględnienia stopnia odzysku analizowanych związków dodawano roztwór deuterowanych wzorców WWA. Ekstrakcję przeprowadzano przez 45 minut w łaźni ultradźwiękowej. Próbkę odstawiano na 24 godziny. Roztwór z nad osadu sączono. Do kolby dodawano 20 ml rozpuszczalnika. Kolbę umieszczano ponownie w łaźni ultradźwiękowej na 15 min. Zawartość przesączano poplukując sączek dwiema porcjami po 10 ml n-heksanu. Otrzymany przesącz zatężano do 2 ml przy użyciu wyparki obrotowej. Ekstrakt następnie oczyszczano wykorzystując 2 g kolumny z florisilem. Kolumnę kondycjonowano przemywając ją najpierw 6 ml dichlorometanu następnie 12 ml heksanu. Próbkę nanoszono na kolumnę, zużywając 2 ml heksanu w celu jej przeniesienia ilościowego. Przemywano próbkę 10 ml heksanu. WWA eluowano ze złoża za pomocą 8 ml mieszaniny heksan/dichlorometan w stosunku objętościowym 3:1. Następnie próbkę zatężano do 1 ml w strumieniu azotu.

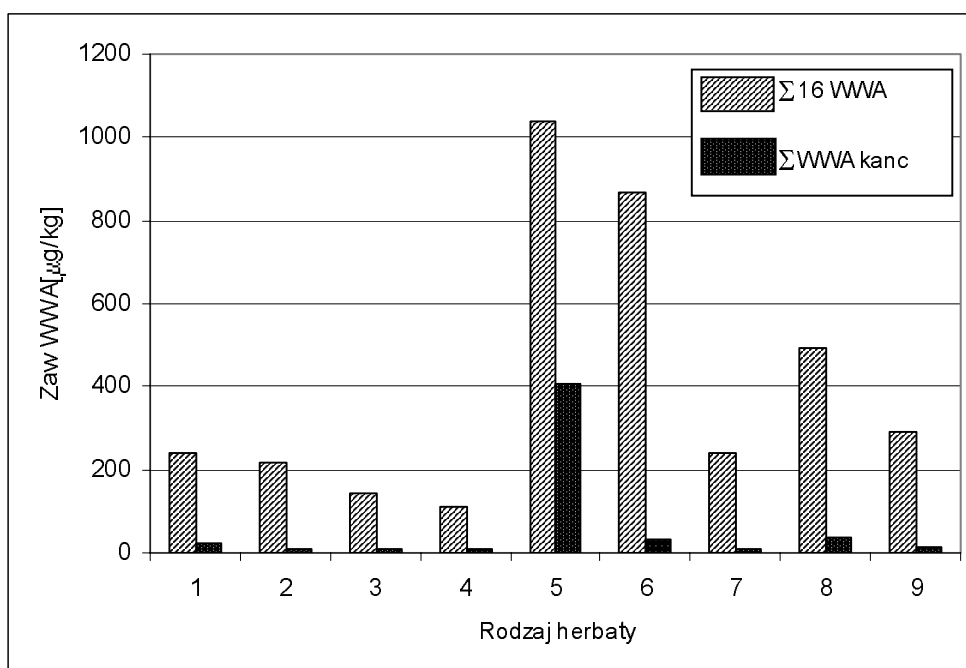
Rozdział analityczny prób wykonano techniką chromatografii gazowej sprzężonej ze spektrometrem mas GCMS (HP6899/5973). Oznaczenie analizowanych związków wykonano w trybie monitorowania pojedynczych jonów SIM. Każdą analizę wykonano w trzech powtórzeniach, a wyniki podano jako średnią.

## WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

WWA są powszechnie spotykane we wszystkich gatunkach roślin. Rośliny, a zwłaszcza liście są doskonałym wskaźnikiem zanieczyszczenia atmosfery. Uprawy kukurydzy zawierają w liściach do 27  $\mu\text{g}/\text{kg}$  WWA. Liście klonu i szpilki sosny zawierają na terenach wiejskich odpowiednio 220 i 370  $\mu\text{g}/\text{kg}$  WWA. Klon na terenach podmiejskich zawiera 510  $\mu\text{g}/\text{kg}$  WWA w liściach, podczas gdy na terenach zurbanizowanych 1600  $\mu\text{g}/\text{kg}$  WWA [13]. W liściach azalii w zależności od pory roku stwierdza się od 0,47 do 39,9  $\mu\text{g}/\text{kg}$  BaP [8]. Dla zdrowia człowieka największe znaczenie mają WWA skumulowane w roślinach jadalnych. Około 1/3 dawki WWA przyjmowanych z pożywieniem przypada na produkty zbożowe [9]. W krajach o wysokiej konsumpcji świeżych warzyw, np. w Grecji, dzienne spożycie podstawowych 16 WWA wynosi 1,6-4,5  $\mu\text{g}$ , w tym 0,56 do 3,85 ng BaP [12]. Najwięcej WWA dostaje się do organizmu wraz z warzywami liściowymi: sałata i cykorja dostarczają dziennie 145 i 372 ng WWA.

Pewne zagrożenie jest związane z występowaniem WWA w roślinach używanych do sporządzania napojów [3, 4]. Wprawdzie WWA są związkami o charakterze hydrofobowym, ale w wielu ziołach występują olejki eteryczne znacznie podwyższające rozpuszczalność WWA w napoju. Na zawartość WWA ma wpływ także sposób sporządzania naparów, np. do niedawna powszechny w Polsce sposób zaparzania kawy. Ryzyko jest związane ze spożywaniem bardzo dużych ilości herbaty. W Chinach jej spożycie może przekraczać 31 filiżanek dziennie [4], podczas gdy herbaty chińskie zawierają 497-1162  $\mu\text{g}/\text{kg}$  WWA, w tym 7,4-12,6  $\mu\text{g}/\text{kg}$  BaP. Liście herbaty mogą zawierać często bardzo duże ilości WWA do 7536,33  $\mu\text{g}/\text{kg}$  – Mate Tea roasted – w tym 542,26  $\mu\text{g}/\text{kg}$  BaP i 6475,9  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (224,8  $\mu\text{g}/\text{kg}$  BaP) [10]. Herbata zielona zawierała 549,76  $\mu\text{g}/\text{kg}$  WWA. Herbaty czarne zawierały od 28,56  $\mu\text{g}/\text{kg}$  WWA (Assam) do 775,67  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (Darjeeling). Wg badań *Shlemitz* [10] bardzo niskim zanieczyszczeniem WWA charakteryzują się herbaty: koperkowa (13,41  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )

i owocowa (17,53  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ). Herbaty te zawierały także najniższe ilości BaP tj. 0,28 i 0,3  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Shlemitz, w herbacie miętowej stwierdził 140,41  $\mu\text{g}/\text{kg}$  WWA, w tym 1,76  $\mu\text{g}/\text{kg}$  BaP. Zanieczyszczenie materiału może być wynikiem zanieczyszczenia środowiska jak również sposobem obróbki surowca: metody suszenia, palenie kawy lub prażenie niektórych gatunków herbat. W kawie palonej *de Kruif* [7] stwierdził od 0,52 do 2  $\mu\text{g}/\text{kg}$  BaP, zależnie od stopnia jej palenia. Bardzo wysokie stężenia WWA są stwierdzane w herba mate, tj. herbatkach z liści ostrokrzewu paragwajskiego. Surowiec do wyrobu tych herbat jest poddawany prażeniu w celu nadania unikalnego aromatu. Podobne techniki intensyfikacji aromatu stosuje się względem niektórych herbat zielonych, co skutkuje wysoką zawartością WWA [4].



Ryc. 2. Porównanie średnich zawartości sumy 16 WWA [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ] oraz sumy ciężkich WWA [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ] w badanych próbkach: 1 herbaty miętowej; 2 herbaty z rumianku; 3 herbaty owocowe; 4 herbaty z hibiskusa; 5 herbata lipowa; 6 herbaty zielone; 7 herbaty czarne aromatyzowane; 8 herbata czarna; 9 herbata Earl Grey.

Comparison between sum of 16 PAHs [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ] and sum of heavy PAHs [ $\mu\text{g}/\text{kg}$ ] in the analysed samples: 1 mint tea; 2 camomile tea; 3 fruit tea; 4 hibiscus tea; 5 lime tea; 6 green tea; 7 aromatized black tea; 8 black tea, 9 Earl Grey tea.

Wyniki uzyskane w niniejszej pracy przedstawiono na ryc. 2. Poza nielicznymi przypadkami są to ilości stosunkowo niewielkie (średnia dla całego asortymentu – 268,5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ). W suszu stwierdzono wszystkie podstawowe 16 WWA na poziomie od 48,23 do 1703  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Benzo[a]piren stwierdzono w ilościach od 0,01  $\mu\text{g}/\text{kg}$  w herbacie z rumianku (średnio 0,57  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) do 74,2  $\mu\text{g}/\text{kg}$  w herbacie lipowej. Szczególnie zanieczyszczona okazała się herbata lipowa 74,2  $\mu\text{g}/\text{kg}$  BaP i 1040,47  $\mu\text{g}/\text{kg}$  dla sumy 16 WWA. Jest to spowodowane prawdopodobnie zbieraniem kwiatu lipy z drzew rosnących na poboczu dróg oraz brakiem

odpowiedniej kontroli i selekcji materiału na etapie skupu i produkcji herbaty. Bardzo wysoką zawartość WWA stwierdzono także w herbatach zielonych 23,6 µg/kg BaP i 1703 µg/kg dla sumy 16 WWA (średnio 869,9 µg/kg). Znajduje to swoje odzwierciedlenie w zanieczyszczeniu naparów sporządzonych na ich bazie, tj 743,4 ng/dm<sup>3</sup> WWA w naparach herbaty zielonej [3]. Pozostałe herbaty zawierały nawet dziesięciokrotnie mniejsze ilości WWA. Najmniej zanieczyszczone okazały się herbaty z hibiskusa zawierające średnio 110,34 µg/kg WWA oraz wieloowocowe – 144,8 µg/kg dla sumy 16 WWA. Herbata miętowa natomiast zawierała większe ilości WWA (2,34 µg/kg BaP i 241,9 µg/kg dla sumy 16 WWA) niż te stwierdzone przez *Schlemitz* [10]. Są to jednak nadal zawartości stosunkowo niewielkie. Zawartość frakcji ciężkich w herbatach stanowiła 5-10% całkowitej ilości WWA. Wyjątek stanowi herbata lipowa, w której frakcje ciężkie WWA stanowiły 40% wszystkich WWA.

### WNIOSKI

1. Zawartość 16 podstawowych WWA w suszu badanych herbat owocowych i zielonych była zróżnicowana i wynosiła od 48,23 µg/kg w herbacie z hibiskusa do 1703 µg/kg w herbacie zielonej.
2. Bezo[a]piren stwierdzano w ilościach od 0,01 µg/kg w herbacie z rumianku do 74,2 µg/kg w herbacie lipowej, która była najbardziej zanieczyszczona.

A. Ciemniak

### POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS (PAHs) IN HERBS AND FRUIT TEAS

#### Summary

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) of which benzo[a]pyrene is the most commonly studied and measured, are fused – ring aromatic compounds formed in both natural and man made processes and are found widely distributed throughout the human environment. PAHs occur as contaminants in different food categories and beverages including water, vegetables, fruit, cereals, oils and fats, barbecued and smoked meat. The sources of PAHs in food are predominantly from environmental pollution and food processing. PAHs emissions from automobile traffic and industry activities were shown to influence the PAHs levels in vegetables and fruits. The present study was carried out to determine levels of 16 basic PAHs in herbs and fruit teas. The method was based on the hexane extraction and cleaned up by florisil cartridge. The extracts were analysed by GC-MS. The levels of total PAHs varied from 48,27 µg/kg (hibiscus tea) to 1703 µg/kg (green tea). The highest level of BaP was found in lime tea (74,2 µg/kg).

### PÍSMIENNICTWO

1. *Bronström-Lunden E., Löfgren C.*: Atmospheric fluxes of persistent semivolatile organic pollutants to a forest ecological system at the Swedish west coast and accumulation in spruce needles, *Environ. Pollut.* 1980, 102, 139-149.
2. *Ciemniak A., Protasowicki M.*: Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne w mięsnych i drobiowych artykułach spożywczych. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2002, 35, 121-125.

3. *Ciemiński A.*: Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA) w naparach herbat zielonych i owocowych. *Bromat. Chem. Toksykol.*, 2004, 37, 1, 25-29.
4. *Fiedler H., Cheung C., K., Wong M., H.*: PCDD/PCDF. chlorinated pesticides and PAH in Chinese teas. *Chemosphere*, 2000, 46, 1429-1433.
5. *Franzaring J., van der Eerder J. M.*: Accumulation of airborne persistent organic pollutants (POPs) in plants. *Basic Appl. Ecol*, 2000, 1, 25-30.
6. *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.*, 2001, 39, 423-436.
7. *de Kruijff N., Schouten T., Gerrit H., van der Stegen D.*: Rapid determination of benzo[a]pyrene in roasted coffee and coffee brew by high – performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J. Agric. Food Chem.*, 1987, 35, 545-549.
8. *Nakajima D., Yosshida Y., Suzuki J., Suzuki S.*: Seasonal changes in the concentration of polycyclic aromatic hydrocarbons in azalea leaves and relationship to atmospheric concentration. *Chemosphere*, 1995; 30, 3,409-418.
9. *Phillips D. H.*: Polycyclic aromatic hydrocarbons in diet. *Mutat. Res.* 1999, 443, 139-147.
10. *Shlemitz S., Pfannhauser W.*: Supercritical fluid extraction of mono-nitrated polycyclic aromatic hydrocarbons from tea – correlation with the PAH concentration. *Z Lebensm Unters Forsch A*, 1997; 205: 305-310.
11. United States Environmental Protection Agency. EPA/540/1 – 86/013, 1984.
12. *Voutsas D., Samara C.*: Dietary intake of trace elements and polycyclic aromatic hydrocarbons via vegetables grown in an industrial Greek area. *Sci. Total Environ.*, 1998; 218: 203-216.
13. *Wagrowski D.M., Hites R.*: Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Accumulation in urban, suburban and Rural Vegetation. *Environ Sci. Technol.* 1997, 31, 279-282.

Otrzymano: 2005.06.29