

HANNA MOJSKA, IWONA GIELECIŃSKA, LUCJAN SZPONAR, KATARZYNA CHAJEWSKA

ZAWARTOŚĆ AKRYLOAMIDU W CHIPSACH ZIEMNIACZANYCH W POLSCE

ACRYLAMIDE CONTENT IN POTATO CRISPS IN POLAND

Zakład Bezpieczeństwa Żywności i Żywienia
Instytut Żywności i Żywienia
02-903 Warszawa, ul. Powsińska 61/63
Kierownik: dr n. med. *L. Szponar*
hmojska@izz.waw.pl

Celem badań było oznaczenie zawartości akryloamidu w chipsach ziemniaczanych pobranych losowo na terenie Polski oraz porównanie pomiędzy produktami tego samego producenta, ale pochodzącymi z różnych partii produkcyjnych, a także pomiędzy chipsami pochodzącymi od różnych producentów. Przebiegła zawartość akryloamidu wynosiła 998 µg/kg produktu, wahając się od 352 do 3647 µg/kg w zależności od rodzaju chipsów. Stwierdzono, że zawartość badanego związku w produkcji zależała zarówno od producenta jak również partii produktu.

Słowa kluczowe: akryloamid, chipsy ziemniaczane, partia produkcyjna
Keywords: acrylamide, potato crisps, production batch

WSTĘP

Akryloamid (2-propenamid, amid akrylowy, amid winylowy) jest związkiem, który nie występuje naturalnie w przyrodzie. Jest produkowany przemysłowo jako substrat do syntezy polimerów poliakrylamidowych szeroko stosowanych na świecie, m.in. jako wypełniacze filtrów do uzdatniania wody pitnej i przemysłowej, składniki cementu i zapraw murarskich, składniki nawozów mineralnych, poliakrylamidowe żele w laboratoriach badawczych, do elektroforetycznego rozdzielania białek i innych składników, w przemyśle papierniczym, tekstylnym i kosmetycznym.

W licznych badaniach [3, 5, 6, 9, 13, 14, 20] wykazano, że akryloamid ma działanie neurotoksyczne, powodując uszkodzenia ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego zarówno u zwierząt doświadczalnych, jak i ludzi. U zwierząt doświadczalnych wykazano również działanie genotoksyczne [18, 19] i kancerogenne [2, 7, 8] akryloamidu. Dlatego też Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem w 1994 sklasyfikowała akryloamid jako związek prawdopodobnie rakotwórczy dla ludzi [11].

W kwietniu 2002 r. grupa naukowców z Uniwersytetu w Sztokholmie razem ze Szwedzką Narodową Agencją ds. Żywności ogłosiła, że akryloamid powstaje w czasie przetwarzania żywności i jest obecny w żywności poddanej smażeniu i pieczeniu [21].

Obecnie wiadomo, że akryloamid powstaje przede wszystkim w produktach wysokowęglowodanowych, poddanych obróbce termicznej jako jeden z produktów reakcji Maillarda, zachodzącej pomiędzy wolną asparaginą i cukrami redukującymi (najbardziej reaktywne są glukoza i fruktoza). Wśród czynników sprzyjających powstawaniu akryloamidu w żywności wymienia się dużą zawartość wolnej asparaginy, dużą zawartość cukrów redukujących, wilgotność poniżej 30%, temperaturę procesu przetwarzania żywności w zakresie 120-170°C oraz relatywnie niereaktywną matrycę przeszkadzającą w eliminacji związku.

Głównym źródłem akryloamidu w diecie są produkty wysoko węglowodanowe poddane obróbce termicznej, przede wszystkim chipsy i frytki ziemniaczane, smażone i pieczone ziemniaki, a także przetwory zbożowe, m.in. chleb, płatki śniadaniowe, pieczywo cukiernicze. Istotnym źródłem akryloamidu w diecie może być również kawa oraz kakao i produkty czekoladowe.

Przeciętna zawartość akryloamidu w żywności – jak wynika z badań prowadzonych w wielu krajach europejskich – waha się w granicach od poniżej 30 do ponad 3500 µg/kg produktu [17].

Z ogólnopolskich reprezentatywnych badań sposobu żywienia przeprowadzonych przez IŻŻ w 2000 roku wynika, iż spożycie chipsów ziemniaczanych w Polsce nie jest wysokie, jednak szczegółowa analiza w grupach wiekowych wykazała, że wśród spożywających ten produkt dzieci w wieku 7-15 lat przeciętne dzienne spożycie chipsów wynosi około 65 g (*Szponar i wsp.* 2000, dane niepublikowane).

Celem badań była ocena zawartości akryloamidu w losowo pobranych na terenie Polski próbkach chipsów ziemniaczanych.

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiły 24 próbki chipsów (14 rodzajów) pobrane w losowo dobranych sklepach na terenie Polski w marcu i lipcu 2004 r. przez pracowników Państwowej Inspekcji Sanitarnej. Produkty w oryginalnych opakowaniach handlowych, w ilości nie mniejszej niż 250 g były niezwłocznie dostarczane – w warunkach podanych na opakowaniu przez producenta – do Instytutu Żywności i Żywienia, gdzie wykonywano badania.

Do homogenizowanej próbki chipsów ziemniaczanych (3 g) dodawano 100 µl roztworu wzorcowego – akryloamidu deuterowanego (d_3 – akryloamidu) (Cambridge Isotope Laboratories) o stężeniu 100 µg/ml. Próbkę ekstrahowano 25 ml wody destylowanej, a następnie ogrzewano przez 2 godziny w łaźni wodnej w temp. 60°C. Po schłodzeniu do temperatury pokojowej próbkę poddawano wirowaniu przez 30 min (12 000 obr/min; MPW Med. Instruments, Polska), a następnie wymrażano w temp. –20°C przez 20 min w celu usunięcia tłuszczu. Do ekstraktu dodawano ~2,5 g bromku potasu, 0,1 ml kwasu bromowodorowego (48%; Fluka) oraz 2,5 ml nasyconego roztworu wody bromowej. Próbkę poddawano całkowitemu bromowaniu w temp. ~0°C. Nadmiar bromu zobojętniano kilkoma kroplami 1 M roztworu tiosiarczanu sodu (Sigma-Aldrich). Próbkę przenoszono do kolby wirowej, dodawano ~1 g bezwodnego siarczanu sodu, a następnie 2-krotnie ekstrahowano 3 ml mieszaniny heksanu i octanu etylu (4:1; v/v) przez wytrząsanie (5 min) i poddawano wirowaniu przez 10 min (10 000 obr/min). Po rozdzieleniu się warstw, każdorazowo pobierano warstwę organiczną i przenoszono do ampułki szklanej. Po odparowaniu do sucha pod azotem (temp. bloku grzejącego 50°C), do próbki dodawano 100 µl octanu etylu (do HPLC) i przenoszono do wialek do autosample-ra [4, 23].

Bromowaniu poddawano również mieszaninę 100 μ l roztworów wzorcowych akryloamidu (Fluka) i d_3 - akryloamidu o stężeniach 100 μ g/ml. Analizę roztworów wzorcowych prowadzono równolegle z badaną próbką. Pozostałe zastosowane odczynniki były klasy cz. d. a.

Oznaczenia zawartości bromowych pochodnych akryloamidu wykonano metodą chromatografii gazowej z wykorzystaniem aparatu GCQ firmy Finnigan wyposażonego w detektor masowy z pułapką jonową oraz dozownik typu split/splitless. Próbkę w ilości 1 μ l analizowano techniką MS/MS z wykorzystaniem EI (70 eV). Analizę zawartości akryloamidu prowadzono na kolumnie chromatograficznej Rtx-5 MS firmy Restek, dł. 30 m, śr. 0,25 mm, film 0,25 mm. Pierwszym krokiem było uzyskanie jonu prekursora m/z 152 pochodzącego od bromopochodnej akryloamidu oraz 155 m/z pochodzącego od d_3 -bromopochodnych akryloamidu, a następnie w wyniku kolizji MS/MS, uzyskiwano jony-potomne m/z 152 \rightarrow m/z 135 i m/z 155 \rightarrow m/z 137. Stosunek pola powierzchni pod pikiem pochodzącym od jonów m/z 135 i m/z 137 był użyty do obliczeń ilościowych. Warunki analizy chromatograficznej:

- gaz nośny: He, przepływ gazu stały: 40 ml/sek.
- program temperaturowy pieca: temp nastrzyku 65°C, wzrost temp. 1°C przez 15 min do 250°C, czas analizy 23,33 min, linia transferowa: 250°C, temperatura źródło jonów: 180°C.

Identyfikacja badanych związków została przeprowadzona na podstawie czasów ich retencji i widma masowego. Wynik został przyjęty jako średnia z trzech równoległych oznaczeń.

Wyniki były oceniane za pomocą pakietu statystycznego *Statistica* ver. 6.0 Zawartość akryloamidu przedstawiono jako średnią \pm SD w μ g/kg produktu.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Średnia zawartość akryloamidu w badanych próbkach chipsów wynosiła 998 μ g/kg produktu, przy czym wartości te wahały się od 352 do 3647 μ g/kg w zależności od rodzaju chipsów (tabela I). Szczegółowa analiza uzyskanych danych wykazała, iż w większości analizowanych chipsów (17 próbek) zawartość akryloamidu nie przekraczała wartości 1000 μ g/kg produktu, a w 3 próbach była w zakresie od 1000 do 2000 μ g/kg produktu. Jedynie dwie z badanych próbek zawierały akryloamid w ilości ponad 3000 μ g/kg produktu. Należy podkreślić, że były to wyroby jednego producenta, produkowane dla tanich sieci handlowych.

Uzyskane wyniki były zbliżone do danych z innych krajów. Przeciętna zawartość akryloamidu oznaczana w chipsach ziemniaczanych w Szwecji wahała się od 1360 [22] do 1439 μ g/kg produktu [23], przy czym stwierdzano znaczne różnice pomiędzy zawartością badanego związku w poszczególnych produktach, wynoszące nawet ponad 2000 μ g/kg produktu. Podobne przeciętne zawartości akryloamidu w chipsach ziemniaczanych uzyskali również *Konings* i wsp. [12] w Holandii oraz *Ono* i wsp. [16] w Japonii.

Nieco niższe przeciętne zawartości akryloamidu w chipsach (730 μ g/kg), jednakże dla poszczególnych produktów bardzo zbliżone do naszych wyników, oznaczyli *Becalski* i wsp. [1], badając chipsy ziemniaczane w Kanadzie. Również niższe zawartości akryloamidu w porównaniu z naszymi wynikami stwierdzono w chipsach badanych w Austrii i Niemczech [10, 15], gdzie przeciętna zawartość tego składnika wynosiła około 550 μ g/kg produktu.

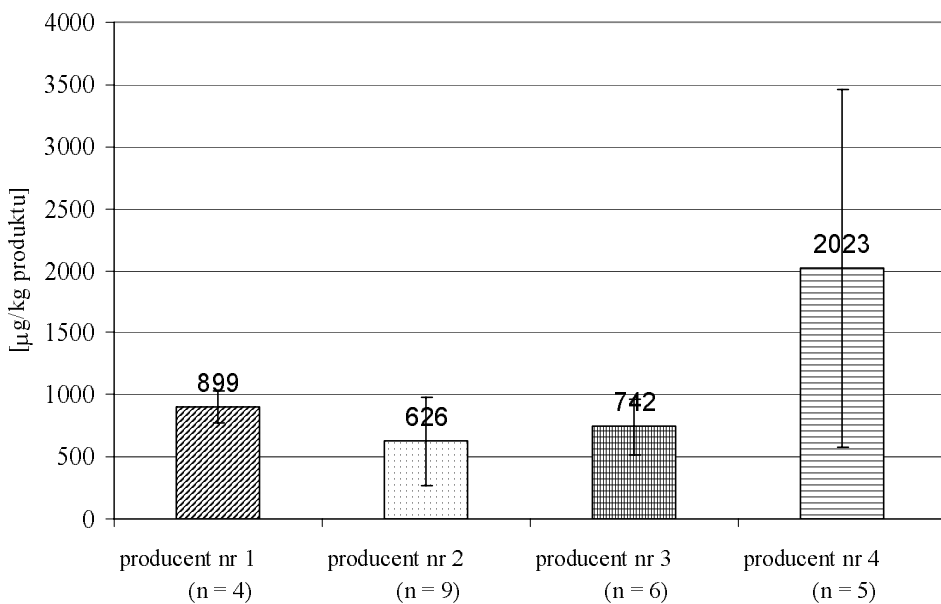
Pobrane do badań próbki chipsów były wytwarzane przez czterech producentów. Na ryc. 1 przedstawiono porównanie przeciętnej zawartości akryloamidu w chipsach produkowanych przez różnych producentów. Stwierdzono, że średnia zawartość akryloamidu w chipsach produkowanych przez trzech producentów (producenci 1, 2 i 3) wahała się od 626 do

Tabela I. Zawartość akryloamidu w chipsach ziemniaczanych, pobranych z rynku na terenie całej Polski w 2004 r. (n = 24)
Acrylamide content in potato crisps, randomly collected on Polish market in 2004 (n = 24)

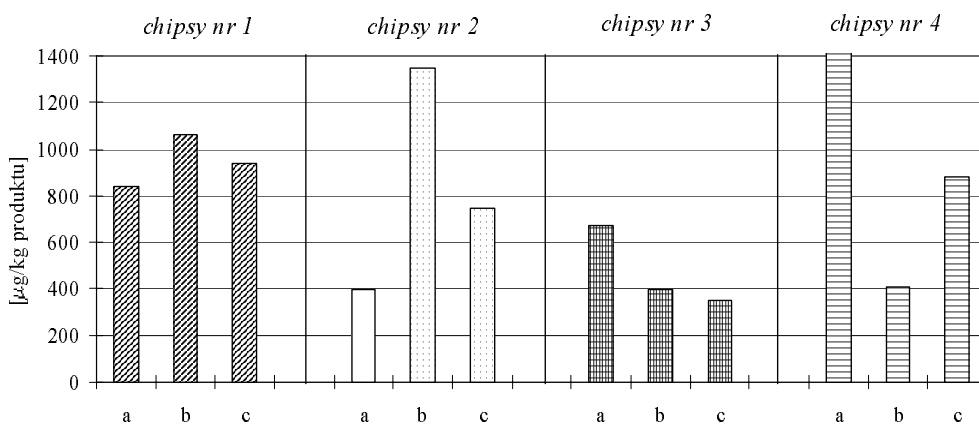
Lp.	Nazwa produktu spożywczego	Zawartość akryloamidu [$\mu\text{g}/\text{kg}$ produktu]
1	chipsy paprykowe I	839
2	chipsy paprykowe I	1059
3	chipsy paprykowe I	940
4	chipsy paprykowe II	1026
5	chipsy paprykowe II	472
6	chipsy paprykowe III	682
7	chipsy paprykowe III	472
8	chipsy paprykowe IV	3335
9	chipsy cebulowe I	759
10	chipsy cebulowe II	395
11	chipsy cebulowe II	1346
12	chipsy cebulowe II	747
13	chipsy cebulowe III	1022
14	chipsy cebulowe IV	793
15	chipsy serowo-cebulowe I	673
16	chipsy serowo-cebulowe I	398
17	chipsy serowo-cebulowe I	352
18	chipsy serowo-cebulowe II	1844
19	chipsy serowo-cebulowe II	408
20	chipsy serowo-cebulowe II	883
21	chipsy solone	413
22	chipsy solone	699
23	chipsy o smaku bekonu	3647
24	chipsy	748

899 $\mu\text{g}/\text{kg}$ produktu. W przypadku producenta nr 4 średnia zawartość akryloamidu w produkowanych przez niego chipsach wynosiła 2023 $\mu\text{g}/\text{kg}$ produktu i była od dwóch do ponad trzech razy wyższa w stosunku do pozostałych producentów. Podobne wyniki uzyskali *Becalski* i wsp. [1], badając w Kanadzie chipsy pochodzące od 5 różnych producentów. W produktach trzech producentów przeciętna zawartość akryloamidu wahała się od 530 do 730 $\mu\text{g}/\text{kg}$, natomiast u dwóch pozostałych wynosiła 1500 i 3500 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

Porównano również zawartość akryloamidu w tych samych rodzajach chipsów wytwarzanych przez jednego producenta, ale pochodzących z różnych partii produkcyjnych, oznaczonych jako chipsy nr 1-4 (ryc. 2). W przypadku partii chipsów nr 1 oraz nr 3 różnice w zawartości akryloamidu pomiędzy produktami pochodzącymi z różnych partii były nie-



Ryc. 1. Porównanie zawartości akryloamidu w chipsach ziemniaczanych różnych producentów
Comparison of acrylamide content in potato crisps produced by various manufacturers



Ryc. 2. Zawartość akryloamidu w chipsach ziemniaczanych, w zależności od partii produktu
Acrylamide content in potato crisps depending on manufacturing batches

znaczne. W przypadku partii chipsów nr 2 i nr 4 stwierdzono natomiast nawet czterokrotne różnice w zawartości akryloamidu w produktach pochodzących z różnych partii. Uzyskane wyniki mogą potwierdzać wpływ zastosowanego surowca, w tym przypadku odmian ziemniaków o różnej zawartości asparaginy i cukrów redukujących oraz zastosowanych procesów technologicznych (temperatura i czas trwania obróbki termicznej) na poziom akryloamidu w produkcie finalnym.

Podsumowując należy stwierdzić, że przedstawione w pracy zawartości akryloamidu w losowo pobranych na terenie Polski próbkach chipsów ziemniaczanych nie różniły się znacząco od poziomów stwierdzanych w innych krajach europejskich. Różnice w zawartości akryloamidu pomiędzy produktami tego samego producenta, ale pochodzącymi z różnych partii produkcyjnych oraz pomiędzy produktami pochodzącymi od różnych producentów mogą wskazywać na wpływ zarówno surowca jak i zastosowanego procesu technologicznego na zawartość akryloamidu w chipsach ziemniaczanych.

Ze względu na potencjalnie niekorzystne działanie akryloamidu niezbędne jest dalsze prowadzenie badań nad jego zawartością w innych produktach spożywczych. W celu pełnej oceny ryzyka zagrożenia zdrowia wynikającego z obecności w żywności akryloamidu należy oszacować wielkość pobrania tego związku z dietą, uwzględniając reprezentatywne dane o spożyciu żywności oraz wyniki dalszych badań nad zawartością akryloamidu w innych grupach produktów spożywczych, które mogą być jego znaczącym źródłem w diecie.

H. Mojska, I. Gielecińska, L. Szponar, K. Chajewska

ACRYLAMIDE CONTENT IN POTATO CRISPS IN POLAND

Summary

The main source of acrylamide in the diet are thermally processed carbohydrate-rich products, mainly those obtained from potatoes. Acrylamide is a substance with neurotoxic, genotoxic and carcinogenic properties. The International Agency for Research on Cancer classified it as a potential human carcinogen in 1994.

The purpose of this study was to assess acrylamide content in 24 samples of crisps randomly collected in Poland in 2004. Acrylamide was determined in the form of brominated derivatives by gas chromatography coupled with mass spectrometry.

The average acrylamide content in the crisp samples examined was 998 mg/kg of the product, ranging from 352 to 3647 µg/kg, depending on the type of the crisps. The factor determining the differences in acrylamide content in the product was also the manufacturer. The average content of acrylamide in the crisps produced by three different manufacturers (manufacturers 1-3) was ca. 600-900 µg/kg, and in the crisps produced by manufacturer 4 was ca. 3 times higher. Moreover, substantial differences were found between the same types of crisps produced by the same manufacturers but originating from different manufacturing batches.

The results obtained suggest the effects of various technological processes and raw material types on the level of acrylamide in crisps.

PIŚMIENNICTWO

1. Becalski A., Lau B.P.-Y., Lewis D., Seaman S.W.: Acrylamide in foods: occurrence sources and modeling. *J. Agric. Food Chem.* 2003, 51, 802-808.

2. Bull R.J., Robinson M., Laurie R.D., Stoner G.D., Greisiger E., Meier J.R.J., Stober J.: Carcinogenic effects of acrylamide in Sencar and A/J mice. *Cancer Res.* 1984, 44, 107-111.
3. Calleman C.J., Bergmark E., Stern L.G., Costa L.G.: A nonlinear dosimetric model for hemoglobin adduct formation by the neurotoxic agent acrylamide and its genotoxic metabolite glycidamide. *Environ. Health Perspect.* 1993, 99, 221-223.
4. Castle L.: Determination of acrylamide monomer in mushrooms grown on polyacrylamide gel. *J. Agric. Food Chem.* 1993, 41, 1261-1263.
5. Costa L.G.: Biomarker research in neurotoxicology: the role of mechanistic studies to bridge the gap between the laboratory and epidemiological investigations. *Environ. Health Perspect.* 1996, 104, suppl. 1, 55-67.
6. Endo H., Kittur S., Sabri M.I.: Acrylamide alters neurofilament protein gene expression in rat brain. *Neurochem. Res.* 1994, 19, 815-820.
7. Friedman M.A., Duak L. H., Stedham M.A.: A lifetime oncogenicity study in rats with acrylamide. *Fundam. Appl. Toxicol.* 1995, 27, 95-105.
8. Granath F.N., Vaca C.E., Ehrenberg L.G., Tornqvist M.A.: Cancer risk estimation of genotoxic chemicals based on target dose and multiplicative model. *Risk Anal.* 1999, 19, 309-320.
9. He F.S., Zhang S.L., Wang H.L., Li G., Zhang Z.M., Li F.L., Dong X.M., Hu F.: Neurological and electroneuromyographic assessment of the adverse effects of acrylamide on occupationally exposed workers. *Scand. J. Work Environ. Health* 1989, 15, 125-129.
10. Hoenicke K., Gatermann R., Harder W., Hartig L.: Analysis of acrylamide in different foodstuffs using liquid chromatography-tandem mass spectrometry and gas chromatography-tandem mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta* 2004, 520, 207-215.
11. International Agency for Research on Cancer: Some Industrial Chemicals. International Agency for Research on Cancer: Lyon, France 1994.
12. Konings E.J.M., Baars A.J., van Klaveren J.D., Spanjer M.C., Rensen P.M., Hiemstra M., van Kooij J.A., Peters P.W.J.: Acrylamide exposure from foods of the Dutch population and an assessment of the consequent risk. *Food Chem. Toxicol.* 2003, 41, 1569-1579.
13. LoPachin R.M.: The role of fast axonal transport in acrylamide pathophysiology: Mechanism or epiphenomenon? *Neurotoxicology*, 2002, 23, 253-257.
14. Miller M.S., Spencer P.S.: The mechanisms of acrylamide axonopathy. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 1985, 25, 643-666.
15. Murkovic M.: Acrylamide in Austrian foods. *J. Biochem. Biophys. Methods*, 2004, 61, 161-167.
16. Ono H., Chuda Y., Ohnishi-Kameyama M., Yada H., Ishizaka M., Kobayashi H., Yoshida M.: Analysis of acrylamide by LC-MS/MS and GC-MS in processed Japanese foods. *Food Addit. Contam.* 2003, 20, 215-220.
17. Stadler R.H., Scholz G.: Acrylamide: An update on current knowledge in analysis, levels in food, mechanisms of formation, and potential strategies of control. *Nutr. Rev.* 2004, 62, 449-467.
18. Scientific Committee on Food: Opinion of the on new finding regarding the presence of acrylamide in food. SCF/CS/CNTM/CONT/4 Final. 3 July 2002. Brussels, Belgium http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/scf/out131_en.pdf
19. Shelby M. D., Cain K.T., Cornett C.V., Generoso W. M.: Acrylamide: induction of heritable translocations in male mice. *Environ. Mutagen.* 1987, 9, 363-368.
20. Sickles D. W., Stone J. D., Friedman M. A.: Fast axonal transport: A site of acrylamide neurotoxicity? *Neurotoxicology*, 2002, 23, 223-251.
21. SNFA. Swedish National Food Administration. Information about acrylamide in food. <http://www.slv.se/engdefault.asp>
22. Svenson K., Abramsson L., Becker W., Glynn A., Hellenäs K. E., Lind Y., Rosén J.: Dietary intake of acrylamide in Sweden. *Food Chem. Toxicol.* 2003, 41, 1581-1586.
23. Takere E., Rydberg P., Karlsson P., Eriksson S., Tornqvist M.: Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated foodstuffs. *J. Agric. Food Chem.* 2002, 50, 4998-5006.