

Úbytok koncentrácie polycyklických aromatických uhľovodíkov v kvapalných údiacich preparátoch

PETER ŠIMKO - BOŽENA BRUNCKOVÁ

Súhrn. Práca sa zaoberá sledovaním úbytku koncentrácie polycyklických aromatických uhľovodíkov, ktoré boli pridané do kvapalného údiaceho preparátu o celkovej koncentrácii 52 mg.kg^{-1} vo forme zmesného štandardu. Takýmto spôsobom "kontaminovaný" kvapalný údiaci preparát sa potom následne naplnil do polyetylénových fliaš a skladoval pri laboratórnej teplote 14 dní. Zmeny v koncentrácii jednotlivých zlúčenín počas skladovania boli sledované pomocou HPLC s využitím selektívnej fluorimetrickej detekcie. Počas tejto doby došlo k rýchlemu poklesu koncentrácie PAU - takmer o dva poriadky - keď po 14 dňoch bola zistená zvyšková koncentrácia PAU zlúčenín v množstve $0,73 \text{ mg.kg}^{-1}$. Ako bolo zistené, úbytok koncentrácie PAU bol nepriamo úmerný dobe skladovania, pričom samotný pokles koncentrácie bol spôsobený sorbciou PAU na obalový materiál, kde bola prítomnosť PAU po ukončení experimentu skutočne aj dokázaná.

Prítomnosť polycyklických aromatických uhľovodíkov (PAU) v potravinách a potravinárskych aditívach sa stala jedným z vážnych problémov kontaminácie potravinového reťazca, pretože ich prítomnosť bola zaznamenaná v rôznych druhoch potravín [1-4].

V tejto súvislosti je špeciálne kladený dôraz na údené a grilované mäsové výrobky, pretože najvyššie množstvá PAU boli stanovené práve v nich [5-7].

Použitie kvapalných údiacich preparátov (KUP) v údenárskej technológii prinieslo celý rad výhod v porovnaní s tradičnými metódami údenia, pričom hlavnou prednosťou je možnosť relatívne jednoduchšej kontroly prívodu PAU

Ing.Peter Šimko, CSc., Ing.Božena Bruncková, Katedra sacharidov a konzervácie potravín, Chemickotechnologická fakulta STU, Radlinského 9, 812 37 Bratislava.

do mäsových výrobkov. Navyiac, použitie KUP v procese výroby údenárskych výrobkov znižuje obsah PAU o dva poriadky oproti výrobkom údených tradičnými spôsobmi [8].

Vznik, stanovenie a výskyt PAU v potravinách, vode a v životnom prostredí bol diskutovaný mnohými autormi, ako to dokazujú niektoré monografie [9-10].

V poslednej dobe boli publikované štúdie zaoberajúce sa sorbciou senzoricky aktívnych zlúčenín z potravín na obalový materiál [11-12].

Keďže PAU i polyetylén sú uhľovodíky majúce nepolárny charakter, je tu veľký predpoklad ich vzájomnej fyzikálno-chemickej interakcie. Cieľom tejto práce bolo teda preskúmať možnosti sorbie PAU na tento obalový materiál, t.j. efektívne znížiť koncentráciu PAU v KUP bez akýchkoľvek ďalších operácií.

Materiál a metódy

Kvapalný údiaci preparát (KUP) UTP-1 bol získaný od výrobcu - Slovenské lučobné závody Hnúšťa. Polyetylénové fľaše (PEF), použité v experimente boli vyrobené z vysokotlakového polyetylénu (Bralen, typ RA2-17, výrobcu Slovnaft Bratislava).

Polycyklické aromatické uhľovodíky

Keďže najvýraznejšie karcinogénne účinky na živý organizmus majú vo všeobecnosti zlúčeniny so štyrmi, resp. piatimi kondenzovanými benzénovými jadrami v molekule, pre uskutočnenie experimentu boli zvolené nasledujúce zlúčeniny: pyrén - (Py), benzo(a)antracén - (BaA), dibenzo(a,c)antracén - (DB(a,c)A), benzo(e)pyrén - (BeP), benzo(a)pyrén - (BaP) a dibenzo(a,h)antracén - (DB(a,h)A).

Štandardný roztok PAU bol pripravený ich rozpustením v metanole o celkovej koncentrácii PAU 6 mg.kg^{-1} .

Experiment

Po stanovení koncentrácie "prirodzene" sa vyskytujúcich PAU sa ku KUP pridal zmesný štandard PAU o celkovej koncentrácii 52 mg.kg^{-1} . Aby bolo možné vylúčiť možnú "sekundárnu kontamináciu" z obalového materiálu, bola uskutočnená aj analýza obalového materiálu na prítomnosť PAU pred započatím experimentu. Okamžite po pridaní zmesného štandardu

sa KUP analyzoval na prítomnosť PAU. Potom sa KUP naplnil do PEF a skladoval v laboratóriu 2 týždne. Počas tejto doby sa PAU stanovili v nasledujúcich časových intervaloch: 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, a 10 dní. Po 14 dňoch bol na prítomnosť PAU analyzovaný nielen KUP, ale analýze bol podrobený opäť použitý obalový materiál.

Všetky stanovenia boli uskutočnené paralelne.

Príprava vzorky

Vzorky KUP sa pre potreby HPLC analýzy pripravili nasledujúcim spôsobom: z dobre premiešanej vzorky sa odobralo 100 g a kvantitatívne prenieslo do oddeľovacieho lievika. Obsah lievika sa po pridaní 100 ml 20 % roztoku KOH intenzívne pretrepával počas 2 minút. Potom sa do lievika pridalo 50 ml hexánu a obsah sa opäť pretrepával počas 2 minút. Po oddelení vrstiev bola spodná vrstva postupne extrahovaná ešte dvakrát 50 ml hexánu. Spojené hexánové extrakty sa potom premyli 100 ml vody, vysušili prepustením cez vrstvu bezvodého Na_2SO_4 a odparili do sucha na rotačnej vákuovej odparke. Odparok sa rozpustil v metanole a doplnil na definovaný objem v rozmedzí 1 - 2,5 ml.

PEF sa rozrezali na časti o rozmeroch zhruba 1 x 1 cm, ktoré boli následne vložené do Erlenmeyerovej banky. Po pridaní 100 ml hexánu sa uzavretá banka vložila do trepačky na dobu 60 min a potom na 20 min do ultrazvukovej vane. Po oddelení mechanických častí sa hexánový extrakt rovnako odparil do sucha a odparok rozpustil v metanole.

Podmienky HPLC

HPLC analýza sa uskutočnila za nasledujúcich experimentálnych podmienok:

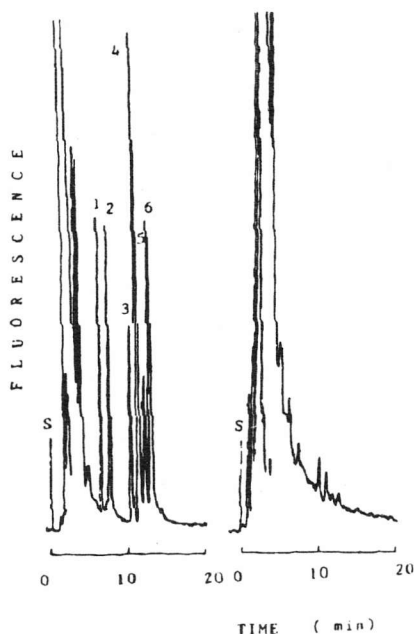
- kolóna 30 cm dlhá s vnútorným priemerom 3 mm, plnená stacionárnou fázou Separon SGX C o zrnitosti 5 mm (výrobca Tessek, Praha),
- mobilná fáza acetonitril/voda v objemovom pomere 3:1 s prietokom $1,15 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$,
- vysokotlakové čerpadlo HPP 4001, Laboratorní přístroje, Praha,
- slučkový dávkovač PK-1, výrobca Vývojové díelne ČSAV, Praha,
- fluorescenčný detektor Perkin-Elmer, typ LS-2B,
- excitačná vlnová dĺžka 310 nm,
- emisná vlnová dĺžka 410 nm.

Výsledky a diskusia

Pretože úprava vzorky pre HPLC analýzy si vyžadovala niekoľko preparačných krokov, bolo nevyhnutné stanoviť samotnú výťažnosť metódy. Výťažnosť metódy bola stanovená na základe prídavku známeho množstva PAU (52 mg.kg⁻¹) a BaP (1 mg.kg⁻¹). V oboch prípadoch sa výťažnosť pohybovala v rozmedzí 79 - 87 % s maximálnou smerodajnou odchýlkou 2,5 %.

Aby bolo možné vylúčiť náhodnú kontamináciu KUP polycyklickými aromatickými uhľovodíkmi z obalového materiálu, boli PEF analyzované na prítomnosť PAU pred započatím experimentu. Ako vyplýva z chromatografického záznamu na obr.1 (vľavo), v hexánovom extrakte PEF pred uskutočnením experimentu neboli detegované žiadne zlúčeniny, ktorých elučný čas by sa zhodoval s elučným časom sledovaných zlúčenín, zatiaľčo na obr.1 (vpravo) je chromatografický záznam PAU frakcie izolovanej z KUP izolovanej okamžite po pridaní zmesného štandardu.

Ako vyplýva z tab.1, v okamihu prídania PAU do KUP táto aditívna látka by nemohla byť použitá na aromatizáciu mäsových výrobkov vzhľadom



Obr.1. Chromatografický záznam PAU frakcie získanej extrakciou obalového materiálu pred započatím experimentu (vľavo); chromatografický záznam PAU frakcie izolovanej z KUP ihneď po pridaní zmesného štandardu (vpravo).
1 - Py, 2 - BaA, 3 - DB(a,c)A, 4 - BeP, 5 - BaP, 6 - DB(a,h)A.

Fig.1. Chromatographic record of PAU fraction obtained by extraction of package material before beginning of experiment (left); chromatographic record of PAU fraction isolated from KUP immediately after adding mixture standard (right).
1 - Py, 2 - BaA, 3 - DB(a,c)A, 4 - BeP, 5 - BaP, 6 - DB(a,h)A.

Tabuľka 1. Zmeny koncentrácie [mg.kg^{-1}] jednotlivých zlúčenín PAU počas experimentu.
Table 1. Changes of concentration [mg.kg^{-1}] of separate PAU compounds during experiment.

Zlúčenina ¹	Doba skladovania [dni] ²									
	0	1	2	3	4	6	7	8	10	14
Py	8,75	3,04	1,88	0,74	0,66	0,57	0,51	0,33	0,28	0,19
BaA	10,30	4,69	2,46	1,22	0,91	0,53	0,42	0,26	0,21	0,12
DB(a,c)A	8,11	3,90	2,44	1,11	0,80	0,71	0,61	0,38	0,25	0,24
BeP	5,87	2,74	1,56	0,71	0,51	0,25	0,20	0,15	0,10	0,06
BaP	5,58	3,71	1,72	1,00	0,59	0,32	0,23	0,14	0,10	0,07
DB(a,h)A	6,89	2,96	1,90	0,90	0,57	0,27	0,21	0,13	0,08	0,05
Suma ³	45,60	21,0	12,0	5,68	4,06	2,64	2,19	1,39	1,02	0,73

Py - pyrén, BaA - benzo(a)antracén, DB(a,c)A - dibenzo(a,c)antracén, BeP - benzo(e)pyrén, BaP - benzo(a)pyrén, DB(a,h)A - dibenzo(a,h)antracén.

1 - Compound, 2 - Storing time [days], 3 - Summ, Py - pyrene, BaA - benzo(a)anthracene, DB(a,c)A - dibenzo(a,c)anthracene, BeP - benzo(e)pyrene, BaP - benzo(a)pyrene, DB(a,h)A - dibenzo(a,h)anthracene.

na skutočnosť, že maximálne prípustná koncentrácia BaP v KUP je limitovaná koncentráciou 5 mg.kg^{-1} stanovenou hlavným hygienikom SR. Avšak okamžite po naplnení KUP do PEF došlo k tak prudkému poklesu koncentrácie PAU (už nasledujúci deň sa koncentrácia PAU znížila viac ako o 50 %), že v tomto okamihu už KUP opäť vyhovoval hygienicko-toxikologickým požiadavkám, z hľadiska koncentrácie BaP v KUP.

Ako vyplýva z tab.1, tento pokles pokračoval aj v nasledujúcich dňoch a experiment bol ukončený po 14 dňoch, keď už boli detegované koncentrácie, odpovedajúce medziam stanovenia jednotlivých zlúčenín. V tomto čase však bola koncentrácia PAU v KUP takmer o dva poriadky nižšia oproti koncentrácii na začiatku experimentu.

Na základe experimentálne získaných údajov možno priebeh zmien koncentrácií vyjadriť nasledujúcou rovnicou:

$$y = a + \frac{b}{x + c} \quad (1)$$

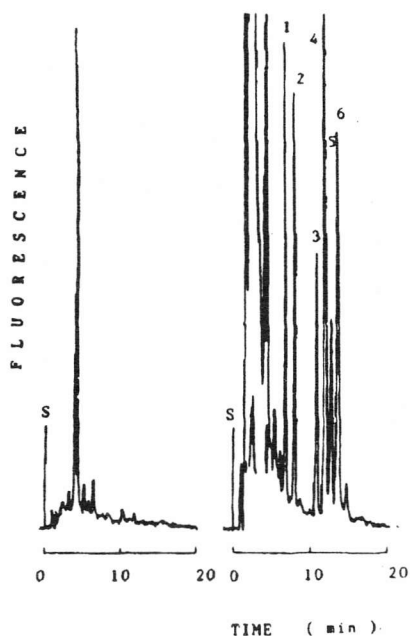
Pomocou tejto rovnice boli vypočítané regresné a korelačné koeficienty pre každú zlúčeninu a zosumarizované sa nachádzajú v tab.2. Vysoké hodnoty korelačných koeficientov potvrdzujú vhodnosť použitia rovnice vo vyššie uvedenom tvare ako aj skutočnosť, že pokles koncentrácie PAU v KUP bol nepriamo úmerný dobe jeho skladovania.

Tabuľka 2. Výsledky matematicko-štatistického spracovania nameraných hodnôt.
Table 2. Results of mathematical-statistical processing of measured values.

Zlúčenina ¹	Regresné koeficienty ²			Korelačný koeficient ³
	a	b	c	
Py	- 0,242	4,924	0,546	0,9978
BaA	- 0,790	9,368	0,840	0,9973
DB(a,c)A	- 0,514	8,102	0,935	0,9959
BeP	- 0,522	5,862	0,912	0,9968
BaP	- 0,868	9,593	1,435	0,9878
DB(a,h)A	- 0,584	6,522	0,870	0,9979
Suma ⁴	- 3,445	43,168	0,876	0,9971

1 - Compound, 2 - Regressive coefficient, 3 - Correlative coefficient, 4 - Summ.

Analýzou obalového materiálu po ukončení experimentu bolo zistené, že PAU sa sorbovali práve na jeho povrchu, resp. difundovali do vnútorných vrstiev, ako to vyplýva z obr.2 (vľavo), kde sa nachádza chromatografický záznam hexánového extraktu PEF. Na tom istom obrázku (vpravo) sa tiež



Obr. 2. Chromatografický záznam frakcie PAU získanej z obalového materiálu po ukončení experimentu (vľavo); chromatografický záznam PAU frakcie získanej z KUP po ukončení experimentu (vpravo). Záznam vpravo bol získaný pri 2x väčšej citlivosti detektora, aká bola použitá pri analýze obalového materiálu (vľavo).

Fig. 2. Chromatographic record of PAU fraction obtained from package material after finishing the experiment (left); chromatographic record of PAU fraction obtained from KUP after finishing the experiment (right). The record on the right was obtained with detector of 2-times higher sensitivity than was used during analysis of package material (left).

nachádza chromatografický záznam frakcie PAU, získanej z KUP po ukončení experimentu. Hoci v tomto prípade bola citlivosť detektora dvakrát vyššia oproti citlivosti, pri ktorej bol získaný chromatografický záznam PAU z obalového materiálu, namerané hodnoty koncentrácií PAU sa pohybovali prakticky na medzi ich stanovenia.

Na základe experimentálne získaných výsledkov a aplikáciou Fickových zákonov o difúzii ako aj existencii van der Waalsových síl, by mohol byť urobený nasledujúci záver:

- úbytok koncentrácie PAU v KUP bol spôsobený difúziou PAU do obalového materiálu v dôsledku rozdielu koncentrácií v oboch prostrediach. Difúzii mohla tiež napomôcť skutočnosť, že nepolárne PAU boli "vytláčané" zo silne polárneho prostredia do obalového materiálu, ktorý mal ako PAU tiež nepolárny charakter. Tu potom mohlo dochádzať k sorbcii PAU vzhľadom na veľkú možnosť vzniku väzieb van der Waalsového typu. Hoci van der Waalsove sily nie sú schopné vytvoriť tak silnú väzbu, ako je napr: iónová či kovalentná väzba, boli zrejme dostačujúce na to, aby došlo k sorbcii, t.j. účinnej fixácii PAU na obalový materiál a tým aj ich eliminácii z KUP.

Literatúra

1. FRITZ, W. - SOÓS, K., *Nahrung*, 25, 1981, s.905-913.
2. LARSSON, B. K. - ERIKSSON, A. T. - CERVENKA, M., *J. Amer. Oil. Chem. Soc.*, 64, 1987, s.365-370.
3. STIJVE, T. - HISCHENHUBER, C., *Dtsch. Lebensm-Rdsch.*, 83, 1987, s.276-282.
4. MENICHINI, E. - BOCCA, A. - MERLI, F. - IANNI, D. - MONFREDINI, F., *Food Additives & Contaminants*, 8, 1991, s.363-369.
5. BINNEMANN, P. H., *Z. Lebensm. Untersch. Forsch.*, 169, 1979, s.447-452.
6. FRETHEIM, K., *Food Chem.*, 10, 1983, s.129-139.
7. LAWRENCE, J. F. - WEBER, D. F., *J. Agric. Food Chem.*, 32, 1984, s.787-794.
8. ŠIMKO, P. - DUBRAVICKÝ, J. - SMIRNOV, V., *Potravinářské vědy*, 7, 1989, s.59-63.
9. HOWARD, J. W. - FAZIO, T., *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 63, 1980, s.1077-1104.
10. MACRAE, R., *HPLC in Food Analysis*, London, Academic Press, 1988, s.502.
11. ARORA, D. K. - HANSEN, A. P. - ARGAMOST, M. S., *J. Food Sci.*, 56, 191, s.1421-1423.
12. NIELSEN, T. J. - JÄGERSTAD, I. M. - OSTE, R. E. - SIVIK, B. T. G., *J. Agric. Food Chem.*, 39, 1991, s.1234-1237.

Do redakcie došlo 10.12.1992.

Decrease of polycyclic aromatic hydrocarbons concentration in liquid curing preparations

Summary

The paper is concerned for observing the decrease of polycyclic aromatic hydrocarbons concentration which were added to liquid curing preparation in total concentration 52 mg.kg^{-1} in the form of mixture standard. In such way "contaminated" liquid curing preparation was than put in polyethylen bottles and stored at laboratory temperature during 14 days. Changes in separate compounds concentration during storing were observed by means of HPLC with utilization selective fluorimetric detection. During this time drop of PAU concentration occurred - of nearly two orders. When after 14 days residual PAU compounds concentration in amount of $0,73 \text{ mg.kg}^{-1}$. As it was found out, decrease of PAU concentration was in reverse proportion to storing time, while the very decrease of concentration was caused by sorbtion of PAU into package material where the presence of PAU were demonstrated after the experiment was ended.