

Stanovenie benzo[a]pyrénu v sušenom sladovom kvete

PETER ŠIMKO—ALEXANDER PRÍBELA—JOZEF KNEŽO

Súhrn. Práca sa zaoberá vypracovaním metodiky na stanovenie benzo[a]pyrénu v sušenom sladovom kvete. Vzorka sa po extrakcii hexánom a prečistení na kolónke Florisilu analyzovala metódou vysokotlakovej kvapalinovej chromatografie použitím fluorescenčného detektora. Na základe získaných výsledkov možno konštatovať relatívne vysoký obsah BaP, ktorý je však v súlade s výsledkami analýz podobných druhov vzoriek. Vyše 91 % výťažnosť, ako aj smerodajná odchýlka (0,194) umožňujú používať túto metódu na stanovenie BaP v tomto type aditívnych látok.

Kontaminácia potravinového reťazca a životného prostredia vôbec sa v posledných dvoch desaťročiach tohto storočia stala predmetom intenzívneho štúdia mnohých vedeckých a výskumných inštrukcií. V tejto súvislosti sa pomocou najmodernejších analytických metód zistili rôzne skupiny chemických zlúčenín v ekosystéme človeka, ktoré majú nepriaznivé účinky na živé organizmy, vrátane človeka.

Pravdepodobne najstaršou skupinou kontaminantov životného prostredia sú polycyklické aromatické uhľovodíky (PAU). Pretože vznikajú všade tam, kde dochádza k nedokonalým procesom spaľovania uhlíkatých zlúčenín organického pôvodu, vznikali a vyskytovali sa už v dávnej minulosti ako dôsledok lesných a stepných požiarov, vulkanickej činnosti a pod. [1].

Po prvýkrát bol daný do súvislosti výskyt PAU v potravinách s poznatkami o vzniku PAU počas grilovacích a údiacich procesov mäsa a jeho výrobkov [2—6]. Až neskôr sa zistilo, že kontaminácia PAU môže nastať aj prostredníctvom imisií, kontaminovanej pôdy a vody [7]. Zvláštnym prípadom je kontaminácia potravín, resp. krmovín sušených spalínami fosilných palív.

Ing. Peter Šimko, CSc., prof. Ing. Alexander Príbelá, DrSc., Ing. Jozef Knežo, Katedra sacharidov a konzervácie potravín, Chemickotechnologická fakulta STU, Bratislava, Radlinského 9, 812 37 Bratislava.

Charakteristickým predstaviteľom skupiny PAU je benzo[*a*]pyrén (BaP). Hoci BaP tvorí nepodstatný podiel z celkového množstva bežne sa vyskytujúcich PAU (jeho obsah kolíše v rozmedzí 1—20 % celkového výskytu karcinogénnych PAU [8]), považuje sa táto zlúčenina za indikátor výskytu PAU vzhľadom na jeho mimoriadne vysokú schopnosť iniciovať ochorenia onkologického charakteru v živých organizmoch. Naviac, BaP sa vyskytuje vždy všade tam, kde dochádza k pyrolytickým procesom organickej hmoty [9].

Efektívnou metódou stanovenia BaP, resp. PAU je vysokotlaková kvapalínová chromatografia (HPLC), ktorá v spojení s UV alebo selektívnym fluorescenčným detektorom umožňuje spoľahlivo stanovovať jeho koncentrácie v kontaminovaných potravinách na úrovni $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$. HPLC sa použila na analýzu nielen údených a grilovaných potravín, ale aj ďalších potravinárskych aditív, kávy, zeleniny, rastlinných olejov a pod. [10—12].

Cieľom tejto práce bolo vypracovať metodiku stanovenia BaP v sušenom sladovom kvete ako perspektívnej aditívnej látky, ktorý však môže tiež byť kontaminovaný PAU, pochádzajúcimi z rôznych zdrojov.

Materiál a metódy

Dve modifikácie sušeného sladového kvetu — svetlý a tmavý, sme podrobili analýze na prítomnosť BaP. Technológia výroby a úpravy sladového kvetu komplexne opisuje [13].

Sušený sladový kvet sme zhomogenizovali v laboratórnom mlyne a do 500 ml Erlenmayerovej banky sme odvážili 20 g. Potom sme pridali 200 ml hexánu a banku uložili do trepačky na 3 hodiny. Po tomto čase sme do banky pridali 100 ml vody a ešte 10 minút nechali na trepačke. Po oddelení vrstiev sme hexánový extrakt vysušili prepustením cez vrstvu bezvodého Na_2SO_4 a zahustený na rotačnej vákuovej odparke na objem 1 ml. Potom sme zahustený extrakt prečistili na Florisilovej kolónke, ktorá pozostávala z 2,5 g Florisilu deaktivovaného 5 % vody. Frakciu PAU sme eluovali 150 ml hexánu, odparili na rotačnej vákuovej odparke do sucha a odparok rozpustili v metanole a doplnili na objem 2 ml.

Podmienky HPLC:

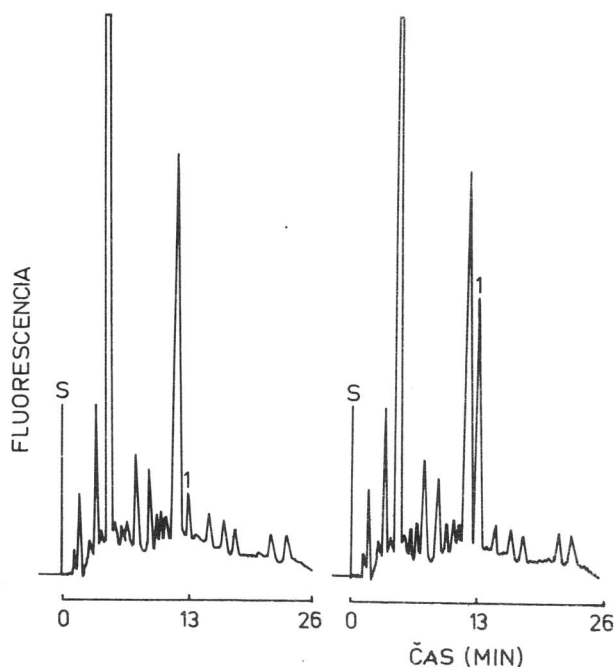
kolóna	30 cm dlhá, vnútorný priemer 3 mm, plnená stacionárnou fázou Sepharon SGX C 18, zrnitosť 5 μm
mobilná fáza	zmes acetonitrilu a vody (3 : 1)
prietok	1,15 ml \cdot min ⁻¹
nástrek	15 μl
vysokotlakové čerpadlo	HPP 4001

slučkový dávkovač
 fluorescenčný detektor
 excitačná vlnová dĺžka
 emisná vlnová dĺžka

PK 1
 Perkin-Elmer, typ LS-2B
 310 nm
 410 nm

Výsledky a diskusia

Vhodnosť použitia zvolenej metodiky determinuje niekoľko ukazovateľov správnosti analytického postupu. Jedným z týchto ukazovateľov je aj výťažnosť metódy. Výťažnosť sme overili prídavkom štandardného roztoku BaP v množstve, ktoré zodpovedalo koncentrácii $1 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ aj vzhľadom na už dosiahnuté výsledky stanovenia (tab. 1). Ako vyplýva z tab. 2, vysoká výťažnosť sa dosiahla vo všetkých štyroch sledovaniach výťažnosti, keď táto hodnota neklesla pod 91 %. Ako vyplýva z tab. 1, množstvo BaP dosahuje v oboch modifikáciách



Obr. 1. Chromatografický záznam frakcie PAU izolovanej zo sladového kvetu (vľavo) a chromatografický záznam frakcie PAU izolovanej zo sladového kvetu s prídavkom štandardného roztoku BaP (vpravo). S — štart, 1 — benzo[a]pyren

Fig. 1. Chromatographic record of PAU (polycyclic aromatic hydrocarbon) fraction isolated from malt culms (left side) and chromatographic record of PAU fraction isolated from malt culms with the addition of the BaP standard solution (right side). S — Start, 1 — Benzo[a]pyrene

Tabuľka 1. Obsah BaP v sušenom sladovom kvete
Table 1. Content of BaP in dried malt culms

Modifikácia ¹	Stanovenie BaP ²			[$\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$]
	1	2	3	s_R
Sušený sladový kvet svetlý ³	0,92	0,72	0,98	0,153
Sušený sladový kvet tmavý ⁴	1,16	1,40	1,49	0,194

s_R — štandardná odchýlka

1 — Modification, 2 — BaP determination, 3 — Dried malt culms — pale, 4 — Dried malt culms — dark.

Tabuľka 2. Výťažnosť BaP zo vzoriek na hladine koncentrácie $1 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$
Table 2. BaP recovery from the samples at the concentration level of $1 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$

	Výťažnosť BaP ¹ [%]	
	I. meranie ²	II. meranie ³
Sušený sladový kvet svetlý ⁴	93,8	96,9
Sušený sladový kvet tmavý ⁵	91,0	94,7

1 — BaP recovery, 2 — Ist assay, 3 — IInd assay, 4 — dried malt culms — pale, 5 — Dried malt culms — dark.

Tabuľka 3. Obsah BaP v rôznych druhoch aditívnych látok
Table 3. Content of BaP in different kinds of additives

Druh aditívnej látky ¹	Množstvo BaP ² [$\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$]	Literatúra
Pražený jačmeň ⁴	0,5—3,8	[11]
Čierne korenie ⁵	0,45	[11]
Majorán ⁶	1,30	[11]
Koriander ⁷	7,50	[11]
Oregáno ⁸	4,9	[11]
Pražená káva ⁹	0,10—0,50	[10]
Oleoreziny ¹⁰		
— z čierneho korenia ¹¹	5,20—28,50	[11]
— z papriky ¹²	220!	[11]
— tymiánu ¹³	39,50	[11]
— zeleru ¹⁴	176,0	[11]
Kokosový olej	3,0—18,0	[12]

1 — Additive, 2 — BaP amount, 3 — References, 4 — Roasted barley, 5 — Black pepper, 6 — Majoram, 7 — Coriander, 8 — Oregano, 9 — Roasted coffee, 10 — Olearisins, 11 — from black pepper, 12 — red pepper, 13 — thyme, 14 — celery (root), 15 — Coconut oil.

relatívne vysoké hodnoty. Avšak v konfrontácii s inými výsledkami publikovanými v odbornej literatúre, boli výsledky týchto stanovení porovnateľné a zapadajú do celkového stavu v tejto problematike. Výsledky analýz výskytu BaP v rôznych druhoch aditívnych látok sú v tab. 3.

Na záver treba zdôrazniť, že problematika výskytu PAU v celom potravinovom reťazci sa netýka iba údených a grilovaných potravín, ale prakticky každého druhu potravin. To preto, že kontaminácia môže byť zapríčinená priemyselnými imisiami, ropnými haváriami či splodinami výfukových plynov dopravných prostriedkov.

Literatúra

1. HOLOUBEK, I., In: Osud organických polutantů v prostředí. Brno, MU 1990.
2. FRETHERM, K., Food Chem., 10, 1983, s. 129.
3. GERTZ, C., Z. Lebensm.-Unters. Forsch., 173, 1981, s. 208.
4. POTTHAST, K., Fleischwirtsch oft, 55, 1975, s. 1492.
5. TÓTH, L.: Chemie der Räucherung. Berlin, Verlag Chemie 1983, 331 s.
6. ŠIMKO, P.—DUBRAVICKÝ, J.—SMIRNOV, V., Potr. Vědy, 7, 1989, s. 59.
7. MACRAE, R.: HPLC in Food Analysis. London, Academic Press 1988, 502 s.
8. ANDELMAN, J. B.—SUESS, M. J., Bull. WHO, 43, 1970, s. 479.
9. HOWARD, J. W.—FAZIO, T., J. Assoc. Off. Anal. Chem., 63, 1980, s. 1077.
10. de CRIJF, N.—SCHOUTEN, T., J. Agric. Food Chem., 35, 1987, s. 545.
11. STIJVE, T.—HISCHEHUBER, C., Dtsch. Lebensm.-Rdsch., 83, 1987, s. 276.
12. FABIAN, B., Arch. Hyg., 153, 1969, s. 21.
13. DŽATKOVÁ, K.: Chemické zloženie a technologické vlastnosti sladového kvetu. [Diplomová práca.] Bratislava 1985 SVŠT Chemickotechnologická fakulta. 119 s.

Do redakcie došlo 4. 6. 1991

Определение бензо[а]пирена в сушеном солодовом цветке

Резюме

Работа занимается разработкой методики для определения бензо[а]пирена в сушеном солодовом цветке. Проба после экстракции гексаном и прочистке на колонке Флорисила анализировалась высокоэффективной жидкостной хроматографией с применением флуоресцентного детектора. На основе полученных результатов можно констатировать относительно высокое содержание БаП, которое в соответствии с результатами анализов проб подобного рода. Более 91 %-ная вытяжка как и решающее отклонение (0,194) позволяют применять этот метод для определения БаП у этого типа пищевых добавок.

Determination of benzo[a]pyrene in dried malt culms

Summary

The work presented deals with the worked-out method of benzo[a]pyrene (BaP) determination in dried malt culms. After extraction with hexane and purification on Florisil column, the sample was analysed by help of HPLC method utilizing fluorescence detector. On the basis of the results acquired, relatively high content of BaP may be reported, but it is in coincidence with the results of analyses of similar samples. Recovery over 91% as well as the standard deviation (0,194) enable to use this method for the determination of BaP in this sort of additives.