

## Toxická forma chrómu v mliečnych výrobkoch

MÁRIA KOREŇOVSKÁ

**SÚHRN.** Predložená práca sa zaoberá vypracovaním extrakčnej metódy na stanovenie Cr(VI) v topených syroch, tvrdých syroch a v tvarohu. Chróm v oxidačnom stupni 6 sa stanovil metódou atómovej absorpčnej spektrometrie v grafitovej kyvete na prístroji Perkin Elmer 4100 v spojení s HGA 700. Výťažnosť extrakcie Cr(VI) v topených syroch bola 70–105 %, v tvrdých syroch 60–100 % a v tvarohu 65–112 %. Zistilo sa, že v topených syroch je Cr(VI) v rozsahu 11–21 %, v tvrdých syroch 8,7–15 %, v tvarohu 11–16,6 % z celkového množstva chrómu. Reprodukovateľnosť metódy bola v rozmedzí 2–20 %.

**KLÚČOVÉ SLOVÁ:** chróm; mliečne výrobky; atómová absorpčná spektrometria

V životnom prostredí je potenciál toxicity prvkov závislý od chemickej formy, v ktorej sa nachádzajú. Vzhľadom na oxidačný stupeň existujú v prírode dve formy chrómu - Cr(III) a Cr(VI). Chróm v oxidačnom stupni 3 je biogénym prvkom pre človeka, pretože má dôležitú úlohu v rôznych enzýmových reakciách, napr. pri aktivácii tromboplastínu,  $\beta$ -glukuronidázy, bakteriálnej ureázy [1] a pri metabolizme inzulínu ako tzv. „glukózo-tolerančný faktor“ [2]. Chróm v oxidačnom stupni 6 je výrazne toxickým prvkom, vyvoláva alergické ochorenia dýchacích ústrojov. Jeho mutagenné účinky boli zistené na bakteriálnom modeli, ako aj na bunkových kultúrach [3].

Chróm je prítomný v ľudskom tele v množstve 5–10 mg. Organizmus môže metabolizovať anorganické formy chrómu do aktívnej molekuly „glukózo-tolerančného faktora“. Doporučená výživová dávka pre ženy a mužov v USA a SRN je v rozsahu 0,05–0,2 mg chrómu [4].

Moderné analytické techniky umožňujú relatívne spoľahlivo stanoviť chróm už na koncentračnej úrovni  $\mu\text{g.l}^{-1}$ , ale vo väčšine prípadov nerozlišujú jeho oxidačný stupeň, nakoľko je potrebné pred samotným meraním roz-

ložiť matricu kyselinou. V princípe existujú dve možnosti stanovenia koncentrácie jednotlivých foriem chrómu:

- rozdeliť Cr(III) a Cr(VI) a stanoviť ich jednotlivo,
- stanoviť len jednu formu chrómu a celkový obsah chrómu, druhú formu chrómu dopočítať.

Viacerí autori sa zaoberali stanovením Cr(III) a Cr(VI) vo vzorkách prírodnej vody. Využili na to separáciu Cr(III) a Cr(VI) na reverznej fáze HPLC kolóny C<sub>18</sub> v kombinácii s indukčne viazanou plazmou atómovej emisnej spektrometrie [5], alebo FI (flow injection) techniky spojené s atómovou absorpčnou spektrometriou v plameni a prekoncentráciou na pevných sorbentoch - živici, chelátotvornom iónomeniči (Muromac A-1) a hliníkovej kolóne [6]. Ďalšou možnosťou je použiť extrakčnú metódu, ktorá vychádza z poznatku, že komplexy Cr(III) sa vyznačujú značnou kinetickou inertnosťou, čo súvisí s elektrónovou štruktúrou centrálného kovu. Prakticky to znamená, že rýchlosť substitučných reakcií je extrémne malá a aj také komplexy ako hexáno-chromitý komplex sú stále v roztokoch kyselín. Komplexy chrómu s ditiokarbamidovými ligandami sú tiež kineticky inertné a v dôsledku istej delokalizácie elektrónov vytvorených centrálnym kovom a ligandami sú termodynamicky stabilné. Keďže nemajú náboj, dajú sa ľahko vyextrahovať do stredne alebo málo polárnych organických rozpúšťadiel.

V predloženej práci sa sledovala možnosť stanovenia Cr(VI) v mliečnych výrobkoch extrakčnou metódou a následným meraním chrómu metódou atómovej absorpčnej spektrometrie v grafitovej kyvete.

### **Materiál a metódy**

Na stanovenie celkového chrómu a chrómu v oxidačnom stupni 6 sa použil atómový absorpčný spektrometer Perkin Elmer 4100 (Perkin Elmer, Norwalk, CT, USA) spojený s grafitovou kyvetou HGA 700 a automatickým dávkovačom vzoriek AS 70. Vzorky sa rozkladali vo vysokotlakovom mikrovlnnom rozkladnom systéme Mileston MLS 1200 MEGA (Milestone, Sorisole, Taliansko). Mineralizačná zmes bola 4 ml kyseliny dusičnej (65 %) a 0,5 ml peroxidu vodíka p. a. (Merck, Darmstadt, Nemecko). Návažok vzorky bol v závislosti od matrice 0,5–1,0 g. Maximálny tlak v nádobkách (100 ml TFM - tetrafluormetaxyl) bol  $11 \cdot 10^6$  Pa. Rozkladný program pozostával z 5 stupňov: 1. stupeň (250 W) a 2. stupeň (0 W) po dobu 1 min, 3. stupeň (250 W), 4. stupeň (400 W) a 5. stupeň (650 W) po dobu 5 min. Na meranie celkového chrómu sa mineralizáty doplnili do 10 ml redestilovanou vodou.

Pri stanovení chrómu prebiehala atomizácia zo steny kvety s pyrolytickým povrchom. Pracovné kalibračné roztoky chrómu sa pripravili z certifikovaného jednoprvkového vodného roztoku č. 10-2-10 (SMÚ, Bratislava, Slovensko) s koncentráciou  $1,0 \text{ g.l}^{-1}$  a roztok Cr(VI) z dvojchrómanu didraselného. Detekčný limit metódy bol  $0,002 \text{ mg.kg}^{-1}$  a medza stanovenia  $0,004 \text{ mg.kg}^{-1}$ , rozšírená neistota merania  $9,04 \%$  (je dvojnásobkom kombinovanej neistoty merania  $u_C$ ). Odozva signálu sa merala pri vlnovej dĺžke  $357,9 \text{ nm}$ , ochranným plynom bol argón. Teplota pyrolýzy bola  $1200^\circ\text{C}$  a teplota atomizácie  $2300^\circ\text{C}$ . Vyhodnotenie koncentrácie chrómu v meraných vzorkách sa robilo metódou kalibračnej priamky alebo metódou štandardného prídavku. Metóda GF-AAS na stanovenie chrómu bola kontrolovaná na certifikovanom referenčnom materiáli DC73351 Tea (National Analysis Center for Iron and Steel, Beijing, Čína) s certifikovaným obsahom chrómu  $0,800 \text{ mg.kg}^{-1}$  a  $s_x = 0,02 \text{ mg.kg}^{-1}$ . Variačný koeficient kontrolných meraní bol  $1,29 \%$  a relatívna smerodajná odchýlka  $4,6 \%$ .

Referenčný materiál s rovnakou matricou v akej sa meral chróm sme nemali k dispozícii.

Použitá metóda stanovenia chrómu na AAS je internou metódou akreditovaného skúšobného laboratória VÚP v Bratislave.

#### *Extrakčná metóda stanovenia Cr(VI)*

Keďže komplexy, vrátane vodných komplexov Cr(III), sú kineticky inertné, aj reakcia medzi Cr(III) a ditiokarbamidovými aniónmi prebieha veľmi pomaly a je pozorovateľná prakticky len pri teplotách vyšších ako  $50^\circ\text{C}$ . Produktami reakcie nie sú tris-komplexy, ale komplexy so zmiešanou ligandovou sférou. Na druhej strane chrómany reagujú rýchlo s ditiokarbamidovými ligandami a výsledkom reakcie, okrem vedľajších produktov tejto v podstate redukčno-oxidačnej reakcie, je tris-(ditiokarbamid) chromitý - neutrálny a dobre extrahovateľný komplex. Táto rozdielna vlastnosť Cr(III) a Cr(VI) sa využila na selektívne oddelenie Cr(VI).

#### *Pracovný postup extrakcie*

Navážilo sa  $0,5\text{--}1,0 \text{ g}$  vzorky do plastovej kadičky, pridalo  $9,5 \text{ ml}$  vody a miešaním ( $10 \text{ min}$ ) sa vytvorila jemná suspenzia, do ktorej sa pridalo  $0,5 \text{ ml}$  koncentrovanej kyseliny octovej a  $1 \%$  ditiokarbamidanu sodného a miešalo  $5 \text{ minút}$ . Potom sa pridalo  $4,5 \text{ ml}$  chloroformu a znovu miešalo  $5 \text{ minút}$ . Po oddelení vrchnej vodnej fázy sa pomocou dávkovacej pipety odpipetovalo z chloroformovej spodnej vrstvy malé množstvo priamo do teflónovej nádoby automatického dávkovača AAS prístroja a stanovila sa koncentrácia Cr(VI).

## Výsledky a diskusia

Na stanovenie stopových koncentrácií chrómu a jeho oxidačno-redukčných foriem Cr(III) a Cr(VI) vo vzorkách mliečnych výrobkoch sa použila popísaná extrakčná metóda. Na potvrdenie správnosti danej metódy sme nemali certifikovaný referenčný materiál a preto sa stanovila výťažnosť Cr(VI) v topených syroch, tvrdých syroch a v tvarohu zakúpených v obchodnej sieti v Bratislave. Boli to topené syry - Syrovit (Zvolenská mliekareň,

TAB. 1. Výťažnosť extrakcie Cr(VI) v topených syroch.  
TAB. 1. Extraction recovery rate of Cr(VI) in processed cheeses.

Prídavok Cr(VI) <sup>1</sup> [ng]	Namerané Cr(VI) <sup>2</sup> [ng]	Výťažnosť extrakcie <sup>3</sup> [%]	RSD [%]
25	24,7–26,2	99,0–105,0	2,4
50	39,0–41,0	78,0–82,0	2,1
100	79,0–80,0	79,0–80,0	0,9
200	170,0–185,0	85,0–92,5	3,2
300	216,0–217,0	70,0–72,3	1,1

TAB. 2. Výťažnosť extrakcie Cr(VI) v tvrdých syroch.  
TAB. 2. Extraction recovery rate of Cr(VI) in hard cheeses.

Prídavok Cr(VI) <sup>1</sup> [ng]	Namerané Cr(VI) <sup>2</sup> [ng]	Výťažnosť extrakcie <sup>3</sup> [%]	RSD [%]
25	15,0–16,3	60,0–65,0	2,3
50	32,0–50,0	64,0–100,0	17,8
100	73,0–83,0	73,0–83,0	4,6
200	132,0–174,0	66,0–87,0	9,9
300	200,0–214,0	67,0–71,3	2,2

TAB. 3. Výťažnosť extrakcie Cr(VI) v tvarohu.  
TAB. 3. Extraction recovery rate of Cr(VI) in curds.

Prídavok Cr(VI) <sup>1</sup> [ng]	Namerané Cr(VI) <sup>2</sup> [ng]	Výťažnosť extrakcie <sup>3</sup> [%]	RSD [%]
25	17,3–19,2	69,2–76,8	3,3
50	35,7–38,1	71,4–76,2	2,4
100	65,0–101,0	65,0–101,0	17,2
200	146,0–224,0	73,0–112,0	19,2

RSD - relatívna smerodajná odchýlka.

RSD - relative standard deviation. 1 - addition of Cr(VI), 2 - chromium Cr(VI) determined, 3 - extraction recovery.

Zvolen, SR), Lunex (Milex, Nové Mesto nad Váhom, SR), tvrdé syry - Eidamská tehla (Senická mliekareň, Senica, SR), Moravský bochník (Zvolenská mliekareň, Zvolen, SR) a tvaroh (Rajo, Bratislava, SR). Prídavky Cr(VI) sa priamo dávali do suspenzie v množstve 25 ng až 300 ng. Namerané množstvá Cr(VI) sú v tab. 1 až 3 a sú priemernou hodnotou z dvoch paralelných stanovení vyextrahovaných v troch časových intervaloch.

Zistilo sa, že výťažnosť extrakčnej metódy stanovenia Cr(VI) v topených syroch je 70–105 %, čo je postačujúce pre sledovanú koncentračnú hladinu chrómu a relatívna smerodajná odchýlka meraní je tiež uspokojivá (0,9–3,2 %). Pri extrakcii Cr(VI) v tvrdých syroch sa zistila nižšia výťažnosť 60–100 % v závislosti od pridaného množstva Cr(VI). Relatívna smerodajná odchýlka stanovenia Cr(VI) bola 2,2–17,8 %. Výťažnosť Cr(VI) v tvarohu bola 65–112 % a relatívna smerodajná odchýlka meraní 2,4–19,2 %, čo súvisí s nedokonalým vytvorením homogénnej suspenzie a zistením, že je potrebné po odpipetovaní chloroformovej vrstvy do teflónovej nádoby dávkovača prístroja ihneď merať chróm na AAS, nakoľko je prchavý a pri stopových koncentráciách chrómu to ovplyvňuje výsledok.

Reprodukovateľnosť a výťažnosť extrakčnej metódy stanovenia Cr(VI) spĺňajú kritéria pre validáciu analytickej metódy v meranej koncentračnej hladine [7].

TAB. 4. Stanovený obsah Cr(VI) v mliečnych výrobkoch.

TAB. 4. Determination of Cr(VI) in dairy products.

Názov vzorky <sup>1</sup>	Krajina pôvodu <sup>2</sup>	Počet vzoriek <sup>3</sup>	Celkový chróm <sup>4</sup> [mg.kg <sup>-1</sup> ]	Obsah Cr(VI) <sup>5</sup>	
				[mg.kg <sup>-1</sup> ]	[%]
Topené syry <sup>6</sup>					
Dietetický topený syr	SR	3	0,136–0,177	0,0068–0,017	5,0–9,6
Topený syr A	SR	3	0,152–0,198	0,0277–0,033	15,0–21,0
Topený syr B	SR	3	0,140–0,146	0,025–0,030	17,7–20,7
Topený syr C	SR	2	0,142–0,188	0,0113–0,0173	7,9–9,2
Topený syr D	F	3	0,110–0,177	0,0070–0,0170	6,4–9,6
Tvrdé syry <sup>7</sup>					
Eidamská tehla	SR	3	0,088–0,142	0,0110–0,0123	8,6–11,5
Moravský bochník	SR	2	0,119–0,239	0,0157–0,0219	9,2–13,2
Tvaroh <sup>8</sup>	SR	3	0,052–0,085	0,0057–0,0129	11,0–15,2

1 - sample name, 2 - country of origin, 3 - number of samples, 4 - total chromium content, 5 - content of Cr(VI), 6 - processed cheeses, 7 - hard cheeses, 8 - curds.

Cieľom našej práce bolo zistiť, či sa v mliečnych výrobkoch nachádza Cr(VI) a v akom množstve. Preto sa zakúpili v obchodnej sieti topené syry, tvrdé syry a tvaroh. Namerané obsahy sú v tab. 4.

Zistilo sa, že v topených syroch sa nachádza Cr(VI) v rozsahu 5–21 %, v tvrdých syroch 8,6–13,2 % a v tvarohu 11–15,2 % z celkového množstva chrómu v daných výrobkoch.

### Záver

Z daných poznatkov vyplýva, že zvýšenie najvyššieho prípustného množstva chrómu v roku 1996 z 0,1 mg.kg<sup>-1</sup> na 0,5 mg.kg<sup>-1</sup> nemôže ohroziť zdravie obyvateľov SR [8].

### Literatúra

1. LANGARD, S. - NORSETH, T.: Handbook on the toxicology of metals. Amsterdam : Elsevier/North, 1979. 421 s.
2. MERTZ, W. - ROGINSKI, E. E.: Newer trace elements in nutrition. New York : Marcel Dekker Inc., 1971. 317 s.
3. UNDERWOOD, E. J.: Trace elements in human and animal nutrition. 3. vyd. New York : Academic Press, 1971. 433 s.
4. HAMILTON, E. M. N. - WHITNEY, E. N. - SIZER, F. S.: Nutrition - concept and contraversion. St. Paul/New York : West Publishing Comp., 1988. 736 s.
5. CAROLI, S.: Element speciation in bioinorganic chemistry. New York : John Wiley & Sons, Inc., 1996. 474 s.
6. BEINROHR, E. - MÁNOVÁ, A. - DZUROV, J.: Preconcentration of Cr(III) and total Cr in waters for flame AAS in a flow-through electrochemical/sorption cell. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 355, 1996, s. 528-531.
7. HILL, A.R.C. - REYNOLDS, S. L.: Guidelines for in-house validation of analytical methods for pesticides residues in food and animal feeds. *Analyst*, 124, 1999, s. 953-958.
8. Výnos Ministerstva pôdohospodárstva a Ministerstva zdravotníctva Slovenskej republiky č. 981/1996 z 20.5.1996, ktorým sa vydáva prvá časť a prvá, druhá, a tretia hlava druhej časti Potravinového kódexu SR. Príloha č. 2. tretej hlavy druhej časti Potravinového kódexu SR - Kontaminanty v potravinách. *Vestník Ministerstva zdravotníctva SR*, 44, 1996, čiastka 9-13, s. 113-117.

Do redakcie došlo 10.3.2003.

**Toxic form of chromium in dairy products**

KOREŇOVSKÁ, M.: Bull. potrav. Výsk., 42, 2003, p. 87-93

**SUMMARY.** The presented study deals with elaboration of the extraction method for the determination of Cr(VI) in processed cheeses, hard cheeses and curds. Chromium at oxidation level 6 was determined by atomic absorption spectrometry. Extraction recovery rate of Cr(VI) in processed cheeses was 70–105 %, in hard cheeses 60–100 % and in curds 65–112 %. The chromium Cr(VI) content in processed cheeses were 11–21 %, hard cheeses 8.7–15 % and in curds 11–16.6 % of the total content of chromium. Reproducibility of the method was 2–20 %.

**KEYWORDS:** chromium; dairy products; atomic absorption spectrometry