

Vznik, analýza a výskyt polycyklických aromatických uhľovodíkov v údených mäsových výrobkoch

PETER ŠIMKO

SÚHRN. Práca sa zaoberá vznikom, prítomnosťou a analytickými metódami stanovenia polycyklických aromatických uhľovodíkov v potravinách. Zvýšená pozornosť je venovaná výskytu týchto zlúčenín v údenárskych výrobkoch a zmenám v ich obsahu, ku ktorým dochádza počas niektorých technologických procesov výroby, skladovania a dodatočného ohrievania týchto produktov.

V posledných troch desaťročiach sa kontaminácia potravinového reťazca najrôznejšími chemickými zlúčeninami stala objektom intenzívneho výskumu a dnes je neoddeliteľnou súčasťou modernej potravinárskej toxikológie [1].

Polycyklické aromatické uhľovodíky (PAU) patria k organickým kontaminantom, vyskytujúcich sa prakticky vo všetkých zložkách životného prostredia v dôsledku ich sústavnej syntézy počas nedokonalých procesov spaľovania fosílnych palív a ich následnej depozície do okolitého prostredia [2]. Nemenej významným zdrojom PAU sú ekologické havárie s následným prienikom ropy, resp. jej produktov do pôdy a vodných zdrojov, lesné a stepné požiare, vulkanická činnosť a antropogénna činnosť človeka vôbec [3]. Hygienicko-toxikologický význam tejto skupiny látok podčiarkuje skutočnosť, že zahŕňa v sebe najviac zlúčenín s dokázaným karcinogénnym účinkom na živý organizmus. Ostatné, hoci tento účinok nemajú, môžu pôsobiť ako synergetiká karcinogénov [2].

PAU sa môžu do potravín dostávať viacerými cestami - prostredníctvom depozície imisí na poľnohospodárske suroviny [4], alebo sa tieto zlúčeniny syntetizujú priamo počas technologických procesov sušenia spalínami fosílnych palív a tepelných procesov, ako sú grilovanie, smaženie a údenie [5].

Osobitným zdrojom PAU sú minerálne oleje, ktoré sa používajú ako zmäčkovadlá na jutové vrecia, určené pre transport kakaových bobov, kávy, kopy a pod. z produkčných krajín [6].

Obsah PAU vo finálnych potravinárskych výrobkoch môže ovplyvniť aj použitie kontaminovaných aditívnych látok, resp. výťažkov a koncentrátov z nich [7], v ktorých sa koncentrácie PAU môžu pohybovať až na úrovni mg/kg.

Pretože PAU predstavujú pomerne zložitú zmes zlúčenín, býva častokrát miera ich hygienicko-toxikologického rizika posudzovaná podľa obsahu benzo(a)pyrénu (BaP) vzhľadom na jeho mimoriadne vysoký karcinogénny účinok na živý organizmus [8,9]. Na základe tohoto poznatku sa v niektorých krajinách sveta, vrátane SR, legislatívne upravili maximálne prípustné limity PAU vyjadrené ako maximálne prípustné koncentrácie BaP v potravinách, pri ktorých je reálne riziko kontaminácie týmito látkami [10,11].

Údené mäsové výrobky

Aromatizácia mäsových produktov splodinami termickej deštrukcie drevnej hmoty, t.j. údenie je jedna zo základných technologických operácií. Podstatou tohoto procesu je vystavenie výrobkov pôsobeniu údenárskeho dymu, v ktorom sa nachádzajú rôzne chemické zlúčeniny v disperznom stave. Počas údenia získavajú mäsové výrobky typickú údivú vôňu a chuť v dôsledku postupného usadzovania senzoricky aktívnych látok (najmä deriváty guaiakolu a syringolu, karbonylové zlúčeniny, organické kyseliny) na povrchu výrobku [12], ktorých bolo doposiaľ identifikovaných viac ako 400 [13]. Avšak, počas vyvíjania dymu vznikajú aj PAU, ktoré sa rovnako usadzujú na povrchu výrobkov [14], pričom ich množstvo ako aj kvalitatívne zloženie závisí od mnohých faktorov, napr. teplota vyvíjania dymu, prístup kyslíka, obsah vody v dreve [15], a pod. Bolo dokázané, že výrobky údené horúcim dymom obsahujú podstatne vyššie množstvá PAU ako výrobky údené studeným dymom [12,16].

PAU sú zlúčeniny s rozsiahlym systémom konjugovaných väzieb v molekule, čo podmieňuje ich reaktivnosť. Z toho vyplýva aj ich relatívna nestabilita, ktorá je výraznou mierou ovplyvňovaná prítomnosťou kyslíka a intenzitou svetelnej expozície. Táto skutočnosť spôsobuje, že obsah PAU, donedávna považovaný za konštantnú hodnotu je v skutočnosti relatívne veľmi premenlivý. Pri analýze BaP exponovaného denným svetlom za prístupu kyslíka bola zaznamenaná lineárna závislosť medzi dobou expozície a úbytkom množstva BaP, čo dokazuje tomu, že priebeh fotooxidácie BaP sa riadi reakciou nultého poriadku. Avšak za rovnakých podmienok pokles obsahu BaP v rybách údených horúcim dymom mal exponenciálny priebeh, čo je charakteristické pre reakcie prvého poriadku. Tento rozdiel je možno vysvetliť skutočnosťou, že vo výrobkoch dochádza nielen k fotooxidácii BaP, ale aj k jeho difúzii do vnútorných vrstiev, kde sa obsah BaP vzhľadom na absenciu kyslíka, ale najmä svetla stabilizuje. Je zrejmé, že k stabilizácii obsahu BaP dochádza až po určitom čase, keď dôjde k úplnému rozkladu BaP na povrchu a jeho celkový obsah je daný len obsahom BaP nachádzajúcim sa vo vnútorných vrstvách [17].

K podobnej situácii dochádza aj v prípade trvanlivých, tepelne neopracovaných mäsových výrobkov (TTNMV). Tieto sú síce údené studeným dymom a obsah PAU je nižší v porovnaní s mäsovými výrobkami údenými horúcim dymom. Z tohoto dôvodu aj zmeny v obsahu PAU nie sú také výrazné. Navyiac, pokles v obsahu PAU je kompenzovaný úbytkom hmotnosti TTNMV v dôsledku odparenia časti voľne viazanej vody počas zrenia týchto výrobkov v klimatizovaných sušiarňach. Evidentný pokles v obsahu PAU je však markantný po jeho prepočte na sušinu [18].

Veľmi zaujímavé výsledky sa získali pri sledovaní zmien obsahu BaP v dvoch technologicky odlišných mäsových výrobkoch počas následného ohrevu. Obidva typy, klobásky i párky, boli ohrievané vo vriacej vode a v určitých časových intervaloch boli odoberané vzorky, v ktorých bol stanovený obsah tuku, BaP a sušina. Ako vyplýva z výsledkov experimentu, v prípade klobásky došlo k maximálnemu poklesu BaP približne v prvých 15-tich minútach ohrevu. Úbytok BaP bol popísaný rovnicou, pričom bol zistený vplyv denaturácie bielkovín, ktorý bol sprevádzaný zmenou hmotnosti. Rozhodujúci vplyv na úbytok BaP v klobáse však malo množstvo vytaveného tuku. Porovnaním priebehov úbytku BaP a tuku počas ohrevu bola zistená lineárna závislosť medzi obsahom BaP v klobáse a množstvom vytaveného tuku. Objektívny pohľad zmien BaP bolo možné získať po prepočte na beztukovú sušinu, pričom bolo dokázané, že poklesom obsahu tuku v tomto druhu mäsového výrobku klesá aj obsah BaP, ktorý v konkrétnych podmienkach pokusu [19] poklesol počas ohrevu z pôvodnej hodnoty o 62 percent.

Naproti tomu nebol zaznamenaný žiadny vplyv ohrevu na obsah BaP v párkoch. Tento fakt bol spôsobený skutočnosťou, že obidva výrobky sú si podobné len opticky. Zatiaľ čo klobásky predstavujú nehomogénnu zmes mletého mäsa a tukového tkaniva a sú do obchodnej siete distribuované okamžite po skončení údenia, párky predstavujú mechanicky jemne vypracované dielo (disperznú sústavu v anglosaskej literatúre nazývanú ako tzv. mäsová, resp. salámová emulzia), ktoré sa navyiac po technologickom procese údenia stabilizuje z hľadiska obsahu tuku dodatočným varom vo vodnej pare. Počas tohoto varenia dochádza k uvoľneniu „nadbytočného“ tuku, čím sa celý systém z hľadiska obsahu tuku, vody a bielkovín stabilizuje. Pretože „rezi-duálny“ tuk je po tomto procese už rovnováhe s ostatnými zložkami systému, nedochádza k jeho úbytku počas prípadného ďalšieho ohrevu [20]. Keďže bola dokázaná difúzia PAU do nepolárnych častí údených výrobkov a korelácia medzi úbytkom BaP a úbytkom tuku, konštantný obsah BaP v párkoch je zapríčinený nemeniacim sa obsahom tuku počas následných ohrevov. Tieto pokusy dokázali, že PAU ako nepolárne látky majú výraznú tendenciu nerovnomernej distribúcie v týchto druhoch výrobkov, pričom ich lipofilný charakter predurčuje ich schopnosť difundovať prednostne do nepolárnych častí, ako sú napr. tukové tkanivo, vytavený tuk lokalizovaný pod obalom a pod.

Z hľadiska podstatného zníženia obsahu PAU sa ako veľmi vhodné javí použitie kvapalných údiacich preparátov najmä vo výrobkoch, u ktorých je predovšetkým rozhodujúce vyvolanie žiadúceho senzorického efektu, pričom sa nesleduje touto operáciou aj konzervačný účinok tradičných postupov údenia. Použitím týchto aditívnych látok je možné o niekoľko poriadkov znížiť obsah PAU v aromatizovaných výrobkoch oproti výrobkom údených tradičnými postupmi [21,22]. Navyše, vhodnou technológiou a voľbou obalových materiálov je možno úplne odstrániť stopové koncentrácie PAU z týchto aditívnych látok počas relatívne krátkej doby [23,24,25], čo podstatnou mierou zvyšuje hygienickú nezávadnosť tohoto sortimentu potravinárskych výrobkov.

Analytické metódy stanovenia PAU

S prehlbujúcimi sa poznatkami o zhubnom účinku PAU na živý organizmus sa následne začali rozvíjať aj analytické metódy ich stanovenia. V tom čase sa na stanovenie používali papierová, stĺpcová a tenkovrstvová chromatografia [26]. Tieto techniky však neboli schopné plne vyhovieť požiadavkám Medzinárodnej organizácie boja proti rakovine (UICC), ktorá odporúčala používať len také analytické postupy, pomocou ktorých je možné identifikovať jednotlivé zlúčeniny tzv. „benzpyrérovej“ frakcie, t.j. benzo(a)antracén, benzo(a)pyrén, benzo(e)pyrén, benzo(g,h,i)pyrén, pyrén, benzo(k)fluorantén a koronén [27]. Pretože sa PAU vyskytujú v koncentráciách spravidla nepresahujúcich hodnoty $\mu\text{g/kg}$, postupne boli rozpracované také analytické postupy, ktoré umožňujú stanovenie týchto stopových množstiev za použitia progresívnych analytických metód. Pretože sú PAU v údených mäsových výrobkoch viazané na ich zložky, je jednoduchá extrakcia PAU nepolárnym rozpúšťadlom len málo účinná [28]. Z tohoto dôvodu sa na rozloženie matrice používa alkalická hydrolýza metanolicným roztokom KOH, pričom následnou extrakciou hydrolyzátov je možno dosiahnuť takmer stopercentnú výťažnosť. Na separáciu PAU od sprievodných látok sa používajú techniky stĺpcovej chromatografie, najčastejšie za použitia Florisilu a silikagélu [7,29], či Sephadexu [30]. Separáciu a stanovenie jednotlivých zlúčenín frakcie PAU je možno efektívne realizovať len pomocou plynovej chromatografie (GC) na kapilárnej kolóne a vysokotlakovkej kvapalinovej chromatografie (HPLC) vzhľadom na skutočnosť, že doposiaľ bolo v potravinách a životnom prostredí identifikovaných viac ako 100 zlúčenín PAU [1].

Na detekciu v GC je možno použiť plameňovoionizačný detektor, ktorý však vyžaduje dokonalé prečistenie vzorky, čo býva spravidla spojené so značnými stratami stanovovaných zlúčenín. Z tohoto dôvodu sa uprednostňuje detekcia hmotnostným detektorom, pracujúcim v režime „selected ion monitoring“, umožňujúcim snímať len vybrané hmotnosti iónov PAU [31].

V prípade použitia HPLC sa na detekciu zvyčajne používajú UV detektory alebo fluorimetrické detektory [1].

Výskyt PAU v údených potravinách

Výskytu PAU v údených mäsových výrobkoch sa venuje značná pozornosť. Ako vyplýva z tabuľky 1., pozitívne nálezy týchto zlúčenín v rade publikácií, častokrát v nadlimitných koncentráciách, nasvedčujú tomu, že sa tejto problematike treba neustále systematicky venovať.

Tabuľka 1. Koncentrácie polycyklických aromatických uhľovodíkov, resp. benzo(a)pyrénu stanovené v údených výrobkoch.

Table 1. Concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons, or benzo(a)pyrene, respectively, in smoked meat products.

Zlúčenina ¹	Vzorka ²	Rozpätie koncentrácií ³ [µg/kg]	Literatúra ⁴
BaP	údené mäso ⁵	9 - 55	[15]
BaP	údené mäsové výrobky ⁶	0,2 - 2	[32]
BaP	údené ryby ⁷	0,5 - 15,0	[32]
PAU	údené ryby	11,3 - 1 100	[33]
BaP	údené ustrice ⁸	2,3 - 75	[29]
BaP	údené výrobky ⁹	1,0 - 7,7	[29]
BaP	údená šunka ¹⁰ údená slanina ¹¹ údený losos ¹² údená klobása ¹³	0,6 - 1,8 0,3 - 2,7 0,5 - 1,1 4,7	[7]
BaP	údené výrobky	0,1 - 1,1	[34]
BaP	údené mäsové výrobky	0,1 - 9,54	[16]

BaP - benzo(a)pyrene, PAU - polycyclic aromatic hydrocarbons, 1 - compound, 2 - sample, 3 - concentration scale, 4 - literature, 5 - smoked meat, 6 - smoked meat products, 7 - smoked fish, 8 - smoked oysters, 9 - smoked products, 10 - smoked ham, 11 - smoked bacon, 12 - smoked salmon, 13 - smoked sausage.

Literatúra

1. STAHL, W. - EISENBRANDT, G.: Determination of PAHs and nitrosamines: part 10. In: HPLC in Food Analysis. Ed. R. Macrae, London, Academic Press 1988. 502 s.
2. BARTLE, K. D.: Analysis and occurrence of PAHs in food. In: Food Contaminants, Sources and Surveillance. Ed. C. Creaser - R. Purchase. Cambridge, The Royal Society of Chemistry 1991. 205 s.

3. HOLOUBEK, I.: Osud PAU v prostředí. In: TOCOEN 90. Brno, Masarykova Univerzita 1990, s. 14-26.
4. WELLING, P. - KAANDORP, B.: Z. Lebensm.-Unters. Forsch., 183, 1986, s. 111.
5. FRETHEIM, K.: Food Chem., 10, 1983, s. 129.
6. GROB, C. - BIEDERMANN, M. - CARAMASCHI, A. - PACCIARELLI, B.: J. High Resol. Chromatogr., 14, 1991, s. 33.
7. STIJVE, T. - HISCHENHUBER, C.: Dtsch. Lebensm.-Rdsch., 83, 1987, s. 276.
8. ANDELMAN, J. B. - SUESS, M.: Bull. WHO, 43, 1970, s. 479.
9. de KRUIJE, N. - SCHOUTEN, T. - STEGEN, G. H. D.: J. Agric. Food Chem., 35, 1987, s. 545.
10. GERTZ, CH.: Z. Lebensm.-Unters. Forsch., 173, 1981, s. 208.
11. Vyhláška MZ SR č.2/1994 Zb.
12. POTTHAST, K.: Fleischwirtschaft, 58, 1978, s. 371.
13. MAGA, J. A.: Food Rev. int., 3, 1987, s. 139.
14. TÓTH, L.: Chemie der Räucherung. Berlin, Verlag Chemie 1983. 331 s.
15. TÓTH, L. - BLAAS, W.: Fleischwirtschaft, 52, 1972, s. 1419.
16. ŠIMKO, P. - GOMBITA, M. - KAROVIČOVÁ, J.: Nahrung, 35, 1991, s. 103.
17. ŠIMKO, P.: Food Chem., 40, 1991, s. 293.
18. ŠIMKO, P. - KAROVIČOVÁ, J. - KUBINCOVÁ, M.: Z. Lebensm.-Unters. Forsch., 192, 1991, s. 538.
19. ŠIMKO, P. - GERGELY, Š. - KAROVIČOVÁ, J. - DRDÁK, M. - KŇEŽO, J.: Meat Sci., 34, 1993, s. 301.
20. ŠIMKO, P. - KŇEŽO, J.: Nahrung, 36, 1992, s. 208.
21. SILVESTER, D. S.: J. Food Technol., 15, 1980, s. 413.
22. ŠIMKO, P. - PETRÍK, J. - KAROVIČOVÁ, J.: Acta aliment., 21, 1992, s. 107.
23. ŠIMKO, P. - BRUNCKOVÁ, B.: Food Addit. Contam., 10, 1993, s. 257.
24. ŠIMKO, P. - ŠIMON, P. - KHUNOVÁ, V. - BRUNCKOVÁ, B. - DRDÁK, M.: Food Chem., 50, 1994, s. 65.
25. GUILLEN, M. D. - MANZANOS, M. J.: Z. Lebensm.-Unters. Forsch., 202, 1996, s. 24.
26. SCHAAD, R.: Chromatogr. Rev., 13, 1970, s. 61.
27. HOWARD, J. W. - FAZIO, T.: J. Assoc. off. analyt. Chem., 63, 1980, s. 1977.
28. GRIMMER, G. - BOHNKE, H.: J. Assoc. off. analyt. Chem., 58, 1976, s. 725.
29. LAWRENCE, J. F. - WEBER, D. F.: J. Agric. Food Chem., 32, 1984, s. 789.
30. AFOLABI, A. O. - ADESULU, E. A. - OKE, O. L.: J. Agric. Food Chem., 31, 1983, s. 1083.
31. TUOMINEN, J. - WICSTROM, K. - PYYSALO, H.: J. High Resol. Chromatogr. & Chromatogr. Commun., 9, 1986, s. 469.
32. PANALAKS, T.: J. Environ. Sci. Health, 11, 1976, s. 299.
33. LARSSON, B. K.: Z. Lebensm.-Unters. Forsch., 174, 1982, s. 101.
34. KIPPER, L. - FLEMING, R.: Fleischwirtschaft, 69, 1989, s. 1184.

Do redakcie došlo 22.4.1996.

Formation, analysis and occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked meat products

PETER ŠIMKO

SUMMARY. The work deals with formation, occurrence as well as analytical methods of polycyclic aromatic hydrocarbon determination in foods. A particular attention is given to smoked meat products and changes in concentrations of these compounds which may change not only during production but also during storage, or even additional heat processing.