

## WPŁYW PRZECHOWYWANIA PRODUKTÓW MLECZNO-ZBOŻOWYCH DLA DZIECI NA ZAWARTOŚĆ AKRYLAMIDU

*Celem badań była ocena zależności zawartości akrylamidu od warunków przechowywania produktów mleczno-zbożowych dla dzieci. Badania przeprowadzono na 30 produktach zakupionych w sprzedaży detalicznej, przeznaczonych do żywienia dzieci w wieku od 6. do 12. miesiąca życia. Badano produkty świeże i przechowywane w temperaturach 8 i 25 °C, po 3, 6, 9 i 12 miesiącach przechowywania. Zawartość AA oznaczono metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej z odwróconymi fazami z użyciem detektora z matrycą fotodiod (RP-HPLC-DAD). Stwierdzono dodatnią liniową korelację pomiędzy czasem i temperaturą przechowywania a stopniem redukcji akrylamidu. Wykazano, że wyższa temperatura przechowywania wywiera większy efekt na stopień redukcji AA w produktach. W końcowym okresie przechowywania w temperaturze 25 °C zawartość akrylamidu była nawet o 60% niższa niż w produktach przed przechowywaniem.*

**Słowa kluczowe:** akrylamid, redukcja, żywność dla dzieci, temperatura przechowywania, czas przechowywania

### WSTĘP

Obróbka termiczna żywności wywołuje nieenzymatyczne brunatnienie produktu – ciąg reakcji Maillarda. Oprócz pozytywnego wpływu jest również przyczyną niekorzystnych przemian składników żywności. Między innymi stwierdzono, że w wyniku nieenzymatycznego brunatnienia w efekcie reakcji wolnej asparaginy z cukrami redukującymi powstaje akrylamid (AA). Wiele badań wskazuje, że może on działać genotoksycznie, neurotoksycznie i kancerogennie na organizm człowieka [2, 4, 11, 13].

Tworzenie się akrylamidu w produktach spożywczych jest w znacznym stopniu związane z obecnością niereaktywnej matrycy, np. skrobi lub substancji białkowych, a wysoka temperatura procesów termicznych (z reguły powyżej 120 °C) stosowanych w przetwórstwie żywności ma decydujący wpływ na poziom akrylamidu w gotowym produkcie. W przeprowadzonych w wielu krajach badaniach stwierdzono, że zawartość akrylamidu w żywności waha się w szerokim zakresie od poniżej 100 µg/kg, a w skrajnych przypadkach nawet od poniżej 10 µg/kg w produktach o wysokiej zawartości białka, do 100–4000 µg/kg w produktach o wysokiej zawartości węglowodanów [4, 6].

Wśród żywności przeznaczonej dla niemowląt i małych dzieci można wyróżnić kilka zasadniczych grup produktowych: preparaty zastępujące mleko do początkowego żywienia niemowląt we wczesnym okresie rozwoju do 6. miesiąca życia (mleko początkowe) oraz preparaty do dalszego żywienia niemowląt od 6. miesiąca życia (mleko następne), a także żywność uzupełniającą, do której zalicza się produkty zbożowe przetworzone (kaszki, kleiki, biszkopty, ciasteczka) i inne. Żywność uzupełniająca przeznaczona do żywienia dzieci powyżej 6. miesiąca życia charakteryzuje się zazwyczaj wysoką zawartością węglowodanów. Ze względu na to, że są to produkty mające długi termin przydatności do spożycia, wykorzystuje się takie sposoby przetwarzania i utrwalania surowców żywnościowych, aby otrzymać produkt bezpieczny, o podwyższonej jakości. Skład tych produktów oraz stosowanie wysokich temperatur obróbki termicznej podczas produkcji sprzyja tworzeniu się w nich akrylamidu. Ma to istotne znaczenie dla jakości zdrowotnej tych produktów, zwłaszcza że jak stwierdzono, narażenie dzieci na akrylamid może być nawet kilkakrotnie wyższe niż w przypadku dorosłych ze względu na wyższe spożycie pokarmów na kg masy ciała w porównaniu z dorosłymi [8, 9, 10, 12, 14, 15].

W celu kontroli zawartości i określenia możliwości obniżenia poziomu akrylamidu w różnych typach żywności prowadzi się obecnie wiele badań na całym świecie. Metody obniżenia zawartości AA zależne są od rodzaju matrycy produktów i warunków ich przetwarzania. Najwięcej badań odnosi się do produktów ziemniaczanych oraz pieczywa. Dotyczą one modyfikacji receptury, metod i warunków przetwarzania, czynników agronomicznych. Przypuszcza się również, że akrylamid może być mało stabilnym związkem w żywności. Niektóre badania wykazały, że długotrwałe ogrzewanie w podwyższonej temperaturze może powodować jego częściowy rozpad. Część autorów wykazała również, że przechowywanie może mieć wpływ na spadek zawartości AA w produktach. Zdania na ten temat są jednak podzielone, a aktualnych danych jest niewiele [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7].

Biorąc powyższe pod uwagę, wyznaczono cel badań, którym była ocena wpływu warunków przechowywania produktów mleczno-zbożowych przeznaczonych do żywienia dzieci na zawartość akrylamidu.

## 1. MATERIAŁ I METODY BADAŃ

### 1.1. Materiał badań

Materiałem badawczym było 30 produktów mleczno-zbożowych przeznaczonych do żywienia dzieci w wieku od 6. do 12. miesiąca życia zakupionych w handlu detalicznym na terenie Olsztyna w 2012 roku. Produkty podzielono na trzy rodzaje. Pierwszą grupę stanowiły kaszki mleczno-zbożowe w proszku (10 różnych produktów). Drugą grupą były kaszki mleczno-zbożowe w formie gotowych posiłków w słoiczkach (10 różnych produktów). Ostatnią grupę

stanowiły herbatniki (10 różnych produktów). Na jedną próbkę składały się co najmniej dwa opakowania produktu z tej samej partii produkcyjnej. We wszystkich materiałach badawczych oznaczono zawartość akrylamidu w trzech równoległych powtórzeniach. Badania przeprowadzono na produktach nieprzechowywanych, bezpośrednio po zakupie w okresie do 10 dni od daty produkcji. Produkty przechowywano w dwóch różnych temperaturach: 8 °C (lodówka) i 25 °C (cieplarka) i badano po 3, 6, 9 i 12 miesiącach przechowywania.

## 1.2. Metody badań

Standard akrylamidu ( $\geq 99,8\%$ , nr katalogowy 23701) zakupiono w firmie Sigma-Aldrich Chemical Company (USA). Wszystkie użyte do badań odczynniki były wysokiej czystości analitycznej do HPLC i zostały zakupione w Sigma-Aldrich (St. Louis, Mo, USA) i Merck (Darmstadt, Niemcy).

Zawartość akrylamidu oznaczono metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej z odwróconymi fazami z użyciem detektora z matrycą fotodiod (RP-HPLC-DAD) [9]. Przygotowanie próbek do oznaczania zawartości AA obejmowało ekstrakcję akrylamidu 80-procentowym metanolem w wodzie w termostатовanej łaźni wodnej 14 WNB (Memmert GmbH & Co KG, Schwabach, Niemcy) w temperaturze 60 °C przez 60 min, trzykrotne odtłuszczenie heksanem, a po usunięciu heksanu z próbek wymrażanie w temperaturze -18 °C przez 24 h i wirowanie przy 5000 rpm przez 10 min przy użyciu wirówki MPW-350R (MPW Med. Instruments, Warszawa, Polska). Supernatant doczyszczano metodą SPE za pomocą kolumnenek HLB Oasis (6 ml, 200 mg), firmy Waters (Milford MA, USA). Rozdział chromatograficzny próbek przeprowadzono przy użyciu chromatografu cieczowego Shimadzu LC-10A (Kioto, Japonia). Zastosowano kolumnę chromatograficzną Phenomenex Synergi 4  $\mu\text{m}$  Hydro-RP 80 A, 250 x 4,6 mm (Torrance, CA, USA), fazę ruchomą: 5 mM 1-heptanusulfonian sodu w wodzie/acetonitryl (97/3), (v/v), prędkość przepływu: 1,0 ml/min, temperaturę rozdziału: 25 °C, detektor DAD przy  $\lambda = 200$  nm. Zawartość akrylamidu obliczano na podstawie krzywej wzorcowej AA i wyrażano w  $\mu\text{g}/\text{kg}$  produktu. Wyniki poddano ocenie statystycznej za pomocą programu Statistica v. 10 PL (StatSoft, Polska).

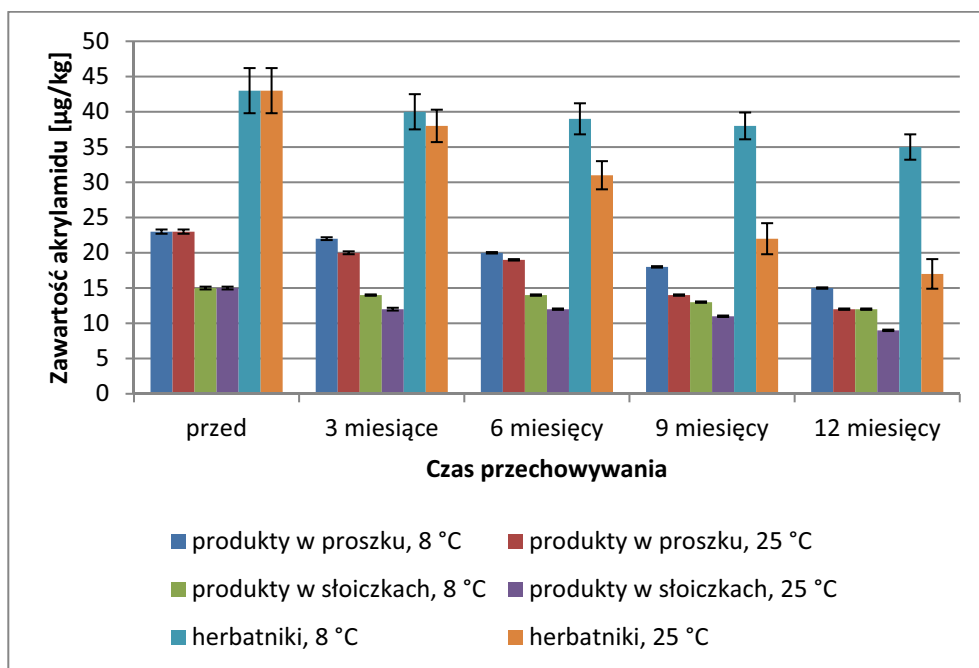
## 2. WYNIKI I Dyskusja

Jak podaje Europejski Urząd ds. Bezpieczeństwa Żywności (EFSA), wśród produktów stanowiących źródło akrylamidu w diecie znajdują się: kawa, frytki, herbatniki, krakersy, pieczywo i niektóre produkty żywnościowe dla niemowląt. Zawartość akrylamidu w takich produktach jak kawa, żywność dla niemowląt czy żywność wyprodukowana na bazie zbóż (np. pieczywo, płatki śniadaniowe, ciastka) jest z reguły dużo niższa niż w produktach z ziemniaka (np. frytki, chipsy)

i w skrajnych przypadkach może kształtować się nawet poniżej 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  [4, 6]. Jednak ze względu na wysoki poziom udziału tych produktów w codziennej diecie przyczyniają się one znacząco do wysokiego stopnia narażenia konsumentów na skutki uboczne związane ze spożyciem akrylamidu.

Oprócz wpływu parametrów przetwórstwa na zawartość akrylamidu w produktach spożywczych istotny wpływ wydają się również mieć warunki ich przechowywania. Szczególnie w odniesieniu do żywności o długim (kilkumiesięcznym lub dłuższym) okresie przechowywania, w tym również żywności wyprodukowanej na bazie zbóż, a przeznaczonej do żywienia niemowląt i małych dzieci.

Wyniki zawartości akrylamidu w produktach dla dzieci uzyskane w niniejszych badaniach przedstawia rysunek 1.



**Rys. 1.** Zawartość akrylamidu w poszczególnych grupach produktów dla dzieci podczas przechowywania (wartości średnie dla grup produktów przy  $n = 3$  powtórzeń dla każdego produktu)

**Fig. 1.** The acrylamid content in various groups of baby food products during storage (mean values for products groups for  $n = 3$  replicates for each products)

Badania wykazały, że najwyższą średnią zawartością AA charakteryzowały się herbatniki, następnie kaszki w proszku, a najniższą produkty w formie gotowych posiłków w słoiczkach – na poziomie odpowiednio 43, 23 i 15  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (rys. 1). Stwierdzono dodatnią liniową korelację pomiędzy czasem i temperaturą przechowywania a stopniem obniżenia zawartości akrylamidu (odpowiednio  $r = 0,598$  i  $0,801$ , przy  $p < 0,05$ ). Wykazano, że statystycznie istotny wpływ na

stopień obniżenia zawartości AA w produktach ma temperatura ich przechowywania. Zawartość akrylamidu w przechowywanych herbatnikach w końcowym okresie przechowywania w temperaturze 25 °C była nawet o 60% niższa niż zawartość AA w tych produktach przed przechowywaniem i spadła do poziomu 17 µg/kg. Znaczny spadek zawartości akrylamidu stwierdzono również podczas przechowywania kaszek instant oraz produktów w słoiczkach. Wynosił on odpowiednio 48 i 40% w stosunku do zawartości początkowej, co odpowiadało zawartości końcowej 12 i 9 µg akrylamidu na kg produktu.

Z analizy piśmiennictwa wynika, że zdania badaczy na temat wpływu przechowywania na zawartość akrylamidu są podzielone. Według Delatour i współpracowników [5] stężenie akrylamidu w produktach wyprodukowanych na bazie zbóż nie zmienia się podczas ich przechowywania. Natomiast inne badania wskazują na to, że akrylamid nie jest stabilnym związkiem w finalnych produktach [6, 7]. Z tego względu między innymi często zróżnicowana zawartość AA w tego samego typu produktach rynkowych może być rezultatem ich różnego (dłuższego lub krótszego) czasu przechowywania przed analizą. Hoenicke i Gatermann [7] wykazali spadek zawartości AA o 11–18% w stosunku do zawartości początkowej w takich produktach, jak ciastka, herbatniki, płatki zbożowe, kawa i kakao po 3 miesiącach przechowywania w temperaturze 10–12 °C. Wymienieni wyżej autorzy stwierdzili zróżnicowaną dynamikę zmian zawartości AA w poszczególnych produktach podczas ich przechowywania. Na przykład w przechowywanej przez 6 miesięcy kawie zaobserwowali obniżenie się zawartości akrylamidu o 40–65% w stosunku do zawartości początkowej. Ponadto wykazali, że przechowywanie żywności takiej jak proszek mleczny, żywność dla dzieci powoduje spadek zawartości AA o około 30%, a w przypadku kakao nawet o około 80% w stosunku do zawartości początkowej [7].

Niniejsze badania wykazały, że akrylamid jest mało stabilnym związkiem. W produktach spożywczych podczas przechowywania następuje prawdopodobnie częściowy rozpad AA i jego zawartość się obniża. Mechanizm tych reakcji nie jest dotychczas poznany. Odparowanie akrylamidu podczas przechowywania należy wykluczyć, ponieważ produkty były przechowywane w zamkniętych handlowo opakowaniach. Niektórzy autorzy sugerują, że obserwowany spadek zawartości akrylamidu podczas przechowywania może być wynikiem polimeryzacji tego związku pod wpływem światła UV [6]. Jednak należy to również wykluczyć, ze względu na to, że opakowania przechowywanych produktów zabezpieczały je przed światłem. Hipoteza ta nie została potwierdzona także w badaniach Hoenicke i Gatermanna [7]. Według wymienionych autorów obniżenie zawartości akrylamidu w produktach podczas ich przechowywania może być spowodowane reakcjami zachodzącymi pomiędzy akrylamidem a grupami SH występującymi w składnikach żywności, szczególnie w kawie i kakao. Wyniki niniejszych badań wskazują na to, że wyższa temperatura przechowywania może przyspieszać przebieg tych reakcji, przez co powoduje większy spadek zawartości akrylamidu podczas przechowywania produktów spożywczych.

## WNIOSKI

Akrylamid jest mało stabilnym związkiem w żywności. Podczas długotrwałego przechowywania produktów przeznaczonych do żywienia dzieci i niemowląt stwierdzono statystycznie istotne obniżenie się zawartości AA w stosunku do zawartości początkowej. Końcowa zawartość AA w produktach po przechowywaniu jest prawdopodobnie związana z intensyfikacją złożonych procesów przyczyniających się do rozkładu akrylamidu oraz z równoczesnym spowolnieniem procesów tworzenia prekursorów tego związku zachodzących w żywności. Prawdopodobnie reakcje akrylamidu ze składnikami zawierającymi grupy SH mogą być przyczyną degradacji tego związku. W badaniach, na przykładzie odżywek przeznaczonych do żywienia dzieci i niemowląt, stwierdzono, że wyższa temperatura przechowywania produktów przyczynia się do znacznego obniżenia końcowej zawartości akrylamidu w wymienionych produktach.

Różnice w zawartości akrylamidu w rynkowych produktach dla dzieci mogą zależeć od czasu i warunków składowania, a ich skład (specjalne składniki spożywcze i/lub produkty reakcji) może wpływać na poziom redukcji AA w tych produktach podczas przechowywania.

Wskazane byłyby dalsze, głębsze badania dotyczące wyjaśnienia mechanizmów molekularnych leżących u podstaw obserwowanego spadku zawartości akrylamidu w przechowywanych produktach przeznaczonych do żywienia dzieci i niemowląt, a także w innych produktach spożywczych.

*Praca naukowa finansowana przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego ze środków na naukę w latach 2009–2012 jako projekt badawczy nr NN312 227236.*

## LITERATURA

1. Becalski A., Lau B.P.-Y., Lewis D., Seaman S.W., *Acrylamide in foods: occurrence, sources, and modeling*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003, no. 51, p. 802–808.
2. Bent G.A., Maragh P., Dasgupta T., *Acrylamide in Caribbean foods – residual levels and their relation to reducing sugar and asparagine content*, Food Chemistry, 2012, no. 133, p. 451–457.
3. Borda D., Alexe P., *Acrylamide levels in food*, Romanian Journal of Food Science, 2011, no. 1(1), p. 3–15.
4. Claeys W.L., De Vleeschouwer K., Hendrickx M.E., *Quantifying the formation of carcinogens during food processing: acrylamide*, Trends in Food Science & Technology, 2005, no. 16, p. 181–193.
5. Delatour T., Perisset A., Goldmann T., Riediker S., Stadler R.H., *Improved sample preparation to determine acrylamide in difficult matrixes such as chocolate powder, cocoa, and coffee by liquid chromatography tandem mass spectroscopy*, Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2004, no. 52, p. 4625–4631.
6. Friedman M., *Chemistry, biochemistry, and safety of acrylamide. A review*, Journal of Agriculture and Food Chemistry, 2003, no. 51, p. 4504–4526.

7. Hoenicke K., Gatermann R., *Studies on the stability of acrylamide in food during storage*, Journal of Aoac International, 2005, no. 88, p. 268–273.
8. Książek J., Weker H., *Nowe zalecenia żywienia niemowląt w Polsce od roku 2007*, *Pediatrics Współczesna. Gastroenterologia, Hepatologia i Żywnienie Dziecka*, 2007, nr 9(1), s. 9–14.
9. Michalak J., Gujska E., Kunczewicz A., *RP-HPLC-DAD studies on acrylamide in cereal-based baby foods*, *Journal of Food Composition and Analysis*, 2013, no. 32, p. 68–73.
10. Mojska H., Gielecińska I., Szponar L., Ołtarzewski M., *Estimation of the dietary acrylamide exposure of the Polish population*, *Food and Chemical Toxicology*, 2010, no. 48, p. 2090–2096.
11. Mottram D.S., Wedzicha B.L., Dodson A.T., *Acrylamide is formed in the Maillard reaction*, *Nature*, 2002, no. 419, p. 448–449.
12. Parzefall W., *Mini review on the toxicity of dietary acrylamide*, *Food and Chemical Toxicology*, 2008, no. 46, p. 1360–1364.
13. Stadler R.H., Blank I., Varga N., Robert F. et al., *Acrylamide from Maillard reaction products*, *Nature*, 2002, no. 419, 449–450.
14. Stoś K., Traczyk I., Wierzejska R., Kunachowicz H. et al., *Regulacje prawne dotyczące żywności a profilaktyka chorób żywieniowo zależnych cz. II.*, *Żywnienie Człowieka i Metabolizm*, 2009, t. XXXVI, nr 3, s. 569–583.
15. Weker H., *Gotowe produkty dla niemowląt w świetle nowych zaleceń żywieniowych*, *Żywnienie Człowieka i Metabolizm*, 2007, t. XXXIV, nr 1/2, s. 170–175.

## THE EFFECT OF MILK-CEREAL PRODUCTS FOR CHILDREN STORAGE ON ACRYLAMIDE CONTENT

### Summary

*The aim of the study was to assess the effect of milk-cereal products for children storage on the acrylamide (AA) content. The study was conducted on 30 products purchased in retail, intended for feeding of children aged 6 to 12 months. Products were tested fresh and stored at temperatures of 8 and 25 °C after 3, 6, 9 and 12 months of storage. The AA content was determined with high performance liquid chromatography technique using a reverse phase method with photodiode array detector (RP-HPLC-DAD). There was a positive linear correlation between time and temperature of storage and the level of acrylamide reduction. It was shown that higher storage temperature had a greater effect on the degree of AA reduction in the product. In the final period of storage at 25 °C, acrylamide content was even up to 60% lower than in the products before storage.*

**Keywords:** acrylamide, reduction, food for children, storage temperature, storage