

ОПРЕДЕЛЯНЕ НА АКРИЛАМИД В КАФЕ И КАФЕЕНИ ПРОДУКТИ

В. Л. Христова-Багдасарян, Ж. А. Тишкова и Т. М. Вrabчева

Национален център по общественото здраве и анализи – София

DETERMINATION OF ACRYLAMIDE IN COFFEE AND COFFEE PRODUCTS

V. L. Hristova-Bagdasaryan, Zh. A. Tishkova and T. M. Vrabcheva

National Centre for Public Health and Analysis – Sofia

Резюме: *Акриламидът (AA) е определен от International Agency for Research on Cancer (IARC, 1994) [17] като вероятен канцероген за хора (група 2A). Източник на акриламид в храните е реакцията между аспарагин и захари или реактивни карбонили, която протича при процесите на пържене или печене. Поради големия брой термични обработки кафето е потенциален източник на акриламид. В зависимост от възрастта на населението, хранителните навици и предпочитания начин на обработка приносът към експозицията на акриламид чрез кафе може да достигне близо 40%. Разработен е количествен GC-MS метод с твърдофазова екстракция и дериватизация за определяне съдържанието на AA в кафе, кафе-заместители и какао. Линеиният диапазон е в концентрационни граници от 100 до 5000 µg/kg. Границата на откриване (LOD) за съдържание на AA е 40 µg/kg, а границата на количествено определяне (LOQ) – 100 µg/kg. Аналитичният добив варира от 68 до 86%, а относителното стандартно отклонение (RSD) е между 4.5 и 12,5% в зависимост от матрицата. Въведена е допълнителна стъпка в пробоподготовката – двустъпална твърдофазова екстракционна процедура. Елиминирано е остатъчното оцветяване на екстракта, дължащо се на матрицата, подобро е съотношението сигнал/шум, ефективно са отстранени пречещите компоненти. Разработеният метод е приложен за анализ на проби от общо 22 вида кафе, кафе-заместители и какао, като съдържание на AA се установи в 59% от изследваните проби. Съдържанието на акриламид в кафето варира от < 100 µg/kg до 486 µg/kg, в кафе-заместителите – от < 100 µg/kg до 887 µg/kg, а в какао – от < 100 µg/kg до 422 µg/kg. Получените резултати за съдържание на акриламид в кафеените продукти до голяма степен съответстват на представените в Европейската комисия от други страни – членки на ЕС.*

Ключови думи: акриламид, кафе, кафеени продукти, замърсители, GC/MS метод, твърдофазова екстракция

Адрес за кореспонденция: Гл.ас. инж. Валентина Багдасарян, дб, Отдел „Материали за контакт с храна“, Национален център по общественото здраве и анализи, бул. „Акад. Иван Гешов“ 15, 1431 София, тел.: +359 2 8056375; +359 2 8056323, GSM: 0898 56 42 85, e-mail: v.hristova@ncpha.government.bg

История на статията: получена: 12.03.2012 г.

преработена: 30.03.2012 г.

одобрена: 11.04.2012 г.

Summary: *Acrylamide (AA) is defined by the International Agency for Research on Cancer (IARC, 1994) [17] as possibly carcinogenic to humans (Group 2A). Formation of acrylamide in foods is a consequence of the reaction between asparagine and sugars or reactive carbonyls, which occurs during frying or baking goods. Due to the large number of heat treatments, coffee is a potential source of acrylamide. Depending on the age of the population, food habits and preferred way of processing, the contribution of coffee to the total dietary acrylamide exposure can reach nearly 40%. GC-MS method with solid-extraction and derivatization was developed for determination of AA in coffee, coffee substitutes and cocoa. The linear range was 100 – 5000 µg/kg, LOD – 40 µg/kg, LOQ – 100 µg/kg. The recovery ranged from 68% to 86% and relative standard deviation (RSD) was between 4.5% and 12.5%, depending on the matrix. The additional SPE-procedure was introduced for elimination of residual staining of the extract due to the matrix. The ratio signal/noise was effectively improved, the interfering components were removed. The method developed was applied to analyze samples of 22 types of coffee, coffee substitutes and cocoa, and a content of AA was found in 59% of the analyzed samples. Acrylamide content in coffee varies from < 100 µg/*

kg to 486 µg/kg, in coffee substitutes – from < 100 µg/kg to 887 µg/kg., and in cocoa – from < 100 µg/kg to 422 µg/kg. The results obtained for the content of acrylamide in coffee products correspond to the EU reports for the same kinds of products.

Key words: Acrylamide, coffee, coffee products, food contaminants, GC/MS method, SPE

Address for correspondence: Chief ass. eng.V. Bagdassarian, PhD, Department "Food Contact Materials", National Center for Public Health and Analysis, 15 Akad. Ivan Geshov blvd., Bg – 1431 Sofia, tel: +359 2 8056375; +359 2 8056323, mobile: +359 898 56 42 85, e-mail: v.hristova@ncpha.government.bg

Article history: received: 12.03.2012

revised: 30.03.2012

accepted: 11.04.2012

УВОД

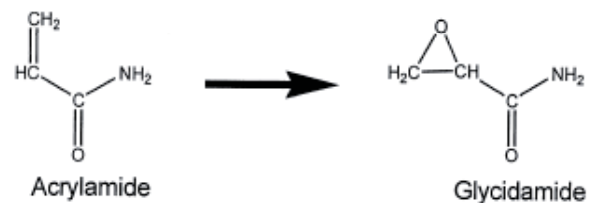
Акриламидът (AA) е определен от International Agency for Research on Cancer (IARC, 1994) [17] като вероятен канцероген за хора (група 2A). Той е във фокуса на световните изследвания от 2002 г., когато Шведската национална администрация по храните съобщава, че се образува при варене на богати на въглехидрати храни [28]. Впоследствие се открива, че акриламидът се формира при процесите на термична обработка (пържене, печене и др.). Акриламидът е синтетичен мономер с химично название 2-пропенамид и структурна формула C_3H_5NO . Химичното вещество в чист вид представлява бяла кристална сол без мирис, разтворима във вода, етанол, етер и хлороформ. Мономерът акриламид е мощен невротоксин, несъвместим с киселини, основи, окислителни, желязо и железни соли. Разлага се нетермично до формиране на диметиламин и термично – до въглероден оксид, въглероден диоксид и азотни оксиди. В индустрията основно се използва като прекурсор при производство на някои полимери (полиакриламид), които намират приложение в процесите на третиране на води и отпадни води, обработката на хартия, електрофорезно разделяне, в минното дело, при пресоване на тъкани, при производство на бои и лакове и др.

Източник на акриламид в храните е реакцията между аспарагин и захари (захароза, глюкоза и др.) или реактивни карбонили, която протича при пържене или печене на изделията. Акриламидът не се образува при готвене чрез варене от нормалната температура на кипене, а почти всички термично необработени храни не съдържат откриваеми количества акриламид. Запържването или продължителната термична обработка на храните трябва да се избягват [29]. Може да бъде открит още в маслини и сок от сини сливи, където предполагаемият източник е друг процес – разпадът на хербицида глифозат (Roundup) в околната среда. Пушенето също е процес, продуциращ акриламид.

Експозицията на акриламид (професионална, експериментална или друга) предизвиква невротоксичност, характеризираща се с атаксия, загуба

на телесна маса, увреждания на нервната система. Акриламидът е определен и като потенциален мутаген или метаболитно активиран води до формиране на канцерогени и репродуктивни токсиканти [6]. Данните показват, че експонирането на големи дози може да причини увреждане на мъжките полови жлези. Излагането на чист акриламид директно чрез вдишване, кожна абсорбция или контакт с очите дразни откритите лигавици, като например носа, и също може да причини изпотяване, незадържане на урина, гадене, болки в мускулите, нарушения на говора, изтръпване, парестезии и слабост в краката и ръцете.

Акриламидът се метаболизира до епоксид, глицидамид (2,3-епоксипропанамид), който притежава невротоксичен потенциал (фиг. 1) [6].



Фиг. 1. Структура на акриламид и неговия епоксиден метаболит, глицидамид

В тази връзка EFSA публикува препоръки [2] с изисквания за събиране на данни за съдържанието на акриламид, който може да се образува при производство на храни или домашното им приготвяне в специфични условия. Събирането на коректни и достоверни данни е предпоставка за информирана оценка и управление на риска. Такива данни бяха предоставени от България за 2008 г. и за 2010 г. [1].

Европейско междулабораторно проучване съобщава за валидиране на два аналитични метода за определяне на акриламид в печива и картофени продукти, които използват газова или течна хроматография с маселективна детекция. Методите включват етап на екстракционна процедура от хранителната матрица, със или без дериватизация, органична екстракция, хроматографско разделяне и детекция [16]. В литературата също са описани

различни методи за определяне на акриламид в храни. В много от тях акриламидът се определя с GC-MS след дериватизация посредством бромиране [9, 21, 22, 23], или без използване на дериватизация [10, 18]. Описани са LC-MS методи с дериватизация с меркаптобензоена киселина [18] и без дериватизационна процедура [4, 8, 14, 25]. Въпреки успешното прилагане на описаните методи в различни матрици – картофи и картофен чипс, зърнени продукти, готови печива и други, определянето на акриламид в по-сложни матрици, като кафе и кафеени продукти, среща известни трудности, свързани с матрично пречене, и затова изисква допълнителни стъпки на пречистване преди крайния етап на GC-MS анализа. Възможно решение е включването на допълнителен етап на пречистване на пробите.

Кафето е една от най-популярните напитки в света, поради което повече от 7 млн. тона годишно се произвеждат и продават. За да се получи известният на всички външен вид, се преминава през редица обработки: премахване на външната обвивка, обработка, сушене, изпичане в различна степен, като по този начин кафеените зърна претърпяват редица физични и химични промени. Обработеното кафе, след различна степен на смилане, се приготвя за консумация при използване на различни методи, свързани с регионалните и културните предпочитания – кафе по турски (чрез варене от ситно смляно кафе), по френски (чрез накисване и преса), филтър кафе, по италиански (в кафеварка под налягане), еспресо (в кафе машина) и др. Освен кафе често по здравословни причини се използват и лечебни кафе-заместители, наподобяващи по вкусови качества кафе, но приготвени от други култури, например ечемик, цикория, смокини, ръж, царевича, цвекло и други, също предварително изпечени.

Поради големия брой термични обработки кафето е потенциален източник на акриламид и е включено от EFSA като отделна продуктова група за събиране на данни [2]. Хранителният прием на акриламид, постъпващ чрез консумацията на кафе, е значителен. Данни за някои страни от северноевропейския регион доказват, че до една трета от общия прием на акриламид с диетата постъпва чрез кафето [13, 16, 27]. В Швеция основният прием на АА е оценен на 12 $\mu\text{g}/\text{day}$, което съставлява приблизително 39% от общия прием на АА (31 $\mu\text{g}/\text{day}$) [24]. Тези резултати са получени на базата на анализирани проби готово за пиене кафе, в което съдържанието на АА е било приблизително 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Dybing и Sanner (2003) [13]

докладват, че средният прием на АА в Норвегия е оценен като 28% от 38 $\mu\text{g}/\text{day}$ за мъжете и 29% – от 29 $\mu\text{g}/\text{day}$ за жените. Тези резултати са получени на базата на съдържание на АА 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ в печено мляно кафе и 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ в инстантно кафе (Norwegian Food Control Authority, 2002).

Акриламидът се формира бързо чрез реакцията на Maillard при процесите на печене на кафето, като основният път на формирането се инициира от кондензацията на аспаргина и редукцията на въглехидратите при високата температура на печене на зърната [16]. Образуването на акриламид започва бързо със стартиране на процеса на печене и намалява скоро след достигане на максималните нива, което вероятно се дължи на физични и химични загуби [7, 14, 16, 19, 29]. Затова степента на изпичане е ключов фактор за съдържанието на акриламид в кафето [12].

Granby и Fagt (2004) [15] откриват 2-16 $\mu\text{g}/\text{l}$ акриламид в приготвено кафе за пиене и 10 $\mu\text{g}/\text{l}$ в инстантно кафе, което представлява 10 $\mu\text{g}/\text{day}$ прием за мъжете и 9 $\mu\text{g}/\text{day}$ за жените в Дания. Оценката на общата експозиция за 49 консуматора от Дания е сравнима с тази за Швеция и Норвегия и съставлява 20% от общия прием на АА с диетата.

Според Р. Е. Voop и др. [11] в Холандия концентрациите на АА варират между 4 и 45 $\mu\text{g}/\text{kg}$ в кафе, което е 13% от общия прием на АА с диетата. Според данни на US Food and Drug Administration (FDA) докладваните нива на АА в сварено кафе са в интервала от 6 до 16 $\mu\text{g}/\text{l}$ [5]. В зависимост от възрастта на населението, хранителните навици и предпочитания начин на обработка приносът към експозицията на акриламид чрез кафе може да достигне близо 40%. Вероятността от формиране на акриламид при процесите на обработка на кафе и кафеени продукти и високия оценен прием на акриламид чрез диетата в редица европейски страни, както и изискването на EFSA за събиране на данни за съдържанието на акриламид в редица продукти, между които и кафеени, води до необходимостта от надежден метод за определянето му в тези продукти. Европейският и нашият опит показва редица трудности при прилагане на валидираната методика [1].

Целта на настоящото проучване е да се разработи и валидира аналитична процедура за анализ на акриламид в кафе и кафеени продукти, включваща стадий на допълнително пречистване на екстрактите, и прилагането ѝ за количествено определяне на полученото след дериватизация съединение 2-бромпропенамид (2-BrP) в проби от различни видове готово за консумация кафе.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

Принцип на метода

Методът се основава на извличане с вода на акриламид от проби кафе и кафеени продукти (готови за консумация), двустъпално пречистване на екстракта, последващо бромване на пречистения екстракт, екстрахиране на получения 2,3-дибромпропанамид (2,3-DBP) с етилацетат и GC-MS анализ на концентрирания екстракт. При условията на хроматографския процес нестабилният 2,3-DBP претърпява дехидробромване и се превръща в стабилно монобромно производно 2-бромпропанамид (2-BP), което се доказва масспектрално.

Реактиви

Акриламид, чистота 99%, Sigma-Aldrich; сорбент DISCOVERY DSC-18 (SUPELCO); Supelclean LC-18 SPE Tubes (6 ml/1 g); метанол за газова хроматография, Merck; бром, min 99.5%, чист за анализ, Merck; натриев сулфат, безводен, за анализ, Merck; калиев бромид, ACS реагент, ≥ 99.0%, Sigma-Aldrich; бромоводородна киселина, 48.3%, за анализ, Sigma-Aldrich; натриев тиосулфат пентахидрат ≥ 99.5%, Merck; етилацетат, за газова хроматография, Merck; n-хексан, SupraSolv, за газова хроматография, Merck.

Реагенти

Бромиращ реагент: Към 500 ml вода в мерителна колба от 1 l се прибавят 200 g калиев бромид и съдържанието се хомогенизира до пълно разтваряне. Добавят се 10 ml 48% бром-водородна киселина и 160 ml бромна вода. Долива се до 1 l с вода. Така приготвеният бромиращ реагент се съхранява на тъмно при +4°C в продължение на 1 месец.

Натриев тиосулфат пентахидрат ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), 1M разтвор.

Обезмасляващ разтвор: етилацетат / n-хексан (1:1).

Стандартни разтвори на акриламид

1. Основен стандартен разтвор на AA във вода с концентрация 1.00 mg/ml.

2. Работни стандартни разтвори със съдържание на AA 10 µg/ml и 1 µg/ml. Приготвят се от основния стандартен разтвор чрез подходящо разреждане с вода.

3. Стандартни разтвори на AA за построяване на калибрационна графика: В центрофужни епруветки с обем 40 ml се наливат по 10 ml вода. Към всяка епруветка се прибавят съответно количество работни стандартни разтвори (по т. 2) до получаване на концентрации на AA, съответно: 0, 50, 100, 200, 500, 1000, 2000 и 5000 ng. Съдържанието на

епруветките се хомогенизира на вортекс. Приготвят се непосредствено преди анализ.

Всички реактиви, разтвори и екстракции се приготвят и провеждат с дестилирана или дейонизирана вода.

Апаратура

Стандартна вакуумна установка за твърдофазова екстракция (SPE).

Хроматографска система Agilent Technologies модел GC-6890N с квадруполен маселективен детектор MSD-5975 Inert с електронна йонизация (EI).

Капилярна колона с 5% фенил-95% диметилполисилоксан (HP-5MS), 30 m x 0.25 µm, 0.25 mm i.d.

ПРОБИ

Пробите кафе и кафеени продукти, събрани от търговската мрежа и съхранявани при стайна температура в сухо и проветриво помещение, без достъп на пряка слънчева светлина, включват: печено кафе на зърна (5 вида), печено кафе мляно (за еспресо – 6 вида, фино мляно за турско – 1 вид), инстантно кафе (3 вида), кафе-заместители на зърнена основа (3 вида), какао (3 вида).

Подготовка на пробите

Печеното кафе на зърна се смила и хомогенизира. Всички видове кафе се приготвят за консумация, като се съблюдава съотношението кафе : вода = 1 : 10. Кафе за еспресо се приготвя в кубинска кафеварка, инстантните продукти се разтварят в гореща вода, а какаото на прах и фино смляното кафе се сваряват до кипване. Използва се дестилирана или дейонизирана вода.

След охлаждане готовите напитки с видима утайка (турско кафе, какао на прах, кафе-заместител на прах) се филтрират през бюхнерова фуния.

Паралелно за всеки вид проби се разработват и проби със стандартна добавка 2 µg акриламид към 2.5 ml проба за определяне на аналитичния добив.

Двустъпално пречистване

I. Пречистване през дисперсивен сорбент – C18 (първа стъпка)

Претегля се по 1 g сорбент DISCOVERY DSC-18 (SUPELCO) в бехерови чашки от 50 ml. Сорбентът се кондиционира предварително по следния начин: прибавят се 10 ml метанол към сорбента, разбърква се за омокряне, след престой 5 min разтворителът се отдекантира внимателно. Следва промиване с 10 ml дестилирана вода, отново разбъркване и престой 5 min. Хомогенизира се на ултразвукова

вана за 1-2 min. Получената тънка ципа по повърхността на водния слой се отстранява максимално възможно при отливане на водата от така промития сорбент. Сорбентът трябва да остане омокрен до прехвърлянето на пробата.

Прехвърлят се 2.5 ml от подготвените проби в бехеровите чашки с промития дисперсивен сорбент DISCOVERY DSC-18. След хомогенизиране полупречистените проби се оставят да престоят за 10 минути.

II. Пречистване през колонки за SPE (втора стъпка)

Колонките Supelclean LC-18 SPE Tubes (6 ml/1 g) се кондиционират последователно с по 10 ml метанол и 10 ml дестилирана вода, течността се изсмуква на вакуумпомпа до нивото на сорбента, така че да остане омокрен. В кондиционираните колонки се прехвърлят полупречистените проби. Елуирането се извършва с две порции от по 4 ml дестилирана вода. Първата порция се изсмуква до нивото на сорбента, а в края на елуирането водният слой се изсмуква до край.

На фиг. 2 са представени колонки от SPE на проби кафе-заместител, какао, мляно и инстантно кафе.



Фиг. 2. Колонки от твърдофазова екстракция на кафе-заместител, какао, мляно и инстантно кафе

Бромиране

Всички проби се бромират в центрофужни епруветки със събраните пречистени водни екстракти с по 15 ml бромиращ реагент и след разбъркване се оставят за не по-малко от 1 h в хладилник. Излишъкът от бром се неутрализира с 1 M разтвор на натриев тиосулфат до обезцветяване на разтвора. Към всяка епруветка се добавят по 4 g чист натриев хлорид.

Двуетапна течно-течна екстракция

Първи етап на течно-течна екстракция: Извършва се с органична смес етилацетат/н-хексан (4 : 1). Към всяка центрофужна епруветка (епруветка 1) се прибавят по 10 ml органична смес, епруветките се разбъркват на шейкър в течение на 15 min при 310 оборота в минута (rpm) и се центрофугират при 5000 оборота в минута (rpm) за 10 min. Горният органичен слой се прехвърля с помощта на пипета в чиста центрофужна епруветка (епруветка 2) от 50 ml.

Втори етап на екстракция: Към всяка центрофужна епруветка 1 се добавят нови 5 ml органична смес, епруветките се разбъркват и центрофугират, както беше описано по-горе. С пипета се отделя максималното възможно количество от горния органичен слой и органичните фази от двата етапа се обединяват в епруветка 2.

Сушене и концентриране

Събраните екстракти се сушат с безводен натриев сулфат, концентрират се в поток от азот на водна баня при температура около 60°C до обем 0.5 ml и се прехвърлят във виалки за GC-MS анализ.

GC-MS анализ

Хроматографското разделяне се осъществи на капилярна колона с 5% фенил-95% диметилполисилоксан (HP-5MS), 30 m x 0.25 μ m, 0.25 mm i.d., в поток на газносител хелий с обемна скорост 0.8 ml/min, сплит отношение 15 : 1, температура на инжектора 260°C, програмиран режим на хроматографската колона: начална температура 40°C (изотерма 1 min); скорост на нагряване, съответно с 20°C/min до 175°C (5 min) и с 40°C/min до 280°C (изотерма 10 min); температура на трансферната линия към MSD 280°C; инжекционен обем 1 μ l.

Идентификацията на AA се извърши посредством хроматографиране на бромiran стандартен разтвор на AA в SCAN режим на MSD. Времето на задържане на 2-BP при описаните хроматографски условия е 5.58 min. Потвърждаването на 2-BP се осъществява със специализирана NIST масспектрална библиотека. За количествено определяне в SIM режим на MSD се мониторира следните, характерни за монобромното производно на AA йони (m/z): 44, 70, 106, 149 и 151. Използван е методът на абсолютната калибровка. Линейният диапазон на зависимостта между концентрацията на AA в стандартните разтвори и площта на получения пик за 2-BP е в концентрационни граници от 100 до 5000 μ g/kg. Границата на откриване (LOD) за съдържание на AA е 40 μ g/kg, а границата на количествено определяне (LOQ) е 100 μ g/kg.

РЕЗУЛТАТИ

Таблица 1. Съдържание на акриламид в проби кафе и кафеени продукти от търговската верига в България

Група	Описание на продуктовия клас	Брой анализирани проби	Средна стойност на АА, µg/kg	Максимална стойност на АА, µg/kg	Среден аналитичен добив, %	Относително стандартно отклонение (RSD), %
1	2	3	4	5	6	7
I.	Кафе					
1.	Кафе на зърна	10 бр.	184.4	253 ± 23	78.2	6.0
1.1.	Първи вид, степен на изпичане – средно	2 бр.	< 100*	–	79	5.0
1.2.	Втори вид	2 бр.	245 ± 84	–	75	9.8
1.3.	Трети вид	2 бр.	< 100*	–	79	5.0
1.4.	Четвърти вид, степен на изпичане – средно	2 бр.	224 ± 23	–	79	5.0
1.5.	Пети вид	2 бр.	253 ± 23	–	79	5.0
2.	Кафе готово смляно за еспreso	12 бр.	231.5	486 ± 169	79.3	6.0
2.1.	Първи вид, степен на изпичане – средно	2 бр.	< 100*	–	80	4.5
2.2.	Втори вид, степен на изпичане – средно	2 бр.	< 100*	–	80	4.5
2.3.	Трети вид	2 бр.	< 100*	–	80	4.5
2.4.	Четвърти вид, степен на изпичане – тъмно	2 бр.	486 ± 69	–	76	9.2
2.5.	Пети вид, степен на изпичане – средно	2 бр.	297 ± 22	–	80	4.5
2.6.	Шести вид, степен на изпичане – средно	2 бр.	306 ± 22	–	80	4.5
3.	Кафе готово фино смляно за турско	2 бр.	< 100*	<100	69	12.5
4	Инстантно кафе	6 бр.	265.7	466 ± 49	86	5.4
4.1.	Първи вид	2 бр.	231 ± 40	–	86	5.4
4.2.	Втори вид	2 бр.	< 100*	–	86	5.4
4.3.	Трети вид	2 бр.	466 ± 49	–	86	5.4
II.	Кафе-заместители	8 бр.	329.5	887 ± 108	81.0	9.5
1.	Кафе-заместител – инстантен 1	2 бр.	< 100*	–	85	12.2
2.	Кафе-заместител 2	2 бр.	137 ± 24	–	78	5.3
3.	Кафе-заместител 3	2 бр.	887 ± 108	–	76	8,4
4.	Кафе-заместител – инстантен 4	2 бр.	194 ± 58	–	85	12.2
III.	Какао	6 бр.	234.0	422 ± 62	70.7	6.9
1.	Какао на прах – 1 вид	2 бр.	< 100*	–	68	7.4
2.	Какао на прах – 2 вид	2 бр.	422 ± 62	–	68	7.4
3.	Какао инстантно	2 бр.	180 ± 34	–	76	6.0

^{1,4} Съдържание: ръж, ечемик, цикория и захарно цвекло. Пробите са от различен производител.

² Съдържа печена леблебия и ръж в съотношение 50%:50%.

³ Съдържа ечемик, хмел, жълт кантарион, широколист живовляк, медуница, цикория.

* Граница на количествено определяне (LOQ): 100 µg/kg.

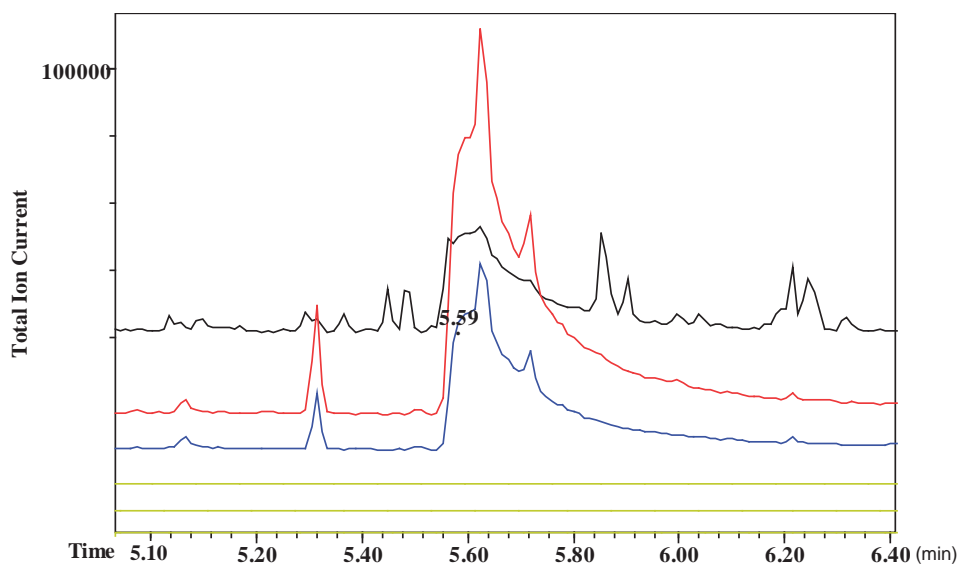
ОБСЪЖДАНЕ

Методът е приложен при определяне на акриламид в 15 проби кафе, 4 проби кафе-заместители и 3 проби какао.

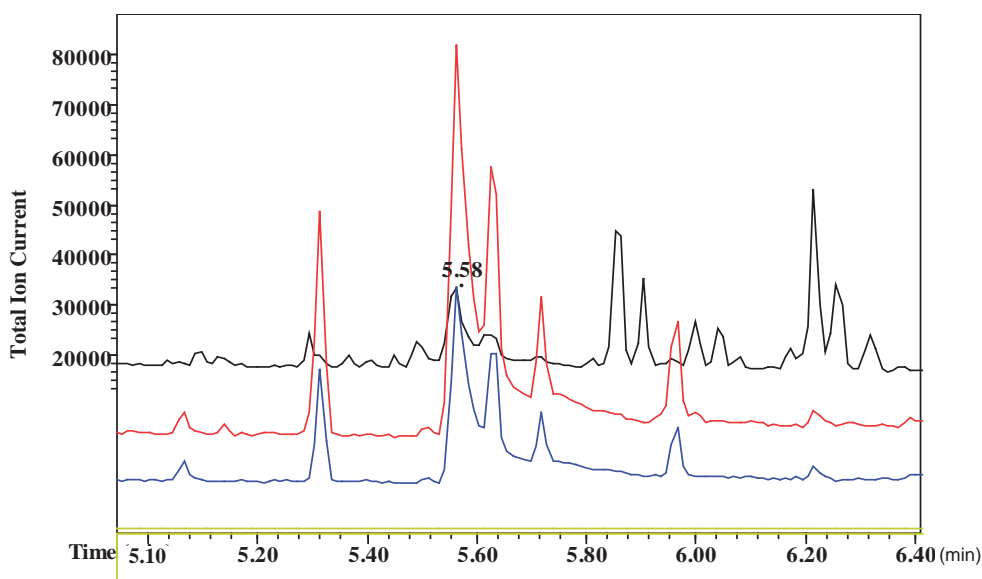
Получените резултати са в интервала от <math><100\ \mu\text{g}/\text{kg}</math> до $887\ \mu\text{g}/\text{kg}$. Съдържанието на акриламид в кафе варира от <math><100\ \mu\text{g}/\text{kg}</math> до $486\ \mu\text{g}/\text{kg}$, в кафе-заместителите – от <math><100\ \mu\text{g}/\text{kg}</math> до $887\ \mu\text{g}/\text{kg}$, а в какао – от <math><100\ \mu\text{g}/\text{kg}</math> до $422\ \mu\text{g}/\text{kg}$. Те напълно корелират с докладваните в EFSA данни [29, 30] за съдържание на акриламид в кафе (от 79 до $975\ \mu\text{g}/\text{kg}$) и кафе-заместители (от 116 до $2955\ \mu\text{g}/\text{kg}$). Средният аналитичен добив на пробите със стан-

дартна добавка варира в диапазона от 68 до 86% за различните видове матрици. Най-нисък е аналитичният добив при фино смляно кафе и какао на прах, а най-висок – при инстантно кафе, инстантен кафе-заместител и инстантно какао.

Въвеждането на двустъпална процедура на пречистване на матрицата премахва затрудненията при достигане на коректно съотношение сигнал/шум за екстракти от кафе. На фиг. 3а и 3б са представени хроматограми на проба кафе без и с пречистване, посредством твърдофазова екстракция, на GC-MS в режими SCAN (по пълен йонен ток – TIC) и SIM (по мониториранни йони m/z : 149 и 151).



Фиг. 3а. Хроматограма на проба кафе без пречистване с твърдофазна екстракция (SPE)



Фиг. 3б. Хроматограма на проба кафе след пречистване с твърдофазова екстракция (SPE)

Въвеждането на стъпка с твърдофазова екстракция на колонки C18 спомага за елиминиране на остатъчната оцветеност на екстрактите, специфична за кафеени продукти, и способства ефективно да се отстранят преди GC анализа различни нежелани компоненти, преминали от матрицата в екстракта, които често маскират пика на бромното производно на акриламида. Посоченият етап е изключително важен при какао на прах и фино смляно кафе, където маскиращият ефект е най-голям.

ИЗВОДИ

Разработен е количествен GC-MS метод с дериватизация и твърдофазова екстракция за определяне съдържанието на АА в кафе, кафе-заместители и какао. Линейният диапазон е в концентрационни граници от 100 до 5000 µg/kg. Границата на откриване (LOD) за съдържание на АА е 40 µg/kg, а границата на количествено определяне (LOQ) – 100 µg/kg. Аналитичният добив варира от 68 до 86%, а относителното стандартно отклонение (RSD) е между 4.5 и 12,5% в зависимост от матрицата.

Введена е допълнителна стъпка в пробоподготовката – двустъпална твърдофазова екстракционна процедура. Елиминирано е остатъчното оцветяване на екстракта, дължащо се на матрицата, подобро е съотношението сигнал/шум, ефективно са отстранени пречещи компоненти, които маскират пика на определяемия аналит. Модифицираният метод е подходящ за определяне на АА в специфични по поведение хранителни продукти (например прахообразни, комбинирани видове и др.) и показва повишаване на аналитичния добив (с около 7-8%), подобряване на чувствителността (понижаване на стойността за граница на количествено определяне от 170 до 100 µg/kg) и селективността на метода. По този начин е разширен обхватът от изследвани продукти, които имат доказано съдържание и значителен принос в хранителния прием на акриламид чрез диетата на консуматорите.

Разработеният метод е приложен за анализ на проби от общо 22 вида кафе, кафе-заместители и какао, като съдържание на АА се установи в 59% от изследваните проби. Съдържанието на акриламид в кафе варира от < 100 µg/kg до 486 µg/kg, в кафе-заместителите – от < 100 µg/kg до 887 µg/kg, а в какао – от < 100 µg/kg до 422 µg/kg.

Част от анализиранияте проби бяха включени във Втория национален мониторинг за 2010 г. Получените резултати за съдържание на акриламид в кафеени продукти до голяма степен съответстват

на представените в Европейската комисия от други страни – членки на ЕС.

БИБЛИОГРАФИЯ

1. Вrabчeвa, Т., В. Христова-Багдасарян, Ж. Тишкова, Х. Петкова-Хенауи и Л. Димитрова, Определяне съдържанието на акриламид в хранителни продукти. – БМЖ, **5**, 2011, № 1, 50-55.
2. Препоръка на Комисията от 2 юни 2010 г. относно мониторинга на акриламид в хранителните продукти (2010/307/EC).
3. Acrylamide carcinogenicity. New evidence in relation to dietary exposure. EFSA Scientific Colloquium. Summary report, 22-23 May 2008, Tabiano, Italy.
4. Ahn, J. S. et al. Verification of the findings of acrylamide in heated foods. – Food Additives and Contaminants, **19**, 2002, 1116-1124.
5. Andrzejewski, D. et al. Analysis of Coffee for the presence of Acrylamide by LC-MS/MS. – Journal of Agricultural and Food Chemistry, **52**, 2004, 1996-2002.
6. Barber, D. S. et al. Toxicokinetics and hemoglobin adduct formation in rats following subacute and subchronic acrylamide dosing. – Neuro Toxicology, **22**, 2001, № 3, 341-353.
7. Bagdonaitė, K., K. Derler et M. Murkovic. Determination of acrylamide during roasting of coffee. – Journal of Agricultural and Food Chemistry, **56**, 2008, 6081-6086.
8. Becalski, A. et al. Acrylamide in foods: occurrence, sources and modeling. – Journal of Agricultural and Food Chemistry, **51**, 2003, 802-808.
9. Becalski, A. et al. Determination of acrylamide in Various Food Matrices Evaluation of LC and GC mass spectrometric methods. Chemistry and Safety of Acrylamide in Food. Advances in Experimental Medicine and Biology, **561**, 2005, 271-284.
10. Biedermann, M. et al. Methods for determining the potential of acrylamide formation and its elimination in raw materials for food preparation, such as potatoes. – Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchung und Hygiene, **93**, 2002, 653-667.
11. Boon, P. E. et al. Calculations of dietary exposure to acrylamide. – Mutation Research, **580**, 2005, 143-155.
12. Brunner, K. et al. Assessment of acrylamide intake by duplicate diet study. Swiss Federal Office of Public Health, Bern., 2002. Available from: http://www.bfr.bund.de/cm/208/assessment_of_acrylamide_intake_by_duplicate_diet_study.pdf. Accessed 2006 March 15.
13. Dybing, E. et T. Sanner. Risk assessment of acrylamide in foods. – Toxicol. Sci., **75**, 2003, № 1, 7-15.
14. Gökm en, V., T. K. Palazoğlu et H. Z. Senyuva. Relation between the acrylamide formation and time-temperature history of surface and core regions of French fries. – Journal of Food Engineering, **77**, 2006, 972-976.
15. Granby, K. et S. Fagt. Analysis of acrylamide in coffee and dietary exposure to acrylamide from coffee. – Analytica Chimica Acta, **520**, 2004, 177-182.
16. Guenther, H. et al. Acrylamide in coffee: Review of progress in analysis, formation and level reduction. – Food additives and Contaminants, Supplement 1, **24**, 2007, (S1), 60-70.
17. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogen Risk to Humans: Some Industrial Chemicals, № 60. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 1994.
18. Jezussek, M. et P. Schieberle. Entwicklung neuer Methoden zur Bestimmung von Acrylamid, Lebensmittelchemie, **57**, 2003, 85-86.
19. Lantz, I. et al. Studies on acrylamide levels in roasting, storage and brewing of coffee. – Molecular Nutrition and Food Research, **50**, 2006, 1039-1046.

20. Monitoring of acrylamide levels in food. – EFSA, J., **9**, 2011, № 4, 2133-21 22.
21. Nemoto, S. et al. Determination of acrylamide in foods by GC/MS using C-13 labelled acrylamide as an internal standard. – Journal of the Food Hygienic Society of Japan, **43**, 2006, 371-376.
22. Ono, H. et al. Analysis of acrylamide by LC-MS/MS and GC-MS in processed Japanese foods. – Food Additives and Contaminants, **20**, 2003, 215-220.
23. Pittet, A., A. Perisset et J.-M. Oberson. Trace level detection of acrylamide in cereal-based foods by gas chromatography mass spectrometry. – Journal of Chromatography, **1035**, 2003, 123-130.
24. Alves, R. C. et al. Acrylamide in espresso coffee: Influence of species, roast degree and brew length, Food Chemistry, available from: [http://www.flavorfood.com.br/artigos/perigos_quimicos/Contaminantes%20formados%20durante%20o%20pro-](http://www.flavorfood.com.br/artigos/perigos_quimicos/Contaminantes%20formados%20durante%20o%20processamento/Acrylamide%20in%20espresso%20coffee%20Influence%20of%20species,%20roast%20degree%20and%20brew%20length.pdf)
25. Roach, J. A. G. et al. LC-MS/MS survey analysis for acrylamide in foods. – Journal of Agricultural and Food Chemistry, **51**, 2003, 7547-7554.
26. Soares, C., S. Cunha et J. Fernandes. Determination of acrylamide in coffee and coffee products by GC-MS using an improved SPE clean-up. – Food Additives and Contaminants, **23**, 2006, 1276-1282.
27. Svensson et al. Dietary intake of acrylamide in Sweden. – Food and Chemical Toxicology, **41**, 2003, 1581-1586.
28. Swedish National Food Administration, Information about acrylamide in food, 24 April 2002.
29. Teymans, D. et. al. Review of Acrylamide: An Industry Perspective on Research, Analysis, Formation, and Control. – Critical Reviews in Food Science and Nutrition, **44**, 2004, 323-347.



МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ – СОФИЯ
ЦЕНТРАЛНА МЕДИЦИНСКА БИБЛИОТЕКА

АБОНАМЕНТЕН СПИСЪК – 2012

Заглавие	Периодичност	Годишен абонамент в лв.
Acta Medica Bulgarica (на англ. език)	2	20
Акупунктура	2	14
Български медицински журнал	3	30
Детски и инфекциозни болести	2	16
Ендокринни заболявания	2	14
Медицински мениджмънт и здравна политика	3	21
Медицински преглед	4	48
Неврология и психиатрия	2	14
Обща медицина	4	32
Сестринско дело	3	24
Съвременна стоматология	3	30
Сърдечно-съдови заболявания	3	30
Хирургични заболявания	2	14

За контакти:

Д. Андреева, Сн. Стоянова, Й. Везирова

ОТДЕЛ НАУЧНА МЕДИЦИНСКА ИНФОРМАЦИЯ

(сградата пред Администрацията на Александровска болница)

ЦЕНТРАЛНА МЕДИЦИНСКА БИБЛИОТЕКА

ул. "Св. Г. Софийски" № 1, 1431 София

☎ (02) 952-59-20, 952-05-15, 952-16-45, 952-23-93

Стойността на абонамента може да се преведе и с пощенски запис, или по сметка

ЦМБ – ИВАН ВГ 31 ВРВИ 7940 3163 9820 01, ЮРОБАНК И ЕФ ДЖИ БЪЛГАРИЯ, ВИС код:

ВРВИВГСФ, ЕИК 8313857370087.