



Analiza pierwiastkowa żywności - trendy i wybrane problemy analityczne

Wiesław Żyrnicki, Anna Leśniewicz, Jolanta Borkowska-Burnecka

**Zakład Chemii Analitycznej
Wydział Chemiczny Politechniki Wrocławskiej**

**Środowisko-Zdrowie-Żywność
Ślesin, 17-19 maja 2010**

pół żartem/... o analizie żywności

- jedna z najstarszych i zarazem kluczowych rodzajów aktywności człowieka
- pierwsza metoda analizy : „bioindykacja”
- metoda analizy nieselektywna, kompleksowa i „finalna”
- instrument pomiarowy typu kompakt (układ detekcji sprzężony z „wewnętrznym” układem przygotowania próbki
- liczne interferencje biochemiczne
- wynik subiektywny, zależny od „bioinstrumentu”



żywność (albo środek spożywczy)

oznacza jakiegokolwiek substancje lub produkty, przetworzone, częściowo przetworzone lub nieprzetworzone, przeznaczone do spożycia przez ludzi lub, których spożycia przez ludzi można się spodziewać

definicja według art. 2 Rozporządzenia (WE) Nr 178/2002 Parlamentu Europejskiego i Rady z dnia 28 stycznia 2002r. ustanawiającego ogólne zasady i wymagania prawa żywnościowego



definicja „środek spożywczy” nie obejmuje:

- a) pasz;
- b) zwierząt żywych, chyba że mają być one wprowadzone na rynek do spożycia przez ludzi;
- c) roślin przed dokonaniem zbiorów;
- d) produktów leczniczych w rozumieniu dyrektyw Rady 65/65/EWG i 92/73/EWG
- e) kosmetyków w rozumieniu dyrektywy Rady 76/768/EWG;
- f) tytoniu i wyrobów tytoniowych w rozumieniu dyrektywy Rady 89/622/EWG;
- g) narkotyków lub substancji psychotropowych w rozumieniu jedynej konwencji o środkach odurzających z 1961 r. oraz konwencji o substancjach psychotropowych z 1971 r.;
- h) pozostałości i kontaminantów



termin żywność w obszarze poza legislacyjnym

Żywność

jest substancją złożoną z węglowodanów, wody, tłuszczu, składników mineralnych i/lub białek, która jest jedzona lub pita **przez zwierzęta i/lub ludzi**

w celach spożywczych lub dla przyjemności.

Z

żywność dzisiaj wytwarzana/ rekomendowana/ reklamowana / ...

zdrowa

zdrowa naturalna

ekologiczna

modyfikowana genetycznie

bezpieczna

funkcjonalna

wegetariańska

liofilizowana

wegetariańska

antynowotworowa (brokuły)

lecznicza

transgeniczna

szybka

masowa

organiczna

...

żywność
wytwarzana/ rekomendowana/ reklamowana / ...

dla

diabetyków

cukrzyków

niemowląt

alergików

sportowców

matki karmiącej

specjalnego przeznaczenia



żywność ekologiczna,

zawiera **ponad 95%** składników organicznych wyhodowanych metodami rolnictwa ekologicznego (unikanie środków chemicznych, napromieniowanie upraw itp.) z wyłączeniem dodatków do żywności oraz składników genetycznie zmodyfikowanych.

żywność funkcjonalna

to żywność, która poza swoją tradycyjną funkcją odżywczą, wywiera udowodniony, **fizjologiczny i/lub psychologiczny** wpływ na jedną lub wiele funkcji organizmu człowieka

Definicja Functional Food Science in Europe (FUFOSE) przyjęta w 1999

produkty regionalne i tradycyjne



Gwarantowana Tradycyjna Specjalność (ang. *Traditional Speciality Guaranteed - TSG*)

nazwę produktu rolnego lub środka spożywczego można zarejestrować w przypadku, gdy jego nazwa jest sama w sobie specyficzna lub też wyraża specyficzny charakter produktu rolnego lub środka spożywczego; tradycyjny charakter produktu może być wyrażony za pomocą tradycyjnych surowców, składu lub sposobu wytwarzania.

Chronione Oznaczenie Geograficzne (ang. *Protected Geographical Indication - PGI*)

nazwę produktu rolnego lub środka spożywczego można zarejestrować w przypadku, gdy jakość, reputację lub inną jego cechę można przypisać pochodzeniu geograficznemu; produkcja, przetwórstwo i wytwarzanie muszą mieć miejsce na określonym obszarze geograficznym.



polskie produkty regionalne - zarejestrowane

1. Bryndza podhalańska (małopolskie) - 11.06.2007 r.
2. Oscypek (małopolskie) - 13.02.2008 r.
3. Miód wrzosowy z Borów Dolnośląskich (dolnośląskie) - 30.05.2008 r.
4. Półtorak (cała Polska) - 28.07.2008 r.
5. Dwójniak (cała Polska) - 28.07.2008 r.
6. Trójniak (cała Polska) - 28.07.2008 r.
7. Czwórniak (cała Polska) - 28.07.2008 r.
8. Rogal świętomarciński (wielkopolskie) - 30.10.2008 r.
9. Wielkopolski ser smażony (wielkopolskie) - 20.04.2009 r.
10. Andruty kaliskie (wielkopolskie) - 21.04.2009 r.
11. Olej rydzowy (wielkopolskie) - 15.06.2009 r.
12. Pierekaczewnik (podlaskie) - 29.06.2009 r.
13. Wiśnia nadwiślanka (świętokrzyskie) - 15.12.2009 r.
14. truskawka kaszubska/kaszëbskô malëne (pomorskie) - 18.12.2009 r.
15. Redykołka (małopolskie) - 21.12.2009 r.



żywność egzotyczna, orientalna, ...





Składniki żywności



Podstawowe (naturalne) i dodatkowe składniki żywności

- białka
- tłuszcze
- węglowodany
- witaminy
- **składniki mineralne „traktowane jakby oddzielna grupa”**
- woda
- kwasy organiczne

zwiększające trwałość

kształtujące cechy sensoryczne i fizyczne

dodatki skrobiowe i białkowe

dodatki bioaktywne (funkcjonalne)

dodatki ułatwiające wyrób żywności

barwniki

związki antyżywniowe i toksyczne

nutraceutyki - *bioaktywne substancje pochodzenia naturalnego, o właściwościach leczniczych i zapobiegających rozwojowi chorób*

...

składniki mineralne czy pierwiastki ?

składniki mineralne żywności - są to substancje chemiczne pochodzenia nieorganicznego

- utożsamiane z pierwiastkami
- identyfikowane też z tzw. pierwiastkami biogennymi (odgrywającymi rolę w regulowaniu czynności fizjologicznych organizmu)

Podział składników mineralnych


makroskładniki

mikroskładniki

makroelementy

mikroelementy

ultraelementy



formy występowania pierwiastków (innych niż H, C, O, N)

- wolne jony
 - kompleksy
 - związki nieorganiczne
 - związki metaloorganiczne
-
- w białkach
 - w cukrach
 - w tłuszczach
 - w enzymach

metody spektroskopowe w badaniu żywności - składniki organiczne

MS

NMR

IR (Raman)

UV-VIS

LIF (*fluorescencja indukowana laserowo*)

chemiluminescencja

fluorescencja

fluorymetria

po lub bez zastosowania

- chromatografii, ekstrakcji, elektroforezy,

- a także metod enzymatycznych i immunochemicznych

jako metod separacji analitów (metody detekcji)



Metody spektroskopowe w analizie żywności – składniki organiczne

- **identyfikacja**
 - związki chemiczne lub ich grupy funkcyjne
 - identyfikacja typu „finger print”
- **oznaczanie**
- **badania strukturalne**

Atomowa spektrometria w analizie żywności

- **ICP-MS**
- **AAS**
- **ICP-OES**
- **XRF, AFS**
- **INAA (NAA)**

Podstawowe metody przygotowania próbki do pomiaru:

- **mineralizacja (w roztworze i na sucho)**
- **ekstrakcja (różne typy – SPE, rozpuszczalnikowa)**
- **chromatografia często jako metoda sprzężona**

spektrometria atomowa

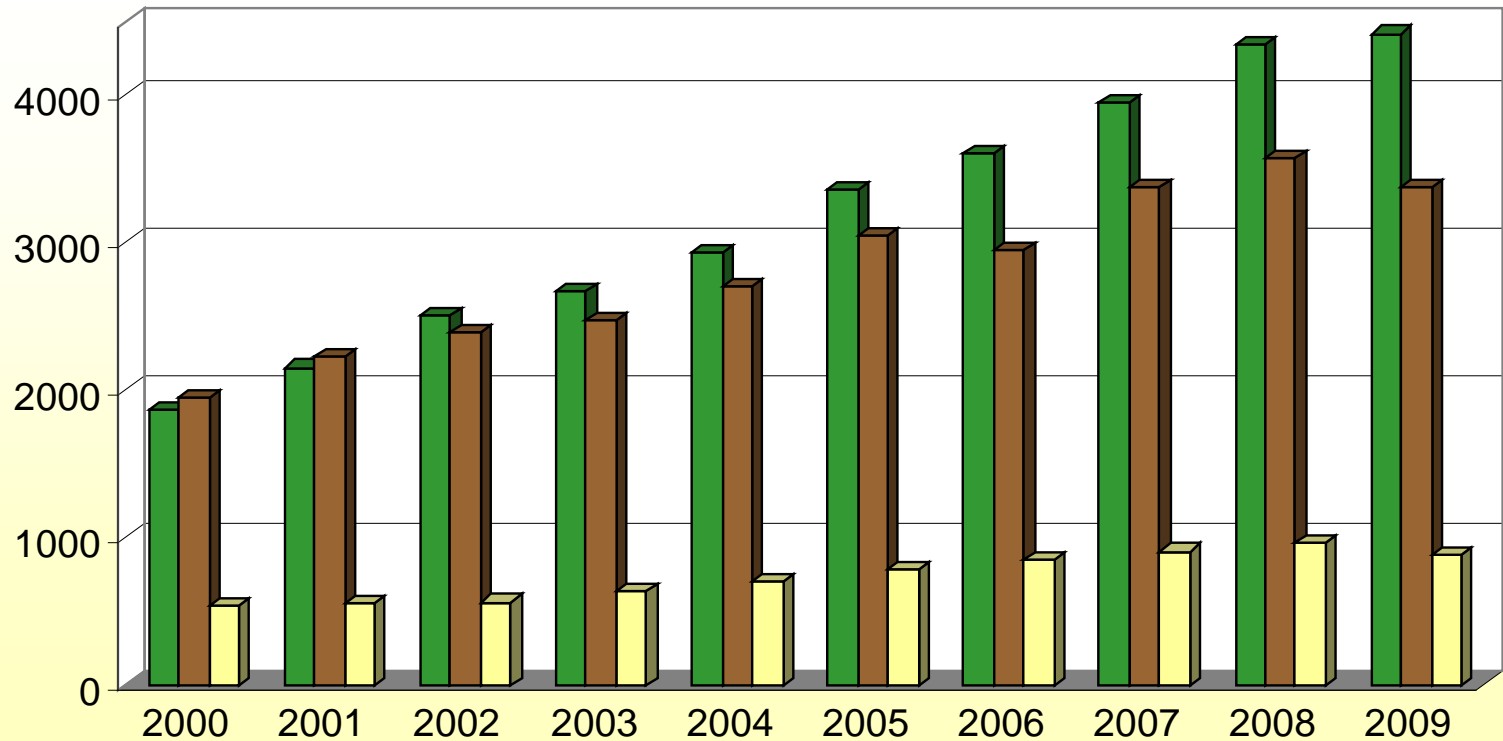
- identyfikacja - już nie
- oznaczanie całkowitych zawartości stężeń
- oznaczanie wybranych form występowania pierwiastka (specjacja chemiczna)
- frakcje - formy związane z grupą związków
- formy/frakcje mobilne/biomobilne
- formy/frakcje przyswajalne

cechy próbek żywności utrudniające badanie form specjacyjnych i frakcji metali

- układy wielofazowe i wieloskładnikowe
(kilkaset – kilka tysięcy)
- składniki chemiczne i biologiczne (np. bakterie)
- bardzo różna stabilności fizykochemiczna i biologiczna niektórych poszczególnych form
- przebieg procesów (synteza, rozkład, derywatywacja, degradacja) i ich szybkość zależą od szeregu czynników

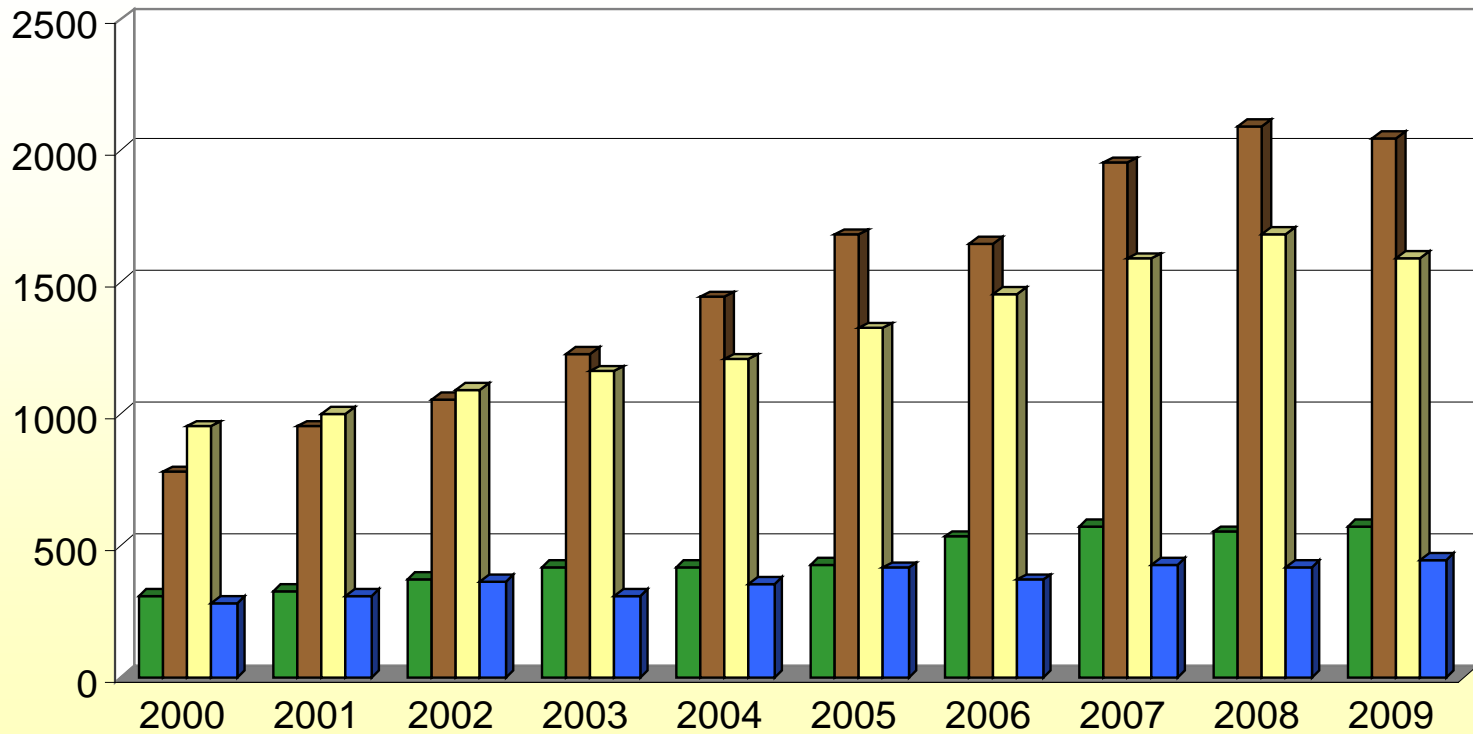
„food” and

■ extraction ■ chromatography ■ electrophoresis



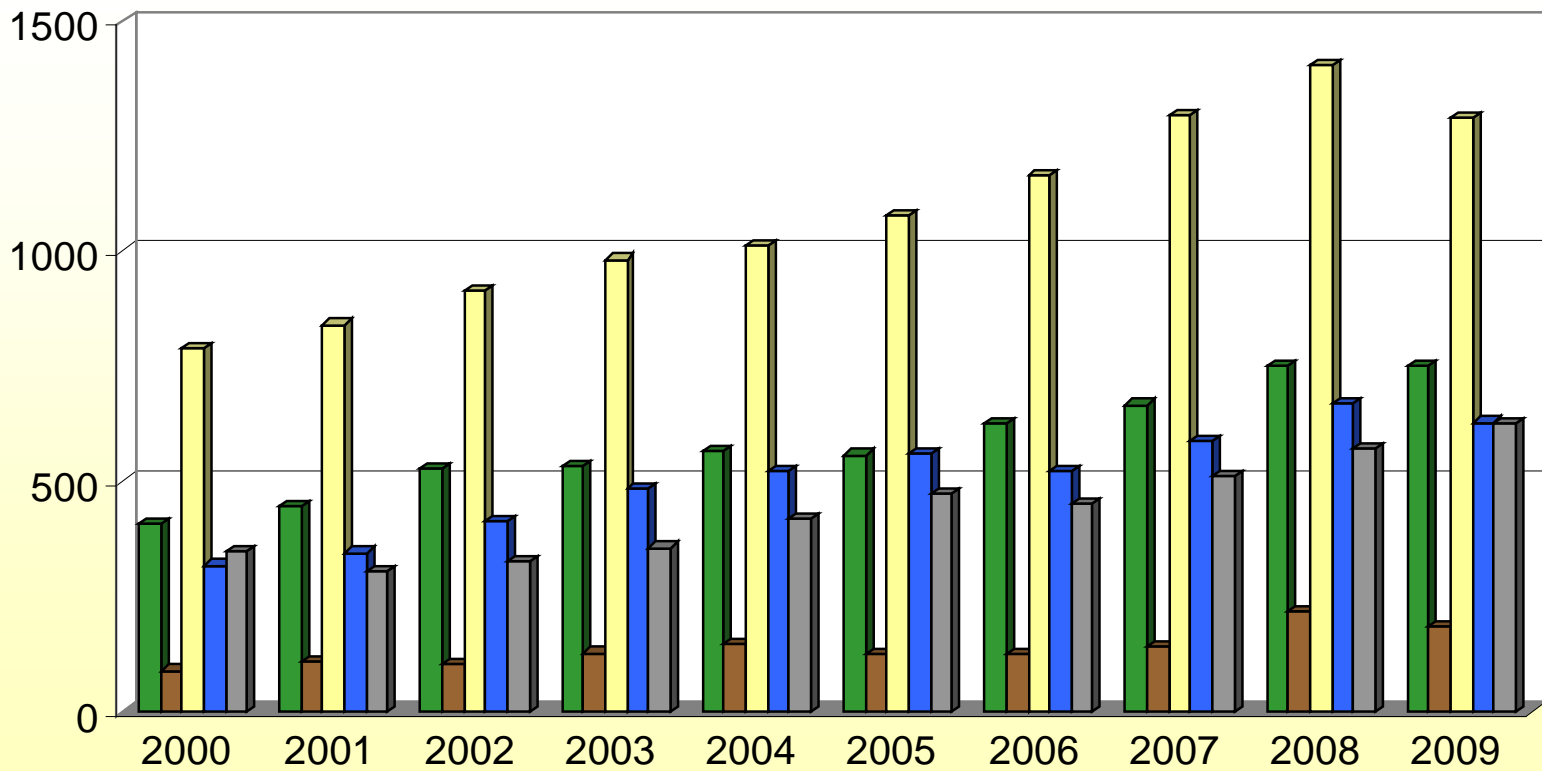
„food” and

■ NMR ■ MS ■ HPLC ■ spectroohotometry



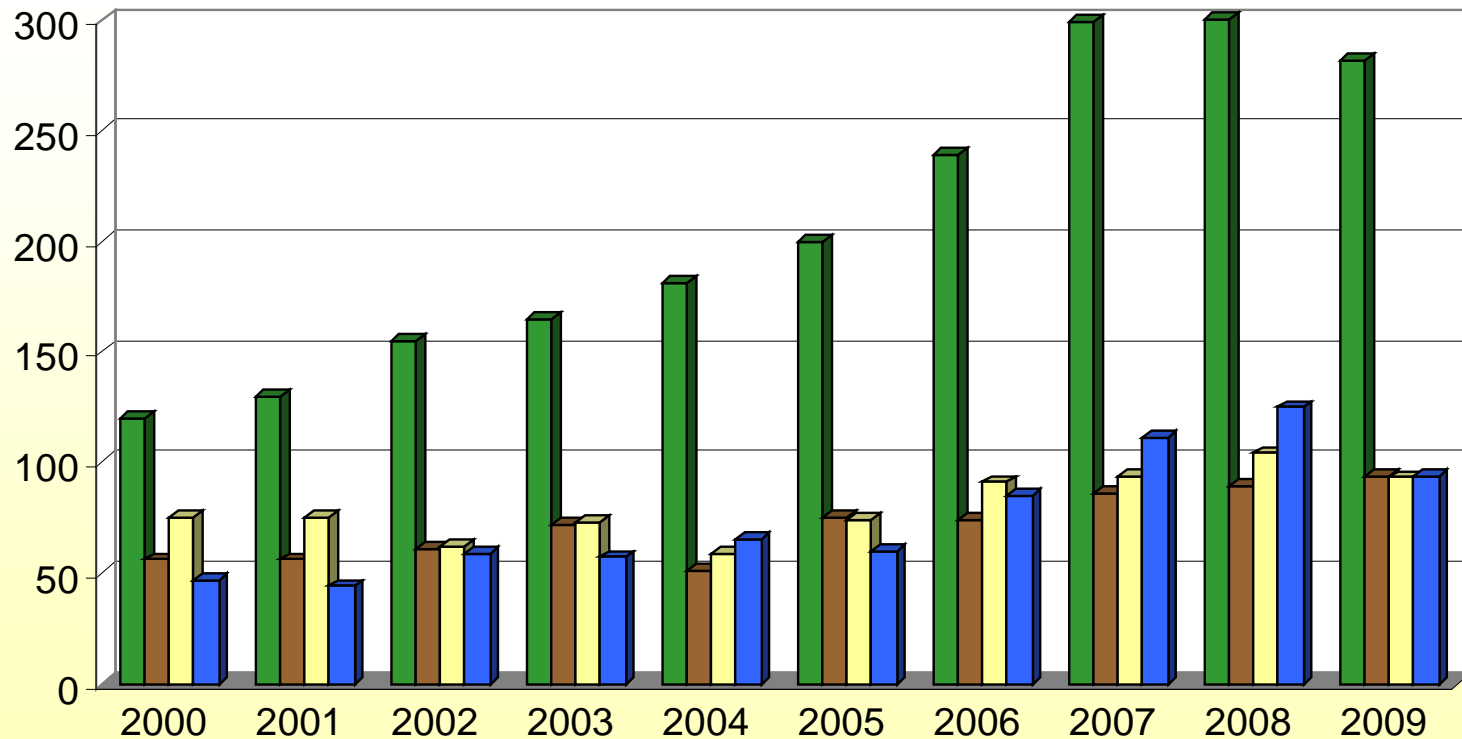
„food” and

■ Al ■ B ■ Cu ■ Ni ■ Se



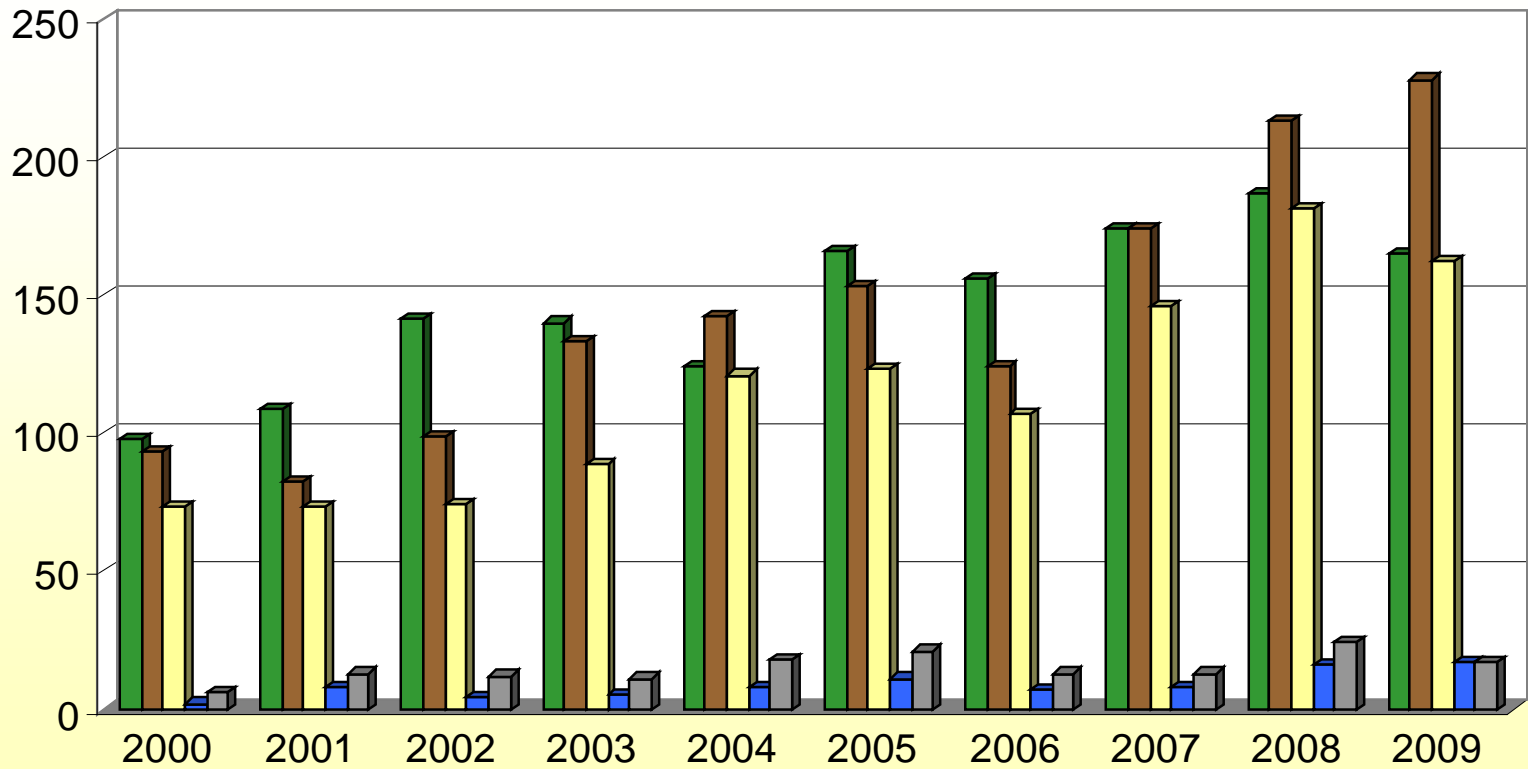
„food” and „Cu” and

■ protein ■ enzyme ■ lipid ■ carbohydrate



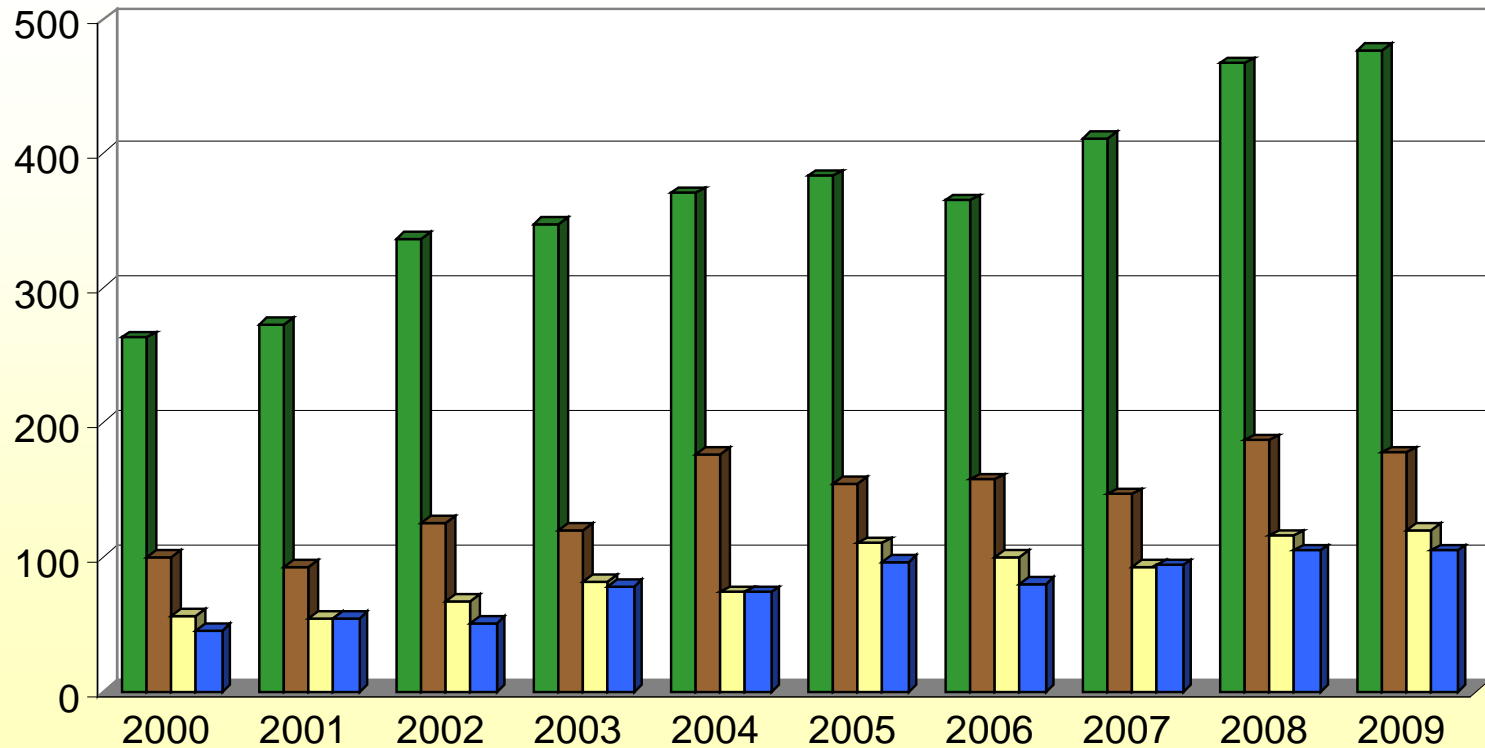
„food” and

■ AAS ■ ICP ■ ICP MS ■ XRF ■ AFS



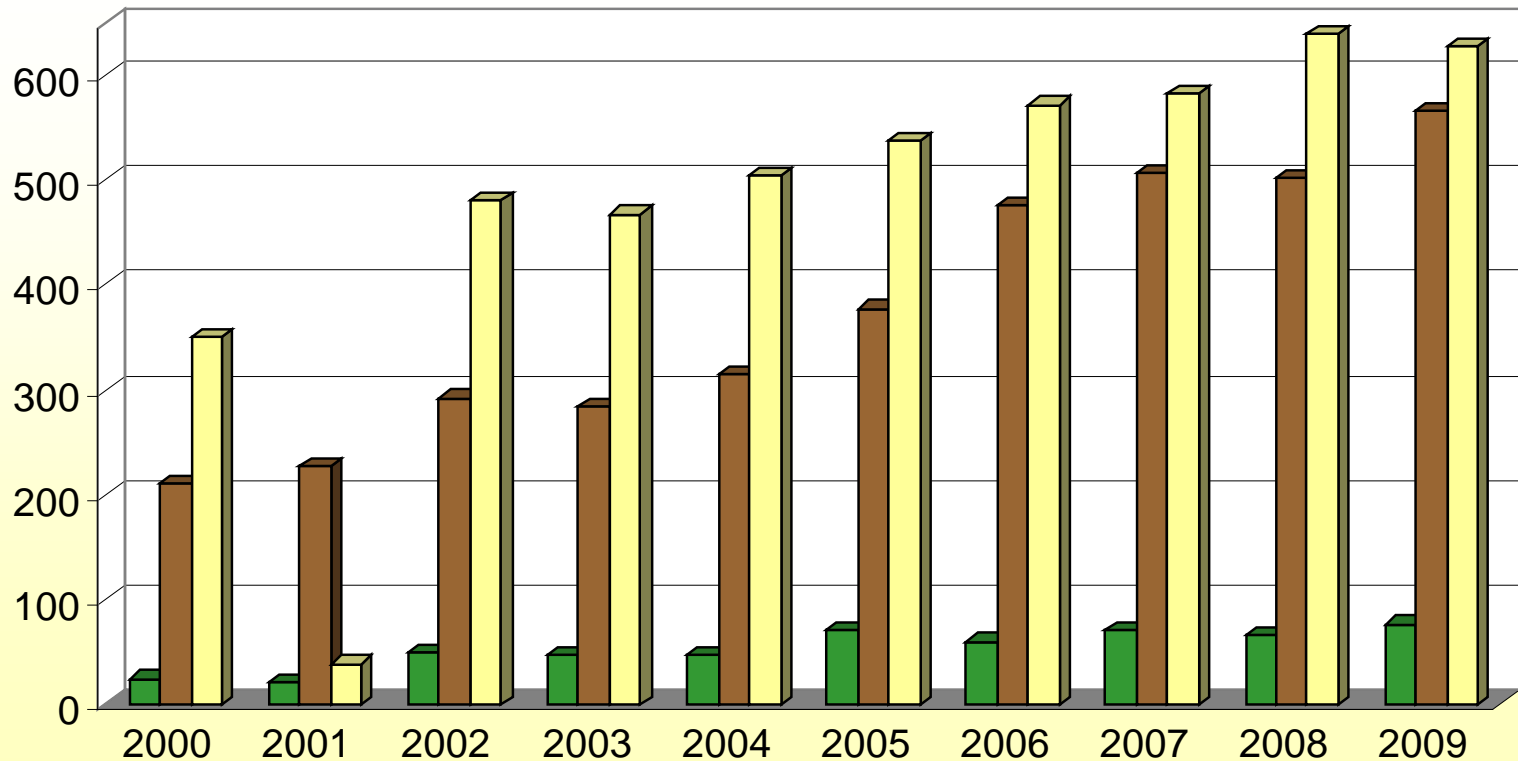
„food” and

■ trace element ■ nutrient element ■ essential element ■ toxic element



„food” and

■ Raman spectroscopy ■ IR spectroscopy ■ enzyme method





W badaniach

- form specyjalnych pierwiastków
- frakcji (węglowodany, lipidy, proteiny) związanej z danym pierwiastkiem

krytyczną rolę odgrywa dobór warunków procesu izolacji danej formy lub frakcji.

Dotyczy to zwłaszcza procesów ekstrakcji – dobór :

- rozpuszczalników lub ich mieszaniny,
- złoża i jego charakterystyki (SPE),
- czasu,
- reagentów kompleksujących

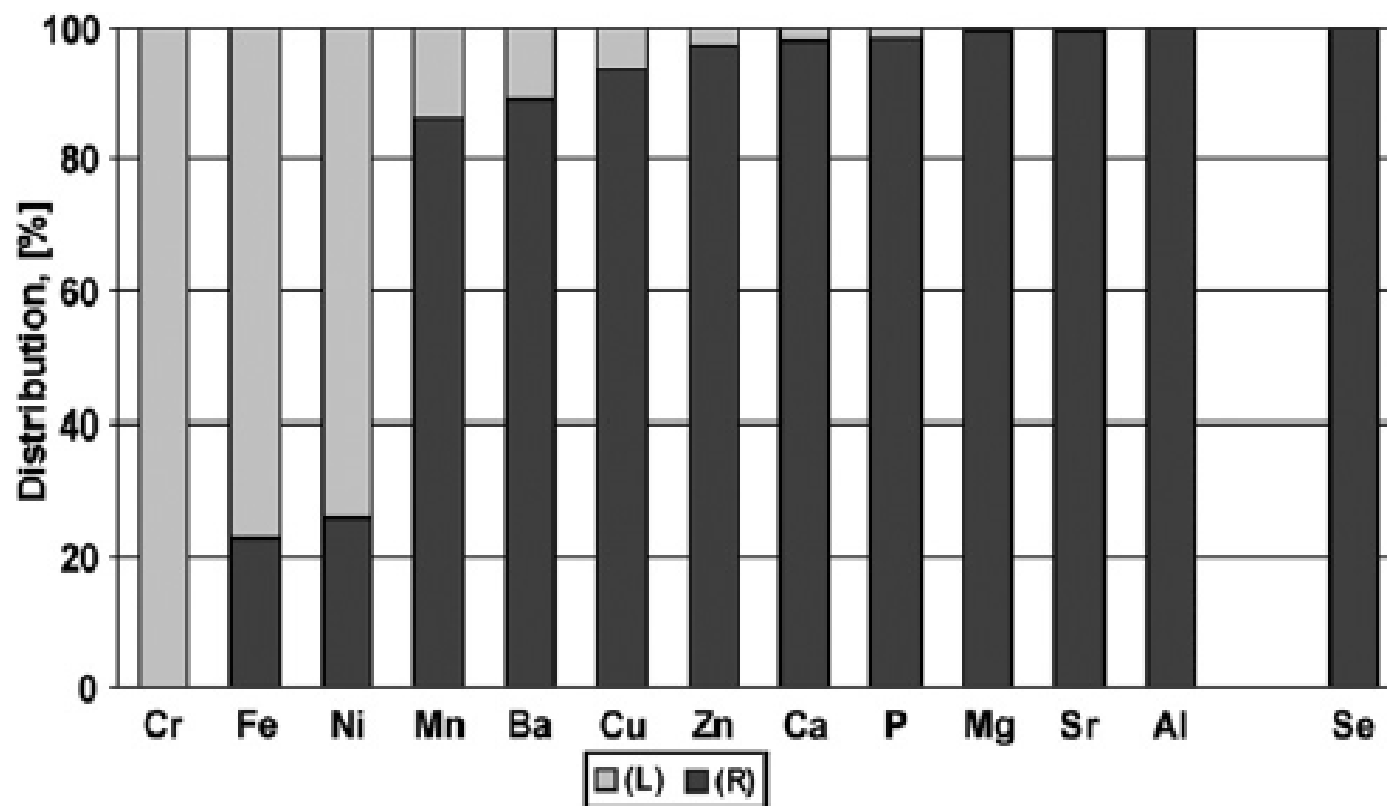


Fig. 2. Distribution of elements between lipid (L) and defatted residue (R) fractions after extraction with the use of chloroform:methanol 2:1 mixture as a solvent.

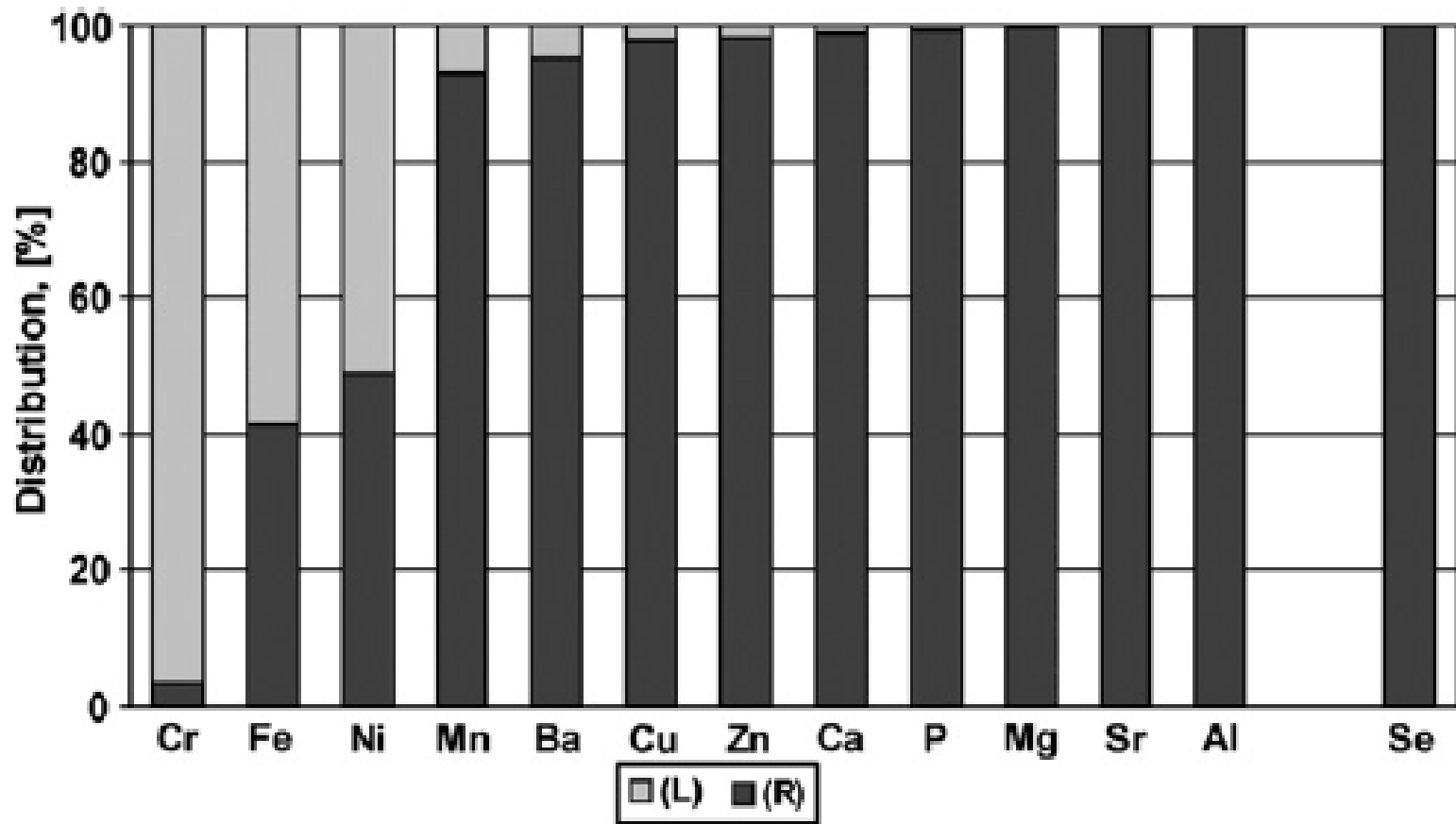


Fig. 1. Distribution of elements between lipid (L) and defatted residue (R) fractions after extraction with the use of petroleum ether as a solvent.

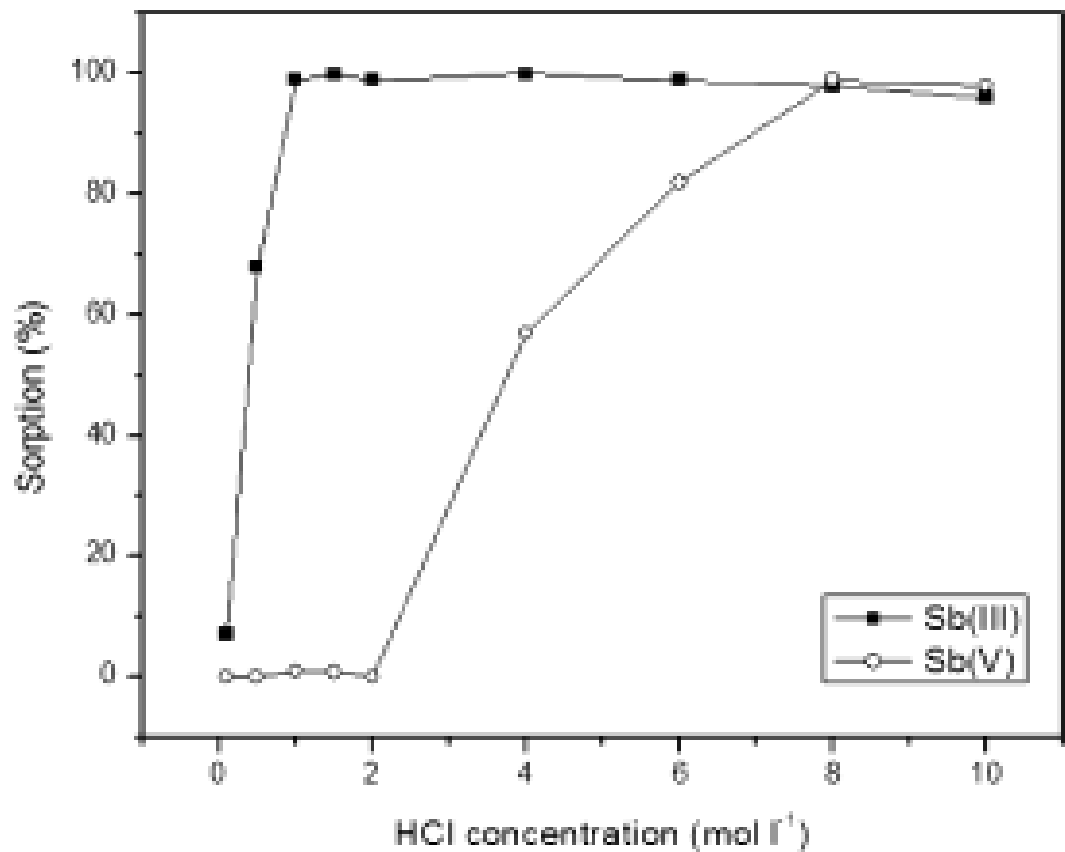


Fig. 2. Effect of hydrochloric acid concentration on retention of Sb(III) and Sb(V) on Dowex 1 x 4-200.

Ekstrakcja do fazy stałej w rozdzielaniu form specjacyjnych

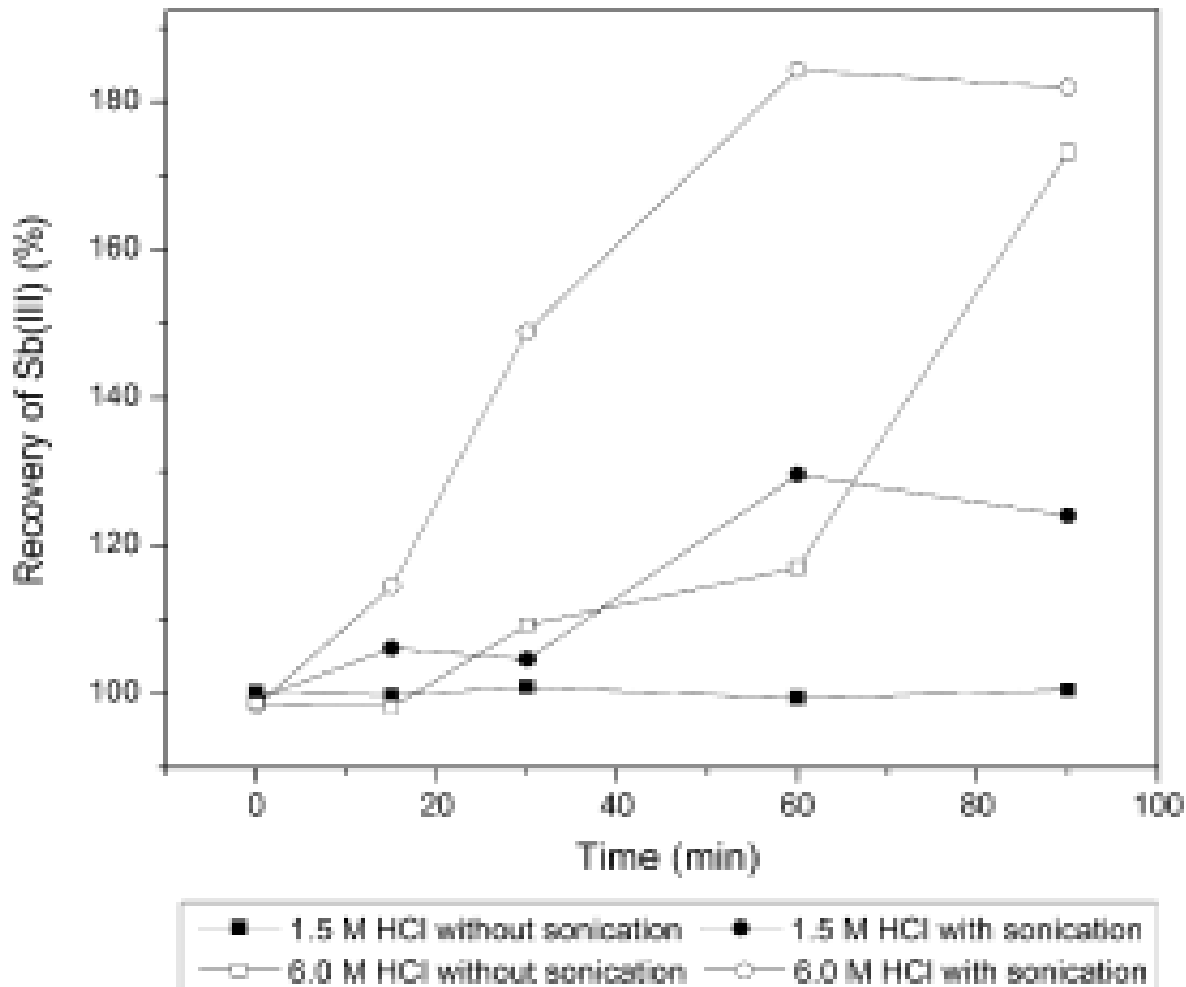
JPBA 2010, L.Łukaszyk, W.Żyrnicki



Jeśli dla ilościowego rozdzielenia form pierwiastka

stosujemy proces degradacji związków w jakich on występuje (przed separacją na przykład metodą SPE)

istnieje ryzyko zmiany stopnia utlenienia pierwiastka (całkowicie lub częściowo)



Zachowanie się form specjacyjnych antymonu podczas degradacji związków metaloorganicznych Sb wspomaganą sonikacją

Niechromatograficzne („bezpośrednie”) oznaczanie form specjacyjnych - CVG

Species	Speciation scheme	Sample consumption	Detection method	DL
Hg ²⁺ / CH ₃ Hg ⁺	Flow injection on-line sorption using selective complexing agents (DDPA for Hg ²⁺ and DZ for CH ₃ Hg ⁺) and selective reduction (0.02% KBH ₄ for Hg ²⁺ and 0.5% KBH ₄ for CH ₃ Hg ⁺).	9 ml 15 ml	CVG-AFS	3.6 ng l ⁻¹ 2.0 ng l ⁻¹
Hg ²⁺ / CH ₃ Hg ⁺	Sequential selective reduction mercury species based on the use of different concentrations of NaBH ₄ with two gas-liquid separators.	2.5 ml	CV-AAS	400 ng l ⁻¹ 600 ng l ⁻¹
Hg ²⁺ / CH ₃ Hg ⁺	Sequential mercury speciation based on selective solid phase extraction and selective reduction using a dual manifold.	10 ml	CV-AAS	40 ng l ⁻¹ 80 ng l ⁻¹
Hg ²⁺ / CH ₃ Hg ⁺	Flow injection on-line sorption and UV decomposition followed by selective elution (0.05 mol l ⁻¹ KCN for Hg ²⁺ and 2.0 mol l ⁻¹ HCl for CH ₃ Hg ⁺).	1000 ml	CV-AFS	0.07 ng l ⁻¹ 0.05 ng l ⁻¹
Hg ²⁺ / Total Hg	Mercury speciation based on the use of different concentrations of NaBH ₄ .	0.5 ml	CV-AAS	3.9 ng l ⁻¹ 24 ng l ⁻¹
Hg ²⁺ / Total Hg	Mercury speciation based on the use of different temperatures in the quartz cell.	3 ml	CV-AAS	25 ng g ⁻¹ 130 ng g ⁻¹
Hg ²⁺ / Total Hg	Mercury speciation based on the use of different temperatures in the measurement cell.	0.5 ml	CV-AAS	300 ng l ⁻¹ 380 ng l ⁻¹
Hg ²⁺ / Total Hg	Mercury speciation differentiation depends on whether or not an oxidant mixture of Br ⁻ /BrO ₃ ⁻ is on-line introduced.	1 ml	CV-AFS	70 ng l ⁻¹ 70 ng l ⁻¹
Hg ²⁺ / Total Hg	Both Hg ²⁺ and CH ₃ Hg ⁺ can be converted to Hg ⁰ with formic acid in the presence of the UV and only Hg ²⁺ can be reduced to Hg ⁰ in the presence of the Vis.	2.4 ml	CVG-AFS	200 ng l ⁻¹ 3 ng l ⁻¹



Stan wiedzy na temat

rekomendowanych w celach odżywczych i
dopuszczalnych w żywności ilości pierwiastków
jest daleki od zadowalającego

Mineral contents in the analyzed Brazil nuts in comparison to recommended and tolerable dietary values

Concentration ($\mu\text{g/g}$)		Dietary reference intakes (mg/d), (Food & Institute of Medicine, 1997; Food & Institute of Medicine, 2001)		
This study	Falandysz and Kotecka (1993), Kannamkumarath et al. (2004a), Kannamkumarath et al. (2004b), and Tinggi and Reilly (2000)	Recommended dietary allowances/adequate daily dietary intake	Upper tolerable levels	
P	7164 \pm 212	4830–7250	700–1250	3000– 4000
Mg	3321 \pm 88	2470–3930	240–420	350
Ca	1630 \pm 15	1560–2060	1000–1300	2500
Sr	115 \pm 12			
Ba	66.2 \pm 12.3	50–950		
Fe	55.8 \pm 8.5	26–65	8–15	40–45
Zn	43.0 \pm 0.3	38–48	8–11	23–40
Cu	19.6 \pm 0.3	9.4–27	0.7–0.9	5–10
Mn	10.1 \pm 0.2	5.2–12.2	1.8–2.3	6–11
Ni	8.82 \pm 0.82			0.6–1.0
Cr	7.89 \pm 1.06		0.02–0.035	
Al	5.33 \pm 1.11			7000 ^b

inne spojrzenie na badania żywności : „...omika”

nutrigenomika

- badanie zależności między żywieniem a odpowiedzią organizmu na poziomie ekspresji genów

nutragenomika

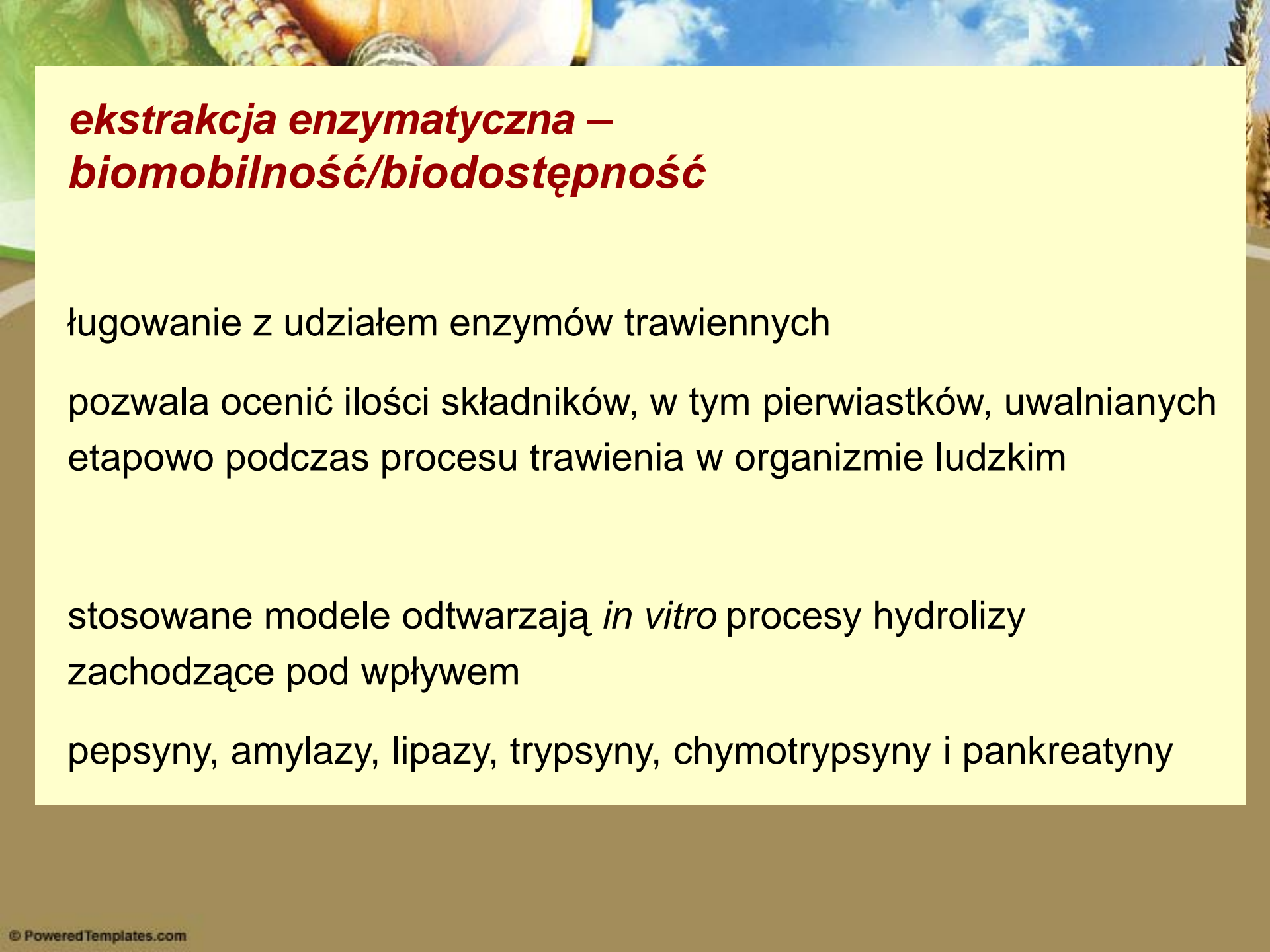
- prowadzi do wytworzenia nowej żywności zaprojektowanej dla indywidualnych potrzeb i korzyści żywieniowych

metabolomika

- badanie zestawu wszystkich metabolitów obecnych w organizmie, tkance czy komórce - metabolomu

proteomika

- gromadzenie informacji dotyczących identyfikacji struktur białkowych, rozpoznawanie i selekcjonowanie białek oraz badanie ich funkcji



ekstrakcja enzymatyczna – biomobilność/biodostępność

ługowanie z udziałem enzymów trawiennych

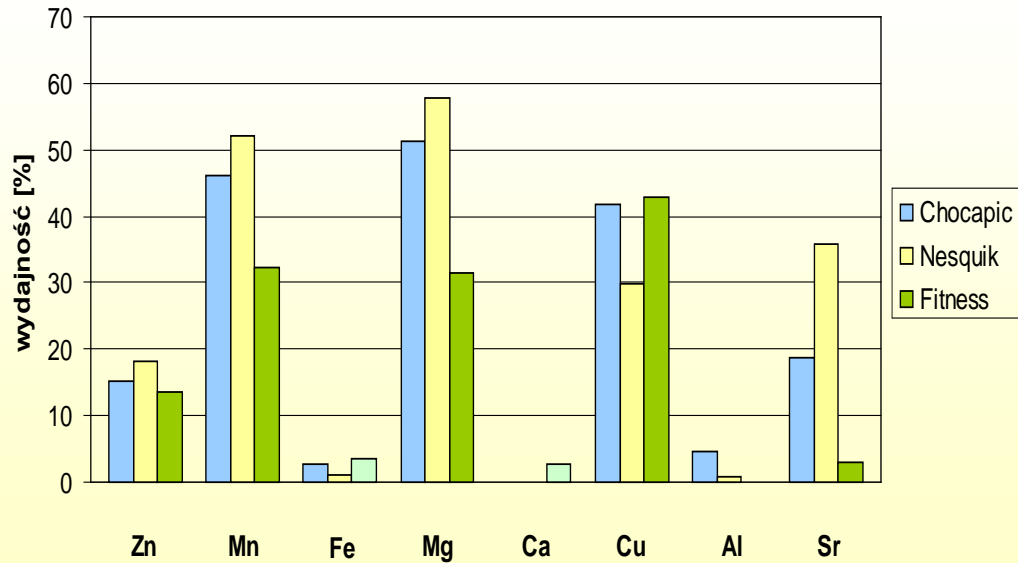
pozwała ocenić ilości składników, w tym pierwiastków, uwalnianych etapowo podczas procesu trawienia w organizmie ludzkim

stosowane modele odtwarzają *in vitro* procesy hydrolizy zachodzące pod wpływem

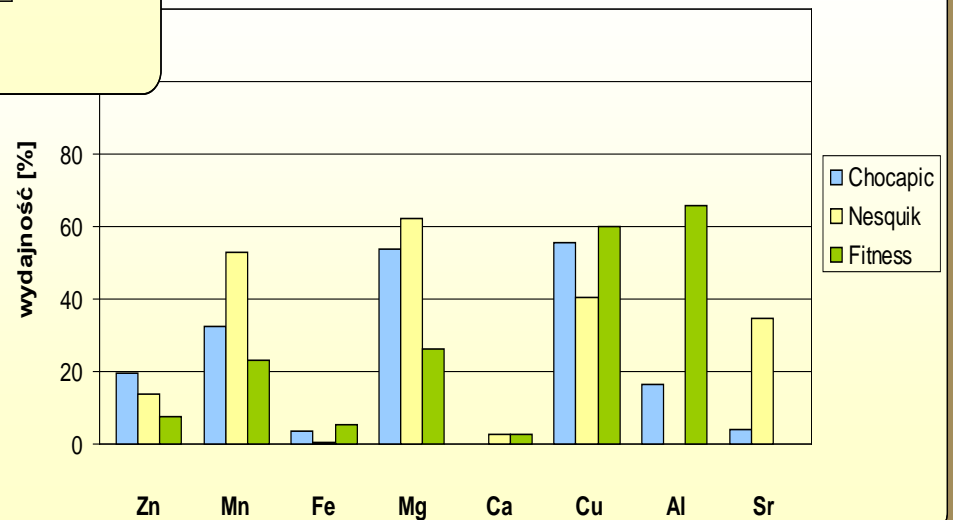
pepsyny, amylazy, lipazy, tripsyny, chymotrypsyny i pankreatyny

ekstrakcja enzymatyczna

Ekstrahent: roztwór amylazy

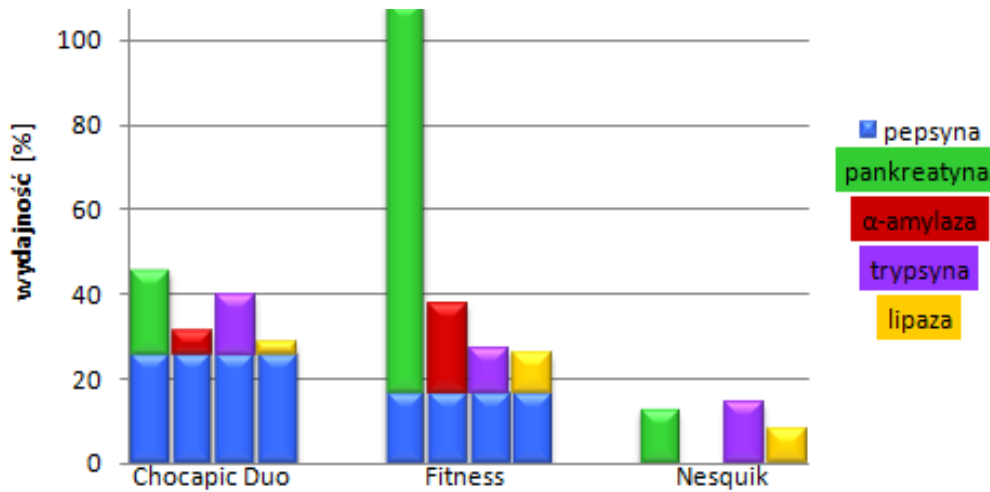


Ekstrahent: roztwór pankreatyny

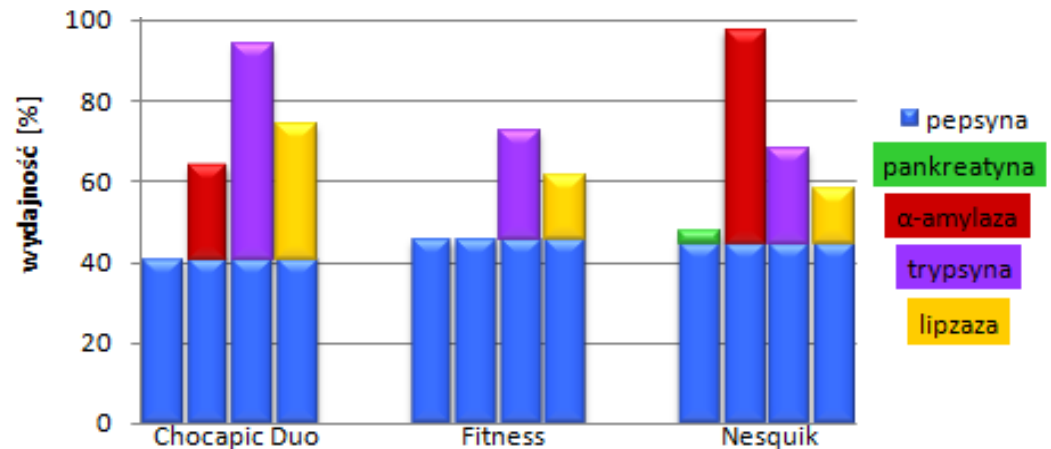


ekstrakcja enzymatyczna

AI



P





Refleksje



żywność produkowana na masową skalę

- posiada atesty, uwzględnia odpowiednie normy (ISO, FDA)
- istnieją zaawansowane procedury i metody analizy (w tym instrumentalnej)
- skład chemiczny deklarowany i kontrolowany
- analiza „zobiektywizowana”, (spójność pomiarowa, niepewność wyniku), wieloparametryczna

żywność produkowana lokalnie (na małą skalę)

- nie podlega dyrektywom, normom, procesowi legislacji, systematycznej kontroli
- instrumentem pomiarowym jest człowiek – skomplikowany biosensor
- analiza typu „zintegrowana”, jedno-kilkuparametryczna
- wynik subiektywny, silnie zależny od interferentów, często nieodtwarzalny
- satysfakcja/szczęście odbiorcy najważniejszym parametrem oceny

O analizie/badaniach żywności

- wiedza na temat składu chemicznego to bardzo ważny ale nie wystarczający czynnik dla oceny tego rodzaju materiału
- analogiczne jak w przypadku leków coraz większą rolę odgrywają badania strukturalne składników
- zainteresowania pierwiastkami w żywności jest bardzo duże i rosnące
- badania żywności są interdyscyplinarne na olbrzymią skalę (chemia, biologia, psychologia, etyka) problemy pod hasłami „...omiki” wyraźnie to demonstrowują
- **w żywności** obok pierwiastków śladowych „materialnych” niewątpliwie bardzo istotną rolę odgrywają **pierwiastki „niematerialne” dostarczające nam doznań wyższego rzędu (radość, szczęście, satysfakcja)**



Dziękuję za uwagę

**wizje i oceny stopnia trudności, złożoności i
ważności problemów związanych z analizą
żywności**

są subiektywne

**Ciepłe, słoneczne zaproszenie
do uczestnictwa w**

**European Symposium on Atomic Spectrometry
ESAS 2010
Wrocław, wrzesień 5-8, 2010**

Tematyka konferencji :

**spektroskopia atomowa i jej zastosowanie
w różnych dziedzinach ze szczególnym analizy
środowiskowej, przemysłowej, żywności i leków**

Szczegóły na

www.esas2010.pl