

Stanisław Kowalski, Marcin Łukasiewicz

WYSTĘPOWANIE 5-HYDROKSYMETYLO-2-FURFURALU (HMF) W WYBRANYCH PRODUKTACH SPOŻYWCZYCH DOSTĘPNYCH NA POLSKIM RYNKU

Katedra Technologii Węglowodanów
Wydziału Technologii Żywności Uniwersytetu Rolniczego w Krakowie
Kierownik: prof. dr hab. *H. Gambuś*

Analizę 5-hydroksymetylo-2-furfuralu (HMF) przeprowadzono na jedenastu próbkach kaw rozpuszczalnych i sześciu próbkach kaw mielonych, czterech rodzajach pieczywa oraz dziesięciu próbkach suszonych owoców (rodzynek, morelach, daktylach i śliwkach). Najwyższe stężenie HMF (średnia wartość 2280 mg/kg) stwierdzono w kawach rozpuszczalnych i suszonych śliwkach (średnie stężenie 400 mg/kg suchej masy). Uzyskane wyniki zostały omówione w świetle dziennego spożycia oszacowanego na podstawie anonimowej ankiety.

Hasła kluczowe: HMF, kawa, owoce suszone, chleb.
Key words: HMF, coffee, dried fruits, bread.

5-hydroksymetylo-2-furfural występuje w wielu produktach spożywczych. Jego obecność jest wynikiem odwodnienia cukrów prostych oraz zachodzących w czasie termicznego przetwarzania żywności (pieczenia, tostowania, smażenia, sterylizacji itp.) reakcji Maillarda. Wytwarzanie takich produktów jak płatki śniadaniowe, kawa, chleb, pasteryzowane soki owocowe itp. prowadzi do powstawania znacznych ilości tego związku (1, 2).

Jak dotąd, obecność HMF stwierdzono w produktach zbożowych (3), owocowo-warzywnych (4), miodzie (5), a zwłaszcza w kawie, jak również prażonych orzechach czy mleku UHT (1, 2). Zawartość HMF w jednym typie produktu może się znacząco różnić, co wynika ze sposobów przetwarzania i tak np. w kawie może się wahać od kilkudziesięciu do kilku tysięcy mg/kg (1, 2).

Oprócz produktów spożywczych również niektóre farmaceutyki, jak również dym tytoniowy mogą przyczyniać się do zwiększenia ekspozycji na HMF. W czasie palenia tytoniu piroliza celulozy prowadzi do powstawania tego związku, jak również innych furanów (6). HMF, jako produkt przemiany glukozy i fruktozy, znajduje się również w wielu sterylizowanych płynach infuzyjnych stosowanych w kroplówkach (7).

Na podstawie badań przeprowadzonych na szczurach ustalono dawkę LD_{50} na poziomie 3,1 g/kg masy ciała przy podaniu doustnym (8). W literaturze przedmiotu można znaleźć szereg doniesień na temat potencjalnej cytotoksyczności i kancerogenności tego związku – bezpośredniej lub na skutek przejścia HMF w SMF (sulfo-oksymetylofurfural) pod wpływem działania sulfotransferazy w obecności 3'-fosfoadenozyno-5'-fosfosiarczanu (VI) (PAPS) (9).

Można spotkać również informacje dotyczące jego pozytywnego działania na organizm człowieka czy wręcz możliwościach zastosowania terapeutycznego w zwalczaniu nowotworów. Obecność HMF w ekstraktach z derenia lekarskiego (*Fructus corni* L.) wiązana jest z ich terapeutycznym działaniem na hepatocyty (10). Co więcej, ostatnie doniesienia sugerują, że estrowe pochodne HMF (zwłaszcza z kwasem cytrynowym i jabłkowym), mogą być stosowane w leczeniu grypy wywołanej wirusem typu A(H1N1) (11).

Doniesienia te skłoniły nas do przeprowadzenia analizy potencjalnie szkodliwego składnika żywności 5-hydroksymetylo-2-furfuralu w wybranych produktach spożywczych dostępnych na polskim rynku. Wybrano produkty obecne w diecie większości ludzi dorosłych oraz takie, w których ze względu na skład chemiczny i sposób przetwarzania, tworzenie się HMF jest bardzo prawdopodobne. Kawa stanowiła najliczniejszą analizowaną grupę produktów spożywczych, gdyż jest jednym z najbardziej popularnych napojów w diecie. Analizę przeprowadzono również w chlebie, jak i w suszonych owocach. Chleb jest spożywany codziennie w stosunkowo dużych ilościach, z kolei suszone owoce wydają się być coraz bardziej popularną przekąską. Ze względu na skład i sposób przetwarzania wybranych produktów, mogą być one znaczącym źródłem HMF w diecie.

MATERIAŁ I METODY

Analizie poddano jedenaście marek kaw rozpuszczalnych (SC), sześć marek kaw mielonych (GC) dostępnych w obrocie handlowym, owoce suszone takie jak: śliwki (DP), morele (A), rodzynki (R) i daktyle (D) wyprodukowane przez trzech producentów oraz pieczywo pszenne (WB), pszenne razowe (WMB), żytnie (RB) i pszenne z dodatkiem nasion słonecznika (SB).

Przygotowanie próbek do analizy chromatograficznej

Próbki do analiz chromatograficznych przygotowano w oparciu o metodę *Murkovic* i *Bornik* (12), stosując ekstrakcję wodną i odbiałczanie za pomocą roztworów *Carreza* I i *Carreza* II. Próbki kawy rozpuszczalnej odważono w ilości 0,5 g, kawy mielonej i owoców suszonych w ilości 1 g, a próbki chleba (wysuszonej i rozdrobnionej skórki o grubości ok. 3 mm) w ilości 3 g. Przygotowane roztwory sączono przez filtr strzykawkowy i poddano analizie chromatograficznej. Każdą próbkę analizowano w dwóch powtórzeniach.

Analiza chromatograficzna

Zawartość HMF w przygotowanych próbkach oznaczono metodą chromatograficzną z wykorzystaniem wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC). Analizy wykonano za pomocą chromatografu firmy Knauer z detektorem UV-VIS, a parametry rozdziału chromatograficznego były następujące:

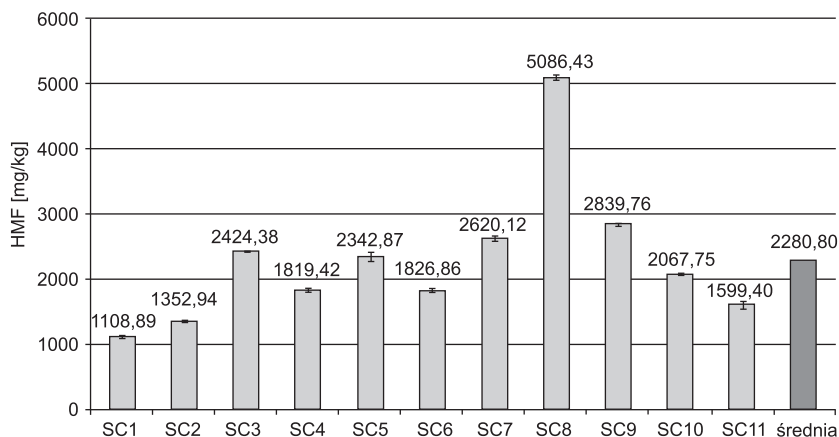
- eluent: woda/metanol (9:1 v/v),
- przepływ $1\text{ cm}^3/\text{min}$,
- kolumna: RP-18,
- pętla $20\ \mu\text{l}$,
- długość fali: 285nm.

Otrzymane chromatogramy analizowano za pomocą programu Eurochrom.

W celu ustalenia dziennego spożycia HMF z analizowanych produktów przeprowadzono ankietę, w której udział wzięło 58 ochotników.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Zawartość HMF w kawach rozpuszczalnych waha się w granicach od 1108 do 5086 mg/kg. Wśród badanych kaw najwyższą zawartość HMF oznaczono w SC8. Stosując ekstrakcję wodą otrzymano wartość 5086,43 mg/kg. Najniższą zaś zawartość HMF stwierdzono w SC1 – 1108,89 mg/kg (ryc. 1). Średni poziom HMF wśród badanych kaw rozpuszczalnych to 2280,8 mg/kg. Przeprowadzone badania są zgodne z wynikami uzyskanymi przez innych Autorów, którzy oznaczyli najwyższą zawartość HMF w kawach rozpuszczalnych – średnio 2480 mg/kg (1).



Ryc. 1. Zawartość HMF w kawach rozpuszczalnych.

Fig. 1. HMF concentration in instant coffee samples.

Oznaczona zawartość HMF w kawach mielonych kształtuje się na poziomie od 43 do 223 mg/kg, średnio 97,84 mg/kg. Najwięcej HMF oznaczono w GC3, a najmniej w GC4 (ryc. 2).

Średni poziom HMF w kawach mielonych był ponad dwudziestokrotnie niższy niż w kawach rozpuszczalnych. W każdej z kaw rozpuszczalnych ilość HMF była większa niż 1000 mg/kg, zaś w kawach mielonych maksymalna ilość wyniosła 223 mg/kg. W badaniach przeprowadzonych w Hiszpanii poddano analizie kawy mielone i torrefacto (kawy prażone z dodatkiem cukru). Zawierały one kolejno 110 mg/kg i 1734 mg/kg HMF. Wysoka zawartość cukrów w kawach torrefacto miała wpływ na wyższą koncentrację HMF (1). Wyższą zawartość HMF w kawach rozpuszczalnych niż mielonych przedstawiają również wyniki norweskich badań. Dla kaw rozpuszczalnych zawartość HMF wahała się w granicach 97–3060 mg/kg, a dla mielonych 262–547 mg/kg (2). *Murkovic* i *Pichler* w kawie mielonej oznaczyli zawartość HMF

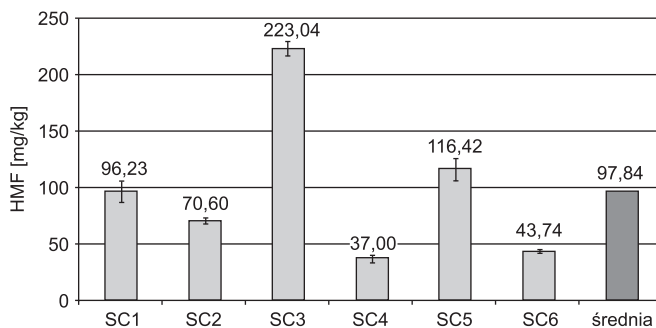
w przedziale 300–1900 mg/kg (13). Stwierdzili, że tak wysoka zawartość HMF w kawach związana jest z wysoką temperaturą prażenia (300°C), a także z wysoką zawartością kwasów i sacharozy (12). Według innych autorów zawartość HMF w kawach rozpuszczalnych może osiągnąć 6180 mg/kg (14).

Wyższa zawartość HMF w kawach rozpuszczalnych może być spowodowana sposobem produkcji tych kaw. Są one dwukrotnie poddawane działaniu wysokiej temperatury. Kawa rozpuszczalna jest ekstraktem naturalnej kawy mielonej. Pierwszym etapem jest przygotowanie mocnego naparu kawy mielonej, a następnie poddanie go aglomeracji. Metoda ta polega na suszeniu naparu w strumieniu gorącego powietrza co prowadzi do wytworzenia granulatu (1, 12).

W czasie wypieku chleba tylko powierzchnia bochenka wystawiona jest na działanie wysokiej temperatury. Dlatego reakcje Maillarda zachodzą intensywnie w skórce, a nie w miększysu chleba. W niniejszych badaniach poddano analizie skórki czterech rodzajów pieczywa. Największe stężenie HMF (powyżej 40 mg/kg) stwierdzono w razowym chlebie żytnim (RB) i było ono dwukrotnie wyższe niż w razowym chlebie pszennym (WMB) (ryc. 3). Najniższe stężenie HMF stwierdzono w skórce chleba pszenne (WB) (poniżej 5 mg/kg) i słonecznikowego (SB) – poniżej 10 mg/kg. Uzyskane wyniki były zaskakująco wysokie w porównaniu z uzyskanymi przez *Huosity'a* i współpr. wg których stężenie HMF w produktach piekarskich, jak i w płatkach śniadaniowych mieści się w granicach od 0,06 do 0,65 mg/kg (2).

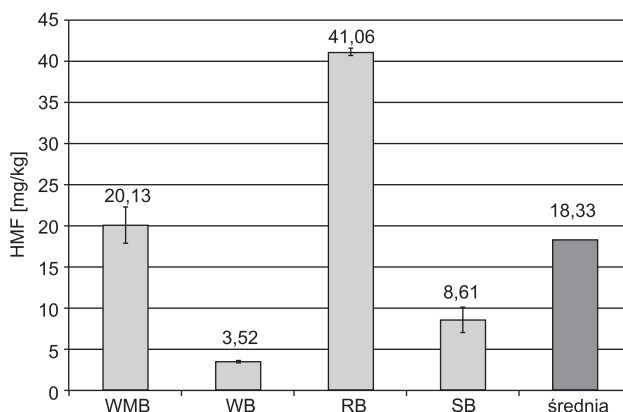
Jednak wyniki otrzymane przez innych autorów sugerują wyższe wartości, np. 151,2 mg/kg w pieczywie pszennym fermentowanym (15), co jest uzasadnione ze względu na zwiększenie się ilości cukrów prostych w środowisku. Nie bez znaczenia jest także czas wypieku, który związany jest z gramaturą pieczywa (15).

Analizie poddano różne rodzaje rodzynek, moreli, śliwek oraz daktyli.



Ryc. 2. Zawartość HMF w kawach mielonych.

Fig. 2. HMF concentration in ground coffee samples.



Ryc. 3. Zawartość HMF w chlebie (skórka).

Fig. 3. HMF concentration in bread crust.

Rodzynki i morele R2 i A2 miały najwyższą zawartość HMF, odpowiednio 74,30 i 28,42 mg/kg. Porównując rodzaje rodzynek, sułtanki miały niższy poziom HMF (7,63 i 17,43 mg/kg), niż pozostałe (28,49 i 74,30 mg/kg) (ryc. 4).

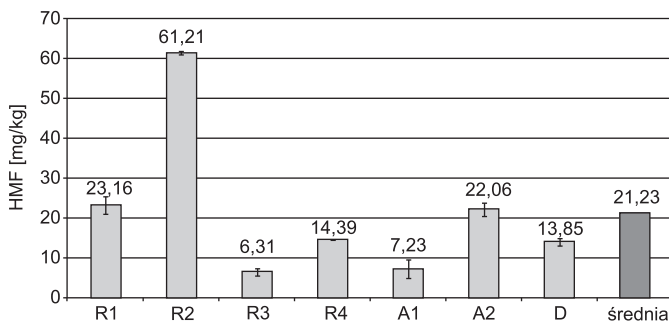
W suszonych śliwkach średnia zawartość HMF to 390 mg/kg, podczas gdy dla pozostałych owoców wynosi 26 mg/kg, poziom HMF wahał się w granicach od 105 do 843 mg/kg. Na

wykresach porównano zawartość HMF w produkcji. Śliwki DP3 miały najwyższą, a DP1 najniższą zawartość HMF (ryc. 5). W badaniach nad zawartością HMF w suszonych owocach *Murkovic* i *Pichler* stwierdzili najwyższą zawartość tego związku w suszonych śliwkach 1600–2200 mg/kg (13). Dużo niższą zawartość tego związku odnotowali w morelach, brzoskwiach czy figach. Różny poziom HMF w suszonych owocach wynika z różnic w składzie, a także innych parametrów suszenia.

W celu określenia wielkości spożycia tych produktów przeprowadzono ankietę. Badanie przeprowadzono wśród 58 ankietowanych w wieku 18–58 lat.

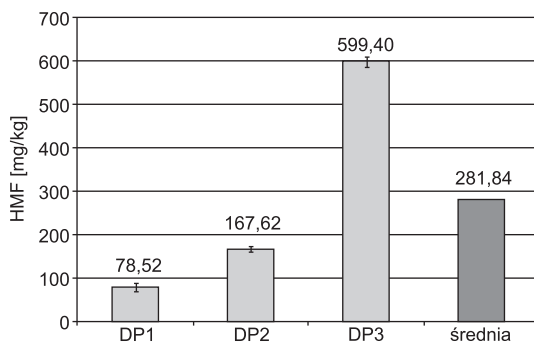
Prawie 70% badanych wypija przynajmniej jedną filiżankę kawy dziennie, a 50% przyrządza ją z dwóch łyżeczek. Oznacza to, iż przeciętna ilość spożywanej kawy wynosi 12,75 g na dzień. Na podstawie ankiety i analizy zawartości HMF w kawach ustalono, że średnio napój ten dostarcza 8,28 mg HMF dziennie. Jego spożycie zależy od rodzaju spożywanej kawy. Kawę mieloną wybrało 55% ankietowanych i zawiera ona ok. 23 razy mniej HMF niż kawa rozpuszczalna. Najpopularniejszą z nich była GC2, zaś wśród kaw rozpuszczalnych najczęściej wybieraną była SC1, która wśród kaw rozpuszczalnych ma najniższą zawartość HMF. Wielkość spożycia, jak i zawartość HMF czyni kawę jednym z głównych źródeł tego związku w naszej diecie.

Codziennie chleb spożywa 74% ankietowanych, najchętniej kupowany jest chleb razowy, kolejno chleb na zakwasie, zaś podobną popularnością cieszy się chleb: pszenny, żytni i pszenny z dodatkiem nasion słonecznika. Prawie połowa badanych spożywa chleb dwa razy dziennie, a 90% je przynajmniej 2 kromki do posiłku. Średnie spożycie



Ryc. 4. Zawartość HMF w owocach suszonych.

Fig. 4. HMF concentration in dried fruits.



Ryc. 5. Zawartość HMF w suszonych śliwkach.

Fig. 5. HMF concentration in dried plums.

chleba wśród badanej grupy wyniosło 4 kromki dziennie, co daje 160 g chleba/dzień. Chleb nie jest bogaty w HMF, jednak jest on najczęściej spożywanym produktem wśród badanych, dlatego też jest on ważnym źródłem HMF w naszej diecie. Wśród ankietowanych przeciętne dziennie spożycie tego związku z chleba wynosi 0,58 mg/dzień.

Kolejnym produktem, którego dotyczyła ankieta, były owoce suszone. Ponad połowa z badanych spożywa je okazjonalnie. Jedynie dla 5% są one składnikiem codziennej diety. Najpopularniejszymi owocami suszonymi są rodzynki i morele spożywane jako przekąska lub dodatek do płatków śniadaniowych. Owoce suszone zawierają mniej niż 100 mg/kg HMF, jedynie w śliwkach wartość ta waha się w granicach 100–850 mg/kg. Średnie dzienne spożycie HMF u osób spożywających ten produkt codziennie (jedynie 5% badanych) wynosi 2,89 mg/dzień.

Podsumowując ankietę można stwierdzić, że ponad połowa z badanych spożywa chleb i kawę codziennie, owoce suszone zaś są produktem spożywanym rzadko i w niewielkich ilościach. Kawa jest najbogatsza w HMF i codziennie spożywana jest głównym źródłem HMF w naszej diecie. Drugim głównym jego źródłem jest chleb, ze względu na ich częste spożycie.

WNIOSKI

1. Najbogatsza w HMF jest kawa. Ponieważ jest to produkt często spożywany (średnio 1,5 filiżanki dziennie), stanowi on główne źródło tego związku w diecie. Spożycie HMF z kawą zależy od jej rodzaju. Kawy mielone zawierają ok. dwudziestokrotnie mniej tego związku niż rozpuszczalne, jego zawartość waha się w szerokich granicach: 43–5086 mg/kg.

2. Pomimo niskiej zawartości HMF, ważnym jego źródłem jest chleb. Spowodowane jest to jego częstym spożyciem. Stwierdzono, że ponad 90% ankietowanych spożywa chleb codziennie.

3. Bardzo wysoką zawartość HMF oznaczono w suszonych śliwkach: 105–843 mg/kg. Pozostałe owoce suszone zawierają go znacznie mniej (średnio 26 mg/kg). Owoce suszone są jednak rzadko spożywane, jedynie 5% ankietowanych spożywa je codziennie, dlatego nie są istotnym źródłem HMF w diecie.

S. Kowalski, M. Łukasiewicz

OCCURRENCE OF 5-HYDROXYMETHYL-2-FURFURAL (HMF) IN SELECTED FOOD PRODUCTS

Summary

Content of 5-hydroxymethyl-2-furfural (HMF) was analysed in eleven samples of instant and six samples of ground coffee, four types of bread as well as ten samples of dried fruit (raisins, apricots, dates and plums). The highest HMF concentration (average value 2280 mg/kg) was found in instant coffee samples after water extraction and in dried plum (average HMF concentration almost 400 mg/kg of dry matter). The results are discussed with reference to the daily intake estimated using an anonymous questionnaire. The presented results are the first of their kind data on HMF content in food products in Poland.

PIŚMIENICTWO

1. *Arribas-Lorenzo G., Morales F.J.*: Estimation of dietary intake of 5-hydroxymethylfurfural and related substances from coffee to Spanish population. *Food and Chemical Toxicology*, 2010; 48(2): 644-649. – 2. *Husoy T., Haugen M., Murkovic M., Jobstl D., Stolen L.H., Bjellaas T., Ronningborg C., Glatt H., Alexander J.*: Dietary exposure to 5-hydroxymethylfurfural from Norwegian food and correlations with urine metabolites of short-term exposure. *Food and Chemical Toxicology*, 2008; 46(12): 3697-3702. – 3. *Capuano E., Ferrigno A., Acampa I., Serpen A., Açar Ö.Ç., Gökmen V., Fogliano V.*: Effect of flour type on Maillard reaction and acrylamide formation during toasting of bread crisp model systems and mitigation strategies. *Food Research International*, 2009; 42(9): 1295-1302. – 4. *Gentry T.S., Roberts J.S.*: Formation kinetics and application of 5-hydroxymethylfurfural as a time-temperature indicator of lethality for continuous pasteurization of apple cider. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2004; 5(3): 327-333. – 5. *Fallico B., Zappalà M., Arena E., Verzera A.*: Effects of conditioning on HMF content in unifloral honeys. *Food Chemistry*, 2004; 85(2): 305-313. – 6. *Wieslander A.P., Andrén A., Martinson E., Kjellstrand P., Hultqvist M.*: Toxicity of effluent peritoneal dialysis fluid. *Adv Perit Dial.*, 1993; 9: 31-35. – 7. *Nilsson-Thorell C., Muscalu N., Andren A., Kjellstrand P., Wieslander A.*: Heat sterilization of fluids for peritoneal dialysis gives rise to aldehydes. *Perit Dial Int.* 1993; 13(3): 208-213. – 8. *Ulbricht R.J., Northup S.J., Thomas J.A.*: A review of 5-hydroxymethylfurfural (HMF) in parenteral solutions. *Fundamental and Applied Toxicology*, 1984; 4(5): 843-853. – 9. *Lee Y.C., Shlyankevich M., Jeong H.K., Douglas J.S., Surh Y.J.*: Bioactivation of 5-Hydroxymethyl-2-Furaldehyde to an Electrophilic and Mutagenic Allylic Sulfuric Acid Ester. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 1995; 209(3): 996-1002. – 10. *Ding X., Wang M-Y., Yao Y-X., Li G-Y., Cai B-C.*: Protective effect of 5-hydroxymethylfurfural derived from processed *Fructus Corni* on human hepatocyte LO2 injured by hydrogen peroxide and its mechanism. *Journal of Ethnopharmacology*, 2010; 128(2): 373-376.
11. *Sriwilajaroen N., Kadowaki A., Onishi Y., Gato N., Ujike M., Odagiri T., Tashiro M., Suzuki Y.*: Mumeformal and related HMF derivatives from Japanese apricot fruit juice concentrate show multiple inhibitory effects on pandemic influenza A (H1N1) virus. *Food Chemistry*, 2011; 127(1): 1-9. – 12. *Murkovic M., Pichler N.*: Analysis of 5-hydroxymethylfurfural in coffee, dried fruits and urine. *Mol. Nutr. Food Res*, 2006; 50(9): 842-846. – 13. *Murkovic M., Bornik M-A.*: Formation of 5-hydroxymethyl-2-furfural (HMF) and 5-hydroxymethyl-2-furoic acid during roasting of coffee. *Mol. Nutr. Food Res.*, 2007; 51(4): 390-394. – 14. *del Campo G., Berregi I., Caracena R., Zuriarrain J.*: Quantitative determination of caffeine, formic acid, trigonelline and 5-(hydroxymethyl)furfural in soluble coffees by ¹H NMR spectrometry. *Talanta*, 2010; 81(1-2): 367-371. – 15. *Ramirez-Jimenez A., Guerra-Hernandez E., Garcia-Villanova B.*: Browning Indicators in Bread. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2000; 48(9): 4176-4181.

Adres: 30-149 Kraków, ul. Balicka 122.