

ZWIĄZKI GENOTOKSYCZNE WYSTĘPUJĄCE W ŻYWNOŚCI

Izabela Blejwas

Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego im. prof. Wacława Dąbrowskiego,
Zakład Koncentratów Spożywczych i Produktów Skrobiowych,
ul. Starołęcka 40, 61-361 Poznań
izabela.blejwas@ibprs.pl

Streszczenie

Coraz częściej można się spotkać z żywnością wygodną, o długim okresie przydatności do spożycia, atrakcyjną sensorycznie. Te cechy żywności można zapewnić poprzez zastosowanie dodatków różnych substancji, niekoniecznie korzystnych dla zdrowia. Negatywne działanie mogą wykazywać także substancje naturalnie występujące w żywności. Do naturalnych i syntetycznych substancji genotoksycznych najczęściej występujących w żywności należą akrylamid, związki diazotowe, heterocykliczne aminy aromatyczne, wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne, syntetyczne barwniki spożywcze, furan i jego pochodne, pencykuron oraz alkenylobenzeny. Zastosowanie takich metod badawczych, jak test kometowy, test mikrojądrowy lub test AMESA pozwala na skuteczne oznaczenie wyżej wymienionych szkodliwych związków w produktach spożywczych.

Słowa kluczowe: genotoksyczność, DNA, żywność, analiza żywności, badanie genotoksyczności

GENOTOXIC COMPOUNDS FOUND IN FOOD

Summary

More and more often you can find comfortable, long-life, sensory-attractive food. These food characteristics can be provided by the use of various substances that are not necessarily beneficial to health. Substances that naturally occur in food may also have a negative effect. The most common natural and synthetic genotoxic substances in food include acrylamide, diazot compounds, heterocyclic aromatic amines, polycyclic aromatic hydrocarbons, synthetic food colors, furan and its derivatives, pencycuron and alkenylbenzenes. The use of such research methods as the comet test, micronucleus test or AMESA test allows the effective determination of the abovementioned harmful compounds in food products.

Keywords: genotoxicity, DNA, food, food analysis, genotoxicity test

WSTĘP

Stosowanie nieodpowiedniej diety stwarza ryzyko powstawania chorób, w tym wielu odmian nowotworów [Giovannucci 1993]. Produkty spożywcze mogą zawierać związki potencjalnie genotoksyczne. Genotoksycznością nazywamy bezpośrednią reakcję pomiędzy związkami chemicznymi z kwasem deoksyrybonukleinowym (DNA). Skutkuje ona uszkodzeniami genetycznymi oraz tworzeniem adduktów DNA [Mielżyńska 2009]. Genotoksyczne związki są dodawane do produktów spożywczych w celu poprawienia ich smaku, zapachu oraz wyglądu, a także występują naturalnie w żywności. Większość mutagenów powstaje w wyniku obróbki termicznej żywności. Jednakże istnieją takie genotoksyczne związki, które dopiero po aktywacji metabolicznej ujawniają swój mutageny i kancerogeny charakter. Enzymy endogenne kierują detoksykacją organizmu, pozbywając się niekorzystnych związków z komórek. Kiedy jednak elektrofilowe pochodne związków mutagennych zwiążą się z DNA, skutkują możliwością błędnego kodowania kwasu deoksyrybonukleinowego. Przyczynia się to do mutacji. Proces ten może zostać zniwelowany przez enzymy reperujące, w przeciwnym wypadku powstaje delecja, insercja, mutacja punktowa czy anomalny wzrost chromosomów, prowadząc do tworzenia raka [Gunter i in. 2005, Harris 1989]. Metody badania genotoksyczności, takie jak test kometowy, test mikrojądrowy i test AMESA pozwalają na szybkie wykrycie genotoksycznych związków. Umożliwia to eliminację szkodliwych produktów spożywczych z diety.

Metody badania genotoksyczności

Rozwój badań nad genami miał miejsce w drugiej połowie XX wieku. Wtedy to zaczęły powstawać nowe metody wykrywania genotoksycznych związków. Poniżej zostały przedstawione trzy najbardziej znane testy wykorzystywane podczas badań nad zdolnością do uszkodzeń DNA.

Test kometowy (ang. CometAssay), czyli elektroforeza pojedynczych jąder komórkowych w żelu agarozowym jest nieskomplikowaną i czułą techniką służącą do wykrywania uszkodzeń DNA na poziomie pojedynczej komórki eukariotycznej. Został on opracowany przez Östlinga i Johanssona [1984]. W 1988 roku Singh zmodyfikował test SCGE. Technika ta pozwala na standardową ocenę uszkodzeń / napraw DNA, badań biomonitoringu i genotoksyczności. Test kometowy polega na enkapsulacji komórek w zawieszynie agarozowej o niskiej temperaturze topnienia, lizie komórek w warunkach obojętnych lub zasadowych ($\text{pH} > 13$) i ich elektroforezie. Termin „komet” odnosi się do wzorca migracji DNA przez żel do elektroforezy, który często przypomina kometę [Tice

2000]. Metoda ta mierzy pęknięcia nici DNA w komórkach eukariotycznych. Komórki unieruchamiane w agarozie na szkiełku mikroskopowym są lizowane za pomocą detergenta i soli. W ten sposób powstają nukleoidy zawierające superskręcone pętle DNA połączone z matrycą jądrową. Elektroforeza przy wysokim pH tworzy struktury, które, przypominają wyglądem komety. Intensywność ogona komety w stosunku do głowy odzwierciedla liczbę pęknięć DNA. Następnym etapem jest analiza wizualna z barwieniem DNA i obliczeniem fluorescencji w celu określenia stopnia uszkodzenia DNA. Można to zrobić przez ręczne ocenianie lub automatycznie używając oprogramowania do obrazowania [Collins 2004, Nandhakumar i in. 2011].

Następną metodą wykrywania substancji genotoksycznych jest test mikrojądrowy. Przeprowadzany jest w celu wykrycia uszkodzeń lub utraty chromosomów pod wpływem różnych czynników. Został on opracowany niezależnie przez Heddle'a w 1973 roku, oraz dwa lata później, przez Schmida [Hayashi 2016]. Mikrojądra mogą być łatwo identyfikowane we wszystkich komórkach posiadających jądro. Jest to jeden z najbardziej znanych testów cytogenetycznych. Erytrocyty ssaków nie posiadają jąder, dlatego w ich przypadku test jest przeprowadzany na leukocytach. Mikrojądra są to chromatynowe struktury zawieszone wewnątrz cytoplazmy. Powstają w dzielących się komórkach zawierających chromosomy nie mogące przemieszczać się do biegunów wrzeczona w czasie mitozy lub chromosomy bez centomerów. Następnie w tak zwanej telofazie tworzą się formy jądrowe. Ulegają one dekondensacji. W tym etapie posiadają morfologię jądra interfazowego [Fenech 2000]. Ogólnie rzecz ujmując, powstanie mikrojąder powiązać można z chromosomowymi aberracjami liczbowymi (tracony jest jeden, kilka bądź fragment chromosomów z jądra komórkowego). Te utracone struktury tworzą mikrojądra [Błaszczuk i Mielżyńska-Švach 2012]. Cała procedura testu może być przeprowadzona na różne sposoby. Technika opracowana przez Burzan i współautorów [2007] polega na pobraniu badanego materiału (krwi), z której wykonuje się rozmaz. Tak otrzymany preparat utrzuca się w metanolu, barwi za pomocą roztworu Giemzy, opłukuje w buforze fosforanowym i analizuje pod mikroskopem [Brzuzan i in. 2007].

Test AMESA jest to bakteriologiczna metoda pozwalająca na wykrycie uszkodzeń DNA przez genotoksyczne związki. Pozwala ona na oznaczanie siły mutagenu. W teście stosuje się auksotroficzne szczepy *Salmonella typhimurium* posiadające mutacje punktowe, np. w operonie histydyny, co blokuje syntezę tego niezbędnego do życia bakterii, aminokwasu. Mutacja powoduje uniemożliwienie rozwoju bakterii w środowisku, gdzie brakuje egzogenego źródła tego aminokwasu. Stosowane szczepy nazywa się histydino-zależnymi.

Mutanty posiadają mutację rfa, która zwiększa przepuszczalność błony lipopolisacharydowej, co ułatwia genotoksynom penetrację do środka komórki bakteryjnej [Nałęcz-Jawecki i in. 2012]. Kolonie bakterii potomnych poddaje się działaniu związków mutagennych o różnym nasileniu. Kolonie pod wpływem działania mutagenu są zdolne do wzrostu na podłożach niezawierających egzogenego źródła histydyny. Wzrost kolonii wynika z wystąpienia w komórkach mutacji powrotnej (indukowanej badanym mutagenem), która przywraca komórce zdolność do syntezy histydyny. Uzyskany wzrost kolonii jest podstawą wnioskowania o sile mutagenu [Brzuzan i in. 2007].

Związki i grupy związków o charakterze genotoksycznym

Tabela 1. Podział związków genotoksycznych na pierwotne i wtórne
Division of genotoxic compounds into primary and secondary

Związki genotoksyczne	
Pierwotne	Wtórne (powstające w wyniku obróbki kulinarnej)
Tyramina	Akrylamid
Związki N-nitrozowe	Furan
Alkenylobenzeny	Nitrofuran
Pencykuron	WWA
Barwniki spożywcze	

Jednym z najbardziej znanych związków jest 2-propenoamid, zwany akrylamidem, powstający w żywności która podlega obróbce cieplnej. Jest to substancja powszechnie występująca w niewielkich ilościach w żywności. Jego stężenie wzrasta w wyniku intensywnej obróbki termicznej, której towarzyszy reakcja Maillarda zachodząca pomiędzy aminokwasami a cukrami redukującymi [Maillard 1912]. W ten sposób utworzone związki wpływają na smak, aromat i wygląd końcowego produktu. Akrylamid powstaje w wyniku interakcji wolnej asparaginy z cukrami, przede wszystkim z glukozą i fruktozą. Czynniki, które sprzyjają powstawaniu tego związku, to: niska wilgotność produktu, wysoka temperatura (>120 °C) oraz nieaktywna matryca (np. skrobia) [Mottram 2002, Stadler 2004]. W 2002 roku zostały opublikowane przez Szwedzką Narodową Agencję ds. Żywności dane dotyczące zawartości akrylamidu w żywności. Stwierdzono, że najwyższe stężenia tego związku osiągają przetworzone produkty ziemniaczane i zbożowe. Związek ten został uznany przez Międzynarodową Agencję Badań nad Rakiem za prawdopodobnie rakotwórczy dla

ludzi. 3 maja 2007 r. Komisja Unii Europejskiej wydała zalecenie Nr 2007/331/WE w sprawie monitorowania poziomów akryloamidu w żywności [Mojska i in. 2011]. U doświadczalnych zwierząt stwierdzono działanie kancerogenne i genotoksyczne akrylamidu [Bull i in. 1984, Friedman i in. 1995]. Przeprowadzone badania *in vivo* przez Dobrovolsky i współautorów [2016] potwierdziły genotoksyczność akrylamidu. Związek ten podawano szczurom Fisher 344 przez zgłębnik. Klastogenność zmierzono poprzez ocenę erytrocytów mikrojądrowych, uszkodzenia DNA w wątrobie, szpiku kostnym i nerkach za pomocą testu kometowego, a mutację genu za pomocą czerwonych komórek krwi i retikulocytów [Dobrovolsky 2016]. W 2019 roku przeprowadzano badania, podczas których ciężarne myszy otrzymywały akrylamid przez zgłębnik w dawkach 10 i 50 mg/kg/dzień. Wyniki pokazały, że karmienie tym związkiem chemicznym istotnie zmniejszało liczbę żywotnych zarodków i zwiększało liczbę resorbowanych zarodków [Yoa i in. 2019]. Podczas badań metodą chromatografii gazowej sprzężonej z tandemową spektrometrią mas (GC-MS/MS) stwierdzono, że najwyższe stężenie tego genotoksycznego związku znajduje się w chipsach ziemniaczanych (714 µg/kg), a najniższe w żywności w słoiczkach dla niemowląt (55 µg/kg) oraz w pieczywie pszenno-żytnim (31 µg/kg) [Mojska i in. 2011]. Akrylamid wykryto także w cykorii oraz w karczochach [Zawirska-Wojtasiak i in. 2018].

Następną grupą związków są aminy aromatyczne (ang. heterocyclic aromatic amine, HAA). Jest to grupa związków powstających w wyniku długiej obróbki termicznej żywności bogatej w białko [Dundar i in. 2012, Oz, Kaya 2011]. Do tworzenia tych związków przyczyniają się takie procesy, jak: pieczenie [Chen i in. 2017], grillowanie [Gross i in. 1993], smażenie [Boskovic, Baltic 2017] oraz wędzenie [Vichapong i in. 2017]. Ilość przyjmowanych HAA nie powinna przekraczać 1 µg dziennie [Sinha 1995]. Szacowana dzienna ilość przyjmowania heterocyklicznych amin aromatycznych dla człowieka wynosi 420 ng [Keating, Bogen 2001]. Większość HAA formuje się w złożonych matrycach żywności białkowej, takich jak mięso i ryby poddane obróbce cieplnej [Balogh i in. 2000, Mohammad i in. 2013]. Te związki chemiczne wyizolować można także z palonej kawy, wędzonego sera, kostek rosołowych, napojów alkoholowych oraz mleka matki [Karpavičiūtė i in. 2017, Krach, Sontag 2000, Naccari 2009, Alaejos 2008]. Związki HAA zostały podzielone, jako niebezpieczne anality, na dwie grupy w zależności od ich reakcji tworzenia. Pierwsza z nich „termiczne HAA” jest produkowana w zakresie temperatur od 100°C do 300°C. Druga grupa, znana jako „pirolityczne HAA”, tworzy się przez pirolizę aminokwasów w obróbce termicznej w temperaturze powyżej 300°C. Heterocykliczne aminy aromatyczne można wyekstrahować z próbki na wiele sposobów, takich jak: ekstrakcja ciecz-ciecz (LLE),

ekstrakcja z ciała stałego (SPE), mikroekstrakcja do fazy stacjonarnej (SPME), ekstrakcja płynem nadkrytycznym (SFE), ekstrakcja cieczowa pod ciśnieniem (PLE) oraz ekstrakcja wspomagana mikrofalami (MAE). Metodami analitycznymi do oznaczania HAA w próbce są: chromatografia cieczowa z detektorem mas (LC-MS), chromatografia gazowa z detektorem mas (GC-MS), chromatografia gazowa z detektorem płomieniowo-jonizacyjnym (FID), elektroforeza kapilarna (CZE), kapilarna chromatografia cieczowa z matrycą diodową i detektorem spektrometrii mas (CLC-DAD/MS), ultrasprawa chromatografia cieczowa (UPLC) i micelarna elektrokinetyczna chromatografia (MEC). Spożywanie śladowych ilości HAA z gotowaną żywnością może w dłuższej perspektywie powodować poważne choroby narządów organizmu i w końcu doprowadzić do wystąpienia chorób nowotworowych [Fateme i in. 2019].

Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA lub ang. *polycyclicaromatichydrocarbons* (PAH) lub *polynucleararomatics* (PNAs) lub *polycyclicorganicmatter* (POM) są to policykliczne węglowodory, które zawierają od dwóch do kilkudziesięciu skondensowanych pierścieni aromatycznych bez podstawników. Są one stabilne chemicznie, wykazują własności hydrofobowe. Występują powszechnie w środowisku. Źródłami rozpowszechniania WWA są: zakłady przemysłowe, pożary lasów, erupcje wulkanów, katastrofy ekologiczne, wypalanie ściernisk oraz nawożenie pól uprawnych osadami ściekowymi. Zanieczyszczenie surowców naturalnych wykorzystywanych do produkcji żywności wpływa na jakość produktów spożywczych. WWA są zdolne do adsorpcji na powierzchni pyłów, co sprzyja rozprzestrzenianiu się tych związków w środowisku. Znany jest podział tych związków na lekkie (zawierają od 2 do 4 połączonych pierścieni aromatycznych) oraz ciężkie (zawierające minimum 5 pierścieni aromatycznych) [Kubiak 2013]. Najbardziej podatna za skażenie wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne jest żywność pochodzenia roślinnego oraz zwierzęcego bogata w tłuszcze. Takie procesy technologiczne jak bielenie czy rafinacja zmniejszają poziom skażenia WWA. Tłoczone oleje zawierają więcej tych związków niż oleje poddane procesowi rafinacji [Lage, Cortizo 2005]. Podczas badań przeprowadzanych w 2006 roku stwierdzono, że oliwa z wyłoków oliwnych typu Pomace może stanowić istotne źródło WWA. Spośród olejów tłoczonych, rafinowanych oraz oliwy z oliwek najwięcej benzo(a)pirenu należącego do wielopierścieniowych węglowodórów aromatycznych stwierdzono w oliwie z wyłoków oliwnych typu Pomace (61 µg/kg). Stężenie to 30-krotnie przekracza dopuszczalne limity. Taka duża zawartość jest wynikiem procesu polegającego na redukowaniu zawartości wody w miazdze przed procesem ekstrakcji oleju [Ciecierska, Obiedziński 2006]. Podczas badania

tłuszczu surowego oraz smażonego (masło extra, smalec oraz mieszanina masła z margaryną stwierdzono, że smalec zawiera najmniej związków z grupy WWA [Jesionek i in. 2007]. Na wzrost zawartości poliarenow w rybach i ich przetworach wpływają poziom zanieczyszczenia zbiorników wodnych oraz rodzaj przeprowadzanych procesów przetwórczych, np. wędzenie [Ciemniak, Witczak 2010]. W przypadku wędzonego mięsa, stężenie wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych zależy od wielu czynników, takich jak stopień obsuszenia wyrobów, temperatury spalania oraz utleniania, gatunku i wilgotności drewna, sposobu przepływu dymu przez komorę wędzarniczą oraz czasu i sposobu wędzenia [Wretling i in. 2010]. Związki te można spotkać także w wyrobach zbożowych, kawach i herbatach, w przypadku których stopień ich zanieczyszczenia jest zależny od takich procesów, jak pieczenie i prażenie. Według Rozporządzenia Komisji UE nr 835/2011, dopuszczalne poziomy benzo(a)pirenu w poszczególnych produktach spożywczych wynoszą: oleje i tłuszcze: 2 µg/kg, produkty dla niemowląt i małych dzieci: 1 µg/kg, mięso, ryby i ich produkty: 2µg/kg, mięso ryb wędzonych: 2 µg/kg, skorupiaki, głowonogi niewędzone: 5 µg/kg oraz małże: 6µg/kg [Rozporządzenie Komisji UE 2011].

Spośród substancji genotoksycznych należy wyróżnić barwniki spożywcze. Według raportów RASFF z lat 2005–2010, syntetyczne barwniki, które zostały wycofane z użycia ze względu na szkodliwe działanie dla organizmów żywych, są czasami dodawane do produktów spożywczych w celu poprawienia ich kolorystyki. Wśród nich należy wymienić genotoksyczne dla zwierząt doświadczalnych Sudan 1 i Czerwień Para oraz potencjalnie genotoksyczne Rodamina B, Sudan II, III i IV oraz barwnik Orange [Kozłowska i in. 2012, Johnson i in. 2010]. Z tego względu wymienione barwniki nie znajdują się na liście dozwolonych dodatków w Unii Europejskiej [Rozporządzenie Ministra, 2010]. Na terenie UE obecnie są dozwolone 42 barwniki (oznaczone symbolami E100-E180).

Następnym wyróżnionym związkiem genotoksycznym jest furan - eter aromatyczny często wykorzystywany w przemyśle chemicznym. W żywności powstaje na skutek termicznego rozkładu glukozy, fruktozy i laktozy [Maga 1979], przemian aminokwasów (alaniny, cysteiny), mieszanin aminokwasów i węglowodanów, witamin (kwasu askorbinowego, dehydroaskorbinowego, tiaminy), polinienasyconych kwasów tłuszczowych (PUFA) i karotenoidów [Locas, Yaylayan 2004]. Najczęściej jest on spotykany w żywności zamykanej hermetycznie. Ze względu na bezpieczeństwo mikrobiologiczne, nie jest wskazane odszczelnianie opakowań w celu zmniejszenia stężenia furanu w produktach spożywczych. Jedynym sposobem na zmniejszenie jego zawartości jest dodatek substancji takich jak przeciwutleniacze (np. tokoferol) czy reduktory (siarczyny, SO₂), opóźnianie przekształcania

się kwasu askorbinowego w furfural-autooksydacji PUFA oraz blokowanie reakcji Maillarda [Kowalski i in. 2008]. Największe stężenia furanu oznaczono w kawie, gotowych posiłkach dla niemowląt i małych dzieci oraz sosach i zupach. Liczne badania przeprowadzone na zwierzętach doświadczalnych potwierdzają genotoksyczność furanu [Kozłowska i in. 2011]. Prawdopodobnie za toksyczny charakter furanu odpowiada jego bardzo reaktywny, metabolit α,β -nienasycony dialdehyd: Z-but-2-en-1,4-dial, który wiąże się z proteinami i z DNA [Kedderis, Held 1996].

Następnie wśród związków genotoksycznych należy wymienić nitrofurany. Są to związki wykorzystywane w medycynie oraz w przemyśle spożywczym. Ponieważ są związkami bakteriobójczymi, stosuje się je jako konserwanty żywności. Dowiedziono, że nitrofurany charakteryzuje genotoksyczność. Mechanizm działania biologicznego związany jest z redukcją grupy 5-nitro. W pierwszym etapie powstaje rodnik nitrofuranoanionowy, następnie ulega redukcji do metabolitów nitro furanowych (RNO) i hydroksyloamino furanowych (RNH-OH) które są bardzo reaktywne i mogą kowalencyjnie łączyć się z makromolekułami komórkowymi [Mason, Josephy 1985].

Poniżej przedstawiono krótką charakterystykę tyraminy, 4-(2-aminoetylo)fenolu. Należy ona do biogennych amin, jest to hydroksylowa pochodna fenyloetyloaminy. Występuje powszechnie w żywności pochodzenia roślinnego (m. in. w awokado, bananach, figach, czekoladzie, bobie) oraz zwierzęcego (np. pepperoni, salami, rybach, kawiorze, wątróbce z kurczaka) [Smith 1977, Boulton 1978]. Po traktowaniu azotynem, w warunkach kwasowych, tyramina przekształca się w 3-diazytyraminę (3-DT) [Sander, Burkle 1969, Mirvish 1975]. Związek ten, podawany szczurom w wodnym roztworze 0,1%, w 19 z 28 przypadków wywołał guza jamy ustnej. Chociaż implikacje 3-DT dla ludzi nie są jasne, istnieje ryzyko genotoksycznego działania prekursorów mutagennych, takich jak na przykład: kwas 1-metylo-1,2,3,4-tetrahydro/3-karbolino-3-karboksylowy, indolo-3-acetonitryl, 4-metoksyindolo-3-acetonitryl i 4-metoksyindolo-3-aldehyd [Yuki i in. 1987].

Następnym mutagenem jest związek N-nitrozowy występujący w fasoli Fava, która jest często stosowana w diecie przez kolumbijską populację. Powoduje ona wysokie ryzyko raka żołądka. Po dodatku do tego produktu azotynu w symulowanych warunkach żołądkowych, wytworzono silny mutagen wykrywany za pomocą testu mutacji z zastosowaniem *Salmonella typhimurium* TM677. Jeden gram świeżych nasion fasoli dał 0,35 nmola mutagenu związku N-nitrozowego, w którym ugrupowanie N-nitrozowe jest przyłączone do grupy aktywującej, takiej jak grupa karbonylowa [Ptacek-Llanes, Tannenbaum 1982].

Alkenylobenzeny są grupą związków chemicznych występujących powszechnie

w ziołach. Należą do nich: safrol, metyleugenol i estragol występujące w powszechnie używanych ziołach takich jak estragon (*Artemisia dracunculus*), pietruszka *Petroselinum crispum*), bazylia słodka, (*Ocimum basilicum*), liście laurowe (*Laurus nobilis*), gałka muszkatołowa (*Myristica fragrans*), cynamon (*Cinnamomum glanduliferum*), anyż gwiazdkowaty (*Illicium verum*), słodki koper włoski (*Foeniculum vulgare*) i koper (*Antehum graveolens*) [Rietjens i in. 2005]. Są one wykorzystywane ze względu na właściwości kulinarne i lecznicze [Boonpawa i in. 2017]. Pietruszka jest tradycyjnie stosowana jako środek moczopędny, wiatropędny, przeczyszczający, żołądkowo-toniczny, przeciwzapalny i leczący różne zaburzenia, w tym zaburzenia żołądkowo-jelitowe i nerek. Liście są używane do leczenia skóry i łagodzenia świądu. Olejek eteryczny z pietruszki zawiera alkenylobenzeny myrystycynę i apiol, które są strukturalnie związane z safrolem, metyleugenolem, elemiciną i estragonem. Olejki eteryczne bazylii są bogate w eugenol, metyleugenol, chawicol, metylochawikol i niektóre terpenoidy [Alajlouni i in. 2016]. Ostry aromat liścia laurowego jest przypisywany obecności eugenolu, eugenolu metylowego i elemycyny [Pino i in. 1993]. Koper jest stosowany jako zioło lecznicze do wielu celów, na przykład leczenie kolki żołądkowo-jelitowej. Zawiera alkenylobenzeny takie jak apiol i mirystycynę [Alajlouni i in. 2016]. Z kolei gałka muszkatołowa używana do przyprawiania potraw oraz często obecna w napojach bezalkoholowych zawiera aldehyd trans-cynamonowy, metylougenol, safrol, izo-eugenol, sabinen, α -pinen, β -pinen, elimycynę i mirystycynę [Prinsloo 2018].

Także niektóre substancje wykorzystywane w rolnictwie mają charakter genotoksyczny. Pencykuron jako środek przeciwwgrzybiczy typu fenylo-mocznika, jest stosowany na całym świecie do hamowania wzrostu różnego rodzaju patogenowych grzybów na uprawach. Pozostałości pencykuronu znaleziono w warzywach, glebie i wodzie pitnej. Przeprowadzono badania w celu sprawdzenia, czy kontakt z pencykuronem może indukować uszkodzenia DNA. Genotoksyczne działanie pencykuronu w ilościach 0–100 $\mu\text{g/ml}$ w kulturach *in vitro* ludzkich jednojądrowych białych krwinkach ludzkich hepatocytach (HepG2) wykryto za pomocą testu mikrojądrowego z blokiem cytokinezy oraz elektroforezy pojedynczych jąder komórkowych w żelu agarozowym [Nagy i in. 2019].

PODSUMOWANIE

Substancje genotoksyczne są bardzo rozpowszechnione w żywności. Dzięki naukowemu postępowi rośnie świadomość realnego zagrożenia, jakie jest związane z ich obecnością w produktach spożywczych. Żywność może być potencjalnym źródłem premutagenów i kancerogenów. Połączenie genotoksycznego związku z kwasem deoksyrybonukleinowym

może prowadzić do zmian nowotworowych komórek. Istnieje kilka technik, które pozwalają na identyfikację i oznaczanie związków genotoksycznych, m.in. test kometowy, test mikrojądrowy oraz test AMESA. Postęp nauki pozwala na ograniczanie tych niekorzystnych związków w żywności przez dobór właściwych parametrów procesów technologicznych produkcji żywności, szczególnie obróbki termicznej i przechowywania.

PIŚMIENNICTWO

1. Alajlouni A. M., Al-Malahmeh A. J., Isnaeni F. N., Wesseling S., Vervoort J., Rietjens I. MC. M. (2016). Level of alkenylbenzenes in parsley and dill based teas and associated risk assessment using the margin of exposure approach. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 64, 8640–8646.
2. Balogh Z., Gray J. I., Gomaa E. A., Booren A. M. (2000). Formation and inhibition of heterocyclic aromatic amines in fried ground beef patties. *Food and Chemical Toxicology*, 38 (5), 395-401
3. Błaszczuk E., Mielżyńska-Švach D. (2012). Wykorzystanie komórek nabłonkowych z jamy ustnej w monitoringu biologicznym ludzi. *Enviromental Medicine*, 15(4), 129-138
4. Boonpawa R., Spenkellink A., Punt A., Rietjens I. (2017). In vitro-in silico based analysis of the dose-dependent in vivo estrogenicity of the soy phytoestrogen genistein in humans. *British Journal of Pharmacology*, 17, 2739–2757
5. Boskovic M., Baltic M. (2016). Association between red meat consumption and cancer risk. *Meat Technology*, 57(2), 81–88
6. Brzuzan P., Woźny M., Łuczyński M.K. (2007). Toksykologia Molekularna- przewodnik do ćwiczeń. UWM, Olsztyn
7. Bull R. J., Robinson M., Laurie R. D., Stoner G. D., Greisiger E., Meier J. R., Stober J. (1984). Carcinogenic effects of acrylamide in Sencar and A/J mice. *Cancer Research*, 44(1), 107-111
8. Chen J. He Z., Qin F., Chen, J., Zeng M.(2017).Formation of free and proteinbound heterocyclic amines in roast beef patties assessed by UPLC-MS/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(22),4493–4499
9. Ciecierska M., Obiedziński M. (2006). Zanieczyszczenie olejów roślinnych wielopierścieniowymi węglowodorami aromatycznymi. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość*, 2 (47) Supl., 48-55
10. Ciemniak A., Witczak A. (2010). Zmiany zawartości wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych (WWA) podczas przechowywania konserw ze szprota

- w oleju. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, XLIII (1), 86-92
11. Collins A. R. (2004). The comet assay for DNA damage and repair: principles, applications, and limitations. *Molecular Biotechnology*, 26 (3), 249–61
 12. Dobrovolskya N., Pacheco-Martinez M. M., McDaniel L. P., Mason G. Pearce, Wei D. (2016). In vivo genotoxicity assessment of acrylamide and glycidylmethacrylate. *Food and Chemical Toxicology*, 87, 120-127
 13. Dunder A., Sariçoban C., Yılmaz M. T. (2012). Response surface optimization of effects of some processing variables on carcinogenic/mutagenic heterocyclic aromatic amine (HAA) content in cooked patties. *Meat Science*, 91(3), 325–333
 14. Boulton A. A., Philips S. R., Rozdilsky B., (1978). Evidence for the presence of m-tyramine, p-tyramine, tryptamine, and phenylethylamine in the rat brain and several areas of the human brain. *Biological Psychiatry*, 13 (1), 51–57
 15. Fatemeh B., Marzieh K., Amin M. K., Abdorreza M. (2019). Heterocyclic aromatic amines in doner kebab: Quantitation using an efficient microextraction technique coupled with reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Food Science and Nutrition*. 8(1): 88–96
 16. Fenech M. (2000). The in vitro micronucleus technique. *Mutation Research*, 455, 81–95
 17. Friedman M. A., Duak L. H., Stedham M. A. (1995). A lifetime oncogenicity study in rats with acrylamide. *Fundamental and applied toxicology*, 27, 95-105
 18. Gross G. A., Turesky R. J., Fay L.B., Stillwell W.G., Skipper P. L., Tannenbaum S. R. (1993). Heterocyclic aromatic amine formation in grilled bacon, beef and fish and in grill scrapings. *Carcinogenesis*, 14(11), 2313–2318
 19. Giovannucci E., Rimm E. B., Colditz G. A., Stampfer M. J. (1993). A prospective study of dietary fat and risk of prostate cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, 86, 1571-1579
 20. Gunter J.M., Probst-Hensch M. P., Cortessi V.K., Kulldorff M., Haile R., Sinha R. (2005). Meat intake, cooking-related mutagens and risk of colorectal adenoma in a sigmoidoscopy-based case-control study. *Carcinogenesis*, 26, 637-2005
 21. Harris C.C. (1989). Interindividual variation among humans in carcinogen metabolism, DNA adduct formation and DNA repair. *Carcinogenesis*, 10, 1563-1566
 22. Hayashi M. (2016). The micronucleus test—most widely used *in vivo* genotoxicity test. *Genes and Environment*, 38: 18
 23. Jesionek M., Odzimek J., Wlazło A. (2007). Badanie obecności wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w tłuszczach po procesie smażenia. *Proceedings of*

ECOpole, 1 (1/2), 147-151

24. Johnson G. E., Quick E.L., Parry E. M., Parry J. M. (2010). Metabolic influences for mutation induction curves after exposure to Sudan-1 and Para Red. *Mutagenesis*, 25(4), 327-333
25. Karpavičiūtė D., Murkovic M., Vinauskienė R., Venskutonis R. (2017). Determination of non-polar heterocyclic aromatic amines in roasted coffee by SPE-HPLC-FLD. *Chemical Papers*, 71(1), 67–70
26. Keating G. A., Bogen K. T. (2001). Methods for estimating heterocyclic amine concentrations in cooked meats in the US diet. *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, 39(1), 29–43
27. Kedderis G. L., Held S. D. (1996). Prediction of furan pharmacokinetics from hepatocyte studies: comparison of bioactivation and hepatic dosimetry in rats, mice, and humans. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 140, 124–130
28. Kowalski B., Łobacz M., Kowalska D. (2008). Furan w żywności. *Przemysł Spożywczy*, 62(6), 42-45
29. Kozłowska K., Jeruszka-Bielak M., Piwowarczyk L., Brzozowska A. (2012). Niedozwolone stosowanie barwników w żywności na rynku europejskim w latach 2005-2010 na podstawie raportów RASF. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna*, 4, 1157–1165
30. Kozłowska M., Majewska E., Łobacz M. (2011). Kancerogeny chemiczne w żywności część II. *Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego*, 2, 65-71
31. Krach C., Sontag G. (2000). Determination of some heterocyclic aromatic amines in soup cubes by ion-pair chromatography with coulometric electrode array detection. *Analytica Chimica Acta*, 417 (1), 77-83
32. Kubiak M. S. (2013). Wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne (WWA) - ich występowanie w środowisku i w żywności. *Problemy Higieny i Epidemiologii*, 94(1), 31-36
33. LageYusty M. A., CortizoDaviña, J. L. (2005). Supercritical fluid extraction and high-performance liquid chromatography-fluorescence detection method for PAHs investigation in vegetable oils. *Food Control*, 16, 59-64
34. Locas P. C., Yaylayan V. A. (2004). Origin and mechanistic pathways of formation of the parent furan – a food toxicant. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 6830-6836

35. Maga J. A. (1979). Furans in foods. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 11, 355-400
36. Maillard L. C. (1912). Action des acidesaminés sur les sucres; formation desmélanoïdines par voieméthodique. *Comptesrendushebdomadaires des séances de l'Académie des sciences*. 154, 66-68
37. Mason R. P., Josephy P. D. (1985). Free radicals mechanisms of nitroreductase. *Toxicity of Nitroaromatic Compounds*, Hemisphere, New York, 121-140
38. Mielżyńska D. (2009). Narażenie na substancje oddziałujące kancerogennym – biomarkery narażenia: Instytut Medycyny Pracy i Zdrowia Środowiskowego, Sosnowiec. http://www.ietu.katowice.pl/wpr/Dokumenty/Materialy_szkoleniowe/Szkol2/09-mielzynska.pdf
39. Mirvish S. S. (1975). Formation of N-nitroso compounds: chemistry, kineticsand in vivo occurrence. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 31, 325-351
40. Mohammadi A., Ghasemzadeh-Mohammadi V., Haratian P., Khaksar R., Chaichi M. (2013). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked fish samples by a new microextraction technique and method optimization using response surface methodology. *Food Chemistry*, 141(3), 2459-2465
41. Mojska H., Giecińska I., Stoś K., Jarosz M. (2011). Zawartość akryloamidu w żywności w Polsce w świetle aktualnych zaleceń Unii Europejskiej. *Problemy Higieny i Epidemiologii*, 92(3), 625-628
42. Mottram D. S., Wedzicha B. L., Dodson A. T. (2002). Food chemistry: acrylamide is formed in the Maillard reaction. *Nature*, 419: 448-449
43. Naccari C., Galceran M. T., Moyano E., Cristani M., Siracusa L., Trombetta D. (2009). Presence of heterocyclic aromatic amines (HAs) in smoked “Provola” cheese from Calabria (Italy). *Food and Chemical Toxicology*, 47 (2), 321-327
44. Nagy K., Zheng C., Bolognesi C., Ádám B. (2019). Interlaboratory evaluation of the genotoxic properties of pencycuron, a commonly used phenylurea fungicide. *Science of the Total Environment*, 647, 1052–1057
45. Nałęcz-Jawecki G., Zawadzki T., Skrzypczak A.(2012). Substancje promieniochronne a środowisko przyrodnicze. *Biuletyn Wydziału Farmaceutycznego Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego WUM*, 5, 32-39
46. Nandhakumar S., Parasuraman S., Shanmugam M. M., Rao K. R.,Chand P., Bhat B. V. (2011). Evaluation of DNA damage using single-cell gel electrophoresis (Comet Assay). *Journal of PharmacologyPharmacotherapeutics*,2(2), 107–111

47. Ostling O., Johanson K.J. (1984) Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 30;123(1):291-8
48. Oz F., Kaya M. (2011). The inhibitory effect of black pepper on formation of heterocyclic aromatic amines in high-fat meat ball. *Food Control*, 22(3–4), 596–600.
49. Pino J., Borges P., Roncal E. (1993). The chemical composition of laurel leaf oil from various origins. *Molecular Nutrition Food Research*, 37, 592–595
50. Prinsloo G., Nogemane N., Street R. (2018). The use of plants containing genotoxic carcinogens as foods and medicine. *Food and Chemical Toxicology*, 116, 27–39
51. Ptacek-Llanes B. G., Tannenbaum S. R. (1982). Formation of an activated N-nitroso compound in nitrite-treated favabeans (*Vicia faba*). *Carcinogenesis*, 3 (12), 1379-1384
52. Rietjens I. M., Boersma M. G., Van Der Woude H., Jeurissen S. M. F., Schutte M. E., Alink G. M. (2005). Flavonoids and alkenylbenzenes: mechanisms of mutagenic action and carcinogenic risk. *Mutation Research*, 574, 124–138
53. Rozporządzenie Komisji (UE) nr 835/2011 z dnia 19 sierpnia 2011 r. zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1881/2006 odnośnie do najwyższych dopuszczalnych poziomów wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych w środkach spożywczych
54. Rozporządzenie Ministra Zdrowia z dnia 22.11.2010 r. w sprawie dozwolonych substancji dodatkowych. *Dz. U.* 2010 r. Nr 232, poz. 1525
55. Sander J., Burkle G. (1969). Induction maligner Tumoren bei Rattendurch gleichzeitige Verfütterung von Nitrit und sekundären Aminen. *Z Krebsforsch.* 73, 54-66
56. Sanz Alaejos M., Ayala J. H., González V., Afonso A. M. (2008). Analytical methods applied to the determination of heterocyclic aromatic amines in foods. *Journal of Chromatography B*, 862 (1–2), 15-42
57. Sinha R., Rothman N., Brown E. D., Salmon C. P., Knize M. G., Swanson C. A., Felton J. S. (1995). High concentrations of the carcinogen 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo-[4,5b] pyridine (PhIP) occur in chicken but are dependent on the cooking method. *Cancer Research*, 55(20), 4516–4519
58. Smith T. A. (1977). Phenethylamine and related compounds in plants. *Phytochemistry*, 16, 9–18.
59. Stadler R. H., Scholz G. (2004). Acrylamide: An update on current knowledge in analysis, levels in food, mechanisms of formation, and potential strategies of control. *Nutrition Reviews*, 62(12), 449-467
60. Tice R. R. (2000). Single Cell Gel/Comet Assay: Guidelines for in vitro and in vivo

- Genetic Toxicology Testing. Environmental and Molecular Mutagenesis, 35(3), 206–221
61. Vichapong J., Burakham R., Srijaranai S. (2017). Air-Agitated cloud-point extraction coupled with high-performance liquid chromatography for determination of heterocyclic aromatic amines in smoked sausages. Food Analytical Methods, 10(6), 1645–1652
 62. Wretling S., Eriksson A., Eskhult G.A., Larsson B. (2010). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Swedish smoked meat and fish. Journal of Food Composition and Analysis, 23(3), 264–272
 63. Yua D., Xie X., Qiao B., Gea W., Gong L., Luo D., Zhanga D., Lib Y., Yanga B., Kuang, H. (2019). Gestational exposure to acrylamide inhibits mouse placental development in vivo. Journal of Hazardous Materials, 5, 160–170
 64. Yuki F., Keiji W., Shozo T., Minako N., Takashi S. (1987). Induction of oral cavity cancer by 3-diazotyramine, a nitrosated product of tyramine present in foods. Carcinogenesis (8), 527–529
 65. Zachara A., Juszczak L. (2016). Zanieczyszczenie żywności wielopierścieniowymi węglowodorami aromatycznymi-wymagania prawne i monitoring. ŻYWNOSĆ. Nauka. Technologia. Jakość, 3 (106), 5 – 20
 66. Zawirska-Wojtasiak R., Piechowska P., Wojtowicz E., Przygoński K., Mildner-Szkudlarz S. (2018). Bioactivity of selected materials for coffee substitute. PLoS One. 13(11)