

rencyjnej, podczas którego przedstawiciel zakładu wyjaśnił nam, w jaki sposób otrzymywany jest cement w postaci, w jakiej go widzimy. Niestety w krótkim czasie nie ma możliwości zwiedzenia całego zakładu od podszewki, dlatego na początku obejrzelśmy film, na którym przedstawiono poszczególne działy produkcji. Następnie pojechaliśmy autokarem do kopalni, gdzie jest wydobywany surowiec, czyli wapień składający się głównie z węglanu wapnia (Rys. 2). Kolejno mieliśmy okazję zobaczyć, jak już zmielony surowiec jest oddzielany na ten uboższy i bardziej wzbogacony w węglan wapnia. Zostaliśmy również zaprowadzeni do hali uśredniającej, w której odbywa się mieszanie surowca przed wprowadzeniem go do pieca cementowego. Niestety z ciągu procesów technologicznych tylko tyle mogliśmy osobiście zobaczyć, ponieważ większość operacji odbywa się w zamkniętych instalacjach (piece, młyny). Natomiast pozostałe etapy produkcji mogliśmy „podejrzeć” w centralnej sterowni, wyposażonej w szereg komputerów, monitorów i pulpity z mnóstwem migających światełek. M.in. w ten sposób zajrzeliśmy do wnętrza pracującego pieca cementowego. Kolejnym etapem była wizyta w laboratorium, które jest podzielone na dwa główne działy – jeden zajmujący się surowcami i produktem, a drugi kontrolą zanieczyszczeń. W laboratorium wykonywane jest wiele analiz chemicznych, fizycznych i mechanicznych. Mieliśmy okazję podpatrywać pracę laborantów, skonfrontować naszą dotychczasową wiedzę z rzeczywistością, a także zadawać masę pytań. Wiele rzeczy, o których uczyliśmy się na studiach miało tam realne przełożenie na pracę laboratorium, jak i całego zakładu.

Nauka na studiach wcale nie musi być nudna i monoton-

**Grzegorz Ciepielowski, Stefan Jankowski<sup>†</sup>**

grzegorz.ciepielowski@p.lodz.pl

*Institut Chemii Organicznej, Wydział Chemiczny,*

*Politechnika Łódzka*

## Autentykacja wyrobów alkoholowych za pomocą metod spektroskopowych

Globalizacja powoduje wydłużenie drogi od producenta do konsumenta i zwiększa ryzyko wprowadzania na rynek nieoryginalnych produktów. Jest to poważny problem przede wszystkim dla konsumentów, ponieważ kupując towar tylko podobny do oryginalnego, często o gorszej jakości. Należy podkreślić, że z fałszowaniem wyrobów alkoholowych ludzkość boryka się od starożytności, kiedy to podrabiano



*Rys. 2 Wydobywanie surowca w kamieniołomach położonych koło Cementowni Warta S.A. (fot. A. Turek)*

na. Organizowane w ramach programu studiów wycieczki są niesamowitą formą uczenia się. Dzięki tego typu zajęciom można poznać z bliska zasady funkcjonowania zakładów, dopytać się ekspertów o szczegóły, które Was interesują, a niekoniecznie są dobrze wyjaśnione w podręcznikach. Ponadto można zobaczyć pracę w laboratorium i zrozumieć sens tego, co jest na studiach wymagane, a ma praktyczne przełożenie na dalszych etapach kariery zawodowej. Co jest również ciekawe, warto nawet kilka razy pojechać w to samo miejsce. Nie zawsze wszystko wygląda tak samo i niejednokrotnie można dowiedzieć się czegoś nowego. Wiedza jest na wyciągnięcie ręki. Wystarczy dobre nastawienie i ruszajcie w drogę, by zdobywać kolejne doświadczenie. ●

piwo oraz wino. W przypadku tych produktów trudno było zidentyfikować użyte do ich wytworzenia składniki, a częstą praktyką pogarszania jakości było dolewanie wody. Działania takie od zawsze budziły sprzeciw kupujących, dlatego pojawiły się pierwsze akty prawne przeciwdziałające nieuczciwym praktykom. Za czasów króla Hammurabiego, na kamiennych tablicach powstał kodeks, który w szczególności



zakazywał sprzedawać rozcieńczone i przesadnie drogie piwo. Jeden z paragrafów określał karę dla sprzedawcy. Za sprzedaż sfałszowanego piwa lub wzięcie napiwku groziło utopienie [1].

W dzisiejszych czasach rozwój międzynarodowej wymiany handlowej niesie ze sobą, oprócz wielu korzyści, także liczne niebezpieczeństwa. Dlatego istotne są uregulowania prawne, które określają wymagania jakościowe i przyczyniają się do poprawy bezpieczeństwa żywnościowego oraz autentyczności wyrobów. W Polsce urzędowa kontrola żywności prowadzona jest od wielu lat przez inspekcje podległe Ministerstwu Rolnictwa i Rozwoju Wsi, takie jak: Inspekcję Jakości Handlowej Artykułów Rolno-Spożywczych, Inspekcję Ochrony Roślin i Nasiennictwa oraz Inspekcję Weterynaryjną. Jednym z ważniejszych aktów prawnych regulujących w Polsce nadzór nad żywnością jest ustawa z dnia 21 grudnia 2000 roku o jakości handlowej artykułów rolno-spożywczych (Dz.U. z 2014 r., poz. 669), która podaje definicję artykułu zafałszowanego. Zgodnie z tą ustawą jest to produkt, którego skład jest niezgodny z przepisami dotyczącymi jakości handlowej, albo produkt, w którym wprowadzono zmiany mające na celu ukrycie jego rzeczywistego składu lub innych właściwości [2].

Potwierdzenie autentyczności i wykrywanie zafałszowań jest często bardzo trudne i pracochłonne. Wśród metod spektroskopowych stosowanych do uwierzytelniania produktów spożywczych można wyróżnić: spektroskopię magnetycznego rezonansu jądrowego, w podczerwieni, Ramana czy spektrometrię mas. Zaliczają się do nich również metody izotopowe, które w ciągu ostatnich lat zyskały zainteresowanie wśród naukowców. Pozwalają one określić skład izotopowy produktu. Bardzo dokładnym wskaźnikiem składu izotopowego danego pierwiastka jest stosunek izotopowy. Określa on stosunek zawartości izotopu ciężkiego do zawartości izotopu lekkiego. Może on być wyliczony stosując dwie techniki pomiarowe: IRMS przy użyciu spektrometrii masowej oraz SNIF-NMR przy użyciu spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego. Za pomocą pierwszej techniki można określić następujące stosunki izotopowe:  $^2\text{H}/^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ ,  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ ,  $^{34}\text{S}/^{32}\text{S}$ . Natomiast spektroskopia NMR wykorzystywana jest głównie do wyznaczania stosunku izotopowego wodoru bądź węgla.

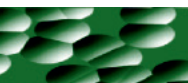
Różnicą tych technik jest sposób wyrażenia wartości stosunków izotopowych. Stosując IRMS wyniki podawane są jako wartość  $\delta$ , wyrażona w promilach, będąca odchyleniem od wielkości standardowej. W SNIF-NMR jako substancję wzorcową stosuje się tetrametylomocznik o znanym stosunku izotopowym i względem tej substancji wyraża się skład izotopowy badanej próbki.

Jednym z czynników warunkujących skład izotopowy jest rodzaj fotosyntezy u roślin. Wyróżnia się trzy typy fotosyntezy. Pierwszym typem jest fotosynteza  $\text{C}_4$ , która jest charakterystyczna dla roślin z klimatu tropikalnego takich jak trzcina cukrowa i kukurydza. Produktem asymilacji  $\text{CO}_2$  jest kwas szczawiooctowy, zawierający cztery atomy węgla. Mechanizm  $\text{C}_4$  zmniejsza wartość stosunku izotopowego węgla o około 10 ‰ w porównaniu do wartości uzyskanej dla substancji wzorcowej. Drugim typem jest fotosynteza  $\text{C}_3$ , która obejmuje większość roślin, zwłaszcza rośliny strefy umiarkowanej (między innymi: winogrona, buraki cukrowe, ziemniaki, żyto, pszenica). Pierwszym produktem asymilacji  $\text{CO}_2$  jest kwas 3-fosfoglicerynowy, posiadający trzy atomy węgla. Dla tego rodzaju fotosyntezy można zauważyć zmianę pierwotnych wartości stosunku izotopów węgla w granicach od -28 do -23 ‰ [3, 4]. Kwasowy metabolizm roślin z rodziny gruboszowatych to szczególny typ fotosyntezy. Nazywany został skrótem CAM od angielskiej nazwy *Crasulacean Acid Metabolism*. Zachodzi w roślinach, które ze względu na klimat muszą prowadzić oszczędną gospodarkę wodną. Do tej grupy roślin należą: ananas, wanilia, kaktus i agawa, które w dzień zamykają aparaty szparkowe, przez co wymiana gazowa jest utrudniona, a woda przechowywana jest w tkankach. W nocy aparaty te u roślin otwierają się i pochłaniają dwutlenek węgla. Produktem asymilacji jest związek czterowęglowy, który jest magazynowany w wakuolach i dopiero w ciągu dnia podlega dalszym przekształceniom. Wartość  $\delta$  dla tych roślin mieści się w przedziale od -18 do -12 ‰ [4, 5].

Innym czynnikiem powodującym frakcjonowanie izotopowe w przyrodzie jest cykl hydrologiczny. W wyniku tego zjawiska następuje wzbogacanie pary wodnej w izotopy lekkie, podczas gdy woda pozostająca w fazie ciekłej staje się stopniowo coraz cięższa. Zmiany stosunku izotopowego tlenu  $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$  zależą od szerokości geograficznej, wysokości nad poziomem morza oraz cech klimatycznych regionu, czyli od temperatury powietrza i ilości opadów [6].

Najczęściej fałszowane są produkty luksusowe, markowe o uznanej pozycji na rynku. Wśród wyrobów alkoholowych najczęściej podrabiane są: wina, whisky, brandy oraz wódki. Fałszowanie win może być związane z nieprawdziwą deklaracją odmiany winogron bądź regionu pochodzenia, a także z dodatkiem wody lub cukru do produktu. Lepsze jakościowo whisky lub wódki często miesza się z trunkami o gorszych parametrach. Często praktyką jest również wytwarzanie alkoholi z innych surowców niż tych podanych na etykiecie.

Metody spektroskopowe wykorzystywane do autentykacji produktów alkoholowych prócz uprzednio wymienionych



obejmują: spektroskopię w świetle widzialnym i bliskiej podczerwieni oraz spektroskopię fluorescencyjną [7,8]. Do kontroli pochodzenia botanicznego lub geograficznego stosuje się przede wszystkim metody izotopowe [9].

Son wraz ze współpracownikami przedstawili możliwość wykorzystania spektroskopii NMR do kontroli pochodzenia geograficznego win wykonując widma protonowe, ponieważ warunki środowiska w winnicy wpływają na metabolity winogron [10]. Za pomocą analizy widm  $^1\text{H-NMR}$  wykazano różnice w ilościach związków występujących w pulpie, skórkach i winach z dwóch różnych regionów Korei Południowej. Wina pochodzące ze słonecznego regionu położonego w zachodniej części kraju (Yeongcheon) wykazały wyższe zawartości glicerolu, proliny oraz kwasu mlekowego i jednocześnie niższe zawartości kwasu jabłkowego, winowego, cytrynowego oraz 2,3-butanodiolu w porównaniu z tymi pochodzącymi z regionu Chochiwon o stosunkowo małym nasłonecznieniu i o większej ilości opadów [10].

Za pomocą spektrometrii mas wykonano analizę 50 autentycznych próbek whisky oraz 30 podrobionych trunków dostarczonych przez brazylijską Policję Federalną [11]. Analiza widm pozwoliła uzyskać charakterystyczne profile polarnych związków, co umożliwiło identyfikację podrobionej whisky. W widmie sfałszowanego alkoholu występuje między innymi intensywny jon przy wartości  $m/z$  około 311, pochodzący od sacharozy. Okazało się również, że każda whisky pochodząca od różnych producentów, posiadała charakterystyczny profil zawierający unikalne jony. Wykonanie analizy głównych składowych (PCA) na danych otrzymanych z przeanalizowanych widm pozwoliło na rozróżnienie wszystkich badanych marek [11].

Przykładem wykorzystania analizy wieloczynnikowej do określenia geograficznego pochodzenia win jest praca Smeyers-Verbeke i współpracowników z 2009 roku [12]. Badania zostały prowadzone w ramach europejskiego projektu w celu stworzenia banku danych autentycznych win. Autorzy przeanalizowali 600 próbek win, oznaczając w nich blisko 60 parametrów takich jak: zawartość cukru inwertowanego, zawartość 18 związków organicznych między innymi: glicerolu, metanolu, kwasu winowego i jabłkowego, a także zawartość 35 pierwiastków obecnych w winach. Najważniejsze były jednak parametry izotopowe, czyli stosunek izotopowy węgla i tlenu oznaczony za pomocą techniki IRMS oraz zawartość deuteru w etanolu oznaczona za pomocą SNIF-NMR. Badania wykazały, że autentyczne wina z Południowej Afryki miały istotnie wyższe stosunki izotopowe tlenu oraz wodoru od win pochodzących z krajów europejskich. Natomiast rozróżnienie win węgierskich, rumuńskich i czeskich na podstawie parametrów izotopowych

nie było zadowalające, ze względu na fakt, iż kraje te nie różnią się znacząco warunkami klimatycznymi.

Na Wydziale Chemicznym Politechniki Łódzkiej w Instytucie Chemii Organicznej trwają obecnie badania nad zastosowaniem techniki SNIF-NMR do przeprowadzania autentykacji wyrobów alkoholowych, uzyskanych na drodze fermentacji różnych surowców. Pomiary zawartości deuteru wykonywane są za pomocą spektrometru NMR Bruker Avance II Plus 700 MHz. Uzyskiwane wyniki wskazują na użyteczność metody SNIF-NMR do analizy napojów spirytusowych.

Należy pamiętać, że ciągły rozwój metod spektroskopowych, a przede wszystkim technik izotopowych jest podstawą w walce z fałszowaniem produktów. Dzięki tym badaniom utrzymywana jest wysoka jakość wytwarzanych towarów. Przemiany fizyczne, chemiczne i biologiczne zachodzące w przyrodzie skutkują zmianą składu izotopowego. Wynika to z faktu, że w trakcie takich przemian dochodzi do frakcjonowania izotopowego związków. Na skutek tego produkt wzbogaca się w szybciej reagujące cząsteczki zawierające izotop lżejszy. Niestety zmiany te są bardzo małe i dlatego ich śledzenie wymaga wyspecjalizowanej aparatury. Jednak posiadając takie urządzenia jesteśmy w stanie oznaczyć parametry, które niosą informację o pochodzeniu botanicznym, a nawet geograficznym danego produktu.

### Literatura:

- [1] Sawicki W., 2009, Fałszowanie żywności od czasów starożytnych do dziś, *Przemysł Spożywczy*, 63, 2 – 6.
- [2] Ustawa z dnia 21 grudnia 2000 roku o jakości handlowej artykułów rolno-spożywczych (Dz.U. z 2014 r., poz. 669), str. 3/41.
- [3] Stryer L., *Biochemia*, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa 2000, s.696 – 726.
- [4] Wierzchnicki R., 2008, Żywność pod kontrolą izotopową, *Przemysł Spożywczy*, 6, 39 – 41.
- [5] Black C. C., Osmond C. B., 2003, Crassulacean acid metabolism photosynthesis: 'working the night shift', *Photosynthesis Research*, 76, 329 – 341.
- [6] Craig H., 1961, Isotopic Variations in Meteoric Waters, *Science*, 133, 1702 – 1703.
- [7] Casale M., Oliveri P., Armanino C., Lanteri S., Forina M., 2010, NIR and UV-vis spectroscopy, artificial nose and tongue: Comparison of four fingerprinting techniques for the characterisation of Italian red wines, *Analytica Chimica Acta*, 668, 143 – 148.
- [8] Sidecar J., Tóthová J., Májek P., 2009, Classification of brandies and wine distillates using front face fluorescence spectroscopy, *Food Chemistry*, 117, 491 – 498.
- [9] Kelly S., Heaton K., Hoogewerff J., 2005, Tracing the geographical origin of food: The application of multi-element and multi-isotope analysis, *Trends in Food Science & Technology*, 16, 555 – 567.
- [10] Son H.-S., Hwang G.-S., Kim K. M., Ahn H.-J., Park W.-M.,



van den Berg F., Hong Y.-S., Lee C.-H., 2009, Metabolomic Studies on Geographical Grapes and Their Wines Using  $^1\text{H}$  NMR Analysis Coupled with Multivariate Statistics, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 1481 – 1490.

[11] Garcia J. S., Vaz B. G., Corilo Y. E., Ramires C. F., Saraiva S. A., Sanvido G. B., Schmidt E. M., Maia D. R. J., Cosso R. G., Zacca J. J., Nogueira Eberlin M., 2013, Whisky analysis by electrospray

ionization-Fourier transform mass spectrometry, *Food Research International*, 51, 98 – 106.

[12] Smeyers-Verbeke J., Jäger H., Lanteri S., Brereton P., Jamin E., Faul-Hassek C., Forina M., Römisch U., 2009, Characterization and determination of the geographical origin of wines. Part II: descriptive and inductive univariate statistics, *European Food Research and Technology*, 230, 15 – 29. ●

## Justyna Krych-Madej

justyna.krych@gmail.com

Międzyresortowy Instytut Techniki Radiacyjnej,

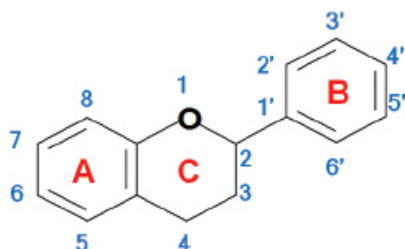
Wydział Chemiczny, Politechnika Łódzka

# Flawonoidy – przyjaciele, czy wrogowie?

Jabłka, herbata, gorzka czekolada, winogrona... Co łączy te wszystkie produkty? Wszystkie bogate są w witaminy. Wszystkie po spożyciu poprawiają nam humor. Wszystkie... są źródłem flawonoidów. Flawonoidów, które coraz częściej „pojawiają się” na opakowaniach kremów, w składzie tabletek wzmacniających odporność, „uśmiechają się” do nas w reklamach. Ale czym tak naprawdę są flawonoidy i czy rzeczywiście są nam potrzebne?

## Flawonoidy – charakterystyka ogólna

Flawonoidy to polifenolowe związki chemiczne pochodzenia roślinnego, których struktura oparta jest na szkieletie flawonu (*Rysunek 1*). Ich nazwa pochodzi od łacińskiego słowa *flavus*, czyli żółty. Flawonoidy gromadzą się w liściach, owocach, kwiatach i nasionach roślin nadają im barwę, chronią je przed szkodliwym działaniem promieniowania ultrafioletowego, grzybów i owadów, pełnią funkcje regulatorów wzrostu oraz hormonów [1].



Rysunek 1. Wzór ogólny flawonoidów, układ  $C_6-C_3-C_6$  – flawon

Obecnie znanych jest już ponad 9000 różnych flawonoidów, a liczba ta ciągle rośnie [2]. Ta ogromna różno-

rodność wynika z faktu, iż atomy węgla pierścieni A, B i C ulegać mogą różnym modyfikacjom, m.in. hydroksylacji, metoksylacji oraz glikozylacji za pomocą mono- i oligosacharydów. Sacharydy przyłączane są zwykle w pozycji  $C_3$ , rzadziej  $C_4$ ,  $C_3'$ ,  $C_5$  oraz  $C_7$ . Najpopularniejszym glikozydem wśród flawonoidów jest glikozyd kwercetyny – rutyna, związek dość powszechnie wykorzystywany jako składnik leków i suplementów diety wspomagających odporność. Na podstawie różnic strukturalnych flawonoidy podzielono na sześć grup: flawony, flawonole, flawanony, flawanole, izoflawony i antocyjany.

Flawonoidy to naturalny składnik naszej diety. Ich dzienne spożycie waha się od kilkuset miligramów do 1 – 2 gramów, w zależności od nawyków żywieniowych [2]. Głównymi źródłami flawonoidów w diecie Polaków są jabłka, herbata i cebula [3].

## Flawonoidy – nasi przyjaciele

Flawonoidy znane są głównie ze swej aktywności antyoksydacyjnej, dzięki której wykazują szereg korzystnych dla naszego zdrowia właściwości. Dane literaturowe donoszą m.in. o aktywności przeciwzapalnej, przeciwalergicznej, ochronnej w stosunku do układu krwionośnego, a nawet przeciwnowotworowej flawonoidów [1].

Do głównych mechanizmów antyoksydacyjnych, w które zaangażowane są flawonoidy, zaliczyć należy: bezpośrednie zmiatanie wolnych rodników, chelatowanie jonów metali przejściowych oraz aktywację enzymów II fazy – detoksykacji (m.in. oksydazy NAD(P)H (akceptor chinonowy), która chroni organizm przed ksenobiotykami elektrofilowymi).