

**SLOVENSKÁ POĽNOHOSPODÁRSKA UNIVERZITA**  
**V NITRE**  
**FAKULTA BIOTECHNOLÓGIE A POTRAVINÁRSTVA**  
**1132908**

**RIZIKÁ AKRYLAMIDU V POTRAVINÁCH**

**2011**

**Eva Oravcová**

**SLOVENSKÁ POĽNOHOSPODÁRSKA UNIVERZITA**  
**V NITRE**  
**FAKULTA BIOTECHNOLÓGIE A POTRAVINÁRSTVA**

**RIZIKÁ AKRYLAMIDU V POTRAVINÁCH**  
**Bakalárska práca**

Študijný program: Bezpečnosť a kontrola potravín  
Študijný odbor: 4170700 Spracovanie poľnohospodárskych  
produktov  
Školiace pracovisko: Katedra hygieny a bezpečnosti potravín  
Školiteľ: Jozef Golian, doc. Ing. Dr

## **Čestné vyhlásenie**

Podpísaná Eva Oravcová vyhlasujem, že som záverečnú prácu na tému „Riziká akrylamidu v potravinách“ vypracovala samostatne s použitím uvedenej literatúry.

Som si vedomá zákonných dôsledkov v prípade, ak uvedené údaje nie sú pravdivé.

V Nitre 10. mája 2011

Eva Oravcová

## **Pod'akovanie**

Touto cestou by som chcela vysloviť pod'akovanie doc. Ing. Jozefovi Golianovi, Dr. vedúcemu bakalárskej práce za pomoc a cenné rady pri tvorbe bakalárskej práce.

## **Abstrakt**

Akrylamid patrí medzi cudzorodé a kontaminujúce látky, vznikajúce pri nevhodnom technologickom spracovaní a skladovaní. Akrylamid je látka, ktorá má dokázané genotoxické, karcinogénne a neurotoxické účinky. Za vznik akrylamidu je považovaná reakcia medzi voľnou geneticky kódovanou neesenciálnou aminokyselinou asparagínom a karbonylovými zlúčeninami ako súčasť Maillardovej reakcie. Maillardova reakcia je reakcia, ktorá patrí medzi najvýznamnejšie a aj najrozšírenejšie reakcie prebiehajúce v potravinách pri ich tepelnom spracovaní a skladovaní.

Táto bakalárska práca popisuje aké môžu byť riziká akrylamidu v potravinách. Zaoberá sa jeho vznikom v potravinách, v životnom prostredí a využitím v priemysle. Popisujú sa v nej rizikové potraviny a minimalizácia obsahu akrylamidu v týchto potravinách. Akými postupmi a opatreniami vieme znížiť obsah rizikových látok. Ďalej sa práca venuje zdravotnému nebezpečenstvu akrylamidu, ktoré môže táto látka predstavovať pre človeka a metódam ktorými sa akrylamid stanovuje.

**Kľúčové slová:** potraviny, riziko, akrylamid, Maillardova reakcia, odhad rizika

## **Abstract**

Acrylamide is one of the contaminants and the contaminants, resulting from the improper processing and storage technology. Acrylamide is a substance that has demonstrated genotoxic, carcinogenic and neurotoxic účinky. Za acrylamide formation is considered the reaction between the free genetically coded non-essential amino acid asparagine and carbonyl compounds as part of the Maillard reaction. Maillard reaction is a reaction that is among the most important and the most common reactions occurring in foods in their heat treatment aa storage.

This thesis describes what may be risks of acrylamide in foods. It deals with the occurrence in food, environmental and industrial applications. It describes food and minimize the risk of acrylamide in these foods. What are the steps and measures we can reduce the levels of hazardous substances. The work deals with the health risk of acrylamide, that this substance may pose to humans and the methods by which acrylamide is down.

**Key words:** foods, risk, acrylamid, Maillard reaction, risk foods, risk assesment

# Obsah

Obsah .....	7
Zoznam skratiek .....	8
Úvod .....	9
1. Cieľ práce .....	10
2. Materiál a metódy.....	11
3. Prehľad o súčasnom stave riešenej problematiky.....	12
3.1 Charakteristika a použitie akrylamidu.....	12
3.2 Akrylamid v životnom prostredí .....	12
3.3 Priemyselné využitie akrylamidu .....	13
3.4 Výskyt akrylamidu v rizikových potravinách .....	13
3.4.1 Zemiaky a výrobky z nich.....	14
3.4.2 Cereálie a cereálne výrobky .....	14
3.5 Expozícia akrylamidom z prostedia a z potravín.....	15
3.6 Vznik akrylamidu v potravinách.....	16
3.7 Minimalizácia obsahu akrylamidu v potravinách.....	19
3.7.1 Minimalizácia obsahu akrylamidu v raňajkových cereáliách.....	20
3.7.2 Minimalizácia obsahu akrylamidu v sušienkach, keksoch a suchároch .....	20
3.7.3 Minimalizácia obsahu akrylamidu v zemiakových lupienkoch.....	20
3.7.4 Minimalizácia obsahu akrylamidu v smažených zemiakových výrobkoch .....	21
3.7.5 Minimalizácia obsahu akrylamidu v káve .....	21
3.8 Zdravotné nebezpečenstvo akrylamidu .....	24
3.8.1 Toxicita .....	24
3.8.2 Neurotoxicita.....	25
3.8.3 Karcinogenita.....	25
3.8.4 Reprodukčná toxicita.....	25
3.9 Metódy zisťovania akrylamidu.....	27
4. Záver.....	31
Použitá literatúra.....	32

## **Zoznam skratiek**

%- percento

°C- Celziov stupeň

μ- mikro

DNA- deoxyribonukleová kyselina

g- gram

IARC- Medzinárodná agentúra pre výskum rakoviny

JECFA- Expertný výbor pre potravinárske aditíva

kg- kilogram

l- liter

m- meter

mg- miligram

mm- milimeter

NOAEL- dávka, pri ktorej sa neprejaví nepriaznivý účinok látky

WHO- Svetová zdravotnícka organizácia



# ÚVOD

V roku 2002 publikoval Švédsky národný úrad v spolupráci so Štokholmskou univerzitou nález akrylamidu v tepelne opracovaných potravinách. Akrylamid je látka, ktorá vzniká v potravinách pri ich príprave. Vzniká pri úprave potravín nad 120 °C. Hlavnou dráhou pre vznik akrylamidu je Maillardova reakcia ale môžu to byť aj iné alternatívne cesty vzniku.

Je to toxická a potenciálne karcinogénna látka. Medzinárodná agentúra pre výskum rakoviny IARC klasifikovala akrylamid ako predpokladaný ľudský karcinogén (skupina 2A). Najväčší obsah akrylamidu sa nachádza v potravinách obsahujúcich škrob ako sú zemiaky a obilniny. Pre správne a presné stanovenie množstva akrylamidu boli vyvinuté nové analýzy. Metódy, ktoré sa najčastejšie používajú na stanovenie akrylamidu sú plynová chromatografia s hmotnostnou spektrometriou a vysokoúčinná kvapalinová chromatografia s hmotnostnou spektrometriou .

Súčasná informácia o obsahu akrylamidu v potravinách ešte stále nie sú dostatočné. Z daných informácií sa nedá jednoznačne povedať, či má vplyv na človeka a môže konzumáciou rizikových potravín vyvolať zdravotné ťažkosti. Preto je dôležité stále robiť výskum, získať čo najviac informácií a monitorovať jeho obsah vo všetkých potravinách no najmä tých rizikových.

Predkladaná bakalárska práca sa zaoberá vznikom akrylamidu v potravinách a jeho rizikami. Minimalizáciou obsahu akrylamidu v potravinách a zdravotným nebezpečenstvom, ktoré môže akrylamid predstavovať pre človeka. Na konci práce sú charakterizované metódy, ktoré sa používajú na stanovenie akrylamidu.

# 1 CIEĽ PRÁCE

Medzi pomerne nové riziká súvisiace s bezpečnosťou potravín patrí aj výskyt akrylamidu v potravinách. Pre objasnenie tejto problematiky bolo cieľom našej práce:

- popísať použitie akrylamidu z nepotravinárskeho hľadiska,
- popísať priemyselné využitie akrylamidu,
- zmapovať výskyt akrylamidu v rizikových potravinách,
- objasniť spôsoby expozície akrylamidu z prostredia a z potravín,
- objasniť mechanizmy vzniku akrylamidu v potravinách,
- popísať možnosti minimalizácie obsahu akrylamidu v potravinách,
- definovať zdravotné nebezpečenstvo z pohľadu foriem toxicity,
- popísať metódy zisťovania toxicity v potravinách.

## **2 MATERIÁL A METÓDY**

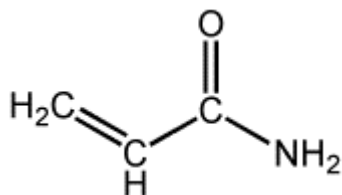
Analyzujeme súčasné poznatky o akrylamide v kontexte dostupných literárnych zdrojov a štúdií a na základe nich:

- porovnáваме výskyt akrylamidu z rôznych zdrojov,
- hodnotíme zdroje a priemyselné využitie akrylamidu,
- analyzujeme výskyt akrylamidu v potravinách,
- porovnáваме mechanizmy vzniku akrylamidu vo vybraných potravinách, navrhujeme možné spôsoby znižovania obsahu akrylamidu v potravinách,
- charakterizujeme najvýznamnejšie metódy zisťovania akrylamidu v potravinách.

### 3 PREHLAD O SÚČASNOM STAVE RIEŠENEJ PROBLEMATIKY

#### 3.1 Charakteristika a použitie akrylamidu

Akrylamid ( $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CONH}_2$ )



je priemyselne vyrábaná tuhá kryštalická látka používaná ako monomér na výrobu netoxického polyakrylamidu. Akrylamid je zlúčenina bez farby a vône, s teplotou topenia 84,5 °C a molekulovou hmotnosťou 71,08. Jeho rozpustnosť v polárnych a nepolárnych rozpúšťadlách je značne odlišná (Eriksson, 2005). Je veľmi dobre rozpustný vo vode, acetóne a etanole. Má vysokú mobilitu v pôde a podzemných vodách, je biodegradovateľný (OSHA, EPA, 2004). Samotný akrylamid má široké použitie vo vedeckom výskume, kde sa využíva jeho schopnosť selektívne modifikovať skupiny SH v štrukturálnych a funkčných proteínoch (EPA, 2004). Akrylamid môže byť potenciálne prítomný v životnom prostredí ako dôsledok antropogénnych, ale aj prirodzených procesov. Akrylamid je tiež zložkou cigaretového dymu (Smith et al., 2000), čo indikuje jeho tvorbu počas zahrievania biologických materiálov.

#### 3.2 Akrylamid v životnom prostredí

Mikrobiálne enzýmy *Rhodococcus rhodochrous* zahŕňajú nitrilové hydratázy, amidázy, syntázy glutamínu a dehydrogenázy. Nitrilové hydratázy sú používané v priemyselnej produkcii akrylamidu. Nitrilové hydratázy produkované rodom *Nocardia sp.* katalyzujú hydrolýzu akrylonitrilu na akrylamid. Opuzdrené nepohyblivé baktérie *Rhodococcus* produkujú akrylamid degradujúci amidázu. Amidáza schopná degradovať akrylamid bola izolovaná z *Klebsiella pneumoniae*. Mikroorganizmus *Pseudomonas stutzeri* metabolizuje akrylamid uvoľnený z kopolyméru v koncentrácii < 440 mg /l v aeróbnych podmienkach. Denitrifikujúce baktérie používajú výslednú akrylovú kyselinu a amoniak ako zdroj uhlíka a dusíka. Akrylamid je tak veľmi dobrým substrátom pre amidázy produkované

ľudským gastrointestinálnym patogénom *Helicobacter pylori*. Toto zistenie ukazuje, že je možné redukovať hladinu akrylamidu s pomocou akrylamid-degradujúcich enzýmov v jedle a tráviacom trakte po konzumácii (Mendel, 2003). Akrylamid je biodegradovateľný - za 14 dní sa rozkladá v pôde. Na vzduch reaguje s hydroxylovými radikálmi. Niektoré mikroorganizmy dokážu akrylamid utilizovať ako jediný zdroj uhlíka a dusíka (*Arthrobacter sp.*, *Bacillus spaericus*, *Pseudomonas putrefaciens*, *Rhodococcus sp.*) (www.epa.gov).

### 3.3 Priemyselné využitie akrylamidu

Akrylamid je reaktívna chemická látka, ktorá sa používa ako monomér pri syntéze polyakrylamidu používaného k čisteniu vody a v stavebnom priemysle. Akrylamid je používaný ako zložka betónu pri syntéze polymérov a gélov. Polyméry a kopolyméry sú používané v papierenskom a textilnom priemysle, ako flokulant pri práci s odpadovými vodami, pri spracovaní rudy a v kozmetike. Je používaný dosť často aj vo vedeckých výskumoch pre upravovanie SH skupín v štruktúrnych a funkčných proteínoch. Polyméry a kopolyméry akrylamidu majú mnoho aplikácií, zvlášť na stabilizáciu pôd po erózii a ako flokulant na úpravu pitnej vody. Ďalšie využitie ako médium na hydroponické pestovanie plodín a pri čistení cukru (Mendel, 2003).

### 3.4 Výskyt akrylamidu v rizikových potravinách

Akrylamid sa nepridáva v žiadnej forme do potravín. Jeho prítomnosť v potravinách môže byť zapríčinená kontamináciou z vonkajšieho prostredia alebo vzniká počas tepelnej úpravy potravín. Stopové množstvá akrylamidu je možné zistiť po použití akrylamidových polymérov alebo kopolymérov počas technologického spracovania potravín alebo ako dôsledok ich použitia v obaloch na potraviny. Obsah zvyškového akrylamidu je limitovaný v aditívnych látkach, vo vode na oplachovanie ovocia a zeleniny, v papierových obaloch na potraviny aj v modifikovanom škrobe. Tieto zdroje vysvetľujú prítomnosť akrylamidu vo väčšine potravín v koncentráciách zhruba 15-350 µg/kg. Vysoké koncentrácie boli zistené najmä v tepelne spracovaných potravinách. Ide o potraviny upravované pri teplotách vyšších ako 120°C, pečením, smažením, grilovaním alebo mikrovlnným ohrevom obsahujúce zároveň proteíny a sacharidy. Jedná sa o potraviny ako chlieb, vyprážené zemiaky a káva, ale aj iné produkty ako sú napríklad pečivo, kreky a keksy a iné tepelne spracované potraviny (Becalski et al., 2003). Predpokladaná priemerná hodnota príjmu akrylamidu z potravín sa

pohybuje v rozmedzí od 0,3 do 0,6  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  telesnej hmotnosti za deň na dospelého človeka, pričom u detí a dospievajúcich sa táto hodnota zvyšuje až na 0,4 -0,6  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Tento fakt je možné vysvetliť zvýšenou konzumáciou potravín bohatých na akrylamid, akými sú hranolky a zemiakové lupienky. Tieto hodnoty pre rôzne krajiny kolíšu v závislosti od národných jedálenských zvyklostí a spôsob prípravy jedál. Taktiež fajčenie výrazne zvyšuje príjem akrylamidu o 1-2  $\mu\text{g}$  na cigaretu (Claus et al., 2008) Vo všeobecnosti sú najdôležitejšími zdrojmi akrylamidu produkty zo zemiakov, káva, a cereálne produkty (Becalski et al., 2003).

### **3.4.1 Zemiaky a výrobky z nich**

Zemiaky majú relatívne vysoký obsah asparagínu 38-40%, ale jeho koncentrácia je relatívne rovnaká. Väčší zásah do tvorby akrylamidu umožňuje regulácia obsahu redukujúcich cukrov. Nižší obsah akrylamidu v zemiakových výrobkoch môže byť dosiahnutý selekciou kultivarov s nízkym obsahom sacharidov, ale aj s dodržaním technologických podmienok pri zbere, skladovaní a spracovaní zemiakov (Friedman et al., 2003). Ďalším technologickým krokom na odstránenie asparagínu a sacharidov z povrchu očistených zemiakov je blanšírovanie a premývanie v horúcej alebo studenej pitnej vode. Teplotný režim spracovania výrobkov je takisto dôležitý pretože pri teplote nad 120 °C sa zvyšuje a stúpa rýchlosť degradácie (Biedermann et al., 2002).

Kvalita oleja t.j. oxidácia oleja a hydrolýza oleja nemajú vplyv na tvorbu akrylamidu. Fyzikálny nástroj ako znížiť obsah tvorby akrylamidu je použitie nízkotepelného vyprážacieho vákuového systému pre zemiakové lupienky.

### **3.4.2 Cereálie a cereálne výrobky**

Medzi výrobky u ktorých bol preukázaný značný obsah akrylamidu patria výrobky z obilnín ako chlieb, perníky, sušienky (Standler et al., 2004).

Endosperm zrna obsahuje vysoký obsah asparagínu, ktorý môže reagovať s prítomnými redukujúcimi cukrami. Pri príprave pekárenských výrobkoch je z hľadiska tvorby a redukcie akrylamidu dôležité zaoberať sa kypriacimi činidlami, typom sacharidov, organické kyseliny a enzýmy (Amrein et al., 2007).

Pri príprave pekárenských výrobkov sa najčastejšie používa pšeničná múka. Pri pokusoch s rôznymi teplotami a dobou pečenia bol zaznamenaný prudký nárast obsahu

akrylamidu pri teplote 150 °C v rozmedzí 10-30 minút. Pri následnom zvýšení teploty nad 180 °C nastal pokles koncentrácie akrylamidu (Friedman et al., 2003).

### 3.5 Expozícia akrylamidom z prostredia a z potravín

Človek môže byť potencionálne vystavený nepotravinovej a potravinovej expozícii akrylamidom. Nepotravinová expozícia – z pracovného prostredia pri výrobe a použití polyakrylamidu, a to dermálnou absorpciou akrylamidového monoméru z roztoku alebo inhaláciou suchého monoméru alebo aerosólu akrylamidového roztoku počas výroby akrylamidu a polyakrylamidu a počas prípravy polyakrylamidových gélov v laboratóriu

- z kozmetických prípravkov- na obsah akrylamidu v kozmetických prípravkoch sa v posledných rokoch redukuje. Redukuje sa zo 100 mg.kg<sup>-1</sup> na úroveň pod 0,5 mg. kg<sup>-1</sup>.
- z upravovanej pitnej vody- po použití polyakrylamidových flokulantov v pitnej vode. Priemerný príjem akrylamidu z tohto zdroja je 3,6 ng.kg<sup>-1</sup> telesnej hmotnosti/deň.

Potravinová expozícia- expozícia akrylamidom z potravín je vystavená značná časť populácie, keďže potraviny, v ktorých sa akrylamid nachádza, tvoria asi jednu tretinu denného energetického príjmu. Aj keď odhad denného príjmu akrylamidu je zaťažený neistotou spôsobenou rozdielmi v jeho obsahu v rámci jednej komodity výrobkov. Podľa prvých údajov WHO bol odhad priemerného denného príjmu akrylamidu z potravín 0,3-0,8 µg.kg<sup>-1</sup> telesnej hmotnosti. V najnovšej správe výboru JECFA z februára 2005 sa uvádza, že po zohľadnení národných údajov zo 17 krajín, ktoré poskytli výsledky svojich pozorovaní, sa priemerný denný príjem akrylamidu v celej populácii odhaduje 1 µg.kg<sup>-1</sup> telesnej hmotnosti a pre vysoko zaťaženú skupinu asi 4 µg.kg<sup>-1</sup> telesnej hmotnosti. Táto skupina zahŕňa aj deti a mládež, čo súvisí jednak s ich nižšou telesnou hmotnosťou, jednak so stravovacími návykmi. Najväčší podiel na dennom príjme akrylamidu majú vo väčšine krajín nasledovné potraviny: zemiakové hranolky (16-30 %), zemiakové lupienky (6-46 %), káva (13-39 %), pečivo a keksy (10-20 %) a chlieb a hrianky (10-30 %). Podiel všetkých ostatných potravín na celkovej expozícii akrylamidom je menej ako 10 % (Ciesarova, 2005).

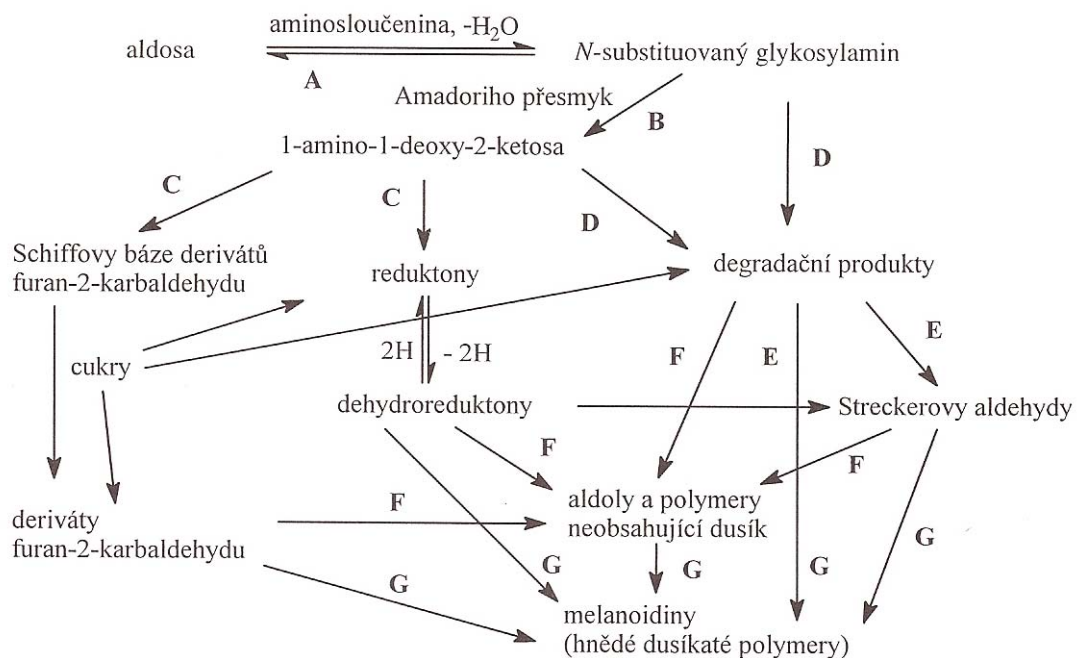
### 3.6 Vznik akrylamidu v potravinách

Akrylamid vzniká v potravinách počas tepelného spracovania. Za hlavný mechanizmus vzniku je všeobecne považovaná reakcia medzi voľnou geneticky kódovanou neesenciálnou aminokyselinou asparagínom a karbonylovými zlúčeninami ako súčasť Maillardovej reakcie, ktorá patrí medzi najvýznamnejšie a najrozšírenejšie chemické reakcie počas skladovania a spracovania (Becalski et al., 2003; JIFSAN, 2004). Hlavnými prekurzormi pre tvorbu akrylamidu sú glukóza, fruktóza a asparagín, ktorý poskytuje svoju amidovú skupinu ako chrbtovú kosť molekuly akrylamidu (Girma et al., 2005). Maillardova reakcia predstavuje súbor reakcií redukujúcich sacharidov s aminoszlúčeninami, v priebehu ktorých vzniká celý rad veľmi reaktívnych karbonylových zlúčenín, ktoré reagujú vzájomne a tiež s prítomnými aminoszlúčeninami. Sprievodným znakom týchto reakcií je vznik hnedých pigmentov, melanoidínov, a preto sa tieto reakcie nazývajú reakcie neenzýmového hnednutia. Zároveň dochádza ku vzniku dôležitých žiaducich sensoricky aktívnych zlúčenín, ktoré dodávajú produktu charakteristické sfarbenie, chuť a vôňu, ale aj k tvorbe niektorých toxických zlúčenín z mutagénnymi a karcinogénnymi vlastnosťami (Horiuchi et al., 2002). Maillardova reakcia prechádza tromi fázami. Prvá fáza je tvorba glykozalamínu, ktorá je nasledovaná Amadariho prešmykom. V druhej fáze dochádza k dehydratácii a fragmentácii sacharidov sprevádzajúcich Streckerovu degradáciu aminokyselín. V tretej fáze prechádza Streckerov aldehyd ďalšími redukčnými a dehydratačnými reakciami pričom vzniká akrylamid. Tvorba akrylamidu začína adíciou neproteinizovanej aminoskupiny na elektrodeficitný uhlíkový atóm polarizovanej karbonylovej skupiny redukujúceho cukru (glukóza, fruktóza). Vznikne adičný produkt, ktorý dehydratuje imín a tým vzniká Schiffova báza. Schiffova báza môže v podmienkach s vyššou vlhkosťou dekarboxylovať na stabilný azometynilid, ktorý sa tautomerizuje na Amadariho produkt. Amadariho produkt vzniká v prítomnosti -OH skupiny v  $\alpha$  pozícii voči N- atómu. Schiffova báza môže prejsť na dekarboxylovaný Amadariho produkt vďaka náchylnosti imínov. Imíny sú tvorené z aminokyselín a aldehydov. Imíny podliehajú intramolekulárnej cyklizácii. Vzniká oxozolidin-5-on. Jeho nízka energetická náročnosť umožňuje paralelnú cyklizáciu. Amadariho produkt aj Schiffova báza môžu tvoriť akrylamid buď priamo alebo nepriamo. Nepriamo cez 3 aminopropanamid, ktorý vzniká dekarboxyláciou Amadariho produktu. Dekarboxylovaný Amadariho produkt podlieha  $\beta$  eliminácii (iniciatíva sacharidového zvyšku). Vznik akrylamidu ovplyvňuje dostupnosť redukujúcich sacharidov



a asparagínu. Neredukujúce cukry ako sacharóza neprispievajú k tvorbe akrylamidu (Ciesarová, 2005). Doterajšie štúdie poukázali na to, že akrylamid môže mať aj iné cesty vzniku ako je Maillardova reakcia. Môže vzniknúť termicky indukovanou dekarboxyláciou asparagínu na 3- aminopropánamid s následnou deamináciou môže vzniknúť akrylamid zo samotného asparagínu. Prítomnosť redukujúcich sacharidov je nevyhnutná pre efektívnu konverziu asparagínu na akrylamid (Zyzak et al., 2003.). Ďalej sa môžu podieľať karbonylové zlúčeniny a asparagín. Mechanizmus vzniku akrylamidu z asparagínu v prítomnosti sacharidov má viacero alternatív. Mottram et al. (2002) uvádzajú oxidatívnu dekarboxyláciu známu ako Streckerova dráha, za vzniku Streckerovho aldehydu, ktorý po ďalších redukčných a dehydratačných krokoch môže konvertovať na akrylamid. Druhou možnosťou, podľa Stadlera et al. (2002) je vznik asparagín-N- glykozidu alebo Schiffovej bázy ako priameho prekursora akrylamidu. Vo vodnom prostredí môže Schiffova báza hydrolyzovať na prekuzory alebo môže dôjsť k prešmyku na Amadoriho produkt, ktorý nie je efektívnym prekuzorom tvorby akrylamidu, čo je v súlade s nízkym výťažkom akrylamidu.

Obr. 1 Schematické znázornenie Maillardovej reakcie



Zdroj: Taeymans, 2004

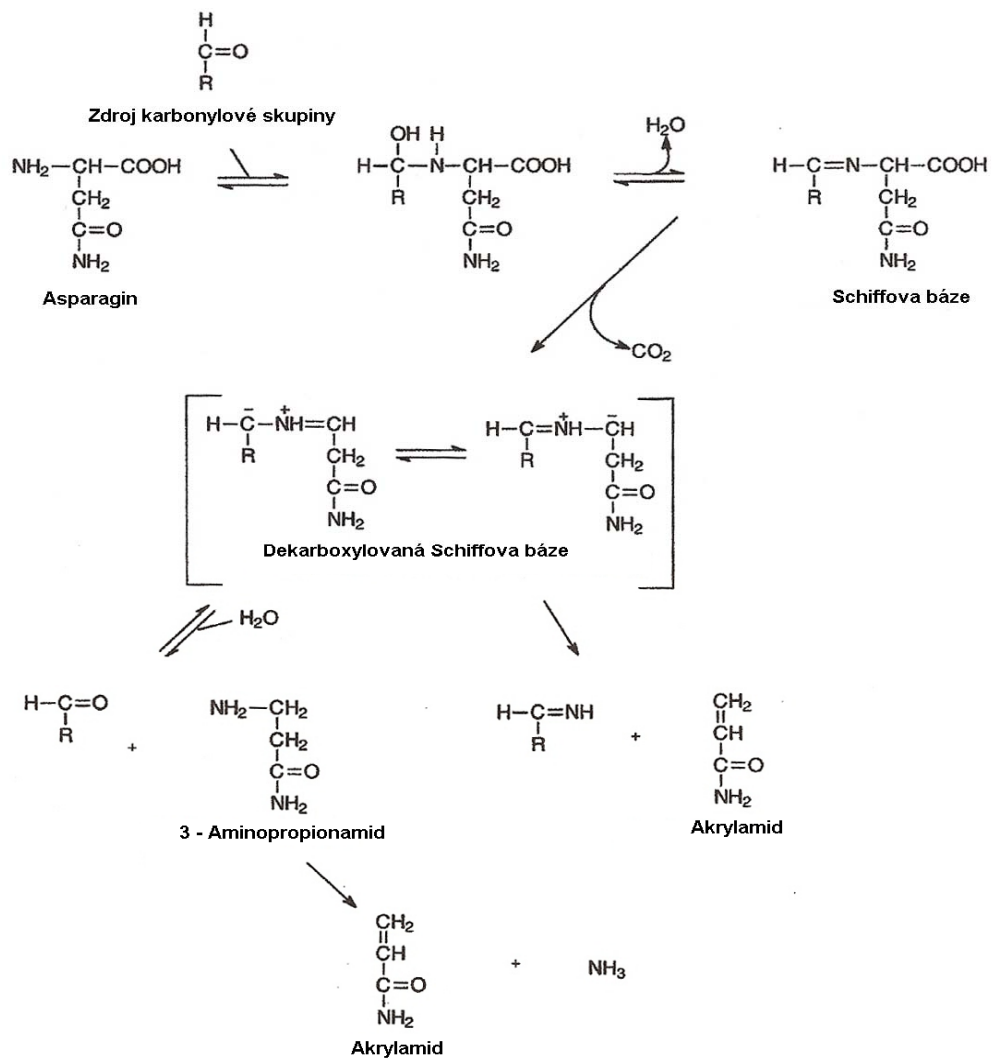


Schéma 1 Vznik akrylamidu v Maillardovej reakcii (Taeymans, 2004).

Finálna  $\beta$ - eliminácia (Stadler et al., 2002, JIFSAN, 2004; Mottram, 2002) je limitovaná krokom a táto cesta tvorby akrylamidu je okrajová. V podmienkach s vyššou vlhkosťou Schiffova báza môže dekarboxylovať na stabilný azometínylid, ktorý po tautomerizácii vedie ku vzniku dekarboxylovaného Amadariho produktu. K tvorbe akrylamidu dochádza priamo rozštiepením azometín-ylidu alebo jeho hydrolyzou za vzniku 3- aminopropánamidu (Stadler et al., 2004; Granvogl et al., 2004). Dekarboxylovaný Amadariho produkt vzniknutý reakciou asparagínu s redukujúcimi sacharidmi je kľúčovým prekursorom akrylamidu. Oba dekarboxylované produkty môžu tvoriť akrylamid buď priamo alebo nepriamo cez 3- aminopropánamid. Dekarboxylovaná Schiffova báza môže hydrolyzovať a uvoľňovať 3- aminopropánamid, alebo tiež podliehať 1,2 eliminácii za priameho vzniku akrylamidu (Yaylayan a Stadler, 2005). Za určitých podmienok sa môže na tvorbe akrylamidu podieľať aj akroleín a kyselina akrylová po reakcii s asparagínom, k čomu môže dôjsť v potravinách bohatých na lipidy (Yashuhara et al., 2003). Množstvo vzniknutého akrylamidu je závislé na dostupnosti redukujúcich sacharidov a asparagínu. Rýchlosť tvorby je aproximovaná z biomolekulárnych reakcií glukózy, resp. fruktózy a asparagínom (Biedermann a Grob, 2003). Ketosacharidy (fruktóza) sú efektívnejšie v tvorbe akrylamidu pri relatívne nízkej teplote a nízkej vlhkosti v porovnaní s aldosesacharidmi (glukóza).

Na reakciách neenzýmového hnednutia sprevádzajúceho Maillardovu reakciu sa zúčastňujú aj ďalšie karbonylové zlúčeniny (aldehydy, ketóny, sacharidy, lipidy) a aminozlúčeniny (amoniak, alkylamíny, aminokyseliny, proteíny, peptidy a fosfolipidy) za vzniku veľkého množstva zlúčenín. Akrylamid je vo všeobecnosti tvorený v potravinách bohatých na škrob, avšak vplyv škrobu je limitovaný viac fyzikálnymi ako chemickými vlastnosťami škrobu (Yashuhara et al., 2003).

### **3.7 Minimalizácia obsahu akrylamidu v potravinách**

Asparagín, glukóza a fruktóza sú považované za hlavné prekursorov tvorby akrylamidu, pričom asparagín so svoju amidovou skupinou tvorí základ molekuly akrylamidu. Z doteraz poznaného mechanizmu tvorby akrylamidu v tepelne upravovaných potravinách je možné uvažovať o spôsoboch eliminácie vzniku akrylamidu v potravinách buď cestou znižovania obsahu asparagínu alebo redukciou obsahu sacharidov, zásahom do mechanizmu elimináciou prekursorov alebo úpravou technologického procesu spracovania potravín. Výber spôsobu je podmienený mnohými faktormi (zachovanie senzoryckých vlastností a kvalitatívnych

vlastností výrobku, mikrobiologická bezpečnosť, technologická náročnosť spracovania a i.) (Biedermann et al., 2002).

### **3.7.1 Minimalizácia obsahu akrylamidu v raňajkových cereáliách**

V dôsledku veľkého počtu rôznych receptov, obilnín, prísad, postupov, ktoré sa používajú pri raňajkových cereálnych výrobkoch, neexistuje jednotný jednoduchý spôsob, ktorým by sa znížila tvorba akrylamidu. Napríklad cereálne produkty na báze pšenice obsahujú vo všeobecnosti viac akrylamidu ako cereálne produkty na báze ryže alebo kukurice. Odporúča sa výrobcovi aby obmedzili používanie redukujúcich cukrov vo fáze tepelnej úpravy. Obmedziť pridávanie prísad k cereáliám. Zníženie teploty a predĺženie času tepelného spracovania, ale pri dosiahnutí rovnakej konečnej vlhkosti, bolo pri niektorých výrobkoch účinné na zníženie množstva akrylamidu. Snažiť sa zachovať jednotnú farbu celého produktu, tmavšie časti obsahujú najviac akrylamidu ([www.efet.gr](http://www.efet.gr)).

### **3.7.2 Minimalizácia obsahu akrylamidu v sušienkach, keksoch a suchároch**

Akrylamid vzniká reakciou asparagínu- aminokyseliny, ktorá sa prirodzene nachádza v múke, a redukujúcich cukroch, napríklad glukózy a fruktózy. Pri použití kypriacich látok na výrobu tvrdých sladkých sušienok je vhodné hydrogénuhličitan amónny nahradiť inou kypriacou látkou. Alternatívou je uhličitan draselný s vínanom draselným alebo difosforečnan sodný s hydrogénuhličitanom sodným. Pri výrobkoch ako perníky by sa mala fruktóza nahrádzať glukózou a používať len glukózové sirupy s nízkym obsahom fruktózy. Celozrnné výrobky sú z nutričného a chuťového hľadiska vhodné ale pri menšom podiele celozrnej múky pretože sa vytvorí menšie množstvo akrylamidu. Na zníženie obsahu akrylamidu sa osvedčila nižšia teplota a dlhší čas pečenia pri zachovaní rovnakej konečnej vlhkosti. Výrobok bude mať automaticky menej hnedú farbu. Nesmie sa však stať, že výrobok bude nedopečený, pretože pri skladovaní by mohlo dôjsť k mikrobiálnej kontaminácii ([www.efet.gr](http://www.efet.gr)).

### **3.7.3 Minimalizácia obsahu akrylamidu v zemiakových lupienkoch**

Množstvo vytvoreného akrylamidu závisí od teploty, doby tepelnej úpravy, množstva asparagínu a redukujúcich cukrov v zemiakoch. Odporúča sa vyberať si zemiaky s nízkym obsahom cukrov podľa možnosti menej ako 0,3 %. Nepoužívať zemiaky skladované pri

teplote menšej ako 6 °C. Skontrolovať podmienky skladovania od poľnohospodárskeho podniku po spracovateľský závod. Zemiakové plátky umývať v teplej až horúcej vode, čím sa odstráni nadbytočný cukor. Prispôbiť teplotu, dobu smaženia a ostatné nastavenia tak, aby konečný produkt mal zlatisto-žltú farbu. Dlhším smažením pri nižšej teplote sa v produkte zvýši obsah tuku. Vákuovým smažením je možné spracúvať zemiaky a vysokým obsahom cukrov. Pri rýchlom vysmážení sa odporúča rýchle schladenie ([www.efet.gr](http://www.efet.gr)).

### 3.7.4 Minimalizácia obsahu akrylamidu v smažených zemiakových výrobkoch

Vyberať zemiaky s nízkym obsahom cukrov. Nepoužívať zemiaky skladované pri teplote menšej ako 6 °C. Skontrolovať podmienky skladovania od poľnohospodárskeho podniku po spracovateľský závod. Blanširovať zemiaky vo vode, čím sa zníži hladina cukru pred tepelnou úpravou. Pridaním pyrofosfátu sodného v poslednom štádiu blanširovania sa zníži obsah akrylamidu v konečnom produkte. Akrylamid sa tvorí najmä v poslednom štádiu tepelnej úpravy. V predsmažených hranolčekoch je veľmi malé takmer žiadne množstvo akrylamidu. Treba dohliadať na teplotu, ktorá by nemala prekročiť 175 °C a dobu konečnej tepelnej úpravy. Pri tepelnej úprave sa snažiť dosiahnuť svetlejšiu zlatistú farbu ([www.efet.gr](http://www.efet.gr)).

Tab. 1 Priemerné teploty povrchu zemiakov, teploty oleja a obsahu akrylamidu behom rôznej doby smaženia

Doba smaženia (min.)	Priemerná teplota povrchu zemiaka °C	Priemerná teplota oleja °C	Akrylamid $\mu\text{g.kg}^{-1}$
5	124,08 ± 2,02	146,36 ± 2,47	68,14 ± 8
7	131,19 ± 6,33	152,59 ± 6,59	280,09 ± 20
9	136,74 ± 8,43	160,28 ± 10,96	830,10 ± 100

Zdroj: Romani et al., 2008

### 3.7.5 Minimalizácia obsahu akrylamidu v káve

Obsah akrylamidu v káve závisí od druhu, šarže, podmienok praženia, v prípade rozpustnej kávy aj od podmienok extrakcie a sušenia. Rozsah teplôt praženia je od 220 do 250 °C, doba praženia a rýchlosť podstatne ovplyvňujú sensorické vlastnosti kávy, ktoré sú charakteristické pre jednotlivé kávové produkty. Priemerný obsah akrylamidu v praženej zrnkovej káve sa pohybuje od 170 do 351  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  (Friedman, 2003). Pri porovnaní dvoch druhov kávy (Robusta a Arabica) je vyšší obsah akrylamidu v káve typu Robusta, čo súvisí s mierne vyššou koncentráciou voľného asparagínu v tomto type kávy (CIAA, 2004).

Akrylamid je v káve tvorený na začiatku procesu praženia kávových zŕn (Friedman, 2003). Silnejšie pražené kávy majú nižší obsah akrylamidu (cca 5  $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  výluhu) ako stredne alebo slabo pražené (cca 10  $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$  výluhu) (Studer et al., 2004). Súvisí to s eliminačnými reakciami, ktoré prevládajú ku koncu dlhšie trvajúceho praženia kávy pri vyšších teplotách.

Možnosti na zníženie obsahu akrylamidu sú v prípade kávy značne obmedzené, jednak je to úzky rozsah obsahu asparagínu v kávových zrnách, nezávislosť obsahu akrylamidu v od koncentrácie sacharidov v zelených zrnách, jednak špecifickosť procesu spracovania kávy, v ktorom už malá zmena má veľký dosah na sensorické vlastnosti a kvalitu kávy. Na redukciiu obsahu už vzniknutého akrylamidu bolo použitých už viacero spôsobov (Friedman, 2003) napríklad kyslá alebo enzýmová hydrolýza amidovej skupiny akrylamidu na kyselinu akrylovú a amoniak, polymerizácia akrylamidu na netoxický polyakrylamid pôsobením UV žiarenia, radiácie alebo voľnými radikálmi prítomnými vo fenolických zlúčeninách, flavonoidoch, Maillardových produktoch (melanín), tryptofáne, v niektorých mastných kyselinách (kyselina arachidónová), reakcia akrylamidu so skupinou SH aminokyselín, esterov, peptidov a proteínov, úprava pH kyselinou citrónovou počas pečenia a smaženia (Jung et al., 2003). Tieto postupy majú však vážne obmedzenia v reálnych systémoch, pretože priamo zasahujú do kvality výrobku ([www.efet.gr](http://www.efet.gr)).

Tab. 2 Potraviny s najčastejším výskytom akrylamidu

Potravinové produkty	Počet vzoriek	Koncentrácia akrylamidu [ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ]	
		Stredná hodnota	Max. hodnota
Cereálie a cereálne produkty	3304	343	7834
Cereálie a cestoviny surové a varené	113	15	47
Cereálie a cestoviny spracované (opekané, smažené, grilované)	200	123	820
Produkty na báze cereálie, všetky	2991	366	7834
Chlieb a rožky	1294	446	3436
Pečivo a keksy	1270	350	7834
Raňajkové cereálie	369	96	1346
Pizza	58	33	763
Ryby a morské produkty	52	25	233
Mäso a vnútornosti	138	19	313
Mlieko a mliečne produkty	62	5,8	36
Orechy a olejoviny	81	84	1925
Strukoviny	44	51	320
Hľuzoviny	2068	477	5312
Zemiakové pyré/zemiaková káva/varené zemiaky	33	16	69
Pečené zemiaky	22	169	1270
Zemiakové lupienky	874	752	4080
Zemiakové hranolky	1097	334	5312
Zemiakové krokety (mrazené)	42	110	750
Stimulanty a ich analógy	469	509	7300
Káva (výluh), hotová	93	13	116
Káva (mletá, instantná alebo pražená, nie výluh)	205	288	1291
Kávové extrakty	20	1100	4948
Bezkofeínová káva	26	668	5399
Kávoviny	73	845	7300
Kakaové produkty	23	220	909
Zelený čaj ("pražený")	29	306	660
Cukrovinky a med (hlavne čokoláda)	58	24	112
Zelenina	84	17	202
Surová, varená alebo konzervovaná	45	4,2	25
Tepelne spracovaná (opekaná, pečená, smažená, grilovaná)	39	59	202
Ovocie čerstvé	11	<1	10
Ovocie sušené, smažené, tepelne spracované	37	131	770
Alkoholické nápoje (pivo, gin, víno)	66	6.6	46
Chuťové prísady a omáčky	19	71	1168
Sušené mlieko pre detskú výživu	82	<5	15
Detská výživa (konzervovaná, zaváraná)	96	22	121
Detská výživa (sušená)	24	16	73
Detská výživa (piškóty, sucháre atď.)	32	181	1217
Sušené potraviny	13	121	1184

Zdroj: JECFA, 2005

### 3.8 Zdravotné nebezpečenstvo akrylamidu

Expozícia vysokými hodnotami akrylamidu zapríčiňuje poškodenie nervového systému. Akrylamid je tak predpokladaný reproduktívny toxín s mutagénnymi a karcinogénnymi vlastnosťami, ako preukázali štúdie *in vitro* a *in vivo* v cicavcoch (Standler, 2004). Akrylamid je v tele metabolizovaný na glycidamid, vďaka reaktívnym zložkám vznikajúcim epoxidáciou dvojitej väzby. Toxikologický efekt bol študovaný na pokusných zvieracích modeloch. Vysoká dávka poškodzuje DNA (Standler et al., 2004). Bol opísaný karcinogénny efekt u hlodavcov, ale karcinogenita u človeka nebola doposiaľ demonštrovaná v epidemiologickej štúdii, hoci ju nemožno vylúčiť (Mendel, 2003). Medzinárodná agentúra pre výskum rakoviny IARC klasifikovala akrylamid ako predpokladaný ľudský karcinogén (skupina 2A). Neurologický efekt bol zaznamenaný u ľudí vystavených expozícii akrylamidu.

Použitie a toxický efekt akrylamidu je kontrolovaný IARC a Európskou úniou. Zlúčeniny, ktoré sú reaktívne majú v ľudskom tele krátku životnosť. Tá môže byť demonštrovaná skrz stabilné produkty adukty chemickej reakcie s biomakromolekulami, ako sú hemoglobín (Hb) v krvi. Adukt je formovaný ako produkt reakcie medzi  $\alpha$ -NH<sub>2</sub> skupinami N-terminálneho Hb, ako s akrylamidu [N-(2-karbamoylethyl)-L-valín] (AAVal), tak s glyciamidom [N-(2-karbamoyl-2-hydroxyetyl)-valín] (Mendel, 2003). Menovaný adukt, [N-(2-karbamoylethyl)-L-valín] je vytváraný v krvi osôb a zvierat vystavených expozícii akrylamidu. Adukty Hb sú akumulované počas životnosti proteínov (okolo 4 mesiacov u človeka). Adukty Hb nie sú indikátory toxického účinku, ale môžu byť použité pre odhalenie veľkosti a odhadu príjmu. V niektorých štúdiách bolo preukázané, že adukt sa vyskytoval aj v krvi ľudí bez známej expozície akrylamidu, medzi ktorými bolo vysoké percento fajčiarov (výskytu akrylamidu v cigaretovom dyme). Akrylamid je tiež slabo reaktívny s DNA *in vitro* a vytvára tu adukty s dusíkovým atómom heterocyklu a mimo jadernými aminoskupinami adenínu a guanín. Biologický význam týchto aduktov purínových zvyškov je potrebné objasniť, pretože nie všetky adukty DNA sú promutagénne (Rice, 2005).

#### 3.8.1 Toxicita

Toxický efekt akrylamidu nastáva po orálnej aj dermálnej expozícii a veľmi rýchlo sa vstrebáva v gastrointestinálnom trakte.

Akrylamid bol objavený v ľudskom materskom mlieku. Pre človeka je akrylamid dráždivý na koži a pre dýchací systém. Pri dlhodobom podávaní malých dávok sa nepriaznivé účinky



prejavili v celkovej toxicite a zmenami krvného obrazu. Adukty akrylamidu a jeho metabolity sa objavili v krvnom obraze ([www.epa.gov](http://www.epa.gov)).

### 3.8.2 Neurotoxická

Akrylamid pôsobí na centrálnu a periférnu nervovú sústavu. Výsledkom pôsobenia sú malátnosť, halucinácie, necitlivosť periférnych častí tela a ataxia. Príznaky zmiznú po skončení expozície. NOAEL pre neuropatiu je 0,5 mg • kg<sup>-1</sup> za deň (Amrein et al., 2007).

### 3.8.3 Karcinogenita

V dnešnej dobe sú zatiaľ výsledky zo štúdií na ľudských objektoch nedostatočné. Výsledky laboratórií, ktoré sa zaoberali účinkami akrylamidu na zvieratá preukázali širokú škálu nádorov u myši a potkanov. Akrylamid bol zaradený IARC do skupiny 2A a je definovaný ako možný ľudský karcinogén (Ötles, 2004). Pri testovaní zvierat boli vykonávané nasledujúcim spôsobom: samiciam a samcom boli podávané dávky 0,01; 0,1; 0,5 a 2 mg.kg<sup>-1</sup> na deň v pitnej vode po dobu 2 rokov (USEPA 1994). Výsledky ukázali, že u dvoch najvyšších dávok sa štatisticky zvýšil počet nádorov miešku, nadobličiek, štítnej žľazy, CNS, mliečnej žľazy, ústnej dutiny a maternice. Akrylamid môže tiež spôsobiť rakovinu pľúc a kože, ak sa podával do žalúdka, pod kožu a do pobrušnice. Samiciam a samcom myši boli podávané dávky 6,25; 12,5; 25 mg.kg<sup>-1</sup> trikrát týždenne po dobu 8 týždňov do žalúdka.

Výsledkom bolo zistenie benígneho nádoru pľúc. Výsledky štúdií ukazujú, že myši sú k akrylamidu 10x citlivejšie ako potkany. Metabolit akrylamidu glyciamid je pravdepodobne hlavným karcinogén hľadavcov. Hladiny aduktov hemoglobínu z glyciamidu boli 3 - 10x vyššie u myši ako u potkanov. Pravdepodobnosť karcinogenity akrylamidu je potreba preskúmať na štúdiách na primátoch (Mendel, 2003). Pri štúdiách na myšiach a potkanoch sa ukázalo, že glyciamid je 100 - 1000x reaktívnejší s DNA ako akrylamid (Mendel, 2003).

### 3.8.4 Reprodukčná toxicita

Reprodukčná toxicita bola testovaná na myšiach. Na testovanie boli izolované myšie testikulárne bunky a lymfocyty (primárne bunky). Pri testovaní boli použité lymfocyty z periférnej krvi od ľudí. Gélová elektroforéza bola použitá na meranie úrovne poškodenia DNA po *in vitro* expozícii akrylamidu a glycidamidu na myšiach a ľudských bunkách. Pri

d'alšom testovaní bolo preukázaný genotoxický účinok na ľudských lymfocytoch. Materská zlúčenina bola podľa očakávaní veľmi aktívna. Z toho vyplynulo, že ľudské bunky semenníkov môžu byť zvlášť citlivé na aktívny metabolit akrylamidu glycidamid ([www.heatox.org](http://www.heatox.org)).

Pre odhad možného zdravotného rizika boli pre akrylamid vytvorené nasledujúce body:

- Ľudia môžu byť vystavený expozícii akrylamidu vďaka jeho obsahu v strave a v environmentálnych zdrojoch a príjem teda môže prebiehať rôznymi cestami vstupu.
- Akrylamid je biologické činidlo reagujúce s DNA, esenciálnymi bielkovinami a enzýmami, zapríčiňuje genotoxicitu, poškodenie chromozómov a génovú mutáciu v telových a pohlavných bunkách.
- Zvyšuje výskyt rakoviny u potkanov v dávke 1 - 2 mg.kg<sup>-1</sup> telesnej hmotnosti
- U zvierat bola preukázaná toxicita, neurotoxicita a karcinogenita
- Je to kumulatívny neurotoxín
- Výsledky štúdií s čistým akrylamidom preukázali, že jeho účinky nie sú porovnateľné s akrylamidom obsiahnutým v potrave pretože môže obsahovať aj iné potencionálne toxické zlúčeniny (aflatoxín B<sub>1</sub>, furfuraldehyd, mutagénne a karcinogénne heterocyklické amíny). Tieto látky môžu mať aditívny, synergický alebo antagonistický efekt na biologické účinky akrylamidu (Mendel, 2003).

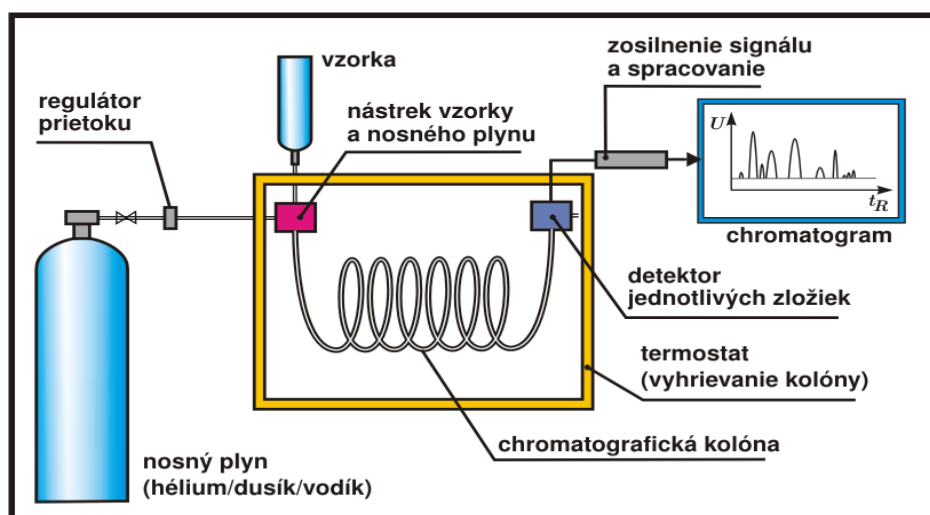
### 3.9 Metódy zisťovania akrylamidu

Plynová chromatografia (GC) je chromatografická metóda, pri ktorej je mobilnou fázou plyn. Je vhodná na separáciu plyných a nízkovriacich kvapalných zmesí ([www.wikipedia.org](http://www.wikipedia.org)). Plynovou chromatografiou možno analyzovať všetky plyné, kvapalné a tuhé látky, ktoré sú v chromatografických podmienkach prchavé a stabilné, ako i látky, ktoré možno chemickými premenami na takéto upraviť. Plynová chromatografia sa používa najmä ako analytická metóda, umožňuje však uskutočniť i separácie v preparatívnom, resp. výrobnom meradle (Soják et al., 1989).

Medzi hlavné časti plynového chromatografu patrí:

- Injektor – slúži na nástrek vzorky
- Regulátor prietoku - zabezpečuje konštantný prietok nosného plynu a vzorky kolónou
- Zásobník nosného plynu – nosný plyn tvorí mobilnú fázu. Najčastejšie býva nosným plynom hélium, vodík, dusík, zriedkavejšie argón
- Termostat – vyhrieva kolónu a udržuje jej stálu teplotu
- Kolóna – samotné miesto separácie plynovej zmesi. Rozoznávame
  - náplňové kolóny - (dĺžka 0,5 až 5 m, priemer 2 až 5 mm) - sú stacionárnou fázou naplnené
  - kapilárne kolóny - (dĺžka 10 až 100 m, priemer 0,01 až 0,5 mm) – stacionárna fáza tvorí len povrch kolóny
- Detektor – zaznamenáva elúciu (vyplavovanie) zložiek už separovanej zmesi
- Vyhodnocovacie zariadenie (integrátor) v súčasnosti osobný počítač s príslušným softvérovým vybavením ([www.wikipedia.org](http://www.wikipedia.org)).

Obr. 2 Schematický náčrt plynového chromatografu



Zdroj:www.wikipedia.org

Podmienkou toho, aby sme mohli zmes rozdeliť pomocou plynovej chromatografie je, že zmes musí byť plynná resp. ľahko odpariteľná (kvapalina musí mať teplotu varu maximálne 200 - 250 °C). Podmienkou pre separáciu zložiek zmesi pomocou plynovej chromatografie je, že analyzovaná zmes musí byť plynná, alebo ľahko odpariteľná (kvapalina musí mať teplotu varu max. 200—250 °C). Malé množstvo vzorky sa dávkuje cez injektor (1 -10 µl kvapalnej vzorky, 1- 10 ml plynnej vzorky) sa jednorázovo dávkuje cez injektor do prúdu nosného plynu. V injektore sa vzorka zohreje, prípadne odparí a nosným plynom je unášaná do kolóny V kolóne dochádza k separácii zložiek zmesi podľa toho, akú afinitu vykazujú tieto zložky k stacionárnej fáze. Prvá vychádza z kolóny zložka, ktorá má k nej najnižšiu afinitu (je najslabšie zadržovaná stacionárnou fázou). Ako posledná vychádza zložka, ktorá má k stacionárnej fáze (je najsilnejšie zadržovaná v kolóne). Výstup už rozdelených zložiek zmesi z kolóny zaznamenáva detektor. Z detektora vychádza elektrický, signál ktorý je spracovaný vyhodnocovacím zariadením (PC). Konečným výstupom je chromatografický záznam chromatogram, ktorý obsahuje tzv. píky, prislúchajúce jednotlivým zložkám zmesi. Poloha píku na časovej osi chromatogramu je mierou kvality zložky (identifikuje zložku), hovorí o tom čo je to za zlúčeninu. Výška resp. plocha píku je mierou kvantity zložky v separovanej zmesi, hovorí o tom koľko je danej zložky v zmesi. Kvapalinová chromatografia (LC) je chromatografická metóda, pri ktorej je mobilnou fázou kvapalina. Je vhodná na separáciu kvapalných resp. v kvapaline rozpustených zmesí.

Medzi hlavné časti kvapalinového chromatografu patrí:

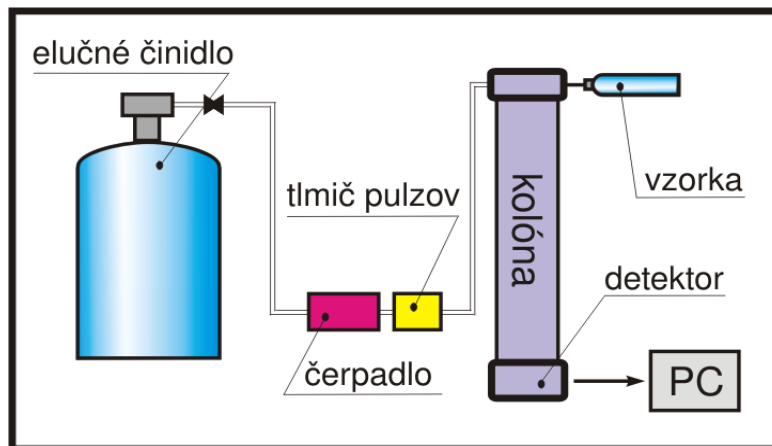
- Zásobná fľaša - slúži ako zdroj elučného činidla (mobilná fáza). Tu sa elučné činidlo aj uchováva
- Čerpadlo - prečerpáva elučné činidlo zo zásobnej fľaše na temeno kolóny
- Tlmič pulzov - zabezpečuje ustálený prietok elučného činidla do kolóny
- Kolóna - podobne ako pri plynovej chromatografii je to miesto samotnej separácie kolóny pre kvapalinovú chromatografiu majú priemer 2 až 2 cm a dĺžku 10 až 100 cm
- Detektor - deteguje vyplavované zložky z kolóny
- Vyhodnocovacie zariadenie (integrátor) – väčšinou osobný počítač s príslušným softvérovým vybavením ([www.wikipedia.org](http://www.wikipedia.org)).

Elučné činidlo (mobilná fáza) prúdi pomocou čerpadla a prechádza cez tlmič pulzov, kde sa stabilizuje jeho prietok cez kolóny. Mobilná fáza a vzorka vstupujú temenom do kolóny a nastáva separácia zložiek v dôsledku rôznej afinity zložiek k stacionárnej fáze. Po určitom čase (retenčný čas) začnú jednotlivé zložky kolónu opúšťať nastáva elúcia. Vychádzajúce zložky zaznamenáva detektor a jeho signál je ďalej spracovaný integrátorom (počítač). Detektor v kvapalinovej chromatografii je zariadenie, ktoré premieňa analytický signál (elúciu zložiek zmesi) na elektrický signál, ktorý je ďalej spracúvaný. Voľba detektora je závislá od povahy separovanej zmesi aj od povahy mobilnej fázy.

Základné typy detektorov používaných v kvapalinovej chromatografii:

- fotometrický detektor (meria absorpciu žiarenia)
- konduktometrický detektor (meria vodivosť eluátu)
- voltampérometrický detektor

Obr. 3 Zjednodušená schéma kvapalinového chromatografu



Zdroj:www.wikipedia.org

Pre stanovenie akrylamidu v potravinách sa najčastejšie používa plynová chromatografia s hmotnostnou spektrometriou (GC- MS) a vysokoúčinná kvapalinová chromatografia s hmotnostnou spektrometriou (LC-MS/MS) (Taeymans et al., 2004). Akrylamid možno bromáciou na dvojitú väzbu skonvertovať na 2,3-dibromopropionamide a ten následne stanoviť pomocou plynovej chromatografie s detektorom elektrónového záchytu alebo plameňovo ionizačného detektora. Debromináciu 2,3-dibromopropionamidu možno získať stabilnejší 2-bromopropénamid a ten následne stanoviť pomocou elektrónového záchytu a plameňovo ionizačného detektora. Akrylamid je možné stanoviť po bromácii alebo na priamo technikou plynovej chromatografie v spojení s hmotnostnou spektrometriou.

Vzhľadom na to, že akrylamid neposkytuje špecifické absorpčné maximá pri stanovení pomocou DAD detekcie, spravidla sa analyzuje v oblasti pod 200 nm, kde je značné množstvo interferentov, je možné jeho stanovenie bez bromácie len pri vyšších koncentráciách. Po bromácii je možné stanovenie aj nižších koncentrácií. Najpoužívanejšou technikou je kvapalinová chromatografia s hmotnostnou spektrometriou (Vlčáková, Vieriková, 2010). K účinnej separácii je potrebné použiť dostatočne malé zrníčka sorbentu, ktoré kladú prestupujúcej kvapaline značný odpor. Z tohto dôvodu je nutné pracovať pri vysokom tlaku. Najnižšie hladiny akrylamidu, ktoré môžeme touto metódou detegovať sú v rozmedzí 20-50  $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ .

## 4 ZÁVER

Akrylamid je látka, ktorá vzniká v určitých potravinách pri ich technologickom spracovaní. Vzniká najmä v potravinách, ktoré sú bohaté uhľohydráty. O akrylamid v súvislosti s potravinami sa začali vedci zaujímať až v roku 2002. Pred tým sa používal len v priemysle na výrobu polyakrylamidových gélov. Je to látka, ktorá bola zaradená medzi potencionálne karcinogény. Karcinogénne účinky boli testované najmä na zvieratách.

Najväčšie riziko predstavuje akrylamid v potravinách a jeho expozícia z potravín na človeka. Vzhľadom na jeho vysoké koncentrácie v potravinách je nepravdepodobná kontaminácia z vonkajšieho prostredia pri bežných podmienkach alebo napríklad z obalov, obalových materiálov a pitnej vody.

WHO spolu s celou radou ostatných organizácií sa zaoberá obsahom akrylamidu v potravinách. Potravinárske podniky by sa mali snažiť hladiny akrylamidu v potravinách znižovať. Zvoliť vhodné výrobné a pracovné postupy pri spracovaní potravín. Škodlivé suroviny a prídavné látky, ktoré sa používajú na výrobu potravín nahradiť menej škodlivými. Ľudia veľmi nie sú informovaný čo je akrylamid, aká je to látka a, že vzniká v potravinách. Preto by malo byť viac dostupných informácií o tejto látke.

## POUŽITÁ LITERATÚRA

1. AMREIN, T., - ANDRES, L., - ESCHER, F. 2007. Occurrence of acrylamide in selected foods and mitigation options, *In Food Additives and Contaminants*. roč. 24, 2007, s. 13 – 25.
2. BASKAM, S., - ERIM BEDIA, F., - NACE. 2007. For analysis of acrylamide in food. *In Electrophoresis*, roč. 28, 2007, s. 4108-4113.
3. BECALSKI, A., – LAU, B. P., – Y. – LEWIS, D.- SEAMAN, S. W. Acrylamide in Foods: Occurrence, Sources, and Modeling. *In Journal of Agricultural and Food Chemistry*, roč. 51, 2003, s. 802-808.
4. BIEDERMAN, M.,-GROB, K. 2003. Model studies on acrylamide formation in potato, wheat flour and corn starch, ways to reduce acrylamide contentsa in bakery ware. *In Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchung und Hygiene*, 2003, vol. 94, p. 406
5. BIEDERMANN, M., - NOTI, A., BIEDERMANN-BREM, S., MOZZETTI, V., GROB, K. 2002. Experiments on acrylamide formation and possibilities to decrease the potential of acrylamide formation in potatoes. *In Mitt. Lebensm. Hyg.*, 93, 2002, 668–687.
6. CLAUS, A., – CARLE, R., – SCHIEBER, A. 2008. Acrylamide in cereal products: *In A review Journal of Cereal Science*, roč. 47, 2008, s.118-133.
7. CIESEROVÁ, Z. 2005. Minimalizácia obsahu akrylamidu v potravinách. 2005. *Chemické listy*, 2005, roč. 99, č. 7, s. 483 – 491
8. CIAA: 2004. *Acrylamide Status Report*, Brussel 2004, A summary of the efforts and progress achieved to date by the European Food and Drink Industry in lowering levels of acrylamide in food.Brussel 2004
9. EPA – *Acrylamide*, [cit.10.5.2011]. Dostupné na: <http://www.epa.gov/iris/subst/0286.htm>,
10. ERIKSSON, J. 2005. Acrylamide in food products: Identifikation, formation and analytical technology. Ph. D. Thesis. Stockholm: Stockholm University, Department of Environmental Chemistry, 2005, 19 s.
11. ERIKSON, J. 2005. Acrylamide in food products: Identifikation, formation and analytical technology. Ph. D. Thesis. Stockholm: Stockholm University, Department of Environmental Chemistry, 2005, 91 s.
12. FRIEDMAN, M., J. 2003. Chemistry, Biochemistry and Safety of Acrylamide. *In Journal Agricultural Food Chem.*, 51,str. 4504- 4526.



13. GIRMA, K. B., – LORENZ, V., – BLAUROCK, S., – EDELMANN, F. T.  
2005. Coordination chemistry of acrylamide. *In Coordination Chemistry Reviews*, roč. 249, 2005, s. 1283-1293.
14. GRANVOGL, M. et al. 2004: Quantitation of 3- aminopropionamide in potatoes- a minor but potent precursor in acrylamide formation. *In Journal of Agricultural and Food Chemistry* vol. 52, 2004, p. 475.
15. GÖKMEN, V., - SENYUVA, H. Z. 2006. Study of colour and acrylamide formation in coffee, wheat flour and potato chips during heating, *In Food Chemistry*, č. 99, 2006, s. 238-243
16. HEATOX FINAL report. 2007. Heat-generated food toxicants: identification, characterisation and risk minimisation, 2007, str. 35-37, Dostupné na: [www.heattox.org](http://www.heattox.org)
17. HORIUCHI, S et al., 2002 : Maillard Reaction in Food Chemistry and Medical Sciences. *In International Congress Series* 1245. Elsevier Science, Amsterdam 2002
18. [http://sk.wikipedia.org/wiki/Kvapalinová\\_chromatografia](http://sk.wikipedia.org/wiki/Kvapalinová_chromatografia)
19. [http://sk.wikipedia.org/wiki/Plynová\\_chromatografia](http://sk.wikipedia.org/wiki/Plynová_chromatografia)
21. JECFA: Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives, 64th meeting, Rome, 8–17 Februar 2005.
22. JIFSAN: 2004 Acrylamide in Food Workshop, Chicago, April 2004, str. 1-4.
23. JUNG, M. Y., - CHOI D. S., - JU, J. W.: J. 2003. A Novel Technique for Limitation of Acrylamide Formation in Fried and Baked Corn Chips and in French Fries. *In Food Sciences* , roč. 68, 2003, s. 1287.
24. MENDEL, F. 2003. Chemistry, Biochemistry, and Safety of Acrylamide. *A Review Journal of Agricultural and Food Chemistry*, roč. 51, 2003, č. 16, s. 4512.
25. MOTTRAM, D.S- WEDZICHA, B.L – DODSON, A.T. 2002: Acrylamide is formed in the Maillard reaction. *In Nature*, vol. 419, 2002, p. 448-449.
26. OSHA - Occupational Safety and Health Administration, U. S Department of Labor. Acrylamide. [cit. 12.3.2011]. Dostupné na:  
<http://www.oshaslc.gov/dts/sltc/methods/organic/org021/org021.html>,
27. RICE, M. J. 2005. The carcinogenicity of acrylamide. *In Mutation Research*, č. 580, 2005, s. 3 – 20
28. ROMANI, S., - BACCHIOCCA, M., - ROCCULI, P. 2008. Effect of frying time on acrylamide content and quality aspects of French fries, *In European Food Research and Technology*, 2008, č. 226, s. 555-560.

29. SMITH, C. J., - PERFETTI, T. A., - RUMPLE M., A., - RODGMAN, A., - DOOLITTLE D. J. 2000. IARC carcinogens reported in cigarette mainstream smoke and their calculated log P values, *In Food Chem. Toxicol.* vol. 38, 2000.s. 371.
30. SOJÁK et al.,:1989. Separáčné metódy v organickej chémii, Univerzita Komenského v Bratislave, 1989.
31. STADLER, R. H., - BLANK I., - VARGA, N., - ROBERT F., - HAU, J., - GUY P. A., ROBERT, M. C., - RIEDIKER, S. 2002. Acrylamide formed in Maillard reaction. *In Nature*, vol. 419, 2002, p. 449.
32. STADLER, R. H. et al. 2004: In- depth mechanistic study on the formation of acrylamid and other vinylogous compounds by the Maillard reaction. *In Journal of Agricultural and Food Chemistry* , vol. 52, 2004, p. 55-50.
33. STANDLER, R. H., - SCHOLZ, G. 2004. Acrylamide: Update on Current Knowledge in Analysis, Levels in Food, Mechanism of Formation, and Potential Strategie of Kontrol. *In Nutrition reviews*, roč. 62, 2004, č. 12, s. 449 – 467
34. STUDER, A., - BLANK, I., - STADLER, R. H. - 2004. Thermal processing Contaminants in Foodstuffs and Potential strategies of Control, *In Czech Journal of Food Sciences*, Vol. 22, Special Issue, 2004, p. 1-10
35. TAEYMANS, D., - WOOD, J., - ASHBY, P.A 2004. Review of Acrylamide: An Industry Perspective on Research, Analysis, Formation, and Control. *In Critical. In reviews in Food Science and Nutrition*, roč. 44, 2004, s. 323-347
36. US Environmental Protection Agency. [cit. 28.3.2011] Dostupné na World Wide Web: [http://www.epa.gov/opptintr/chemfact/f\\_acryla.txt](http://www.epa.gov/opptintr/chemfact/f_acryla.txt)
37. US Environmental Protection Agency. [cit.28.3.2011] Dostupné z World Wide Web:<http://www.epa.gov/iris/subst/0286.htm>
38. YAYLAYAN, V. A., - WNOROWSKI, A., - PEREZ LOCAS, C. 2003. Acrylamide Formation in Food: A Mechanistic Perspective . *In J. Agric. Food Chem.* 51, 2003,1753
39. YAYLAYAN, V.A., - STADLER, R. H. 2005. Acrylamide foramtion in food: A mechanistic perspective. *In Journal of AOCA International*, vol. 88,2005, p. 262.
40. YASHUHARA, A. et al.,2003. Gas chromatographic investigation of acrylamide formation in browing models systems. *In Journal of Agricultural an Food Chemistry*, vol. 51, 2003, p. 3999.
41. VLČÁKOVÁ, M., - VIERIKOVÁ, M. 2010. Determination of acrylamide in food by gas and liquid chromatography- mass spectrometry. *In Potravinárstvo* ,roč. 4, 2010, č. 3, str. 63-64, ISSN 1337-0960

42. ZYZAK, D. V., - SANDERS, R. A., - STOJANOVIC, M., - TALLMADGE, M.,  
EBERHART, B. L., - EWALD, D. K., - GRUBER, D. C., MORSCH, T. R.,  
STROTHERS, M. A., - RIZZI, G. P., - VILLIGRAM, M. D. 2003. Acrylamide Formation  
in Different Foods and Potential Strategies for Reductio. *In J. Agric. Food Chem.* 52,  
2003,4782.
43. [www.efet.gr](http://www.efet.gr)