

Akrilamid u hrani

Marušić, Vanesa

Master's thesis / Diplomski rad

2021

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Rijeka, Faculty of Medicine / Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:184:681671>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-09-26**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the University of Rijeka, Faculty of Medicine - FMRI Repository](#)



SVEUČILIŠTE U RIJECI
MEDICINSKI FAKULTET
DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ
SANITARNOG INŽENJERSTVA

Vanesa Marušić

AKRILAMID U HRANI

Diplomski rad

Rijeka, 2021.

SVEUČILIŠTE U RIJECI
MEDICINSKI FAKULTET
DIPLOMSKI SVEUČILIŠNI STUDIJ
SANITARNOG INŽENJERSTVA

Vanesa Marušić

AKRILAMID U HRANI

Diplomski rad

Rijeka, 2021.

Mentor rada: izv.prof.dr.sc. Sandra Pavičić Žeželj, dipl.sanit.ing.

Diplomski rad ocjenjen je dana _____ u/na _____

_____, pred povjerenstvom u sastavu:

1. _____

2. _____

3. _____

Rad sadrži _____ stranica, _____ slika, _____ tablica, _____ literaturnih navoda.

SAŽETAK

Posljednjih nekoliko destljeća povećao se interes različitih zdravstvenih institucija zaduženih za kontrolu prehrambenih namirnica u kojima tijekom toplinske obrade nastaju kemijski toksični spojevi. Akrilamid jedan je od najčešćih toksičnih spojeva koji nastaje kao posljedica Maillard-ovih reakcija između aminokiseline asparagina i reducirajućih šećera tijekom zagrijavanja hrane na temperaturama iznad 120°C. Neurotoksičnost, genotoksičnost, reproduktivna toksičnost i kancerogenost toksični su učinci akrilamida koji su do sada već ispitani i dokazani na životinjama. Akrilamid je 2002. godine klasificiran kao potencijalno kancerogeni spoj za ljude (skupina 2A). Neki od glavnih izvora akrilamida su krumpir i proizvodi od krumpira, pekarski proizvodi (kruh, keksi, kolači) kava i sl. Cilj rada bio je ustanoviti u kojim su uzorcima prisutne najveće koncentracije akrilamida te odstupaju li dobiveni rezultati od maksimalno dopuštenih koncentracija (MDK) u razdoblju od 2016. do 2020. godine u Primorsko-goranskoj županiji. Rezultati su pokazali da su najviše koncentracije akrilamida bile u uzorcima pomfrita te je samo jedan uzorak - pomfrit 3, odstupao od maksimalno dopuštenih vrijednosti.

Ključne riječi: akrilamid, toksični učinci, Maillard-ove reakcije, MDK

SUMMARY

The interest in chemically toxic compounds formed during heating has increased over the last few decades by various health care institutions in charge of food control. One of the most toxic compounds that results from Maillard reactions between the amino acid asparagine and reduces sugars during food heating at temperatures above 120°C. Neurotoxicity, genotoxicity, reproductive toxicity and carcinogenicity are toxic effects of acrylamide that have been tested on animals so far. In 2002, acrylamide was classified as a potentially carcinogenic compound for humans (group 2A). Some of the main sources of acrylamide are potatoes and potato products, bakery products (bread, biscuits, cakes), coffee, etc. The aim of the study was to determine the highest concentrations of acrylamide in tested samples and whether the obtained results deviate from maximum allowed concentrations over the period from 2016 to 2020 in Primorsko-goranska County. The results showed that highest concentrations of acrylamide were found in samples of french fries and only in one sample (french fries 3), they exceeded the benchmark limits.

Keywords: acrylamide, toxic effects, Maillard reactions, MDK

SADRŽAJ

1. UVOD	1
1.1. Akrilamid	2
1.2. Mehanizam nastajanja akrilamida.....	3
1.3. Apsorpcija, metabolizam i raspodjela akrilamida.....	4
1.4. Prisutnost akrilamida u namirnicama.....	5
1.4.1. Proizvodi od krumpira	6
1.4.2. Žitarice	7
1.4.3. Fini pekarski proizvodi	8
1.4.4. Kava	9
1.5. Smanjenje koncentracije akrilamida u namirnicama	10
1.5.1. Odabir sorte, kriteriji prihvatljivosti, skladištenje i prijevoz	10
1.5.2. Enzim asparaginaza.....	11
1.5.3. Temperatura i vrijeme toplinske obrade	12
1.5.4. Namakanje	13
1.5.5. Blanširanje	13
1.5.6. Antioksidansi, aminokiseline i vitamini.....	13
1.5.8. Dodatak otopine soli	14
1.6. Eu regulativa	14
1.7. Štetno djelovanje akrilamida.....	16
1.7.1. Oksidativni stres.....	18
1.7.2. Genotoksičnost i citotoksičnost	19
1.7.3. Neurotoksičnost	19
1.7.4. Reproduktivna toksičnost.....	20
1.8. Metode određivanja akrilamida u hrani	20
2. CILJ ISTRAŽIVANJA	22
3. MATERIJALI I METODE	23
3.1. Materijali.....	23
3.2. Statistička obrada podataka.....	24
4. REZULTATI	25
5. RASPRAVA	32
6. ZAKLJUČAK	35
7. LITERATURA	36
8. POPIS SLIKA	42
9. POPIS TABLICA	43
14. ŽIVOTOPIS	44

1. UVOD

Hrana bi trebala sadržavati sve potrebne nutrijente kako bi organizam mogao normalno funkcionirati. Svi anorganski i organski spojevi koji su prisutni u hrani, organizam koristi kao energetske, regulatorne i građevne supstance. Nažalost, namirnice koje ljudi konzumiraju često su izvor štetnih tvari, a jedna od njih je i akrilamid (1).

Toksičnost akrilamida poznata je već dugi niz godina, ali pažnja prema ovom otrovnom spoju povećala se od 2002. godine nakon njegovog prvog otkrivanja u hrani (2). Akrilamid je jedan od najčešćih toksina, javlja se kod namirnica koje su podvrgnute visokim temperaturama te je prisutan u svakodnevnoj prehrani većine ljudi. Djeca i osobe sklone velikom količinom unosa pržene hrane su najosjetljiviji dio populacije (1). Termička obrada hrane nezaobilazan je postupak u modernoj preradi hrane. Pod toplinskom obradom, poput prženja i pečenja, hrana bogata škrobom i ostalim ugljikohidratima ima karakterističan okus, boju i druge karakteristike dodane Maillardovom reakcijom, koja je glavni krivac nastanka akrilamida (3). Visoke koncentracije akrilamida mogu se naći u prehrambenim proizvodima poput prženih krumpira, čipsa, kruha ili žitarica. Iz tog razloga, prehrambena industrija već dugo vremena pokušava otkriti načine kako smanjiti visoke razine akrilamida u proizvodima, bez da naruši izgled i kvalitetu okusa (1). Međunarodna agencija za istraživanje o raku (IARC) klasificirala je akrilamid kao potencijalno kancerogenu tvar za ljude (4).

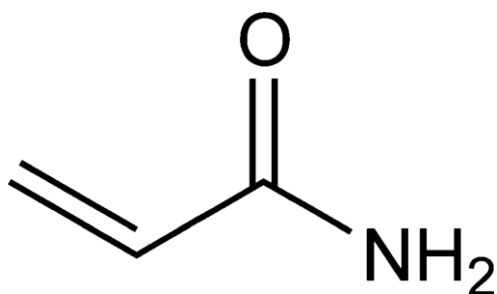
1.1. Akrilamid

Akrilamid (2-propenamid) je visoko reaktivan, organski spoj, u čistom obliku bijeli kristal, bez mirisa. Molekulska masa mu iznosi 71.08 g/mol te je dobro topljiv u vodi i polarnim otapalima, kao što su metanol ili etanol. Razlog njegove visoke reaktivnosti je povezanost između dvostruke veze i amidne skupine. Pod utjecajem temperature i UV zračenja akrilamid je polimeriziran te tako dolazi do stvaranja novih kemijskih spojeva, odnosno poliakrilamida (1).

Tijekom posljednjih 50 godina akrilamid se u industriji proizvodi kao supstrat za sintezu poliakrilamidnih polimera te se koristi u industrijskoj proizvodnji papira, obradi otpadnih voda, tekstilnoj i kozmetičkoj industriji (5). Početno mišljenje bilo je kako su jedini izvor akrilamida upravo spomenute industrije te njegova prisutnost u dimu cigarete (6).

Akrilamid i njegovi prekursori koriste se, kako za kemijske, tako i za okolišne primjene te mogu nastati zagrijavanjem biljnog materijala dobivenog iz biljnih tkiva (7).

U današnje vrijeme akrilamid je poznat ne samo kao sintetički materijal koji se koristi u različitim industrijama, već i kao kancerogeni, citotoksični i genotoksični spoj koji nastaje pri visokim temperaturama tijekom različitih procesa pripreme hrane, poput prženja, pečenja, roštiljanja i prženja u fritezi (8). Studije su potvrdile da u hrani najviše razine akrilamida nastaju Maillardovom reakcijom. Ona se odvija između aminokiseline asparagin i karbonila, odnosno reducirajućih šećera na temperaturama iznad 120 °C uz nisku vlažnost (9). U termički neobrađenoj hrani te u namirnicama koje se kuhaju, odnosno koje prolaze toplinsku obradu pri 100 °C, akrilamid nije prisutan (1).



Slika 1. Kemijska struktura akrilamida, izvor:

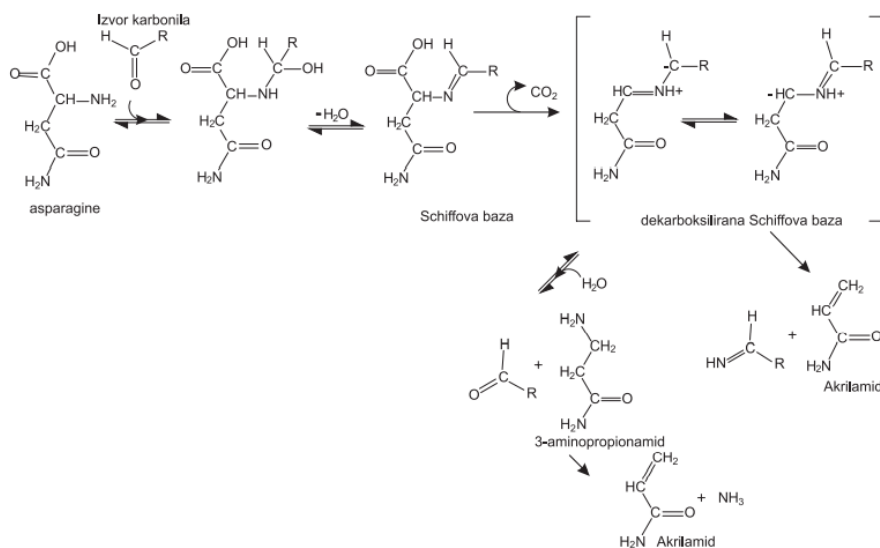
https://www.researchgate.net/figure/Chemical-structure-of-acrylamide_fig1_51506383

U travnju 2002. godine, izvješće Švedske nacionalne agencije za hranu i istraživača sa Sveučilišta u Stockholmu šokiralo je svijet s podacima koji govore da su visoke razine akrilamida pronađene u termički obrađenoj hrani. Ovo otkriće je privuklo pozornost cijelog svijeta zato što je 1994. godine Međunarodna agencija za istraživanje raka klasificirala akrilamid kao vjerojatni kancerogeni za ljude (10).

1.2. Mehanizam nastajanja akrilamida

Nekoliko mjeseci nakon spoznaje da se akrilamid može naći i u termičkoj obrađenoj hrani, sve se više pažnje počelo davati otkrivanju samog nastajanja akrilamida. Utvrđeno je da nastaje Maillardovom reakcijom tijekom zagrijavanja, iz prirodnih sastojaka namirnica, to jest reducirajućih šećera i aminokiseline asparagin kod temperatura iznad 120 °C gdje dolazi do neenzimatskog posmeđivanja određene namirnice dajući joj karakterističnu strukturu i okus (11). Premda se asparagin procesima dekarboksilacije i deaminacije može konvertirati u akrilamid, ipak u praksi to nije moguće bez prisutnosti šećera (12).

Dva su glavna uvjeta za nastanak akrilamida: visoka temperatura i niski sadržaj vlage. Maillardova reakcija je zapravo složeni niz kemijskih reakcija koje se mogu javiti tijekom termičke obrade hrane (11). Osim Maillardovom reakcijom, postoji još mehanizama nastanka akrilamida, iako ne toliko čestih, za koje je potrebna viša temperatura. Akrilamid ima mogućnost nastajanja dehidracijom glicerola iz masti, termičkom degradacijom dipeptida karnozina iz mesa i polipeptida iz brašna te enzimskom dekarboksilacijom asparagina (13).



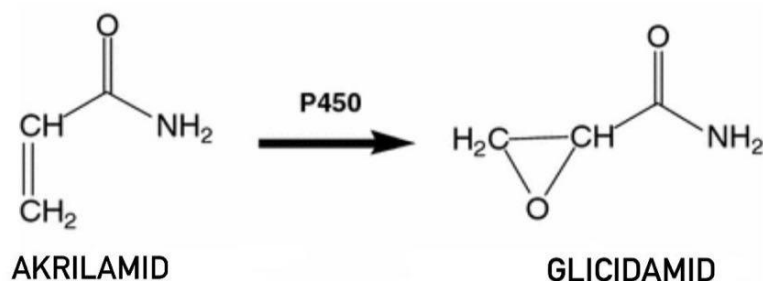
Slika 2. Mehanizam nastanka akrilamida u termički obrađenoj hrani, izvor: Šarkanj B, Kipčić D, Vasić-Rački Đ, Delaš F, Galić K, Katalenić M, et al. *Kemijske i fizikalne opasnosti u hrani*. 2010. 56–58.

Do sada su objavljene dvije glavne hipoteze koje se odnose na formaciju akrilamida Maillardovom reakcijom iz asparagina. Smatra se da su α -dikarbonili nužni reaktanti u Streckerovoj reakciji razgradnje, dajući Streckerov aldehyd kao preteču akrilamida. Glikokonjugati, kao što je N-glikozid i srodni spojevi koji nastaju u ranoj fazi Maillardove reakcije, predloženi su kao ključni međuprodukti koji dovode do nastanka akrilamida. Najvažniji mehanički korak je dekarboksilacija Schiffove baze koja dovodi do nastanka Maillardovih međuprodukata koji izravno oslobađaju akrilamid (14). Osim toga, dekarboksilirana Schiffova baza hidrolizira se do nastanka 3-aminopropionamida, koji se smatra važnom pretečom akrilamida (15).

1.3. Apsorpcija, metabolizam i raspodjela akrilamida

Akrilamid se u tijelo može unijeti na tri načina, probavnim i dišnim sustavom te preko kože. U probavni sustav ulazi hranom, u dišni sustav ulazi preko dima cigareta, a preko kože ulazi korištenjem kozmetike. Vrlo brzo ulazi u krvnu plazmu, neovisno o načinu ulaska (1). Glicidamid je glavni metabolit akrilamida te se vrlo lako veže na dijelove stanice koje sadrže

amino i sulfhidrilne skupine te je zbog toga u raznim ispitivanjima dokazan kao neurotoksičan i genotoksičan (13). I akrilamid i glicidamid mogu stvoriti adukte s hemoglobinom nakon reakcija sa sulfhidrilnim skupinama. Nivo nastalih adukta često se koristi kao pokazatelj izloženosti akrilamida te je njihov nastanak proporcionalan dozi akrilamida koja je unesena u organizam. Vrlo visoke koncentracije akrilamida i glicidamida distribuiraju se u mišićna i živčana tkiva. Akrilamid koji se oralno unosi u organizam metabolizira se u jetri. Metabolički putevi akrilamida u organizmu su vrlo složeni. U prvoj fazi biotransformacije određeni dio akrilamida se metabolizira uz citokrome P450. Kao rezultat biotransformacije nastaje njegov epoksid glicidamid. Tijekom druge faze biotransformacije, akrilamid i glicidamid se udružuju zajedno s reducirajućim glutathionom preko enzima glutathion S- transferaze koji dovodi do nastanka konjugata glutathiona. Konačni produkti reakcije konjugata glutathiona su derivati N-acetilcisteina koji se izlučuju urinom. Kao rezultat reakcije s glutathionom, akrilamid i njegovi derivati gube svoja toksična svojstva te se mogu lakše izlučiti iz organizma. Poluvrijeme eliminacije akrilamida u organizmu je od dva do sedam sati, što zapravo znači da je potrebno dugo vremena da se ukloni iz tijela (1).

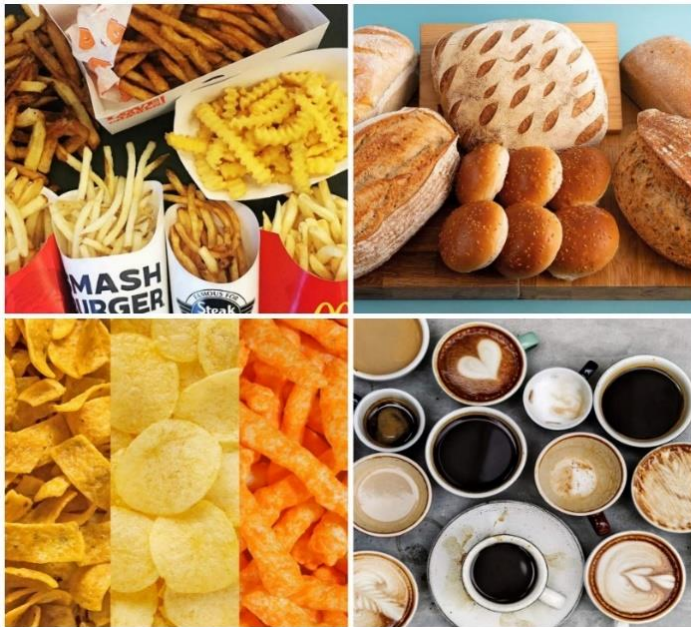


Slika 3. Metabolizam akrilamida u glicidamid, izvor: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00204-006-0109-x/figures/1>

1.4. Prisutnost akrilamida u namirnicama

Glavni izvori visokih koncentracija akrilamida su najčešće u proizvodima od prženih krumpira, poput čipsa (50-3500 µg/kg) i pomfrita (170-2287 µg/kg), žitarica (30-1400

$\mu\text{g}/\text{kg}$), finih pekarskih proizvoda - kruh, kolači, keksi, dvopek, krekeri ($30\text{-}430 \mu\text{g}/\text{kg}$) te u prženoj i instant kavi ($170\text{-}350 \mu\text{g}/\text{kg}$) (1).



Slika 4. Namirnice s visokom koncentracijom akrilamida, izvor: <https://hr.medicineh.com/37-fast-food-french-fries-which-are-healthiest-43666> , <https://www.foodandwine.com/news/frito-lay-customize-variety-pack> , <https://www.urbavorekitchen.com/general/benefits-of-drinking-coffee/>, https://cdn.shopify.com/s/files/1/1165/4656/products/BestSellers707x469_2000x.jpg?v=1591618049

1.4.1. Proizvodi od krumpira

Krumpir se smatra osnovnom hranom u prehrani većine ljudi, kako zbog njegove nutritivne vrijednosti i okusa, tako i zbog jednostavnog uzgoja. Jedan je od najvećih prehrambenih kultura, što može i potvrditi činjenica da je 2017. godine proizvedeno 388 milijuna tona krumpira širom svijeta. Zahvaljujući njihovom velikom ekonomskom i prehrambenom značaju, velika se pažnja posvećuje i razvoju različitih strategija kako bi se lakše ublažilo stvaranje toksičnih spojeva u krumpiru, a jedan od njih je i akrilamid (16).

Pomfrit, zajedno s ostalim proizvodima od prženih krumpira, namirnice su koje najviše doprinose prehrambenom unosu akrilamida. Poznato je da akrilamid uglavnom nastaje u prženoj ili pečenoj hrani bogatoj ugljikohidratima. Prema tome, pomfrit je sklon stvaranju

akrilamida zbog visokog sadržaja reducirajućih šećera i asparagina u svježem gomolju i intenzitetu primijenjene termičke obrade (17).

Putovi formiranja akrilamida u proizvodima od prženog krumpira vrlo su složeni, manipuliranjem sadržaja asparagina te smanjenje šećera prije obrade može utjecati na količinu akrilamida stvorenog u pomfritu (16).

Čips od krumpira je jedan od najpopularnijih slanih međuobroka u svijetu. Kao i kod ostalih grickalica, jedinstven okus je ključni pokretač potrošnje. Fokus današnjih industrija hrane je proizvodnja grickalica sa što manjim sadržajem masti i soli kako bi se osigurali izbori koji pomažu promicanju zdravog načina života. Međutim, proizvodnja ovih preoblikovanih proizvoda je tipično izazovna nižom kvalitetom okusa. Iz razloga što običan čips od krumpira pokazuje poželjniji profil okusa s većom naklonošću potrošača (18).

Kao što je već spomenuto, zbog uporabe visokih temperatura tijekom prženja (osobito temperature više od 175°C) ali i zbog prisutnosti visokih koncentracija prekursora akrilamida, možemo reći da je čips od krumpira, poput i pomfrita, namirnica koju treba svakako najviše istraživati. Pronađeno je nekoliko načina kako bi se koncentracija akrilamida u čipsu mogla umanjiti, a jedan od najčešćih koji se koristi jest blanširanje. Opisuje se kao predtretman koji se koristi za izvlačenje reducirajućih šećera, odnosno za smanjenje posmeđivanja proizvoda (19).

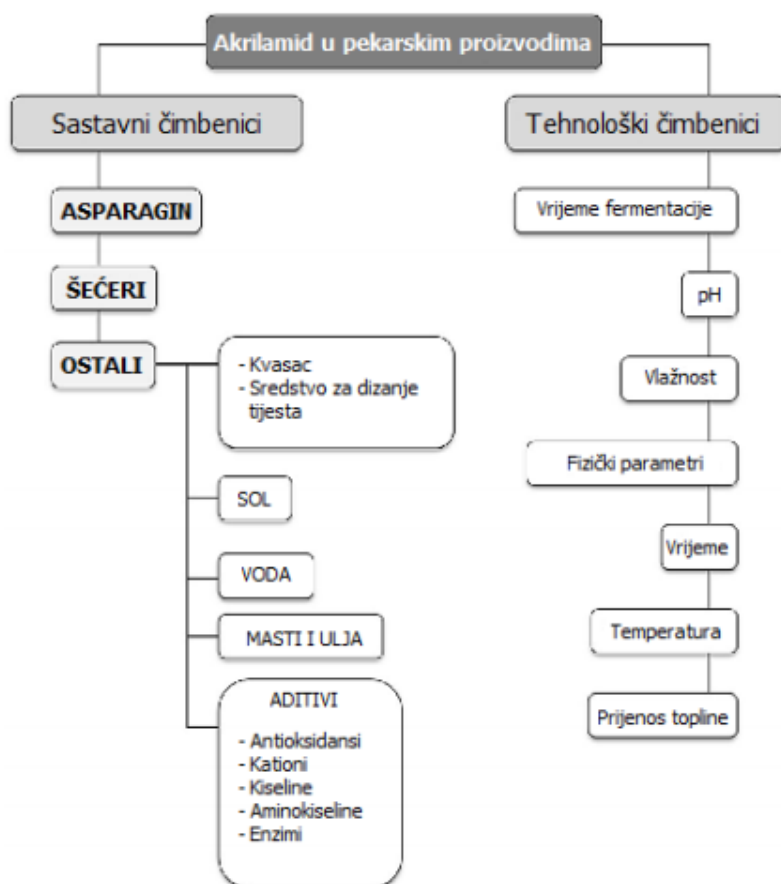
1.4.2. Žitarice

U današnje vrijeme žitarice su sastavni dio prehrane, a najčešće korištene su pšenica, riža, kukuruz, zob, ječam i heljda (20). Na više od 73% ukupne svjetske poželjne površine obrađuju se žitarice te čine više od 60% svjetske proizvodnje hrane (21). Važan su sastojak različitih jela, a koriste ih i mnoge prehrambene industrije u različitim proizvodima. Poznato je da su žitarice bogate proteinima i ugljikohidratima te ih to čini osjetljivim na stvaranje akrilamida tijekom obrade na visokim temperaturama (20).

Nemoguće je u potpunosti spriječiti nastanak akrilamida u žitaricama, ali svakako se može utjecati na njegovu krajnju koncentraciju. Vrlo bitan utjecaj ima odabir sorte, godina berbe, gnojidba i uvjeti skladištenja, iako su proizvodi od žitarica opsežno proučavani, podaci su za sad prilično ograničeni (22).

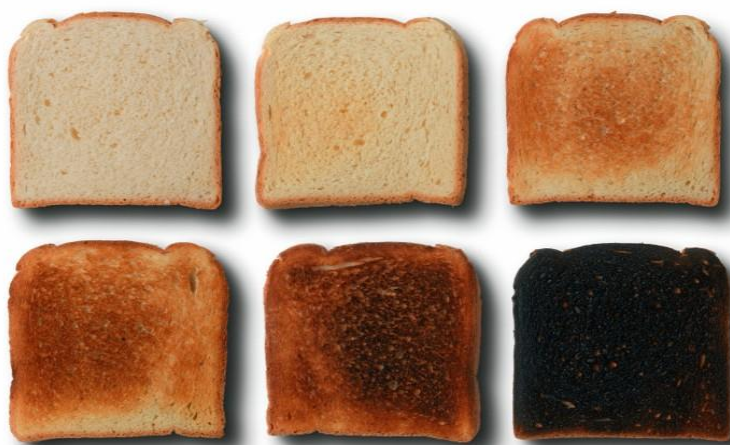
1.4.3. Fini pekarski proizvodi

Pekarski proizvodi se u raznim zemljama smatraju osnovnom hranom zbog sadržaja nužnih nutritivnih sastojaka, poput proteina, ugljikohidrata i vlakana. Zbog prisutnosti ovih hranjivih sastojaka, pekarski proizvodi mogu sadržavati brojne spojeve koji se stvaraju tijekom toplinske obrade, kao što je i akrilamid. Procjena prisutnosti i smanjenje razine akrilamida u pekarskim proizvodima postalo je predmet rasprave i istraživanja mnogih zemalja svijeta (23). Na stvaranje akrilamida u kruhu i pekarskim proizvodima utječu mnogi čimbenici kao što su sastojci, sastav hrane, pH, aktivitet vode, temperatura i vrijeme postupka pečenja. Temperatura tijekom pečenja u pećnici može doći i do 260 ° C, što zajedno s niskom razinom vlage dovodi do niza kemijskih reakcija između sastojaka hrane. Te reakcije dovode do različitih promjena u konačnom sastavu hrane. Neke od njih zadužene su za poboljšanje teksturnih i organoleptičkih karakteristika hrane, a druge su ipak nepoželjnije, poput nastanka akrilamida. Brašno koje se upotrebljava za proizvodnju pekarskih proizvoda bogato je aminokiselinama, uključujući i asparagin. Količina asparagina izravno je povezana s onom količinom akrilamida u konačnom proizvodu (24).



Slika 5. Utjecaj čimbenika na nastanak akrilamida u pekarskim proizvodima, izvor: Beljan S., Akrilamidi u pekarskim proizvodima, 2007. Dostupno na: zir.nsk.hr

Prema istraživanju Fredrikssona, Tallvinga, Roséna i Åmana (2004) sadržaj asparagina u raženom i pšeničnom brašnu bio je 0,6 g/kg i 0,2 g/kg, dok je u integralnom pšeničnom brašnu sadržaj bio 0,5 g/kg. Najveći sadržaj asparagina pronađen je u pšeničnim klicama 4,9 g/kg, dok je kod raženog brašna od cjelovitog zrna sadržaj bio 1,1 g/kg. Kukuruzno brašno sadržalo je od 0,6 do 1,07 g/kg asparagina (25).



Slika 6. Šest faza nastanka akrilamida u kruhu uz produljeno vrijeme pečenja (<https://www.bakeryandsnacks.com/Article/2014/10/13/Kellogg-talks-acrylamide-reduction>)

1.4.4. Kava

Kava je jedno od najpopularnijih pića na svijetu zbog svojih senzorskih karakteristika, stimulativnog učinka kofeina, prisutnosti bioaktivnih komponenata te povoljnog učinka na ljudsko zdravlje. Ukupna kvaliteta ovisi o mnogim čimbenicima, kao što su odabir sirovine, uvjeti skladištenja, prženje te metode ekstrakcije koje se razlikuju prema zemljopisnim područjima i potrošačkim navikama. Od svih navedenih čimbenika, najvažniji je čimbenik prženje. Razlog tome je što se prženje odgovorno za glavna fizikalna i kemijska organoleptička svojstva konačnog proizvoda kave. Da bi se dobio proizvod spomenutih svojstava, ovaj termički proces zahtjeva vrlo visoke temperature, što uzrokuje i nastanak toksičnih komponenata, kao što je akrilamid (26). Iako je prženje proces kojeg treba najviše

kontrolirati, ne smijemo zanemariti i već spomenute druge faze obrade koje mogu imati ključnu ulogu u konačnim razinama akrilamida u proizvodu (27).

U Uredbi komisije (EU) 2017/2158/EU predloženi su neki zahtjevi kao što je dobra proizvođačka praksa, dobra poljoprivredna praksa i dobra fitosanitarna praksa, što proizvođačima kave pomaže svesti sadržaj ovog spoja na minimum (28).

1.5. Smanjenje koncentracije akrilamida u namirnicama

Od 2002. godine prehrambene industrije u suradnji sa znanstvenicima pokušavaju pronaći odgovarajuće načine kako bi se razine akrilamida u termički obrađenoj hrani svele na minimum. Do danas, otkriven je priličan broj različitih načina za sprječavanje nastanka akrilamida, ali i dalje nisu svi dovoljno istraženi. U jednom istraživanju koristile su različite tehnike na proizvodima od žitarica i krumpira. Tehnike ublažavanja podijelile su se u tri različite vrste. Ponajprije valja spomenuti da korištenje polaznih materijala s niskim udjelom prekursora akrilamida pomaže pri njegovom smanjenju u konačnom proizvodu. Zatim, mogu se modificirati procesni uvjeti kako bi se smanjila i sama količina stvaranja akrilamida te intervencija nakon procesa bi se mogla koristiti za smanjenje akrilamida. Treći način se i dalje razmatra, ali kao primjer se može uzeti uporaba ekstrakcije natkritičnim CO_2 . Ovom tehnikom bilo je uklonjeno gotovo 80% akrilamida, iako je potrebno još puno istraživanja i senzornih testova kako bi se mogao provjeriti utjecaj na kvalitetu hrane (15).

1.5.1. Odabir sorte, kriteriji prihvatljivosti, skladištenje i prijevoz

U Uredbi komisije (EU) 2017/2158 opisana su tri načina kako ublažiti učinak akrilamida u proizvodima od sirovih krumpira. Prva mjera je odabir prikladne sorte krumpira, odnosno one sorte u kojoj je udio prekursora akrilamida (fruktoze, glukoze i asparagina) najniži, ne zanemarujući regionalne uvjete (28). Dokazano je da sorta krumpira značajno utječe na buduće nastajanje akrilamida koji je prvenstveno povezano s njihovim sadržajem šećera (14).

Prema dosadašnjim podacima, preporučena maksimalna razina reducirajućih šećera u krumpiru iznosi 0,7 g/kg (29). Zatim, do velike važnosti dolaze i kriteriji prihvatljivosti. Kod pječgavih, oštećenih i natučenih krumpira zabilježen je najveći udio reducirajućih šećera.

Subjekti u poslovanju s hranom mogu prihvatiti krumpire takvih osobina, ali uz dodatne dostupne mjere koje će na kraju osigurati da razina akrilamida bude ispod referentnih vrijednosti. Zadnja mjera, ali ne i manje bitna je skladištenje i prijevoz krumpira. Postoji nekoliko pravila za prostore u kojima se krumpir skladišti. Krumpir se mora skladištiti u kontroliranim uvjetima, odnosno temperatura mora biti viša od 6°C te ona ovisi o određenoj sorti krumpira (28). Dokazano je da pri 4°C tijekom 15 dana skladištenja dolazi do povećane koncentracije reducirajućih šećera čak i do 28 puta. Vrlo je bitna i provjera razine vlažnosti, koja se mora kretati u intervalima od 80% do 90% (29). Moguće je i korištenje različitih zaštitnih sredstava, ukoliko su dopušteni, kod krumpira koji se dugo skladište i koji klijaju. Bitno je dokumentiranje podataka tijekom prijevoza krumpira. Važno je pratiti temperaturu i trajanje, osobito je bitno da ona temperatura koja se primjenjivala tijekom skladištenja, ne bude veća od one tijekom prijevoza krumpira. Uredbom 2017/2158 propisano je kako bi postupci i oblikovanje recepta trebali izgledati. Prije upotrebe krumpira, važno je ispitati prisutnost reducirajućih šećera, što se može postići kontroliranim prženjem uz korištenje boja kao indikatora za utvrđivanje povećanog udjela reducirajućih šećera. Dobivena boja na kraju prženog proizvoda mjeri se pomoću specifičnih uređaja. Bitno je uklanjanje nezrelih gomolja stavljanjem istih u rasol ili u neku drugu otopinu u kojoj dolazi do plutanja nezrelih gomolja. Osim toga, odmah nakon rezanja potrebno je ukloniti pretanke komadiće kako bi se izbjeglo nastajanje zagorelih komada u krajnjem proizvodu (28).

Kad je u pitanju odabir ulja, dokazano je da podrijetlo ulja za prženje s visokim udjelom masnih kiselina nije utjecalo na stvaranje akrilamida u prženom krumpiru. Dakle, vrsta ulja za prženje (repičino, suncokretovo, palmينو, laneno ulje...) samo po sebi nije važan čimbenik za stvaranje akrilamida, izuzevši maslinovo ulje koje značajno povećava stvaranje akrilamida (30).

Pri nastajanju akrilamida, bitnu ulogu ima količina asparagina, stoga se preporučuje konzumiranje namirnica s manje proteina. Tijekom prerade kruha ili peciva, smatra se da produžena fermentacija i kisela fermentacija smanjuju razinu akrilamida i do 70%. (12)

1.5.2. Enzim asparaginaza

Enzim asparaginaza vrlo je rasprostranjen u biljkama, životinjama i živim organizmima. Uloga navedenog enzima je razgradnja asparagina u asparaginsku kiselinu bez

promjene izgleda i okusa namirnice uz pravilno koncentriranje. Tada će asparaginska kiselina ući u ciklus limunske kiseline, igrajući vitalnu ulogu u metabolizmu aminokiselina. L-asparaginaza se koristi kao terapijski tretman za određene vrste raka, poput leukemije. Kad se unese u krvotok, hidrolizira slobodni asparagin u asparaginsku kiselinu i amonijak te glutamin u glutaminsku kiselinu i amonijak. Na taj način dolazi do inhibicije rasta malignih stanica. Tijekom posljednjeg desetljeća bilo je mnogo ispitivanja koja su pratila smanjeno nastajanje akrilamida uz dodatak asparaginaze (15).

Prvo istraživanje izvedeno je 2003. godine, iako je bilo usredotočeno na mehanizam formiranja, a ne na učinkovitost ublažavanja. U istraživanju se postiglo smanjenje i do 88% asparagina, odnosno do 99% smanjenja akrilamida u kaši od pire krumpira (60 g) iz mikrovalne pećnice, koja je bila zagrijana sve dok nije došlo do posmeđivanja kaše (31). Trenutno postoje dva proizvoda na bazi asparaginaze koji su dozvoljeni za smanjenje akrilamida u prehrambenoj industriji, a to su PreventASe™ (Nizozemska) i Acrylaway (Danska) (15).

Za aktivnost asparaginaze može se uzeti optimalan pH od 6 do 7, dok je za proizvode poput pomfrita i čipsa optimalan raspon pH (5-8). Dokazano je da namakanje blanširanih krumpira u otopinu asparaginaze snižava i do 30% koncentraciju akrilamida (29).

1.5.3. Temperatura i vrijeme toplinske obrade

Možemo pretpostaviti da se razina akrilamida smanjuje proporcionalno smanjenom vremenu prženja, što se može postići sušenjem krumpira prije termičke obrade (12).

Općenito se pokazalo da vrijeme i temperatura prženja značajno utječu na količinu nastajanja akrilamida te se smatraju najkritičnijim čimbenicima koji utječu na njegov sadržaj u prženim i pečenim proizvodima. Duže trajanje termičke obrade te više temperature povezane su s većim udjelom akrilamida u namirnicama (11).

Preporučena maksimalna temperatura prženja je 175°C. Smanjena količina akrilamida može se postići i vakuum prženjem koje dovodi do sniženja temperature (12). Utvrđeno je da akrilamid nastaje u hrani kojoj je aktivitet vode između 0,4 i 0,8. Kada je aktivitet vode manji od 0,4, tad je stvaranje akrilamida smanjeno (11).

1.5.4. Namakanje

Primjenom ove tehnike dolazi do smanjenja akrilamida jer se namakanjem ispire glukoza koja predstavlja prekursor akrilamida. Prije termičke obrade, pranje sirovog krumpira i njegovo namakanje u vodi, dokazano je smanjilo stvaranje akrilamida ako se prži do svjetlije boje (11).

1.5.5. Blanširanje

Tijekom prerade hrane, blanširanje je vrlo česta tehnika koja se koristi za poboljšanje strukture i boje u prženom proizvodu te za smanjenje unosa ulja na želatinizacijom škroba. Osim toga, blanširanje je usmjereno i na inaktivaciju enzima poput polifenol oksidaze i peroksidaze koji su odgovorni za posmeđivanje. Dokazano je da blanširanje učinkovito smanjuje koncentracije glukoze i asparagina u kriškama krumpira te je značajna razlika između količina akrilamida onih krumpira koji su bili podvrgnuti blanširanjem od onih koji nisu. Smatra se da bi smanjenje šećera blanširanjem moglo reducirati koncentracije akrilamida za 60% (32). Dokazano je da kombiniranje blanširanja zajedno s organskim kiselinama može smanjiti udio akrilamida za 70%, tako što zajedničkim djelovanjem uklanjaju prekursore i na taj način dolazi do inhibicije nastanka Schiffovih baza (12).

1.5.6. Antioksidansi, aminokiseline i vitamini

Jedna od metoda za snižavanje razina akrilamida jest korištenje dodataka biljnih ekstrakata bogatih antioksidacijskim svojstvima, poput onih iz ružmarina, origana, kadulje i timijana. Fenolne spojeve koje sadrže su većinom fenolne kiseline, diterpeni te flavonoidi. Primjerice, kod ružmarina glavna komponenta odgovorna za antioksidativna svojstva je karnozol, koji je pokazao veće antioksidativno djelovanje od tokoferola, prirodnog antioksidansa (33). Dokazano je da dolazi do smanjenja razine akrilamida za 17% pri prženju krumpira uz dodatak cimeta, origana i prirodnih ekstrakata zelenog čaja (29). Ipak, učinak antioksidansa nije dovoljno istražen. Dobiveni su i pozitivni i negativni rezultati kod istraživača koji su pokušali koristiti prirodne antioksidanse za inhibiranje akrilamida u hrani (11).

Osim dodataka antioksidansa, na smanjenje razine akrilamida mogu djelovati i aminokiseline (npr. glicin). Aminokiseline se mogu učinkovito „natjecati“ s asparaginom ili se vezati za akrilamid (34). U jednoj studiji stvaranje akrilamida smanjeno je za 80% u kriškama krumpira natopljenim u 3%-tnoj otopini lizina ili glicina prije termičke obrade. Dokazano je da nakon dodatka vitamina C (1%) i vitamina B1 (1%) količina akrilamida se smanjila za čak 60%, a nakon dodavanja vitamina B2 (1%) i vitamina B5 (1%) smanjenje je bilo samo 20-30% (11).

1.5.7. Snižavanje pH vrijednosti

Dokazano je da snižavanje pH usporava Maillardove reakcije, odnosno pospješuje smanjeno stvaranje akrilamida u namirnicama. Prema istraživanjima, može se zaključiti da korištenjem limunske kiseline statistički se značajno smanjuje razina akrilamida, čak i dvostruko više kod pomfrita. Ipak, dodatak limunske kiseline utjecao je negativno na osjetilnu kvalitetu pomfrita, zbog svoje kisele arome (34).

1.5.8. Dodatak otopine soli

Istraživanja pokazuju da neki mono- i dvovalentni kationi učinkovito ublažavaju stvaranje akrilamida u namirnicama. Naprimjer, pokazalo se da krumpir umočen u otopinu kalcijevog klorida smanjuje količinu akrilamida čak i do 95% u prženom krumpiru bez negativnog utjecaja na osjetilne karakteristike. Ioni ulaze u interakciju s asparaginom te tako dolazi do inhibicije stvaranja Schiffove baze, a samim time i stvaranje akrilamida tijekom zagrijavanja se smanjuje (34).

1.6. Eu regulativa

Od otkrića akrilamida 2002. godine u hrani, prehrambena industrija, države članice i Komisija svim silama pokušali su napraviti što više ispitivanja kako bi se otkrio način nastanka akrilamida te metode kako bi se njegove razine mogle smanjiti. Europsku industriju hrane i pića koju zastupa organizacija FoodDrinkEurope izradila je „Paket instrumenata“ koji se mogu koristiti ukoliko dođe potrebe za tim, a cilj je smanjenje koncentracija akrilamida u

namirnicama. 2007. godine Europska Komisija donosi preporuku (2007/331/EZ) za praćenje namirnica s visokim koncentracijama akrilamida te je preporuka vrijedila sve do 2009. godine. Nova preporuka je donesena 2010. godine te je Europska agencija za sigurnost hrane (EFSA) od 2007. do 2010. godine prikupljala rezultate praćenja akrilamida u hrani. EFSA je 2012. godine ustvrdila da je došlo da povećanja razina akrilamida u mnogim prehrambenim proizvodima (35).

Važno je u svim ispitivanjima uključiti sustav analize opasnosti i kritičnih točaka (HACCP) subjekata u poslovanju s hranom kako bi se moglo ispitati kod subjekata u poslovanju s hranom jesu li napravljene sve odgovarajuće mjere za kontrolu akrilamida, odnosno jesu li sve faze tijekom proizvodnje pravilno praćene. Nakon toga, nadležna tijela procjenjuju kako je subjekt u poslovanju s hranom proveo mogućnosti (npr. Codex Alimentarius) koje služe da se razine akrilamida svedu na najmanju moguću mjeru. Komisija je nakon uvida u rezultate iz 2013. i 2014. godine iz Preporuke 2010/307/EU te rezultata o procjeni rizika provedena od strane EFSA-e donijela odluku da države članice trebaju provesti dodatne metode ispitivanja proizvodnje i prerade hrane kada razine akrilamida prelaze vrijednosti za akrilamid koje su utvrđene za određenu kategoriju hrane (35). Referentne vrijednosti za različite grupe prehrambenih proizvoda prikazane su u tablici 1.

Tablica 1. Razine referentnih vrijednosti za prisutnost akrilamida u hrani

Hrana	Razina referentne vrijednosti [µg/kg]
Pomfrit (gotovi)	500
Čips od svježih krumpira i od krumpirova tijesta Krekeri na bazi krumpira Ostali proizvodi od krumpirova tijesta	750
Meki kruh (a) kruh na bazi pšenice (b) meki kruh koji nije na bazi pšenice	50 100
Žitarice za doručak (osim kaše od zobenih pahuljica) — proizvodi od posija i žitarice od cjelovitog zrna, ekspanzirane žitarice — proizvodi na bazi pšenice i raži ⁽¹⁾ — proizvodi na bazi kukuruza, zobi, pira, ječma i riže ⁽¹⁾	300 300 150
Keksi i vaflī Krekeri osim krekerā na bazi krumpira Hruskavi kruh Medenjaci Proizvodi slični drugim proizvodima iz ove kategorije	350 400 350 800 300
Pržena kava	400
Instant (topljiva) kava	850
Zamjene za kavu (a) zamjene za kavu isključivo na bazi žitarica (b) zamjene za kavu na bazi mješavine žitarica i cikoriје (c) zamjene za kavu isključivo na bazi cikoriје	500 ⁽²⁾ 4 000
Dječja hrana, prerađena hrana na bazi žitarica za dojenčad i malu djecu, osim keksa i dvopeka ⁽³⁾	40
Keksi i dvopek za dojenčad i malu djecu ⁽³⁾	150

⁽¹⁾ Žitarice koje nisu na bazi cjelovitog zrna i/ili posija. Kategorija se određuje na temelju žitarica prisutnih u najvećoj količini.
⁽²⁾ Za razinu referentne vrijednosti koja se primjenjuje na zamjene za kavu na bazi mješavine žitarica i cikoriје u obzir se uzima relativni omjer tih sastojaka u konačnom proizvodu.
⁽³⁾ Kako je definirano u Uredbi (EU) br. 609/2013

Izvor: Uredba komisije (EU) 2017/2158 od 20. studenog 2017. o uspostavi mjera za ublažavanje učinaka i razina referentnih vrijednosti radi smanjenja prisutnosti akrilamida u hrani

1.7. Štetno djelovanje akrilamida

Akrilamid se vrlo lako i brzo apsorbira u crijevima zahvaljujući svojoj maloj molekulskoj masi, zatim se krvožilnim sustavom distribuira u organizmu. Amesovim testom je dokazano da ne izaziva mutageno djelovanje, ali uz dodatak metaboličkih enzima, odnosno

prilikom pretvorbe akrilamida u glicidamid, test na mutagenost postaje pozitivan (12). Zbog svoje brze distribucije tkiva (bez jasnih dokaza o akumuliranju), studije se pokazale da bi se lako mogao naći u majčinom mlijeku te prodirati kroz posteljicu (36).

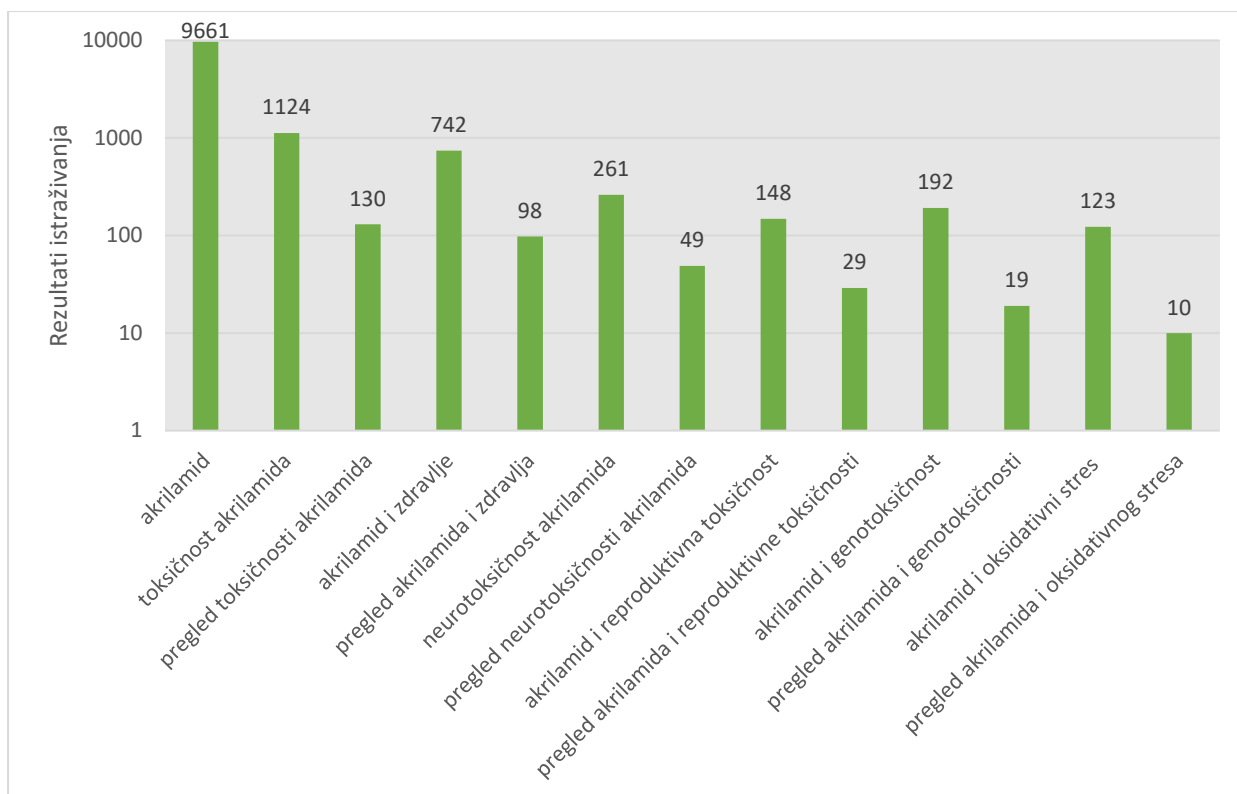
Kao što smo već spomenuli, biotransformacija akrilamida u organizmu dovodi do poremećaja u redoks ravnoteži. Dokazano je mnogim istraživanjima da i akrilamid i glicidamid imaju značajan utjecaj na fiziološke funkcije, uključujući širenje signala u perifernim živcima, na hormonsku i enzimsku regulaciju, reprodukciju, funkcije mišića i drugo. Osim toga, akrilamid i glicidamid pokazuju i genotoksična, kancerogena i neurotoksična svojstva (1). Međunarodna agencija za istraživanje raka (IARC 1994) klasificirala je akrilamid kao potencijalno kancerogenu tvar za ljude (grupa 2A) (4).

2001. godine Znanstveni odbor za toksičnost, ekotoksičnost i okoliš demonstrirali su karcinogenost, genotoksičnost, neurotoksičnost i reproduktivnu toksičnost. Toksični učinci akrilamida uzrokuju stvaranje genotoksičnih metabolita, oksidativni stres, ultrastrukturalne i histološke poremećaje u živčanom sustavu (37).

Poznato je kako funkcionira većina mehanizama akrilamida, ali neki aspekti toksičnosti i dalje su nejasni. Primjerice, doze akrilamida koje se koriste u pokusima na životinjama dosta su veće od prosjeka onih doza koje ljudi unose hranom. Iz tog razloga, ne može se zasigurno reći da akrilamid koji se svakodnevno unosi prehranom predstavlja rizik za zdravlje ljudi. Osim toga, još uvijek nije jasno može li se akrilamid akumulirati u organizmu dugoročno tijekom kroničnih izlaganja (1).

Istraživanja na miševima, pokazala su da je akrilamid razvio maligne promjene na plućima, štitnjači, mliječnim žlijezdama, mozgu i testisima. Studije nisu pokazale povezanost između povećanog unosa pržene hrane i nastanka karcinoma, ali ipak akrilamid se i dalje smatra potencijalno kancerogenim za čovjeka, sve dok se ne provede više istraživanja (12).

Na slici 7. vidljivo je da u razdoblju od 1958. do 2016. godine najviše se istraživanja (9661) temeljilo na proučavanju akrilamida kao kemijskog spoja, a ostala najčešća istraživanja bila su fokusirana na njegovu toksičnost (1124) te na njegov utjecaj na zdravlje (742). Najmanje je istraživana poveznica akrilamida s reproduktivnom toksičnošću (148) te s oksidativnim stresom (123).



Slika 7. Istraživanja o akrilamidu od 1958. do 2016. godine (PubMed), izvor: Semla M, Goc Z, Martiniaková M, Omelka R, Formicki G. Acrylamide: A common food toxin related to physiological functions and health. *Physiol Res.* 2017;66(2):205–17.

1.7.1. Oksidativni stres

Oksidativni stres nastaje izlaganjem reaktivnim kisikovim spojevima (ROS), kao što je superoksidni anion, vodikov peroksid i hidroksilni anion, koji oštećuju proteine, nukleinske kiseline i stanične membrane. Sve je više dokaza da šteta koju nanose reaktivni međuproducti kisika organizmu su uzrok mnogih bolesti (38).

Glavni stanični antioksidans je glutation te njegov nedostatak čini jedan od faktora koji doprinose redoks neravnoteži. Istraživanja su pokazala da akrilamid može „prevladati“ antioksidativni sustav i uzrokovati oksidativni stres u organizmu. Ipak, u istraživanjima su korištene vrlo visoke koncentracije akrilamida koje su se primjenjivale kroz dugo vremensko razdoblje (1).

1.7.2. Genotoksičnost i citotoksičnost

Dobrovolsky, Pacheco-Martinez, McDaniel, Pearce i Ding (2015) ispitivali su genotoksičnost akrilamida kod štakora. Koristili su doze od 20 mg/kg/dan te su dokazali da je akrilamid uzrokovao oštećenja DNA u jetri, ali ne i u koštanoj srži (39).

Dokazano je da je akrilamid genotoksičan u somatskim i zametnim stanicama in vitro i in vivo posebno u mikronukleus testovima i testovima kromosomskih aberacija. Akrilamid nije pokazao značajnu genotoksičnost i mutagenost u stanicama, međutim njegov metabolit glicidamid pokazao je prilično umjerenu genotoksičnost. Cao i suradnici istraživači su genotoksičnost akrilamida na Hep G2 stanicama (sadrže karakteristike hepatocita). Rezultati su pokazali da su koncentracije akrilamida izazvale promjene na fragmentima DNA, porast reaktivnih metabolita kisika, induciranu genotoksičnost i slabu citotoksičnost u Hep G2 stanicama (40).

1.7.3. Neurotoksičnost

Svjetska zdravstvena organizacija (WHO) navodi da akrilamid spada u skupinu kemikalija koje nemaju pouzdani prepoznatljivi prag učinka, što znači da niske koncentracije rezultiraju niskim rizicima, ali ne rezultiraju i nultim rizikom. Smatra se da će se kancerogenost akrilamida povećavati s povećanjem njene izloženosti. Najviša doza akrilamida koja nema štetan neurotoksični učinak (NOAEL) na životinjama iznosi 0,5 mg/kg/dan, a najmanja doza koja izaziva štetan učinak je 2 mg/kg/dan. Neurotoksični učinak primijećen je kod štakora i kunića (126 mg/kg) te pasa (100 mg/kg). Radi se o neurotoksičnosti koju karakterizira ataksija, slabost mišića te utrnulost ruku i nogu. Opisana je i povezanost akrilamida s neurogenom autonomnom disfunkcijom (mokraćna retencija, disfunkcija baroreceptora, porast vazomotornog tonusa (41).

Goudarzi i suradnici (2019) istraživali su kako akrilamid (20 mg/kg) djeluje na štakore tijekom 30 dana. Kod štakora su se pojavila znatni poremećaji ponašanja, oštećenja u motoričkim performansama i u kognitivnim funkcijama (42).

1.7.4. Reproductivna toksičnost

U istraživanjima je dokazano da akrilamid uzrokuje degeneraciju testisnih tubula nakon dužeg vremena izlaganja kod štakora. Zatim, utvrđeno je da akrilamid i neki od njegovih analoga dovode do reproductivne toksičnosti, kao što je oštećenje testisa kod miševa. Također, manje koncentracije akrilamida uzrokovale su smanjenu plodnost kod ženki miševa (43).

U istraživanju koje su proveli Wei, Li, Li, Zhang i Shi (2014) pokazalo se da primjena akrilamida kod ženki miševa dovodi do značajnog smanjenja tjelesne mase, organa te do smanjene aktivnosti žutog tijela. Osim toga, akrilamid smanjio je održivost mišjih granuloznih stanica ovisno o dozi te je utjecao na tjelesni rast i razvoj, na reproductivne organe te na proizvodnju progesterona kod ženki miševa (44).

1.8. Metode određivanja akrilamida u hrani

Nakon što je otkrivena prisutnost akrilamida u termički obrađenoj hrani, počele su se primjenjivati različite metode detekcije ovog kontaminanta. Danas, uspostavljeno je niz kromatografskih metoda koje su najuspješnije za detekciju akrilamida u različitim vrstama hrane (45).

Najčešće analitičke metode koje se koriste i koje se smatraju najmjerodavnijima su plinska kromatografija – masena spektrometrija (GC-MS) te tekućinska kromatografija – tandemna spektrometrija masa (LC – MS/MS) (46). U principu, postupak analize akrilamida u različitim vrstama hrane je isti. Priprema uzorka za analizu sastoji se od ekstrakcije, derivatizacije (ukoliko je potrebna), pročišćavanja te koncentriranja analita (47).

Osim spomenutih metoda, počele su se primjenjivati nove analitičke tehnike, kao što je kapilarna elektroforeza (CE), imunoenzimatski test (ELISA) i elektrokemijski biosenzori. Također, primjena suvremenih metoda kromatografije poput ultra učinkovite tekućinske kromatografije (UPLC) za kvantifikaciju akrilamida znatno je skratila vrijeme analize i potrošnju neophodnih reagensa. Korištenje elektrokemijskih biosenzora, za razliku od kromatografije i elektroforetskih metoda, ne zahtijevaju dugotrajnu pripremu uzoraka ni skupu opremu, a omogućuju brzo provjeravanje brojnih uzoraka (10).

Zadnjih godina često se koristi i tekućinska kromatografija temeljena na hidrofilnim interakcijama (HILIC). Zbog hidrofilnog karaktera akrilamida, smatra se da HILIC može biti vrlo prikladna metoda za analizu jer pruža odgovarajuće zadržavanje hidrofilnih sastojaka. Prednost ove metode je što je vrlo jednostavna i brza priprema uzoraka. Osim toga, pokazala je prihvatljivu točnost (101-105%) i preciznost (2,9-7,6%) (2).

2. CILJ ISTRAŽIVANJA

Cilj istraživanja bio je statistička analiza podataka o sadržaju akrilamida u određenim prehrambenim namirnicama koje su dostavljene na analizu u Odjel zdravstvene ekologije u Nastavni zavod za javno zdravstvo Primorsko – goranske županije. Cilj rada je bio utvrditi odstupaju li dobiveni rezultati analiziranih uzoraka od maksimalno dopuštenih vrijednosti (MDK) i u kojoj vrsti uzoraka su prisutne najveće količine akrilamida.

3. MATERIJALI I METODE

3.1. Materijali

Za izradu ovog rada korištena su analitička izvješća laboratorijskih ispitivanja uzoraka određene hrane tijekom razdoblja od 2016. do 2020. godine. Laboratorijska analiza obavljena je u laboratoriju Zdravstveno-ekološkog odjela NZZJZ PGŽ-a. Tijekom pet godina analizirano je 228 uzoraka hrane na akrilamid.

Za pripremu uzorka prvo je potrebno mehanički homogenizirati uzorak. Zatim se odvaže pet grama homogeniziranog uzorka na analitičkoj vagi te se stavi u centrifugalnu cijev od 50 mL. U odvagani uzorak dodaje se 30 µg/ml unutarnjeg standarda. Zatim se dodaje voda kao reagens te se uzorak nakratko protrese na vortex mješalici. Nakon toga, uzorak mora odstajati minimalno 15 minuta zbog hidratacije. Dodaje se deset mL acetonitrila te se uzorak nakratko protrese na vortex mješalici. Zatim se dodaje sol Mylar pouch (ECMSSC50CT-MP) i uzorak je potrebno snažno tresti jednu minutu. Uzorak se centrifugira deset minuta na 5000 okretaja po minuti. Takav uzorak, odnosno supernatant je spreman za tekućinsku kromatografiju sa spektrometrijom masa (LC-ESI-MS-MS).



Slika 8. Vezani sustav tekućinska kromatografija - spektrometrija mase (LC-ESI-MS-MS), izvor: <https://www.biosupramol.de/en/Massenspektrometrie/BioMS/Geraete/LC-ESI-MS.html>

3.2. Statistička obrada podataka

Statistička obrada podataka je provedena uz pomoć statističkog programa STATISTICA, verzija 7.1 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA). Deskriptivna statistika prikazana je aritmetičkom sredinom i standardnom devijacijom. Brojčane karakteristike testirane su testom analize varijanci, ANOVA, a za određivanje razlike između pojedinih skupina korišten je Scheffov post-hoc test. U svim statističkim analizama rezultati su smatrani statistički značajnima na razini $P < 0,05$.

4. REZULTATI

Rezultate ovog diplomskog rada čine analitička izvješća Odsjeka za kontrolu namirnica, predmeta opće uporabe, unapređenja prehrane i mikrobiologije Zdravstveno-ekološkog odjela Nastavnog zavoda za javno zdravstvo Primorsko-goranske županije u periodu 2016. - 2020. godine. U tablicama 2. - 6. prikazane su koncentracije akrilamida u analiziranim uzorcima od 2016 do 2020. godine. U tablici 7. prikazane su srednje vrijednosti koncentracije akrilamida po godinama ispitivanja ($\mu\text{g}/\text{kg}$).

Tablica 2. Koncentracija akrilamida u analiziranim uzorcima tijekom 2016.godine ($\bar{X} \pm \text{SD}$)

Vrsta uzorka	Akrilamid ($\mu\text{g}/\text{kg}$)
Keksi	79,52 \pm 137,16
Kruh	16,77 \pm 21,25
Pecivo	29,83 \pm 24,97
Krafna	20,00 \pm 24,75
Kroasan	23,60 \pm 23,62
Pomfrit	1864,83 \pm 1827,44
Ćevapčići s pomfritom	764,60
Hamburger	471,60
Pohana piletina	130,00
Topli sendvič	121,40
Pizza	268,20
Kiflice	<0,5
Pita sir	154,70
Pečeni krumpir	701,00
Pržena riba	43,10
Krušne mrvice	3,40

Referentne vrijednosti za akrilamid u hrani nisu bile propisane za 2016. godinu.

Tablica 3. Koncentracija akrilamida u analiziranim uzorcima tijekom 2017.godine ($\bar{X} \pm SD$)

Vrsta uzorka	Akrilamid ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	MDK
Keksi	100,98 \pm 77,30	500
Kruh	27,53 \pm 19,94	80
Pecivo	33,00 \pm 14,19	80
Krafna	63,25 \pm 1,91	500
Kroasan	23,70 \pm 15,70	80
Pomfrit	280,01 \pm 140,15	600
Ćevapčići s pomfritom	198,00	600
Hamburger	25,50	80
Kiflice	56,70	500
Pečeni krumpir	370,00	600
Piroška jabuka	35,00	50
Pita sir	50,10	500
Pohana piletina	575,00	600
Pohana teletina	230,00	600
Pržene lignje	268,00	300
Topli sendvič	47,60	80

Statistička analiza je pokazala da su prosječne vrijednosti akrilamida u navedenim uzorcima bile značajno niže od MDK vrijednosti.

Tablica 4. Koncentracija akrilamida u analiziranim uzorcima tijekom 2018.godine ($\bar{X} \pm SD$)

Vrsta uzorka	Akrilamid ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	MDK
Keksi	128,64 \pm 147,11	500
Kruh	17,90 \pm 4,46	50
Pecivo	21,37 \pm 2,10	50
Krafna	59,05 \pm 5,73	500
Kroasan	51,50 \pm 10,75	80
Pomfrit	277,01 \pm 66,84	500
Pizza	60,75 \pm 0,92	100
Ćevapčići s pomfritom	492,00	600
Hamburger	16,50	50
Fritule	29,40	50
Krušne mrvice	25,30	500
Pečeni krumpir	343,00	500
Pohani sir	73,30	100
Topli sendvič	31,80	50
Pohana piletina	76,00	300

Statistička analiza je pokazala da su prosječne vrijednosti akrilamida u navedenim uzorcima bile značajno niže od MDK vrijednosti.

Tablica 5. Koncentracija akrilamida u analiziranim uzorcima tijekom 2019.godine ($\bar{X} \pm SD$)

Vrsta uzorka	Akrilamid ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	MDK
Keksi	152,97 \pm 129,46	350
Kruh	29,60 \pm 7,70	50
Pecivo	29,93 \pm 11,31	50
Krafna	81,65 \pm 81,11	500
Kroasan	23,90 \pm 10,47	50
Pomfrit	307,57 \pm 133,82	500
Pizza	44,60	100
Hamburger	27,00	50
Kiflice	236,90	350
Krušne mrvice	245,20	300
Pečeni krumpir	410,60	500
Pita sir	180,00	300
Topli sendvič	22,70	50
Pohana piletina	263,00	300
Pržena riba	268,00	300

Statistička analiza je pokazala da su prosječne vrijednosti akrilamida u navedenim uzorcima bile značajno niže od MDK vrijednosti.

Tablica 6. Koncentracija akrilamida u analiziranim uzorcima tijekom 2020.godine ($\bar{X} \pm SD$)

Vrsta uzorka	Akrilamid ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	MDK
Keksi	39,61 \pm 26,20	350
Kruh	25,27 \pm 12,40	50
Pecivo	15,60 \pm 18,84	50
Krafna	25,90 \pm 10,04	300
Kroasan	12,40 \pm 67,18	300
Pomfrit	336,17 \pm 194,86	500
Pizza	121,00	300
Ćevapčići s pomfritom	339,00	500
Kiflice	114,00	350
Pohana piletina	30,50	300
Pečeni krumpir	222,00	500
Pita sir	143,00	300
Topli sendvič	31,10	50
Slane kokice	189,00	300
Pržena riba	24,50	300

Statistička analiza je pokazala da je prosječna vrijednost akrilamida u jednom uzorku pomfrita bile značajno viša, a u ostalim navedenim uzorcima prosječne su vrijednosti akrilamida bile značajno niže od MDK vrijednosti.

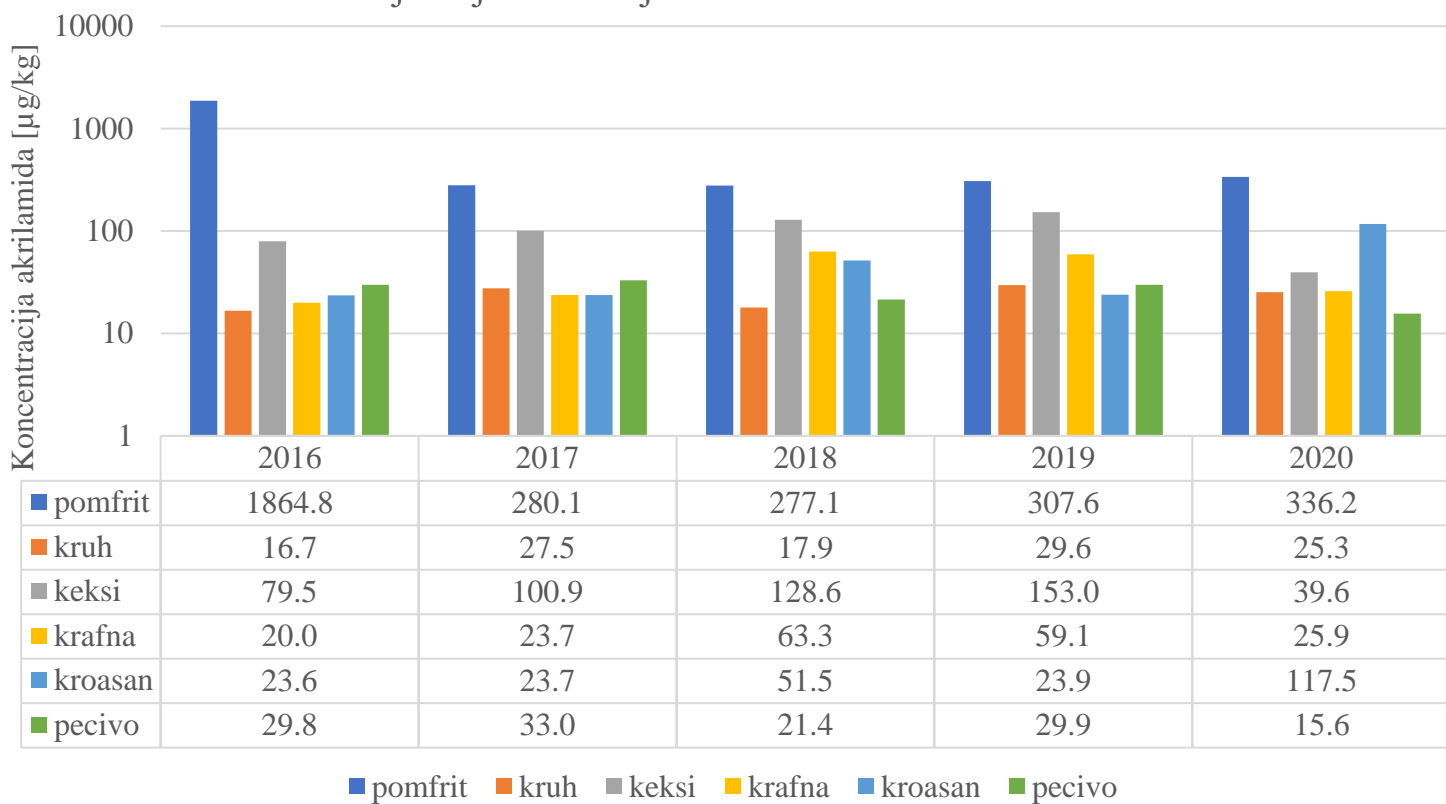
Tablica 7. Srednje vrijednosti koncentracije akrilamida u ispitivanim uzorcima tijekom pet godina ($\bar{X} \pm SD$)

Godina ispitivanja	Akrilamid ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	p-vrijednost
2016	429,23 \pm 878,62	
2017	133,47 \pm 145,51	
2018	108,02 \pm 137,68	<0,001
2019	139,58 \pm 154,91	
2020	83,09 \pm 79,77	

*Statistička značajnost na razini $p < 0,05$

Statistička analiza je pokazala da su se prosječne vrijednosti koncentracije akrilamida razlikovale kroz godine te postoji statički značajna razlika između 2016. godine i ostalih godina ($p=0,0006$), dok između 2017, 2018, 2019 i 2020 nije bilo statistički značajne razlike.

Srednje vrijednosti najčešće analiziranih uzoraka



Slika 9. Grafički prikaz srednjih vrijednosti koncentracija akrilamida kod najčešće analiziranih uzoraka za period od 2016. do 2020. godine ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

Najčešći uzorci koji su analizirani bili su pomfrit, kruh, keksi, krafna, kroasan i pecivo. Na slici 9. vidljivo je da su najviše koncentracije bile u uzorcima pomfrita ($\bar{X} = 1864,8 \mu\text{g}/\text{kg}$) unutar pet godina (2016. – 2020.).

5. RASPRAVA

U današnjem svijetu sve se više konzumira pržena i pečena hrana koja je izvor toksičnih spojeva poput akrilamida. Vrlo brzo i lako se apsorbira te prilikom unosa visokih koncentracija akrilamida može doći do štetnih učinaka u organizmu. Dokazano je da akrilamid ima značajan utjecaj na reproduktivni i živčani sustav. Osim toga, istraživanja su pokazala da sadrži kancerogena, neurotoksična i genotoksična svojstva (40,41).

Cilj ovog rada bio je statistička analiza koncentracija akrilamida u 228 uzoraka hrane koji su dostavljeni na analizu u Odjel zdravstvene ekologije u Nastavni zavod za javno zdravstvo Primorsko – goranske županije u razdoblju od 2016. do 2020. godine. Najviše analiziranih uzoraka činili su uzorci pomfrita (60), keksa (50) te kruha (35). Ostali uzorci bili su uzorci peciva, kroasana, krafna, hamburgera, pizza i sl. Također, cilj je bio utvrditi postoje li odstupanja u odnosu na maksimalno dopuštene koncentracije koje su propisane u Uredbi komisije (EU) 2017/2158 o uspostavi mjera za ublažavanje učinaka i razina referentnih vrijednosti radi smanjenja prisutnosti akrilamida u hrani te u kojim uzorcima hrane je sadržaj akrilamida bio najzastupljeniji (28).

Usporedbom dobivenih rezultata analize utvrđeno je da samo jedan uzorak (pomfrit 3 – 2020. god.) prelazi referentnu vrijednost od 500 $\mu\text{g}/\text{kg}$ za akrilamid, dok su svi drugi uzorci bili u skladu s Uredbom. Bitno je napomenuti da za 2016. godinu nisu bile propisane referentne vrijednosti te je iz slike 9. vidljivo da je srednja vrijednost akrilamida u pomfritu drastično veća u 2016. godini u usporedbi sa srednjim vrijednostima u ostalim godinama.

Brojne studije ispitivale su sadržaj akrilamida u različitim vrstama hrane, a provedeno je i mnogo istraživanja o njegovim toksičnim učincima. Unatoč provedenim istraživanjima, ipak nije sa sigurnošću dokazan njegov kancerogeni i genotoksični učinak kod ljudi koji konzumiraju hranu bogatu akrilamidom (40,41,42).

U istraživanju Yong-Hong Chena i sur. (2012) ispitane su koncentracije akrilamida u namirnicama iz Kine. Ispitano je devet uzoraka pomfrita u kojima je srednja vrijednost akrilamida bila 604,3 $\mu\text{g}/\text{kg}$. U usporedbi s analitičkim podacima iz ovog rada u razdoblju 2017.-2020. godine, njihovi uzorci imali su dvostruko više koncentracije akrilamida, ali u usporedbi s podacima iz 2016. godine njihovi uzorci značajno su nižih koncentracija. Rezultati njihovog istraživanja pokazali su da je sadržaj akrilamida bio najveći u uzorcima pomfrita, kao što su pokazali i rezultati dobiveni u ovom radu. Osim toga, ispitali su i 24

uzorka keksa, gdje je srednja vrijednost koncentracija akrilamida bila 97,6 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Kada to usporedimo sa srednjom vrijednošću analiziranih uzoraka (100,3 $\mu\text{g}/\text{kg}$) iz ovog rada, može se zaključiti da se značajno ne razlikuju (48).

Kafouris i sur. (2018) analizirali su 406 uzoraka prikupljenih s tržišta od 2007. do 2016. godine. Akrilamidom je bilo kontaminirano 89% uzoraka, a samo 14% uzoraka odstupalo je od referentnih vrijednosti. Nadalje, uzorci hrane s najvećim sadržajem akrilamida bili su pomfrit, čips od krumpira te keksi, s koncentracijama iznad 1000 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Visoke koncentracije akrilamida u pomfritu i čipsu mogu se objasniti činjenicom da gomolji krumpira sadrže znatne količine slobodnog asparagina, glukoze i fruktoze, koji potiču stvaranje akrilamida. Osim toga, proizvodi na bazi žitarica također su sadržavali značajne količine akrilamida što je također rezultat prisutnosti slobodnog asparagina. Koncentracije pojedinih uzoraka proizvoda od žitarica varirale su jer svaka vrsta žitarica sadrži različite razine slobodnog asparagina. U svim analiziranim uzorcima kave uočen je velik sadržaj akrilamida jer se zrna kave obrađuju na iznimno visokim temperaturama (220–250 ° C) (49).

Rezultati iz ovog rada pokazuju da je akrilamid najzastupljeniji u analiziranim uzorcima pomfrita i keksa, odnosno namirnicama koje su bogate ugljikohidratima te prženim na visokim temperaturama. Nadalje, najmanji sadržaj akrilamida bio je u detektiran u uzorcima kruha i peciva.

Abt i sur. (2019) uspoređivali su analizirane uzorke od 2011. do 2015. godine s onim iz razdoblja 2002. do 2006. godine u SAD-u. Razine akrilamida u odabranim kategorijama hrane uglavnom se nisu značajno smanjile. Međutim, značajno smanjenje koncentracije akrilamida primijećeno je bilo kod uzoraka čipsa i krekeri, što je vjerojatno povezano s većom dostupnošću i uporabom tehnika za ublažavanje nastajanja akrilamida. Osim toga, pomfrit, proizvodi od krumpira, žitarice, kolači, čips i krekeri i dalje su sadržavali najviše koncentracije akrilamida. Dokazali su veliku varijabilnost razina akrilamida unutar određenih kategorija hrane, kao što je pomfrit, kava, hrana za dojenčad i sl. Takva varijabilnost može biti zbog razlika u sastavu sastojaka, uvjetima obrade te formulaciji proizvoda. Također, koncentracija akrilamida u krekerima bila je znatno niža u razdoblju 2011. - 2015. nego 2002. - 2006. te se smatra da je razlog tome posljedica primjene mjera ublažavanja (50).

U ovom radu uzorci hrane također su analizirani u određenom razdoblju (2016-2020). U tablici 7. vidljivo je da statistički značajna razlika postoji između 2016. godine i ostalih godina, ali između 2017., 2018., 2019. i 2020. godine nema statistički značajne razlike.

Možemo zaključiti da je razlog tome češće korištenje metoda za smanjenje koncentracija akrilamida u namirnicama, ali ulogu sigurno ima i uvođenje maksimalno dopuštenih koncentracija za pojedine namirnice.

Ahn i sur. (2002) dokazali su da akrilamid nije prisutan u sirovoj i kuhanoj hrani, ali je u znatnim razinama prisutan u prženoj, pečenoj i tostiranoj hrani. Najviša koncentracija akrilamida (12 000 $\mu\text{g}/\text{kg}$) pronađena je u čipsu prženom u dubokom ulju (51).

U istraživanju koje su proveli Bušová, Bencko, Kromerová, Nadjo i Babjaková (2020) dokazano je da 47,6% od 20 uzoraka određenih namirnica (keksi, čips, žitarice) odstupa od referentnih vrijednosti. Četiri od pet analiziranih uzoraka čipsa sadržavalo je više razine od maksimalno dopuštenih vrijednosti. S druge strane, koncentracije akrilamida u svim uzorcima žitarica bile su ispod referentnih vrijednosti (52).

Rezultati iz ovog rada nisu pokazali odstupanje od referentnih vrijednosti. Od 46 analiziranih uzoraka u 2020. godini, samo u jednom uzorku koncentracija akrilamida bila je iznad maksimalno dopuštene.

Kako u ovih pet godina nije analiziran velik broj uzoraka, u sljedećim istraživanjima bilo bi poželjno povećati broj te više uključiti namirnice poput čipsa, kave, žitarica i sl. za koje je iz literature vidljivo da imaju najviše koncentracije akrilamida.

6. ZAKLJUČAK

Na temelju rezultata ovog istraživanja može se zaključiti sljedeće:

- najčešće analizirani uzorci bili su pomfrit, kruh, keksi i peciva
- najviše koncentracije akrilamida tijekom posljednjih pet godina bili su u analiziranim uzorcima pomfrita
- koncentracije akrilamida tijekom godina su se mijenjale i postoji statistički značajna razlika između 2016. i ostalih godina, ali ni jedne godine nisu prelazile MDK
- svi ispitivani uzorci sadržavali su dozvoljene količine akrilamida, osim jednog uzorka pomfrita (813,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$) u 2020. godini koji je odstupao od maksimalno dopuštene koncentracije (500 $\mu\text{g}/\text{kg}$)

7. LITERATURA

1. Semla M, Goc Z, Martiniaková M, Omelka R, Formicki G. Acrylamide: A common food toxin related to physiological functions and health. *Physiol Res.* 2017;66(2):205–17.
2. Tölgyesi Á, Sharma VK. Determination of acrylamide in gingerbread and other food samples by HILIC-MS/MS: A dilute-and-shoot method. *J Chromatogr B Anal Technol Biomed Life Sci* [Internet]. 2020;1136:121933. Dostupno na: <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2019.121933>
3. Pan M, Liu K, Yang J, Hong L, Xie X, Wang S. Review of research into the determination of acrylamide in foods. *Foods.* 2020;9(4).
4. INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans Report of the Advisory Group to Recommend Priorities for IARC Monographs during 2015 – 2019. 2019;(Travanj 2014).
5. Mojska H, Gielecinska I, Malecka K. Determination of acrylamide content in potato products using GC-MS / MS and LC-MS / MS methods. 2014; (Siječanj 2010).
6. Hogervorst JG, Schouten LJ, Konings EJ, Goldbohm RA, Brandt PA Van Den. A Prospective Study of Dietary Acrylamide Intake and the Risk of Endometrial, Ovarian, and Breast Cancer. 2007;16(Studenj):2304–14.
7. Vatter DA, Shetty K. Acrylamide in food : a model for mechanism of formation and its reduction. 2003;4(03):331–8.
8. Koszucka A, Nowak A, Nowak I, Motyl I. Acrylamide in human diet, its metabolism, toxicity, inactivation and the associated European Union legal regulations in food industry. *Crit Rev Food Sci Nutr* [Internet]. 2020;60(10):1677–92. Dostupno na: <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1588222>
9. Ževrnja B. Veterinarsko javno zdravstvo i hranidbena sigurnost. *MESO Prvi Hrvatski časopis o mesu.* 2008;X(2):94–5.
10. Oracz J, Nebesny E, Zyzelewicz D. New trends in quantification of acrylamide in food products. *Talanta.* 2011;86(1):23–34.

11. Rifai L, Saleh FA. A Review on Acrylamide in Food: Occurrence, Toxicity, and Mitigation Strategies. *Int J Toxicol*. 2020;39(2):93–102.
12. Šarkanj B, Kipčić D, Vasić-Rački Đ, Delaš F, Galić K, Katalenić M, et al. Kemijske i fizikalne opasnosti u hrani. 2010. 56–58.
13. Somers E. International Agency for Research on Cancer. C Can Med Assoc J = J l"Association medicale Can. 1985;133(9):845–6.
14. Ortega-Rivas E. Processing Effects on Safety and Quality of Foods. Pedreschi F. Acrylamide Formation and Reduction in Fried Potatoes. 2005. 231-255
15. Xu F, Oruna-Concha MJ, Elmore JS. The use of asparaginase to reduce acrylamide levels in cooked food. *Food Chem [Internet]*. 2016;210:163–71. Dostupno na: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.105>
16. Liu H, Roasa J, Mats L, Zhu H, Shao S. Effect of acid on glycoalkaloids and acrylamide in French fries. *Food Addit Contam - Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess [Internet]*. 2020;37(6):938–45. Dostupno na: <https://doi.org/10.1080/19440049.2020.1743883>
17. Mesias M, Delgado-Andrade C, Holgado F, Morales FJ. Acrylamide in French fries prepared at primary school canteens. *Food Funct*. 2020;11(2):1489–97.
18. Zhang L, Peterson DG. Identification of a novel umami compound in potatoes and potato chips. *Food Chem [Internet]*. 2018;240 (Kolovoz):1219–26. Dostupno na: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.08.043>
19. Shojaee-Aliabadi S, Nikoopour H, Kobarfard F, Parsapour M, Moslehishad M, Hassanabadi H, et al. Acrylamide reduction in potato chips by selection of potato variety grown in Iran and processing conditions. *J Sci Food Agric*. 2013;93(10):2556–61.
20. Galani JHY, Patel NJ, Talati JG. Acrylamide-forming potential of cereals, legumes and roots and tubers analyzed by UPLC-UV. *Food Chem Toxicol [Internet]*. 2017;108:244–8. Dostupno na: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2017.08.011>
21. Žilić S, Aktağ IG, Dodig D, Filipović M, Gökmen V. Acrylamide formation in biscuits made of different wholegrain flours depending on their free asparagine content and baking conditions. *Food Res Int [Internet]*. 2020;132(Rujan 2019):109109. Dostupno

na: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109109>

22. Claus A, Carle R, Schieber A. Acrylamide in cereal products: A review. *J Cereal Sci.* 2008;47(2):118–33.
23. Sarion C, Codină GG, Dabija A. Acrylamide in bakery products: A review on health risks, legal regulations and strategies to reduce its formation. *Int J Environ Res Public Health.* 2021;18(8).
24. Andačić IM, Tot A, Ivešić M, Krivohlavek A, Thirumdas R, Barba FJ, et al. Exposure of the Croatian adult population to acrylamide through bread and bakery products. *Food Chem. (Travanj)* 2020;322.
25. Fredriksson H, Tallving J, Rosén J, Åman P. Fermentation Reduces Free Asparagine in Dough and Acrylamide Content in Bread. 2004;(C):650–3.
26. Schouten MA, Tappi S, Romani S. Acrylamide in coffee: formation and possible mitigation strategies – a review. *Crit Rev Food Sci Nutr* [Internet]. 2020;0(0):1–15. Dostupno na: <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1708264>
27. Başaran B, Aydın F, Kaban G. The determination of acrylamide content in brewed coffee samples marketed in Turkey. *Food Addit Contam Part A* [Internet]. 2019;00(00):1–8. Dostupno na: <https://doi.org/10.1080/19440049.2019.1685133>
28. Uredba komisije (EU) 2017/2158 od 20. studenog 2017. o uspostavi mjera za ublažavanje učinaka i razina referentnih vrijednosti radi smanjenja prisutnosti akrilamida u hrani
29. Badnjak Sabolović, Rimac Brnčić. Utjecaj procesa pripreme na udio akrilamida u prerađenoj hrani. Influence of food preparation on the acrylamide content in processed foods. 2016;11:79–83.
30. Issue S, Mestdagh F, Govaert Y, Fraselle S, Degroodt JM, Vandeburie S, et al. Acrylamide Formation during Frying of Potatoes: Thorough Investigation on the Influence of Crop and Process Variables. 2004;22:15–8.
31. Allmudge DAHT, Berhart BLOYEE, Wald DEKE, Ruber DACG, Orsch THRM, Trothers MEAS, et al. Acrylamide Formation Mechanism in Heated Foods. 2003;4782–7.

32. Zhang, Y., Kahl, D. H. W., Bizimungu, B., & Lu, Z.-X. Effects of blanching treatments on acrylamide, asparagine, reducing sugars and colour in potato chips. *Journal of Food Science and Technology* (2018). Dostupno na:doi:10.1007/s13197-018-3329-1
33. Miśkiewicz K, Nebesny E, Rosicka-Kaczmarek J, Żyżelewicz D, Budryn G. The effects of baking conditions on acrylamide content in shortcrust cookies with added freeze-dried aqueous rosemary extract. *J Food Sci Technol*. 2018;55(10):4184–96.
34. Mei YL, Koutsidis G, Parker JK, Elmore JS, Dodson AT, Mottram DS. Effect of citric acid and glycine addition on acrylamide and flavor in a potato model system. *J Agric Food Chem*. 2006;54(16):5976–83.
35. Preporuka Komisije od 8. studenoga 2013. o ispitivanju razina akrilamida u hrani (2013/647/EU) Službeni list Europske unije, L301/15
36. Sansano M, Heredia A, Peinado I, Andrés A. Dietary acrylamide: What happens during digestion. *Food Chem* [Internet]. 2017;237:58–64. Dostupno na: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.104>
37. Barber DS, LoPachin RM. Proteomic analysis of acrylamide-protein adduct formation in rat brain synaptosomes. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2004;201(2):120–36.
38. Storz G, Imlay JA. Oxidative stress. *Current Opinion in Microbiology* 1999; 188–94.
39. Dobrovolsky VN, Pacheco-Martinez MM, McDaniel LP, Pearce MG, Ding W. In vivo genotoxicity assessment of acrylamide and glycidyl methacrylate. *Food Chem Toxicol* [Internet]. 2016;87:120–7. Dostupno na: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fct.2015.12.006>
40. Cao J, Liu Y, Jia L, Jiang LP, Geng CY, Yao XF, et al. Curcumin attenuates acrylamide-induced cytotoxicity and genotoxicity in HepG2 cells by ROS scavenging. *J Agric Food Chem*. 2008;56(24):12059–63.
41. Erkekoglu P, Baydar T. Acrylamide neurotoxicity. *Nutr Neurosci*. 2014;17(2):49–57.
42. Goudarzi M, Mombeini MA, Fatemi I, Aminzadeh A, Kalantari H, Nesari A, et al. Neuroprotective effects of Ellagic acid against acrylamide-induced neurotoxicity in rats. *Neurol Res* [Internet]. 2019;41(5):419–28. Dostupno na: <https://doi.org/10.1080/01616412.2019.1576319>

43. Zenick H, Hope E, Smith MK. Reproductive toxicity associated with acrylamide treatment in male and female rats. *J Toxicol Environ Health*. 1986;17(4):457–72.
44. Wei Q, Li J, Li X, Zhang L, Shi F. Reproductive toxicity in acrylamide-treated female mice. *Reprod Toxicol* [Internet]. 2014;46:121–8. Dostupno na: <http://dx.doi.org/10.1016/j.reprotox.2014.03.007>
45. Stadler RH, Scholz G. Acrylamide: An update on current knowledge in analysis, levels in food, mechanisms of formation, and potential strategies of control. *Nutr Rev*. 2004;62(12):449–67.
46. Zhang Y, Zhang G, Zhang Y. Occurrence and analytical methods of acrylamide in heat-treated foods: Review and recent developments. *J Chromatogr A*. 2005;1075(1–2):1–21.
47. Keramat J, LeBail A, Prost C, Soltanizadeh N. Acrylamide in Foods: Chemistry and Analysis. A Review. *Food Bioprocess Technol*. 2011;4(3):340–63.
48. Y.-H. Chen, E.-Q. Xia, X.-R. Xu, W.-H. Ling, S. Li, S. Wu, G.-F. Deng, Z.-F. Zou, J. Zhou, H.-. Li. Evaluation of Acrylamide in Food from China by a LC/MS/MS Method. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2012, 9, 4150-4158. Dostupno na: <http://doi:10.3390/ijerph9114150>
49. Kafouris, D., Stavroulakis, G., Christofidou, M., Iakovou, X., Christou, E., Paikousis, L., ... Yiannopoulos, S. Determination of acrylamide in food using a UPLC–MS/MS method: results of the official control and dietary exposure assessment in Cyprus. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 1–12. 2018. Dostupno na; doi:10.1080/19440049.2018.1508893
50. Abt, E., Robin, L. P., McGrath, S., Srinivasan, J., DiNovi, M., Adachi, Y., & Chirtel, S. Acrylamide levels and dietary exposure from foods in the United States, an update based on 2011-2015 data. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 1–16. 2019. Dostupno na: doi:10.1080/19440049.2019.1637548
51. Ahn, J. S., Castle, L., Clarke, D. B., Lloyd, A. S., Philo, M. R., & Speck, D. R. Verification of the findings of acrylamide in heated foods. *Food Additives and Contaminants*, 19(12), 1116–1124. 2002. Dostupno na: doi:10.1080/026520302100004821

52. Bušová M, Bencko V, Kromerová K, Nadjo I, Babjaková J. Occurrence of acrylamide in selected food products. *Cent Eur J Public Health*. 2020 Prosinac;28(4):320-324. Dostupno na: doi: 10.21101/cejph.a6430. PMID: 33338370.

8. POPIS SLIKA

Slika 1. Kemijska struktura akrilamida

Slika 2. Mehanizam nastanka akrilamida u termički obrađenoj hrani

Slika 3. Metabolizam akrilamida u glicidamid

Slika 4. Namirnice s visokom koncentracijom akrilamida

Slika 5. Utjecaj čimbenika na nastanak akrilamida u pekarskim proizvodima

Slika 6. Šest faza nastanka akrilamida u kruhu uz produljeno vrijeme pečenja

Slika 7. Istraživanja o akrilamidu od 1958. do 2016. godine (PubMed)

Slika 8. Vezani sustav tekućinska kromatografija - spektrometrija mase (LC-ECI-MS-MS)

Slika 9. Grafički prikaz srednjih vrijednosti koncentracija akrilamida kod najčešće analiziranih uzoraka za određene godine

9. POPIS TABLICA

Tablica 1. Razine referentnih vrijednosti za prisutnost akrilamida u hrani

Tablica 2. Koncentracija akrilamida u analiziranim uzorcima tijekom 2016.godine ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

Tablica 3. Koncentracija akrilamida u analiziranim uzorcima tijekom 2017.godine ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

Tablica 4. Koncentracija akrilamida u analiziranim uzorcima tijekom 2018.godine ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

Tablica 5. Koncentracija akrilamida u analiziranim uzorcima tijekom 2019.godine ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

Tablica 6. Koncentracija akrilamida u analiziranim uzorcima tijekom 2020.godine ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

Tablica 7. Srednje vrijednosti koncentracije akrilamida u ispitivanim uzorcima tijekom pet godina ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

14. ŽIVOTOPIS

Osobni podaci:

Ime i prezime: Vanesa Marušić

Datum rođenja: 12. prosinca 1997.

Mjesto rođenja: Metković

Državljanstvo: Hrvatsko

Narodnost: Hrvatica

Adresa: Prud 183, 20350 Metković

Telefon: +385 99 3541 511

E-mail: vanesamarusic@icloud.com

Obrazovanje:

2004. – 2012. Osnovna škola don Mihovila Pavlinovića u Metkoviću

2012. – 2016. Gimnazija Metković, jezični smjer

2016. – 2019. Zdravstveno veleučilište u Zagrebu, Preddiplomski studij sanitarnog inženjerstva

2019. – 2021. Medicinski fakultet u Rijeci, Diplomski studij sanitarnog inženjerstva

Radno iskustvo:

Volonterski rad na Kliničkom zavodu za kliničku mikrobiologiju u Rijeci

Rad u Nastavnom zavodu za javno zdravstvo Primorsko – goranske županije, epidemiološko anketiranje

Vještine:

Strani jezici: engleski i njemački jezik