

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra chemie**



**Česká zemědělská  
univerzita v Praze**

**Vliv odrůdy a lokality na obsah akrylamidu ve  
zpracovaných hlízách brambor**

**Diplomová práce**

**Bc. Anežka Doležalová**

**Výživa a potraviny**

**Ing. Zora Kotíková, Ph.D.**

© 2021 ČZU v Praze

## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Vliv odrůdy a lokality na obsah akrylamidu ve zpracovaných hlízách brambor" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 14. dubna 2021

---

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucí diplomové práce Ing. Zoře Kotíkové, Ph.D. za cenné rady, připomínky a čas, který mi při psaní práce věnovala. Současně bych chtěla také poděkovat Ing. Matyášovi Orsákovi, Ph.D. za čas, který mi věnoval při zpracování práce. V neposlední řadě patří obrovské poděkování mé rodině a přátelům za podporu v průběhu celého studia.

# Vliv odrůdy a lokality na obsah akrylamidu ve zpracovaných hlízách brambor

## Souhrn

Na procesní kontaminant akrylamid poprvé upozornili švédští vědci v roce 2002. Tato skupina vědců ze Stockholmské univerzity, která pracovala pod záštitou Švédského národního výboru pro potraviny (SNFA), ve své studii publikovala nečekané a vysoké koncentrace akrylamidu v tepelně zpracovaných výrobcích z obilovin a brambor. Jejich studie vyvolala ve vědecké sféře rozruch, jelikož akrylamid byl v roce 1994 zařazen na seznam lidských karcinogenů (skupiny 2A) Mezinárodní agenturou pro výzkum rakoviny (IARC). Publikace jejich výsledků odstartovala nespočet studií, které se po celém světě začaly akrylamidem zabývat.

Experimentální část této práce se zabývala stanovením obsahu akrylamidu v pečených hlízách brambor. Koncentrace tohoto procesního kontaminantu byla stanovena ve 13 odrůdách brambor s různým zabarvením hlíz metodou HPLC-ESI-MS/MS. Analýze byly podrobeny konkrétně tyto odrůdy: Mulberry Beauty, Figaro, Blue Star, Valfi, Highland Burgundy Red, Violet Queen, Verdi, Honorata, Red Emmalie, Rosemarie, Europrima, Magenta Love a Val Blue, které byly pěstovány na dvou lokalitách: ČZU Praha-Suchdol a VÚB Valečov, v roce 2019.

Průměrná hodnota akrylamidu v pečených hlízách testovaných odrůd byla stanovena na 68,89  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Nejvyšší naměřené množství akrylamidu bylo stanoveno v červené odrůdě Magenta Love (610  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) – lokalita VÚB Valečov. Naopak nejnižší naměřené množství bylo stanoveno ve fialové odrůdě Valfi (4,38  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) – lokalita ČZU Praha-Suchdol.

Vyšší tendenci k tvorbě akrylamidu během zpracování měly barevné odrůdy hlíz. Nejvyšší průměrné hodnoty akrylamidu v rámci obou lokalit měly červené odrůdy (111,75  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ). Nižší tendenci vykazovaly fialové odrůdy (54,44  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ). Nejlépe v analýze obstály žluté odrůdy (21,51  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ). Lze konstatovat, že genotyp má významný vliv na obsah akrylamidu v pečených hlízách brambor, doloženo statistickým zhodnocením výsledků.

Pečené brambory z lokality VÚB Valečov vykazovaly 2,7krát vyšší průměrné hodnoty akrylamidu oproti bramborám z lokality ČZU Praha-Suchdol. Vliv pěstební lokality na obsah akrylamidu v pečených bramborách byl v rámci práce také doložen statistickým zhodnocením výsledků.

Tato práce také potvrdila interakční efekt environmentálních faktorů, které na daných experimentálních lokalitách působily a genotypu brambor, které měly významný vliv na tvorbu akrylamidu v tepelně zpracovaných hlízách brambor.

**Klíčová slova:** akrylamid, expozice, toxicita, eliminace, prekurzory akrylamidu, Maillardova reakce, pečené brambory, HPLC-MS

# Effect of variety and locality on acrylamide content in processed potato tubers

## Summary

The process contaminant acrylamide was first raised as a concern by Swedish researchers in 2002. The group of scientists from Stockholm University, working under the auspices of the Swedish National Food Agency (SNFA), published unexpected and high concentrations of acrylamide in heat-treated cereal and potato products in their study. The study caused a stir in the scientific sphere, as acrylamide was included in the list of human carcinogens (Group 2A) in 1994 by the International Agency for Research on Cancer (IARC). The publication of their results triggered the start of countless studies focusing on acrylamide around the world.

The experimental part of this work dealt with the determination of acrylamide content in baked potato tubers. The concentration of this process contaminant was determined in 13 potato varieties with different tuber-flesh colors by HPLC-ESI-MS/MS. Specifically, the following varieties were analyzed: Mulberry Beauty, Figaro, Blue Star, Valfi, Highland Burgundy Red, Violet Queen, Verdi, Honorata, Red Emmalie, Rosemarie, Europrima, Magenta Love and Val Blue, which were grown in two locations: CULS Prague-Suchdol and VUB Valečov, in 2019.

The average value of acrylamide in baked tubers of the tested varieties was set at  $68.89 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ . The highest measured amount of acrylamide was determined in the red-flesh variety Magenta Love ( $610 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) at the VUB Valečov site. The lowest measured amount was determined in the purple-flesh variety Valfi ( $4.38 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) at the CULS Prague-Suchdol site.

Red-flesh and purple-flesh varieties had a higher tendency to form acrylamide during processing. Red-flesh varieties had the highest average values of acrylamide at both sites ( $111.75 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ). Purple-flesh varieties showed a lower tendency ( $54.44 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ). Yellow-flesh varieties performed best in the analysis ( $21.51 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ). It can be stated that the genotype has a significant effect on the content of acrylamide in baked potato tubers, demonstrated by the statistical evaluation of the results.

Baked potatoes from the VUB Valečov site showed 2.7 times higher average values of acrylamide compared to potatoes from the CULS Prague-Suchdol site. The influence of the growing site on the content of acrylamide in baked potatoes was documented in the work by the statistical evaluation of the results.

This work also confirmed the interaction effect of environmental factors on the experimental sites and the potato genotype, which had a significant effect on acrylamide formation in heat-treated potato tubers.

**Keywords:** acrylamide, exposure, toxicity, elimination, precursors, of acrylamide, Maillard reaction, baked potatoes, HPLC-MS

# Obsah

<b>1 Úvod</b> .....	<b>8</b>
<b>2 Vědecké hypotézy a cíle práce</b> .....	<b>9</b>
<b>3 Teoretická část</b> .....	<b>10</b>
<b>3.1 Fyzikálně-chemické vlastnosti akrylamidu</b> .....	<b>10</b>
<b>3.2 Průmyslová výroba a použití</b> .....	<b>12</b>
<b>3.3 Mechanismus vzniku</b> .....	<b>12</b>
3.3.1 Maillardova reakce .....	12
3.3.2 Jiné způsoby vzniku akrylamidu .....	14
<b>3.4 Vliv na zdraví a toxicita</b> .....	<b>15</b>
<b>3.5 Akrylamid v potravinách</b> .....	<b>17</b>
3.5.1 Legislativa.....	19
3.5.2 Výrobky z brambor.....	20
3.5.2.1 Smažené bramborové hranolky .....	21
3.5.3 Výrobky z obilovin, pekařské výrobky .....	22
3.5.4 Káva a kávové náhražky .....	23
3.5.5 Eliminace tvorby akrylamidu v potravinách.....	25
3.5.5.1 Vliv rostlinných složek na tvorbu akrylamidu .....	27
<b>3.6 Metody stanovení akrylamidu</b> .....	<b>27</b>
3.6.1 Extrakce, čištění a derivatizace.....	28
3.6.2 Separace, detekce, identifikace a kvantifikace .....	28
3.6.3 Plynová chromatografie (GC).....	28
3.6.4 Kapalinová chromatografie (LC).....	29
<b>4 Metodika</b> .....	<b>30</b>
<b>4.1 Specifikace analyzovaných odrůd</b> .....	<b>30</b>
<b>4.2 Specifikace pokusných lokalit</b> .....	<b>32</b>
4.2.1 ČZU Praha-Suchdol.....	33
4.2.1.1 Průběh počasí.....	33
4.2.2 VÚB Valečov.....	34
4.2.2.1 Průběh počasí.....	34
<b>4.3 Kulinární úpravy</b> .....	<b>35</b>
<b>4.4 Analytické stanovení</b> .....	<b>35</b>
4.4.1 Použité chemikálie .....	35
4.4.2 Použité přístroje .....	35
4.4.3 Laboratorní pomůcky .....	36
4.4.4 Příprava vzorků k analýze.....	36
4.4.5 LC-ESI-MS/MS analýza akrylamidu .....	36

4.4.5.1	Podmínky chromatografické separace .....	36
4.4.5.2	Podmínky ve zdroji detektoru (ESI pozitivní mód):.....	37
4.4.5.3	Parametry detektoru pro stanovení akrylamidu .....	37
4.4.5.4	Identifikace a kvantifikace akrylamidu.....	37
4.4.5.5	Statistická analýza dat.....	37
<b>5</b>	<b>Výsledky .....</b>	<b>38</b>
<b>5.1</b>	<b>Vliv genotypu brambor na tvorbu akrylamidu v pečených bramborách. 38</b>	
<b>5.2</b>	<b>Vliv environmentálních faktorů na výsledný obsah akrylamidu v pečených bramborách .....</b>	<b>40</b>
<b>5.3</b>	<b>Interakce genotypu a environmentálních faktorů na výsledný obsah akrylamidu v pečených bramborách.....</b>	<b>40</b>
<b>6</b>	<b>Diskuse .....</b>	<b>42</b>
<b>6.1</b>	<b>Zhodnocení vlivu genotypu .....</b>	<b>42</b>
<b>6.2</b>	<b>Zhodnocení vlivu environmentálních faktorů .....</b>	<b>44</b>
<b>6.3</b>	<b>Zhodnocení interakce genotypu a lokality .....</b>	<b>45</b>
<b>7</b>	<b>Závěr .....</b>	<b>47</b>
<b>8</b>	<b>Literatura .....</b>	<b>48</b>
<b>9</b>	<b>Seznam použitých zkratk a symbolů.....</b>	<b>56</b>
<b>10</b>	<b>Samostatné přílohy .....</b>	<b>I</b>

# 1 Úvod

Lilek brambor (*Solanum tuberosum* L.) je vysoce hodnotnou a chutnou potravinou, která obsahuje řadu, pro člověka, prospěšných látek. Je významným zdrojem energie ve formě sacharidů. Dále v malém množství obsahuje hodnotné bílkoviny, tuky, minerální látky a vitaminy (C, E, K a B). Díky tomu jsou konzumní brambory nedílnou součástí jídelníčků lidí už mnoho let.

Nicméně, během některých kulinárních úprav (smažení, pečení, grilování apod.) dochází v bramborách, vlivem účinku vysokých teplot, k tvorbě procesního kontaminantu akrylamidu.

Akrylamid (prop-2-enamid) byl nespočtem studií, které se zabývaly jeho vlivem na zdraví člověka, označen za karcinogenní, genotoxickou a neurotoxickou látku. Z těchto důvodů byl v roce 1994 zařazen Mezinárodní agenturou pro výzkum rakoviny (IARC) do skupiny pravděpodobných lidských karcinogenů (skupina 2A) (IARC 1994).

Na vysoký výskyt akrylamidu ve zpracovaných potravinách poprvé upozornil Švédský národní úřad pro potraviny v roce 2002, který odhalil vysoká množství akrylamidu právě ve zpracovaných výrobcích z brambor (SNFA 2002). Objev švédských vědců vzbudil celosvětový rozruch, jelikož akrylamid byl klasifikován jako pravděpodobný lidský karcinogen skupiny 2A. V návaznosti na tuto studii byly prováděny další studie, které objevily vysoká množství tohoto procesního kontaminantu i v jiných druzích tepelně zpracovaných potravin. Například ve výrobcích z obilovin (v pečivu, v sušenkách, v cereálních směsích), v pražené kávě a v mnoha dalších výrobcích. Koncentrace v potravinách často přesahovaly i množství  $1000 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ .

Potraviny, ve kterých dochází k tvorbě akrylamidu během tepelného zpracování, jsou potraviny rostlinného původu bohaté na redukující cukry (glukózu, fruktózu) a aminokyselinu asparagin. Reakce, při které se akrylamid majoritně v potravinách tvoří, se nazývá Maillardova reakce, během které se v potravinách vytváří i řada chtěných sensoricky aktivních látek (Friedman 2003).

Množství akrylamidu, které se ve zpracovaných bramborách či jiných plodinách tvoří závisí na mnoha faktorech. Jedním z faktorů je teplota, je známo, že akrylamid se začíná v potravinách tvořit (až na malé výjimky) při teplotě nad  $120 \text{ }^\circ\text{C}$  během smažení, fritování, pečení, grilování a pražení. Dále vznik akrylamidu ovlivňuje doba tepelné úpravy, složení a zastoupení jednotlivých prekurzorů v rostlinných plodinách. Jejich složení ovlivňuje celá řada faktorů. Jedním z nich je například odrůda, podnebí, hnojení, podmínky sklizně a skladování (Friedman 2003).

Do lidského těla akrylamid vstupuje více cestami. Jeho vstup je možný neporušenou kůží, sliznicemi, plícemi a gastrointestinálním traktem. Nejčastěji do těla akrylamid však vstupuje společně s potravou. Dále je jeho příjem možný z pitné vody, kouřením cigaret či jeho inhalací (Čebi 2016). V organismu je velmi snadno absorbován a metabolizován na reaktivní epoxid glycidamid, který je významně genotoxický (Rice 2005). Vzhledem k vysokým množstvím akrylamidu, které se v určitých komoditách potravin nacházejí a vzhledem k možným negativním vlivům na zdraví člověka, je akrylamid jedním z nejskloňovanějších procesních kontaminantů posledních dvaceti let.



## **2 Vědecké hypotézy a cíle práce**

### **Hypotézy:**

1. Obsah akrylamidu v tepelně zpracovaných bramborových produktech je závislý na genotypu brambor.
2. Obsah akrylamidu v bramborových produktech je ovlivněn environmentálními faktory na dané lokalitě pěstování brambor.

### **Cíle:**

1. Stanovit obsah akrylamidu v pečených bramborech připravených z odrůd s různým zbarvením hlíz pěstovaných na dvou různých lokalitách.
2. Vyhodnotit vliv genotypu na tvorbu akrylamidu ve výsledném produktu.
3. Vyhodnotit vliv environmentálních faktorů a jejich interakce s genotypem na obsah akrylamidu ve výsledném produktu.

### 3 Teoretická část

Akrylamid je jedním z mnoha procesních kontaminantů, které vznikají v potravinách jejich tepelnou úpravou. Většina těchto kontaminantů je zařazena do jedné ze skupin lidských karcinogenů. Akrylamid se konkrétně řadí do skupiny pravděpodobných lidských karcinogenů s označením 2A, a to od roku 1994, kdy byl do této skupiny zařazen Mezinárodní agenturou pro výzkum rakoviny (IARC). Do této kategorie lidských karcinogenů se řadí ty, pro které jsou omezené důkazy o jejich karcinogenitě u lidí a dostatečné důkazy o karcinogenitě u pokusných zvířat. Právě pro tuto jeho vlastnost a také fakt, že se s ním v běžné stravě setkává skoro každý, se problematice akrylamidu věnuje v posledních letech mnoho vědeckých publikací.

V dubnu roku 2002 informoval Švédský národní úřad pro potraviny (SNFA) o znepokojivě vysokých hladinách akrylamidu v některých potravinách zpracovaných při vysokých teplotách, konkrétně v bramborových výrobcích (SNFA 2002). Již v prvních studiích byl mechanismus vzniku tohoto procesního kontaminantu spojován s Maillardovou reakcí (neenzymatickým hnědnutím). K této reakci dochází při tepelném záhřevu potravin, kdy vlivem teploty dochází k reakci mezi aminokyselinou a redukcujícím cukrem. Konkrétně se hovoří především o aminokyselině asparaginu a redukcujících monosacharidech glukóze a fruktóze (Stadler & Studer 2016). Aminokyselina asparagin je klíčovým prekurzorem tohoto kontaminantu, při Maillardově reakci poskytuje svůj řetězec vznikajícímu akrylamidu (Stadler et al. 2002). Redukující cukry a aminokyselina asparagin se přirozeně vyskytují v potravinách rostlinného původu. Například v bramborách a jiné zelenině, v obilovinách, kakaových a kávových bobech.

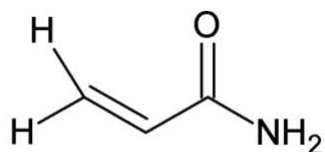
Klíčovým faktorem pro vznik akrylamidu, jak už bylo řečeno, je tepelný záhřev potravin. Vysoký obsah akrylamidu se vyskytuje především v potravinách, u kterých tepelná úprava přesáhne teplotu 120 °C. To zahrnuje tepelné úpravy jako je pečení, smažení, fritování, grilování či pražení (Friedman 2003). Naopak se tvorbu látky nepodařilo prokázat pod hranicí této teploty, jak uvádí Arvanitoyannis & Dionisopoulou (2014). Nicméně jeho vznik je možný i při teplotách nižších než 120 °C. To je patrné na příkladu konzervovaných kalifornských černých oliv, které přirozeně obsahují vysoké množství asparaginu a redukcujících cukrů. Při jejich testování byl zjištěn vysoký obsah akrylamidu i přes nižší teplotu jejich zpracování (Roach et al. 2003). Další překvapující koncentrace akrylamidu byly zjištěny v sušeném ovoci, které bylo sušeno při teplotě do 80 °C, konkrétně v sušených švestkách a hruškách, při nízkém obsahu vlhkosti. Obsah akrylamidu zde dosáhl až 1000  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  (Amrein et al. 2007). Z toho je patrné, že teplota není jediným faktorem ovlivňujícím vznik akrylamidu.

I přesto, že při Maillardově reakci vzniká potencionální lidský karcinogen, je tato reakce v potravinách stále žádoucí. Rozvíjí se během ní mnoho sensoricky aktivních látek a charakteristických vlastností potravin. Například hnědé zbarvení, vůně a chuť.

#### 3.1 Fyzikálně-chemické vlastnosti akrylamidu

Akrylamid, systematickým názvem prop-2-enamid, je sloučenina uhlíku, vodíku, dusíku a kyslíku s funkčním vzorcem  $\text{H}_2\text{C}=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}_2$  a strukturálním vzorcem uvedeném na obrázku č. 1. Jedná se o bílou krystalickou látku bez chuti a zápachu, která se řadí do skupiny organických látek (Papoušek et al. 2013). Přehled dalších fyzikálně-chemických vlastností je

uveden v tabulce č. 1. Rozpustnost akrylamidu, vzhledem k jeho velmi polárnímu charakteru, je v nepolárních rozpouštědlech velmi nízká (viz chloroform, tab. č. 2). Nejvyšší rozpustnosti akrylamidu je dosahováno ve vodě. Z tohoto důvodu akrylamid snadno vstupuje do lidského těla (Çebi 2016).



**Obrázek č. 1** Strukturní vzorec akrylamidu (Papoušek et al. 2013).

**Tabulka č. 1** Fyzikálně-chemické vlastnosti (Habermann 1991).

Vlastnost	Hodnota
molekulová hmotnost	71,08 g.mol <sup>-1</sup>
hustota	1,122 g.ml <sup>-1</sup> při 30 °C
bod varu	136 °C při 3,3 kPa
bod tání	84-85 °C
tenze par	0,9 Pa při 25 °C

**Tabulka č. 2** Rozpustnost akrylamidu (Habermann 1991).

Rozpouštědlo	Rozpustnost [g.100 ml <sup>-1</sup> při 30 °C]
voda	215,5
methanol	155
dimethyl sulfoxid	124
dimethyl formamid	119
ethanol	86,2
aceton	63,1
pyridin	61,9
acetonitril	39,6
2-butoxyethanol	31
dioxan	30
ethylacetát	12,6
chloroform	2,66
1,2-dichlorethan	1,5
benzen	0,35
tetrachlormethan	0,038
n-heptan	0,0068

Akrylamid je velmi reaktivní látka. Jeho reaktivita je způsobena přítomností reaktivní elektronově deficitní dvojně vazby s amidovou skupinou. Dále vykazuje slabě kyselé i zásadité vlastnosti (Habermann 1991). Ve vzduchu dokáže polymerizovat na polyakrylamid. Polyakrylamid není rizikovou látkou, co se toxicity týče, nicméně může obsahovat rezidua zbytků nepolymerizovaného toxického akrylamidu (Papoušek et al. 2013).

## 3.2 Průmyslová výroba a použití

První průmyslově vyrobený akrylamid, pro technické účely, byl vyroben v roce 1893 v Německu. Největší rozvoj nastal v 50. letech 20. století, kdy společnost Hercules začala vyrábět první výzkumná množství akrylamidu. Poté byla v roce 1954 odstartována výroba polyakrylamidů pro komerční využití (Smith & Oehme 1991).

Akrylamid je v podstatě vinylový monomer, který zlepšuje rozpustnost ve vodě, adhezi a zesílení polymerů, díky těmto vlastnostem se komerčně vyrábí od poloviny 50. let 20. století. V té době se vyráběl například reakcí akrylonitrilu s hydratovanou kyselinou sírovou (Habermann 1991).

Průmyslově vyráběný akrylamid má své uplatnění především ve stavebnictví, kde se používá ve formě polyakrylamidových gelů do injektážních přípravků při stavbách hrází a tunelů. Tyto gely se používají jako tmely, které umožňují propojování a zamezují případnému netěsnění těchto konstrukcí. Použití těchto gelů může způsobit značná rizika. Během výstavby železničního tunelu Hallandsås ve Švédsku v roce 1997, kde se používala injektážní látka s obsahem akrylamidu a N-methylolakrylamidu, došlo k úniku těchto dvou látek do okolních vod. Stavba tunelu byla předčasně ukončena 30. září 1997, když byly objeveny u skotu, který pil z infikovaného potoka, s koncentrací akrylamidu  $92 \text{ mg.l}^{-1}$  a N-methylolakrylamidu  $342 \text{ mg.l}^{-1}$ , závažné neurologické příznaky. Dokonce došlo i k úhynu místní rybí farmy (Hagmar et al. 2001).

Další využití akrylamidu je při výrobě papíru, dále se používá jako půdní kondicionér. Ve velké míře je používán v čistíčkách odpadních vod jako flokulant nebo k úpravě rud v těžebním průmyslu (Cwíková 2014). V souvislosti s jeho využitím ve vodárenství, je hlídán limit jeho ulpělého monomeru v pitné vodě s limitem  $0,1 \text{ } \mu\text{g.l}^{-1}$ . Tento monomer je nežádoucím kontaminantem vyčištěné pitné vody (Ministerstvo zdravotnictví 2001). Akrylamid a polyakrylamidy jsou dále využívány například k výrobě barviv, pesticidů, kontaktních čoček, své uplatnění mají i v kosmetice (Tepe 2016). V menším měřítku je používán i k výrobě obalů na potraviny (Çebi 2016).

## 3.3 Mechanismus vzniku

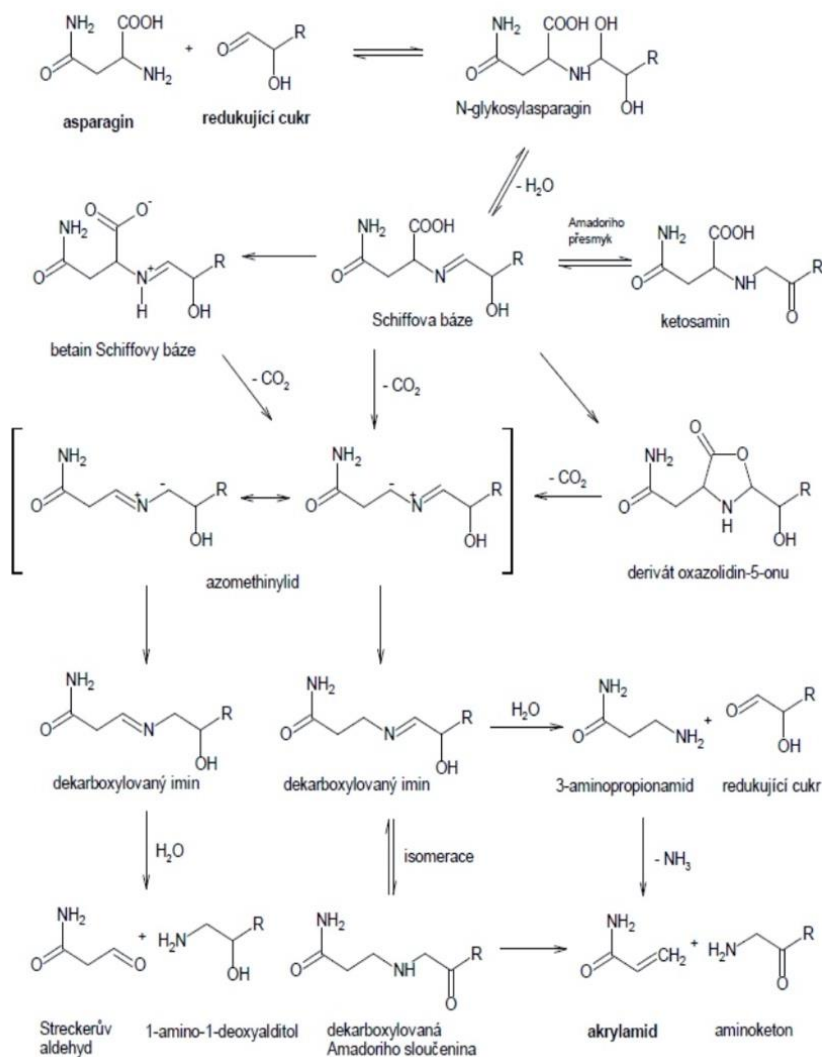
Ke vzniku akrylamidu v potravinách dochází při jejich tepelném záhřevu, jak již bylo uvedeno výše, v průběhu Maillardovy reakce. Během ní dochází k reakci aminokyseliny, především asparaginu, s redukujícím cukrem (glukózou nebo fruktózou). Aminokyselina asparagin ale není jedinou aminokyselinou, ze které může během Maillardovy reakce akrylamid vznikat. Ve studii z roku 2002, ve které bylo sledováno jednotlivě 20 aminokyselin, které byly zahřívány při  $180 \text{ } ^\circ\text{C}$  po dobu 30 minut, bylo zjištěno, že značné množství vznikalo i z aminokyselin methioninu, glutaminu a cysteinu (Stadler et al. 2002).

### 3.3.1 Maillardova reakce

Reakční mechanismus tvorby akrylamidu je velmi složitý a obsahuje několik mezikroků, Velíšek & Hajšlová (2009) jej popisují mnoha reakcemi (obrázek č. 2).

Na začátku vzniku akrylamidu je molekula asparaginu a redukujícího cukru. Molekula akrylamidu přejímá svůj základní skelet od aminokyseliny asparaginu. Redukující cukry nebo

karbonylové sloučeniny vzniklé ze sacharidů jsou zodpovědné za dekarboxylaci asparaginu, díky přítomnosti karbonylu. V případě, že nejsou přítomny v potravině redukující cukry nebo jiné  $\alpha$ -hydroxykarbonylové nebo  $\alpha$ -dikarbonylové sloučeniny, dochází u asparaginu pouze k jeho deaminaci a vzniku fumaramové kyseliny. Prvotním výsledkem reakce je karbinolamin N-glykosylasparagin. Tento primární produkt je následně dehydratován za vzniku Schiffovy báze (Velíšek & Hajšlová 2009). Gökmen & Şenyuva (2007) označují ve svém článku Schiffovu bázi jako klíčový meziprodukt pro tvorbu akrylamidu z asparaginu. Velíšek & Hajšlová (2009) dále, při popisu mechanismu vzniku akrylamidu, uvádějí, že stabilita N-glykosylasparaginu a Schiffovy báze závisí na obsahu vody. Ve vodném prostředí jsou oba tyto komponenty velmi nestabilní. Schiffova báze může ve vodném prostředí hydrolyzovat a může dojít k Amadoriho přesmyku za vzniku ketosaminu. Tvorba ketosaminu není zásadní z hlediska vzniku akrylamidu. Tato látka je důležitá především ze sensorického hlediska, jelikož z ní následně vznikají, a to při nízkém obsahu vody v médiu, významné organoleptické látky. U Schiffových bází odvozených od  $\alpha$ -hydroxykarbonylových produktů fragmentace cukrů, které obsahují volnou hydroxylovou skupinu původního glykoaldehydu v  $\beta$ -poloze vůči atomu dusíku, dochází k dekarboxylaci a k tvorbě příslušného azomethinylidu, jehož přesmykem vzniká imin. V slabě kyselém nebo neutrálním prostředí, a za vyšších teplot, může docházet také k přeměně Schiffových bází a vzniku betainu Schiffovy báze. Po intramolekulární cyklizaci vzniká derivát oxazolidin-5-on, který rovněž dekarboxylací přechází na azomethinylid. Ten se může vyskytovat ve dvou formách, které se od sebe liší polohou dvojně vazby mezi uhlíkem a dusíkem. Obě formy azomethinylidu poskytují izomerní iminy. Tyto iminy se zmíněnou dvojnou vazbou mezi uhlíkem a dusíkem, jejíž uhlík pochází z redukujícího cukru, se mohou přeměnit hydrolyzou zpět na původní cukr a 3-aminopropionamid. Nebo může dojít k přesmyku azomethinylidu na dekarboxylovanou Amadoriho sloučeninu. Samotný akrylamid vzniká rozštěpením kovalentní vazby mezi uhlíkem a dusíkem a společně s ním vzniká i molekula aminoketonu. Imin s dvojnou vazbou mezi dusíkem a uhlíkem, který pochází z molekuly asparaginu, hydrolyzuje pouze na Steckerův aldehyd asparaginu a 1-amino-1-deoxyalditol a ke vzniku dekarboxylované Amadoriho sloučeniny nedochází. Část akrylamidu vzniká také enzymovou deaminací 3-aminopropionamidu (Velíšek & Hajšlová 2009).



**Obrázek č. 2** Vznik akrylamidu Maillardovou reakcí (Velíšek & Hajšlová 2009).

### 3.3.2 Jiné způsoby vzniku akrylamidu

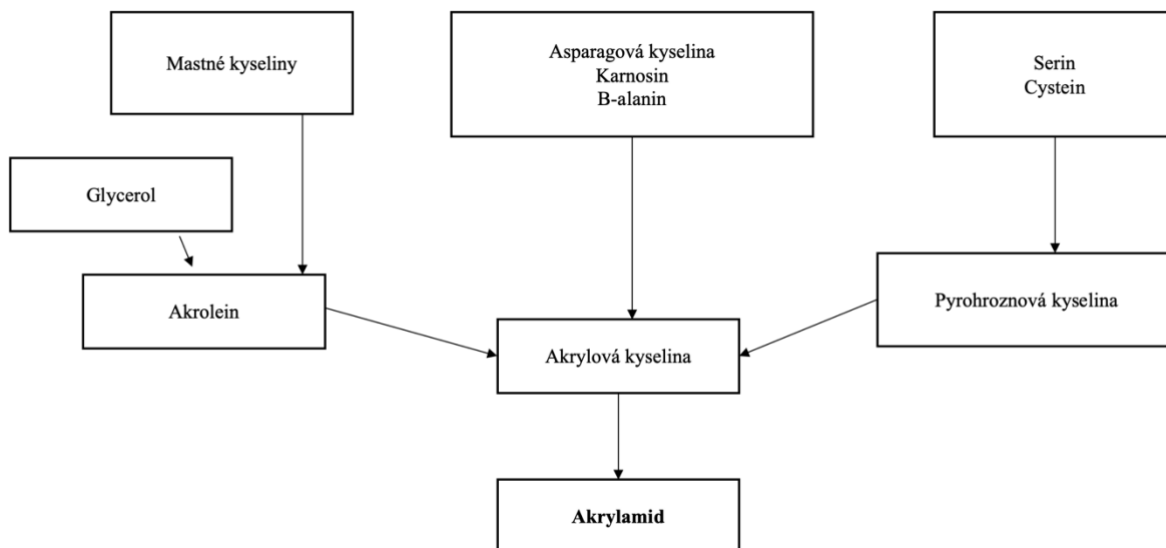
Vznik akrylamidu během Maillardovy reakce je nejčastější cestou, kterou tento procesní kontaminant vzniká. Nicméně existují i jiné způsoby, kterými může akrylamid v potravinách vznikat. Jiné cesty vzniku akrylamidu jsou popsány na obrázku č. 3. V literatuře je popsáno několik dalších teoretických cest, které nevyžadují aminokyselinu asparagin jako reaktant.

Z výsledků studie z roku 2003 lze předpokládat, vznik akrylamidu z akroleinu. Glycerol, který je produkovaný z lipidů, jako je triolein, tvoří po dehydrataci akrolein, ten je následně oxidován za vzniku akrylové kyseliny, která následně reaguje s aminokyselinou asparaginem za vzniku akrylamidu (Yasuhara 2003). Akrolein, jako prekurzor, hraje významnou roli hlavně u potravin bohatých na lipidy. Například u smažených bramborových hranolků či lupínků, které jsou smažené ve velkém množství fritovacího oleje.

Další vznik je možný z asparagové kyseliny, karnosinu a  $\beta$ -alaninu, které tepelným rozkladem mohou vést ke vzniku akrylové kyseliny, ta se díky dostupnému amoniaku přemění na akrylamid (Yaylayan a kol. 2005). Nejvíce amoniaku při tepelném zpracování generují aminokyseliny asparagin, glutamin, cystein a asparagová kyselina (Sohn & Ho 1995).

Další možností vzniku je dehydratace serinu, který může generovat pyrohroznovou kyselinu (Wnorowski & Yaylayan 2003). Tu může tvořit i cystein při ztrátě sirovodíku. Pyrohroznová kyselina je následně redukována na mléčnou a další dehydratací na akrylovou kyselinu (Yaylayan et al., 2005).

Nicméně, tyto cesty vzniku akrylamidu jsou vzhledem k celkové koncentraci akrylamidu vznikajícího v potravinách spíše okrajové.



**Obrázek č. 3** Alternativní způsoby vzniku akrylamidu (Eriksson 2005).

### 3.4 Vliv na zdraví a toxicita

Akrylamid je Mezinárodní agenturou pro výzkum rakoviny (IARC) zařazen do skupiny 2A mezi pravděpodobné lidské karcinogeny (IARC 1994).

Do této skupiny byl akrylamid zařazen na základě dostatečných důkazů z biologických testů na zvířatech (hlodavcích) a na základě omezených důkazů u lidí. Zařazení do klasifikace 2A bylo podpořeno hlavně přeměnou akrylamidu v organismu na reaktivní epoxid glycidamid (IARC 1994).

Dále byl akrylamid zařazen Evropskou agenturou pro chemické látky (ECHA) v březnu roku 2010 na seznam látek, které vzbuzují mimořádné obavy, vzhledem k jeho potenciální karcinogenitě a mutagenitě (ECHA 2010).

O akrylamidu se hovoří hlavně jako o neurotoxinu. Toxické působení na nervovou soustavu je označováno jako nejčastější oblast, kterou si vybírá pro své působení (Parzefall 2008). Dále je akrylamid genotoxický, tzn. že má potenciálně škodlivé účinky na genetický materiál (Rice 2005).

Karcinogenitu akrylamidu se u lidí zatím s jistotou nepodařilo prokázat. Studie, které byly prováděny na laboratorních potkaních a myších, prozatím s jistotou určily vysoké podezření, které u lidí může nastat při vysoké expozici tohoto pravděpodobného lidského karcinogenu. Právě testování laboratorních zvířat podhalilo biochemické dráhy a vliv této sloučeniny na živý organismus. Akrylamid je v experimentálních testech zvířatům podáván v pitné vodě nebo injekcí přímo do dutiny břišní, kdy je u nich sledována absorpce, distribuce a exkrece. Závěry výsledků studií ukazují, že je akrylamid multiorgánový karcinogen u myší a potkanů. Rozvinul

rakovinotvorná onemocnění například v nadledvinkách, varlately, mléčných žlázách, klitorisu, děloze, štítné žláze, v kůži a v plicích (Rice 2005). Je nutné poznamenat, že příjem akrylamidu potravou se odhaduje zhruba na 0,5  $\mu\text{g}$  na kilogram tělesné hmotnosti za den, toto množství je 1000–10 000krát nižší než dávka ve studiích s hlodavci (Stadler & Studer 2016). Laboratorní zvířata jsou v pokusech vystavována ve většině případech dávkám v rozmezí 10–50 mg na kilogram tělesné hmotnosti, což je mnohem více než je odhadovaná dietní expozice akrylamidu (LoPachin 2004).

Hovoříme-li o neurotoxicitě, která je častým důsledkem vystavení organismu účinkům akrylamidu, jak uvádí Parzefall (2008), je jeho neurotoxicita kumulativní, což znamená, že ani o relativně nízké expozici ze stravy nemůžeme říct, že je zanedbatelná (LoPachin 2004). Riziko, které ale reálně hrozí populaci ze stravy, je považováno za velmi nízké, jelikož hodnota obsahu akrylamidu, kdy ještě není pozorován nepříznivý účinek (NOAEL), je 0,5  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Těto hodnoty lze jen velmi nepravděpodobně dosáhnout ze stravy (Madle et al. 2003).

Při objasňování mechanismu neurotoxického účinku akrylamidu bylo zjištěno, že akrylamid působí přímo na nervová zakončení a způsobuje presynaptickou dysfunkci a případnou degeneraci (LoPachin et al. 2002). Tato poškození jsou zodpovědná za ztráty sensoriky a motoriky, které byly popsány lidmi, kteří byli vystaveni akrylamidu na pracovišti (LoPachin 2004). Nicméně účinky akrylamidu byly ve studiích na zaměstnancích v pracovním prostředí reverzibilní a nebyly příliš vážné (Hagmar et al. 2001).

Testování akrylamidu na karcinogenitu u laboratorních zvířat se začala provádět na základě zpráv z počátku 70. let 20. století. Kdy se pracovníkům továrny, kteří byli vystaveni jinému monomeru, vinyl chloridu, rozvinuly angiosarkomy jater (Heath Jr. et al. 1975).

Mezi první studie zabývající se vlivem samotného akrylamidu na zdraví člověka patří studie z roku 1986, která byla prováděna v USA na zaměstnancích pracujících s akrylamidovými monomery. Během této studie byla sledována úmrtnost pracovníků na rakovinová onemocnění (Sobel et al. 1986). Nicméně, ani v dalších kohortních studiích, které byly provedeny na pracovních, se nepodařilo nalézt významnou souvislost mezi jejich úmrtností a expozicí akrylamidem (Marsh et al. 1999).

Do lidského těla může akrylamid vstupovat více cestami. Jeho vstup je možný neporušenou kůží, sliznicemi, plicemi a gastrointestinálním traktem. Nejčastěji do těla akrylamid vstupuje společně s potravou, kde dochází k jeho tvorbě při tepelném zpracování některých potravin. Dále je jeho příjem možný i z pitné vody, kouřením cigaret či jeho inhalací (Čebí 2016). K detekci akrylamidu v cigaretovém kouři došlo dříve než k jeho detekci v potravinách. Hodnota akrylamidu se pohybuje v rozmezí od 1 do 2  $\mu\text{g}$  na cigaretu (Smith et al. 2000). Nicméně větší pozornosti mu bylo věnováno právě až po zjištění vysokých hladin v potravinách, v roce 2002 ve Švédsku (SNFA 2002).

Díky své polaritě, a malé velikosti molekuly, je akrylamid velmi snadno absorbován a distribuován v organismu (Fennell et al. 2004). V těle experimentálních zvířat a v lidském těle je akrylamid metabolizován na chemicky více reaktivní epoxid glycidamid, který má významnou roli v genotoxicitě akrylamidu (Rice 2005). Tento metabolit se velmi snadno absorbuje a distribuuje do všech tkání v těle (Stadler & Studer 2016). Akrylamid a glycidamid jsou schopni se vázat na DNA a reagovat s řadou biomolekul včetně hemoglobinu (Fennell et al. 2004). Genotoxicita akrylamidu i glycidamidu byla již prokázána v několika studiích se savci. Akrylamid je schopen *in vivo* indukovat chromozomální aberace a genové



mutace v zárodečných a somatických buňkách hlodavců (Rice 2005). Tvorba glycidamidu je indukována během biotransformačních procesů v těle živočichů cytochromem P450, který je obsažen v těle všech živočichů. Glycidamid je dále biotransformován na glyceramid nebo je konjugován za vytvoření merkapturové kyseliny, která je pak následně z těla vyloučena močí (Kocadağlı & Gökmen 2016).

Jak vysoké riziko vzniku nádorových onemocnění u lidí při konzumaci potravin s obsahem akrylamidu hrozí, nelze v současné době zcela spolehlivě určit.

### 3.5 Akrylamid v potravinách

Akrylamid se nachází v mnoha potravinách. K jeho vzniku nedochází jen v komerčně připravovaných výrobcích, ale dokonce i u nás doma v kuchyni. Vznik akrylamidu je spjatý s tepelnou úpravou potravin. Jisté tepelné úpravy potravin jako je smažení, pečení, grilování nebo sušení přispívají ke tvorbě tohoto pravděpodobného lidského karcinogenu. Významné koncentrace akrylamidu můžeme nalézt i v tak běžných potravinách jako je chléb, pečivo, snídaňové cereálie, bramborové výrobky, čokoláda či káva (Luning & Sanny 2016).

Tvorba akrylamidu v potravinách byla poprvé popsána v dubnu roku 2002 Švédským národním úřadem pro potraviny (SNFA). Švédský úřad toto ohlášení vydal ve spolupráci s vědci ze Stockholmské univerzity. Konkrétně tomu bylo ve zpracovaných bramborových a obilných výrobcích připravených smažením nebo pražením za použití vysoké teploty (SNFA 2002). Nicméně tato studie nebyla první, která se vznikem akrylamidu zabývala. Za zmínku stojí studie, ve které se podařilo vznik akrylamidu po záhřevu určit již o dva roky dříve u zvířecího krmiva (Tareke et al. 2000).

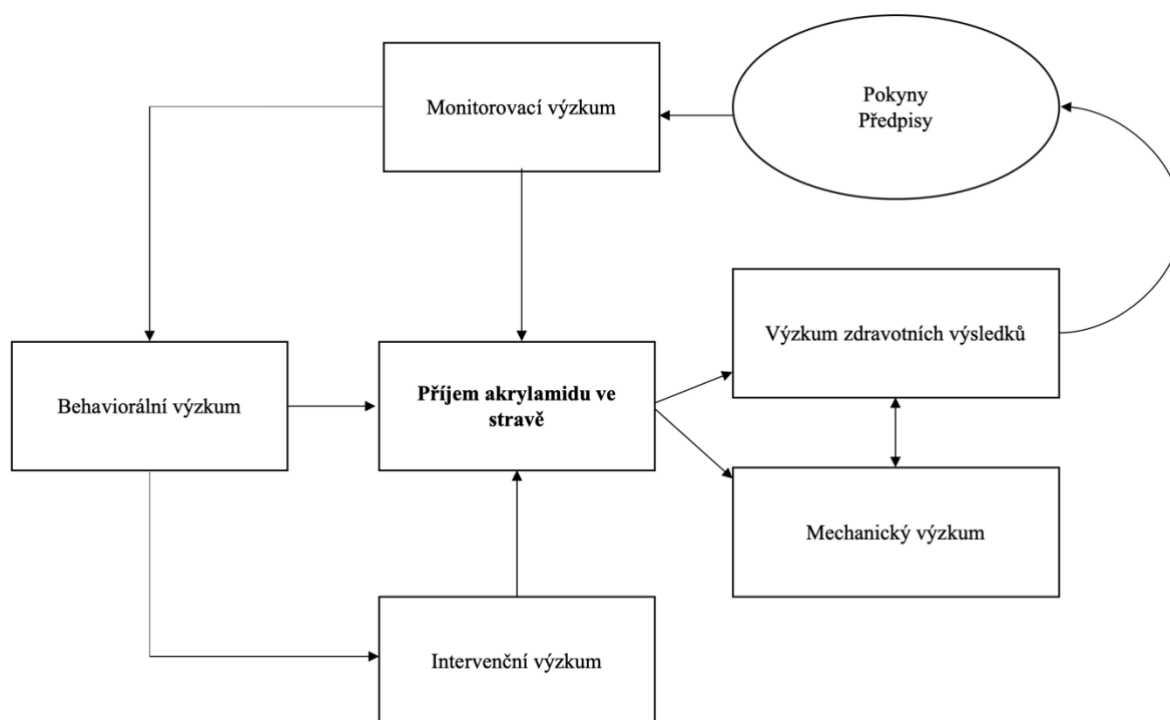
Akrylamid se řadí do tzv. procesních kontaminantů potravin. Do potravin tedy vstupuje jako vedlejší produkt jejich tepelného zpracování. Nejvíce zasažené potraviny jsou ty, které mají vysoký obsah prekurzorů Maillardovy reakce (redukujících sacharidů a asparaginu) jako jsou bramborové hranolky, lupínky, výrobky z obilovin, káva, černé olivy a další (Freisling & Slimani 2016). Naopak u potravin, které se vaří, nebyl akrylamid nalezen (Rosén & Hellenäs 2002).

Poměr asparaginu a redukujících cukrů se v plodinách značně liší. Zjednodušeně se uvádí, že u výrobků z brambor je limitujícím faktorem především obsah redukujících cukrů v bramborových hlízách a u výrobků z obilovin je limitujícím faktorem obsah asparaginu s vyšším množstvím redukujících cukrů (Matthäus & Haase 2016).

Výsledné obsahy akrylamidu v tepelně upravených potravinách ovlivňují především parametry pěstované plodiny (rostlinný druh a odrůda), způsob pěstování (především hnojení), klimatické podmínky, sklizňový rok a skladovací podmínky suroviny před jejím zpracováním (Matthäus & Haase 2016). Co se týká samotné sklizně, bylo zjištěno, že obsahy prekurzorů ke vzniku akrylamidu v plodinách kolísají rok od roku, v návaznosti na počasí a jiných faktorech. Například bylo dokázáno, že plodiny pěstované ve sklizňovém roce s extrémně horkými letními měsíci následně vykazují po zpracování nižší potenciál tvorby akrylamidu (Haase & Weber 2003).

Odhady množství příjmu akrylamidu ze stravy jsou velmi obtížné z několika důvodů. Obsah akrylamidu v potravinách značně kolísá v závislosti na tom, jakým způsobem byla potravina tepelně zpracována (smažení, pražení atd.) nebo například konzervována (při nízké

vlhkosti a teplotě vyšší než 120 °C). Za podmínek nízké vlhkosti lze nalézt překvapující vysoká množství akrylamidu i v případě, že teplota nepřesáhla 120 °C. Týká se potravin s vysokou koncentrací asparaginu a redukcujících cukrů, například černé olivy. Obsah akrylamidu závisí nejen na použité teplotě přípravy, ale také na kolísavém obsahu prekurzorů Maillardovy reakce (redukcujících cukrů a asparaginu). Dále různé osobní preference při domácí přípravě, jako je stupeň propečení apod. Nakonec hrají také velkou roli sami výrobci potravin, kteří se navzájem liší ve zpracování, například jiný stupeň při pražení kávy (Freisling & Slimani 2016). Hlavní body, které je nutné zohlednit při odhadu příjmu akrylamidu ze stravy jsou shrnuty na obrázku č. 4.



**Obrázek č. 4** Oblasti výzkumu při odhadu příjmu akrylamidu ze stravy (Freisling & Slimani 2016).

Z odhadů příjmu množství akrylamidu ze stravy, které jsou dostupné, je patrné, že nejvíce exponovanými skupinami jsou děti, především kojenci a batolata. Na základě průzkumů byl příjem v závislosti na věkové skupině odhadnut na 0,5–1,9 µg na kilogram tělesné váhy za den. Lze tedy odhadnout, že u dětí je příjem akrylamidu ve stravě asi o 30 % vyšší než u dospělých a starších osob, jak uvádí Freisling & Slimani (2016).

Freisling & Slimani (2016) dále uvádí i prvních pět potravin, které nejvíce přispívají k příjmu akrylamidu ve stravě u dospělých v evropském průzkumu. Těmi jsou na prvním místě chléb (klasický), křupavý chléb a suchary, na druhém místě káva, na třetím bramborové lupínky a hranolky, na čtvrtém koláče a na pátém místě slané sušenky.

Problematika akrylamidu vedla ke zavádění tzv. monitoringů, které mají za cíl sledovat hladiny akrylamidu ve vybraných druzích potravin. První monitoring proběhl v roce 2007, pod záštitou Evropské komise (The Commission Of The European Communities, 2007). Na základě doporučení Evropské komise dochází k aktualizacím těchto monitoringů a zaznamenávání trendů. Doporučení Evropské komise jsou závazná pro všechny členské státy Evropské unie, která je vyzývá ke každoročnímu vlastnímu monitoringu, podle stanovených pravidel.

### 3.5.1 Legislativa

Vzhledem k tomu, že se akrylamid nachází ve většině potravin, které denně konzumujeme, a jeho expozice je u populace vysoká, stal se tedy rizikovým. Jeho limity jsou vzhledem k jeho toxicitě a vlivu na zdraví lidí hlídány nejen v potravinách (tabulka č. 3), ale i ve vodě (tabulka č. 4).

U potravin jsou stěžejní výrobky z brambor, obilovin, kávy a dětské výživy, u kterých jsou určovány tzv. porovnávací hodnoty. Ty se pravidelně aktualizují na základě vyvíjení lepších opatření při výrobě rizikových skupin potravin tak, aby docházelo ke snižování obsahu akrylamidu ve vyráběných produktech. Poslední aktualizace proběhla v roce 2017, kdy Evropská komise vydala nové porovnávací hodnoty v nařízení č. 2158/2017, které vstoupilo v platnost 11. dubna 2018.

U pitné a balené vody je akrylamid zdravotně významným, organickým, fyzikálně chemickým ukazatelem. Jeho limit je stanoven ve Vyhlášce Ministerstva zdravotnictví č. 376/2000 Sb. na  $0,1 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ .

Akrylamid je součástí i obalů některých potravin. Proto jsou jeho limity určené i v obalových materiálech, konkrétně v Nařízení komise Evropské unie č. 10/2011 ze dne 14. ledna 2011 o materiálech a předmětech z plastů určených pro styk s potravinami.

**Tabulka č. 3** Porovnávací hodnoty uvedené v nařízení Evropské komise ze dne 20. listopadu 2017 č. 2158/2017.

Potravina	Porovnávací hodnota [ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ]
Hranolky (k přímé spotřebě)	500
Bramborové lupínky z čerstvých brambor a z bramborového těsta	750
Bramborové krekry	750
Jiné bramborové výrobky z bramborového těsta	750
Měkký chléb	
a) pšeničný chléb	50
b) měkký chléb, jiný než pšeničný	100
Snídaňové cereálie (kromě obilné kaše)	
a) výrobky z otrub a celozrnné cereálie, zrna pufovaná v pufovacím dělu	300
b) pšeničné a žitné výrobky ( <sup>1</sup> )	300
c) výrobky z kukuřice, ovsa, pšenice špaldy, ječmene a rýže	150
Sušenky a oplatky	350
Krekry s výjimkou bramborových kreků	400
Křupavý chléb	350
Perník	800
Výrobky podobné ostatním výrobkům této kategorie	300
Pražená káva	400
Instantní (rozpuštěná) káva	850
Náhražky kávy	
a) náhražky kávy výhradně z obilovin	500

**Tabulka č. 3** (pokračování)

Potravina	Porovnávací hodnota [ $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ]
b) náhražky kávy ze směsi obilovin a čekanky	( <sup>2</sup> )
c) náhražky kávy výhradně z čekanky	4000
Potraviny pro malé děti, obilné příkrmy pro kojence a malé děti, kromě sušenek a sucharů ( <sup>3</sup> )	40
Sušenky a suchary pro kojence a malé děti ( <sup>3</sup> )	150

(<sup>1</sup>) Jiné než celozrnné cereálie a/nebo jiné než otrubové cereálie. Obilovina přítomná v největším množství určuje kategorii.

(<sup>2</sup>) Porovnávací hodnota, která se použije na náhražky kávy ze směsi obilovin a čekanky, zohledňuje relativní podíl těchto složek v konečném výrobku.

(<sup>3</sup>) Podle definice v nařízení (EU) č. 609/2013.

**Tabulka č. 4** Nejvyšší mezní hodnota pro akrylamid v pitné a balené vodě (Vyhláška Ministerstva zdravotnictví č. 376/2000 Sb.).

Fyzikální a chemické ukazatele – zdravotně významné, organické	Limit [ $\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ]
akrylamid	0,1

### 3.5.2 Výrobky z brambor

Vzhledem k vysokým hodnotám, které byly v bramborových výrobcích nacházeny, především se jedná o bramborové hranolky a lupínky, vydává Evropská komise pravidelně aktualizované hodnoty, které mají za cíl snížit přítomnost akrylamidu v potravinách. Aktuální porovnávací hodnoty jsou uvedené v nařízení Evropské komise ze dne 20. listopadu 2017 č. 2158/2017. Tyto porovnávací hodnoty jsou závazné a nesmějí být překračovány. U bramborových hranolků k přímé spotřebě je porovnávací hodnota akrylamidu  $500 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Pro další výrobky z brambor jako jsou bramborové lupínky z bramborového těsta, bramborové krekry a jiné bramborové výrobky z bramborového těsta je porovnávací hodnota stanovena na  $750 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  (The Commission of the European Communities 2017).

Vysoká množství akrylamidu ve smažených bramborách jsou dána hlavně vysokými hodnotami prekurzorů Maillardovy reakce. V bramborových hlízách je přirozeně velké množství volného asparaginu a redukujících cukrů (Mottram et al. 2002).

Co se týče bramborových hlíz, bylo zjištěno, že větší vliv na tvorbu akrylamidu má spíše koncentrace redukujících cukrů než koncentrace volného asparaginu (Amrein et al. 2003). Z toho plyne, že pro zabránění tvorby akrylamidu je potřeba zabránit uvolňování redukujících cukrů v bramborových hlízách. V praxi je tedy potřeba optimalizovat kultivary a také podmínky sladování. Je známo, že u brambor při skladování pod  $3 \text{ }^\circ\text{C}$ , dochází k jejich sládnutí, tedy ke zvýšenému obsahu cukrů za nízkých teplot (Coffin et al. 1987). V důsledku toho dochází k vyšší potencionální tvorbě akrylamidu při jejich tepelném zpracování nad  $120 \text{ }^\circ\text{C}$  (Amrein et al. 2003).

### 3.5.2.1 Smažené bramborové hranolky

Výrobní postup smažených bramborových hranolků se skládá z jejich předsmažení, zamražení, rozmražení a jejich konečného smažení. Největší vliv na výsledný obsah a tvorbu akrylamidu má finální krok, smažení, v předchozích krocích lze koncentraci vytvořeného akrylamidu ovlivnit jen velmi málo. Tvorba akrylamidu během smažení začíná při teplotách nad 120 °C a dosahuje maxima kolem 170–180 °C (Mottram et al. 2002).

Pedreschi et al. (2004), zaznamenali koncentrace akrylamidu během smažení bramborových hranolků. Uvedli, že při smažení po dobu 7 minut na 150 °C byl obsah akrylamidu 500  $\mu\text{g.kg}^{-1}$ . Tento obsah srovnávali s kratším časem smažení při vyšší teplotě po dobu 3 minut na 170 °C, který byl vyšší, konkrétně 4 500  $\mu\text{g.kg}^{-1}$ . Matthäus et al. v roce 2004 naměřili hodnoty akrylamidu během smažení bramborových hranolků při teplotě 190 °C po dobu 10 minut 3 700  $\mu\text{g.kg}^{-1}$ . Při smažení o vyšší teplotě 180 a 200 °C došlo k navýšení hodnot, ale s následným rychlým poklesem v důsledku degradace akrylamidu. Z měření vyplývá, že malé odchylky teplot během smažení mohou mít velký vliv na tvorbu akrylamidu. Tvorbu akrylamidu neurčuje jen teplota, ale také čas. Oba tyto faktory určují kinetiku tvorby akrylamidu (Luning & Sanny 2016).

Dalším faktorem, který během smažení ovlivňuje tvorbu akrylamidu, je velikost smažené porce. Velikost porce určuje teplotu a čas, po který je nutné hranolky smažit pro optimální sensorické vlastnosti (chuť a křehkost). Větší porce způsobí větší pokles teploty a tím pádem i delší čas smažení, jak uvádí Luning & Sanny (2016). Fiselier et al. (2005) se zabývali právě velikostí porce jako faktorem, ovlivňujícím tvorbu akrylamidu. Prokázali, že přidáním 30 gramů bramborových hranolků ke 2 litrům fritovacího oleje, dojde ke snížení teploty oleje z počátečních 170 °C na 168 °C. Poté trvá 210 sekund (tři a půl minuty) než dojde k optimálnímu usmažení hranolek. Takto připravené hranolky obsahovaly 75  $\mu\text{g.kg}^{-1}$  akrylamidu. Při přidání 150 gramů bramborových hranolků teplota oleje klesla o mnoho více, ze 170 °C na 144 °C. Potřebný čas smažení se také zvýšil, konkrétně na 390 sekund (šest a půl minuty). Hodnota akrylamidu v těchto bramborových hranolkách byla po usmažení poloviční, 35  $\mu\text{g.kg}^{-1}$ . Ze závěrů této studie vyplývá, že výsledná hladina akrylamidu při větší smažené porci byla nižší, aniž by byly negativně ovlivněny sensorické vlastnosti a dále, že malé odchylky ve velikosti porcí mohou mít vliv na hladinu akrylamidu.

Nemalý vliv na tvorbu akrylamidu má i obsah vody. Nižší obsah vody vede ke zvýšené tvorbě akrylamidu (de Vleeschouwer et al. 2007). Naopak typ použitého oleje při smažení nemá na tvorbu akrylamidu vliv žádný (Matthäus et al. 2004).

Je důležité zmínit i lidský faktor, který například v podnicích s rychlým občerstvením, kde se často hranolky připravují, může při nedostatečném proškolení výslednou hodnotu akrylamidu velmi negativně ovlivnit. Nakonec jsou to právě lidé, kteří v těchto podnicích nastavují podmínky smažení. Je důležité, aby se pracovníci vyhýbali smažení nad 175 °C. Dále je nutné, aby při smažení menších porcí bramborových hranolků, byli opatrní a vhodně upravovali dobu smažení. V neposlední řadě je také důležitá kontrola pracovníků vedením dané provozovny (Luning & Sanny 2016).

### 3.5.3 Výrobky z obilovin, pekařské výrobky

Pekařské výrobky jsou vyráběné z obilných mouk, kdy teplota pečení výrobku může dosahovat až 260 °C (Lai & Lin 2006). Mezi pekařské výrobky, dle vyhlášky Ministerstva zemědělství č. 333/1997 Sb., patří chléb pekařský kypřený kvasem nebo droždím, pšeničný chléb a pečivo, žitný chléb a pečivo, běžné pečivo, jemné pečivo, trvanlivé pečivo, celozrnné a vícezrnné varianty chleba a pečiva, sušenky, oplatky, perníky, suchary, preclíky, crackerové pečivo atd.

Mezi jedny z hlavních faktorů ovlivňujících tvorbu akrylamidu v pekařských výrobcích se řadí teplota a vlhkost pečených výrobků. K jeho tvorbě dochází během Maillardovy reakce redukujících cukrů s aminokyselinou asparaginem při teplotách nad 120 °C (Friedman 2003). K jeho tvorbě ale může docházet za určitých podmínek u některých produktů i za nižší teploty, jak uvádí Amrein et al. (2004).

Dalšími faktory, které ovlivňují jeho tvorbu a obsah ve finálních výrobcích jsou: složení potravin (zejména koncentrace prekurzorů Maillardovy reakce), pH, aktivita vody, technologické procesy a podmínky během pečení (Claus et al. 2008a).

Na množství akrylamidu v obilovinách má vliv hlavně odrůda, sklizeň, hnojení a způsob skladování. Odrůdy, které jsou vyšlechtěny na větší množství bílkovin v zrně, tvoří zpravidla více akrylamidu. Při sklizni je důležité dbát na vyřazení naklíčených zrn. Ta totiž obsahují nejvíce prekurzoru asparaginu. Klíčení zrn způsobují klimatické podmínky, které pěstitelé nemohou nijak ovlivnit, proto se obsah akrylamidu odvíjí od sklizně, která je každý rok jiná (Claus et al. 2008b). Větší obsah akrylamidu v klíčících zrnech je dán vyšší aktivitou enzymů, které štěpí v zrnech škrob a bílkoviny na prekurzory, které podněcují vznik toxické látky. Podnebí má dále vliv i na složení aminokyselin v zrně (Mesias & Morales 2016).

Výsledný obsah akrylamidu ovlivňuje i způsob hnojení, konkrétně aplikace dusíkatých hnojiv. Tuto hypotézu potvrdil pokus, v němž se zjišťovalo množství akrylamidu v chlebech, které byly upečeny z různé mouky. První mouka pocházela z pole, které nebylo hnojené dusíkem. Druhá mouka, pocházela z pole, na které byla aplikována dávka 220 kg dusíku na hektar. Obsah akrylamidu v chlebech, které byly upečeny z druhé mouky, byl až 4krát větší. Dusík se v zemědělství hojně využívá k maximalizaci výnosů a mimo jiné má také pozitivní vliv na kvalitu mouky. Proto jej nelze vyloučit a zamezit tak většímu obsahu sledované toxické látky, kterou dusíkatá hnojiva podněcují (Claus et al. 2008b).

Pečivo je velmi oblíbená a často konzumovaná komodita potravin, tvoří podstatnou část jídelníčku mnoha lidí. Proto akrylamid z těchto produktů velmi přispívá k celkovému dennímu příjmu akrylamidu a má i tedy významný vliv na veřejné zdraví lidí (Mesias & Morales 2016).

Pekárenské výrobky jsou bohaté na obsah asparaginu, hlavním zdrojem je mouka, dále med, ořechy a jiné přísady (Claus et al. 2006). Studie prokázaly, že větší vliv na tvorbu akrylamidu v pekařských výrobcích má právě obsah asparaginu než obsah redukujících cukrů. Pokud je do těsta pekařských výrobků přidán asparagin, výsledná koncentrace akrylamidu se významně zvýší. Při přidání redukujících cukrů k významnému zvýšení akrylamidu nedochází (Surdyk et al. 2004). Obsah volného asparaginu se odvíjí od druhu mouky. V pšeničné mouce se jeho obsah pohybuje od 1,74 do 19,05 mg ve 100 g mouky. O něco více je ho obsaženo v mouce ze špaldy (6,46–12,17 mg.100 g<sup>-1</sup>). Největší množství volného asparaginu se vyskytuje

v žitné mouce, a to v rozmezí 41,37–44,10 mg ve 100 gramech mouky (Mesias & Morales 2016).

### 3.5.4 Káva a kávové náhražky

Káva je společně s čajem nejoblíbenějším nápojem na světě. Káva má nejen senzorycké přitažlivé vlastnosti, jako je vůně a chuť, ale také podporuje zdraví. Ony biologické účinky kávy jsou kávě přisuzovány v důsledku obsahu kofeinu a několika set biologicky aktivních sloučenin, jako jsou polyfenoly a produkty Maillardovy reakce (Anese 2016).

Mírné dávky kávy, tři až čtyři šálky denně, mohou příznivě ovlivnit nejen bdělost, ale také mohou snížit riziko vzniku cukrovky druhého typu, hypertenze, obezity a deprese (Nehlig 2011). Naopak vyšší dávky kávy mohou způsobit potencionální rizika, která jsou spojená s vyšší konzumací kofeinu. Vyšší příjem kávy může způsobit úzkosti, nespavost, třes, palpitaci a úbytek kostní hmoty s vyšším rizikem tvorby zlomenin (O'Keefe et al. 2013). V důsledku toho bylo vytvořeno několik možností jak kávu, s přirozeně se vyskytujícím kofeinem, nahradit produkty bez kofeinu tzv. kávovými náhražkami, které mohou pít i lidé, kteří ze zdravotních důvodů či jiných nemohou pít kofeinovou kávu. Nejčastěji se používají přísady: sladový ječmen, pražený kořen čekanky, pražená žita atd. (Anese 2016).

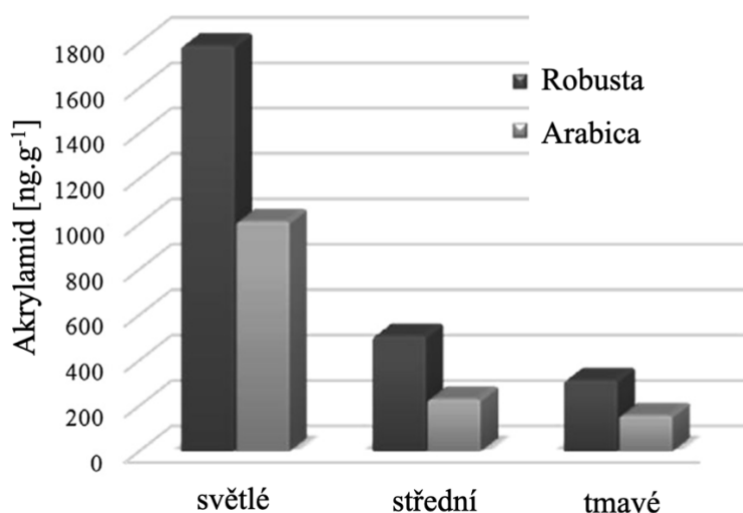
Káva má také velmi silnou antioxidační aktivitu, kterou má hlavně díky produktům Maillardovy reakce, ke které dochází během pražení kávových zrn (Nicoli et al. 1997). Nicméně proces pražení, při kterém dochází k Maillardově reakci je také zodpovědný za tvorbu procesních kontaminantů, a to nejen akrylamidu, jak uvádí Taeymans et al. 2004, ale také furanu a 5-hydroxymethylfurfuralu (Anese 2016).

Z výsledků průzkumu, který prováděl panel pro kontaminanty Evropského úřadu pro bezpečnost potravin (EFSA, European Food Safety Authority), je patrné, že nejvyšší hladiny akrylamidu ze sledovaných potravin mají káva a kávové náhražky. Dále také, že instantní káva a kávové náhražky mají vyšší obsah akrylamidu než káva pouze pražená (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain 2015). Nejvyšší hodnoty vykazují náhražky kávy na bázi čekanky, v důsledku vysoké hladiny fruktózy a také díky hnojení čekanky dusíkatými hnojivy, které mají vliv na hladinu volného asparaginu (Anese 2016).

Ke vzniku akrylamidu dochází při Maillardově reakci stejnými mechanismy jako u ostatních potravin, které jsou vystavené vysokým teplotám. U kávy je jako hlavní limitující faktor uváděn prekurzor asparagin (Lantz et al. 2006). Tepelná úprava kávových zrn, tedy pražení, je proces, během kterého akrylamid vzniká. Při pražení je rozhodující tzv. stupeň pražení, tedy doba pražení kávového zrna. Při tomto procesu se množství akrylamidu exponenciálně zvyšuje. Po dosažení maxima rychle klesá. K poklesu dochází při vysokých teplotách pražení, kdy rychlost degradace překročí rychlost tvorby. Pravděpodobně v důsledku reakce akrylamidu například s melanoidiny, které se při pražení také tvoří (Pastoriza et al. 2012).

Dále má na obsah akrylamidu vliv druh kávy. Vyšší hodnoty akrylamidu při testování vykazuje káva Robusta (*Coffea canephora robusta*), která tvoří až dvakrát vyšší množství akrylamidu než káva Arabica (*Coffea arabica*). Vyšší obsah u kávy Robusty se vysvětluje jiným chemickým složením. Konkrétně vyšším obsahem volného asparaginu, který je u tohoto druhu kávy až dvakrát vyšší (Bagdonaite et al. 2008). Co se týká kávového nápoje, je přenos

akrylamidu ze zrna do nápoje téměř ekvivalentní obsahu v praženém kávovém zrně, jelikož je akrylamid vysoce rozpustný ve vodě. Vyšší koncentrace akrylamidu u pražené mleté kávy Robusty v různých stupních pražení oproti kávě Arabice je znázorněna na obrázku č. 5 (Alves et al. 2010).



**Obrázek č. 5** Koncentrace akrylamidu ve světle, středně a tmavě pražené mleté kávě (Alves et al. 2010).

Konzumace kávy a kávových náhražek velmi zásadně přispívá do celkového příjmu akrylamidu ze stravy. Míra expozice akrylamidu z kávy se liší v závislosti na zemi, věku a pohlaví a objemu zkonsumované kávy. Dále je míra expozice ovlivněna již zmíněným stupněm pražení. Z tohoto důvodu se hledají cesty, kterými lze vznik a následný obsah akrylamidu v těchto produktech snížit. Při hledání těchto cest je důležité dbát v první řadě na sensorické vlastnosti kávy, které nesmí být negativně ovlivněny, jelikož společně akrylamidem se tvoří aroma, barva a chuť (Anese 2016).

Výrobci káv mají povinnost dodržovat porovnávací hodnoty, které jsou dány Nařízením komise Evropské unie č. 2158 z listopadu roku 2017. Hodnoty, které musí výrobci dodržovat, jsou uvedené v tabulce č. 3.

Hodnoty akrylamidu v pražených kávách značně kolísají. Největších hodnot (12500  $\mu\text{g.kg}^{-1}$ ) je dosaženo v prvních 4–5 minutách pražení při teplotách 230 °C. Poté jeho hodnota klesá na 6000  $\mu\text{g.kg}^{-1}$  po 25 minutách pražení, po 50 minutách je hodnota již jen 2000  $\mu\text{g.kg}^{-1}$ . Tento pokles je způsoben vytékáním akrylamidu do ovzduší a dále také jeho degradací. Obsahy akrylamidu se snižují i v průběhu skladování, například po uplynutí 6 měsíců se obsah akrylamidu sníží až o 40 % oproti hodnotám, které byly zjištěny na začátku skladovacího procesu (Velíšek & Hajšlová 2009).

Mezi preventivní opatření, které má snižovat množství akrylamidu v hotové kávě patří enzymatické předčištění surové kávy za pomoci enzymu asparaginázy, který hydrolyzuje amidovou skupinu na postranním řetězci asparaginu za vzniku asparagové kyseliny



a amoniaku, tím dojde ke snížení hlavního prekursoru asparaginu o 70 %, jak uvádí Zyzak et al. (2003). Nicméně v průmyslovém měřítku je použití enzymů velmi problematické (Anese 2016).

Další možností, jak snížit koncentraci akrylamidu v kávě, je užití vysokého stupně pražení. Jak bylo uvedeno výše, koncentrace akrylamidu během pražení exponenciálně roste do bodu maxima a následně strmě klesá. V kávových zrnech pražených do tmavé barvy je až o 20–30 % méně akrylamidu oproti maximální hodnotě (Şenyuva & Gökmen 2005). Nicméně, stupeň pražení negativně ovlivňuje tzv. aromatický profil kávy, který je určujícím faktorem při výběru kávy u spotřebitelů. Snížení koncentrace akrylamidu se tedy dá dosáhnout lepší cestou, a to pražením při nízkém tlaku. Tím je docíleno nejen nižší koncentrace akrylamidu, ale také pro konzumenty vhodnějšího středního propražení kávy (Anese et al. 2014).

Množství akrylamidu lze snížit také mícháním druhů káv. Jak bylo uvedeno, káva Robusta obsahuje dvakrát více akrylamidu než káva Arabica (Bagdonaite et al. 2008). Vhodným namícháním těchto dvou druhů káv s vyšším podílem kávy Arabiky lze docílit nižší koncentrace akrylamidu v šálku kávy (Anese 2016).

### **3.5.5 Eliminace tvorby akrylamidu v potravinách**

Od počátečních informací, které prokázaly přítomnost velkého množství akrylamidu v tepelně zpracovaných potravinách, až několik mg na kilogram potraviny, se vědci snaží v několika studiích nalézt způsoby, kterými lze tvorbu a množství akrylamidu v potravinách eliminovat. Jejich zájem je umocněn především negativním dopadem na zdraví člověka. První příručka o eliminaci akrylamidu byla sestavena již v roce 2005 Konfederací potravinářského a nápojového průmyslu v Evropě, nově konfederace funguje pod názvem FoodDrinkEurope (Mojska 2016). Tato příručka, tzv. Toolbox, je pravidelně aktualizována na základě nových výsledků výzkumů. Nejnovější vydání je z roku 2019 (FoodDrinkEurope 2019) a jedná se již o patnácté vydání. Hlavním cílem eliminací vysokých obsahů akrylamidu v potravinách je ochrana zdraví spotřebitelů.

Nejnovější vydání Toolboxu se snaží reagovat na požadavky nařízení Evropské komise z roku 2017. V příručce je v každé kategorii produktů popsáno 14 parametrů (The Commission of the European Communities 2017).

Cílem příruček zabývajících se eliminací tohoto procesního kontaminantu je také podpora pro výrobce potravin, kteří musejí splňovat normy dané legislativou Evropské unie, aby při výrobě potravinářských výrobků mohli přijímat správná opatření ve snaze snížit obsah akrylamidu v hotových výrobcích na co nejnižší možnou hladinu. Příručky jim pomohou se správným výběrem surovin, přísad nebo s různými fázemi zpracování (Mojska 2016).

Při hledání možných cest, které vedou ke snižování akrylamidu, je důležité především dbát na příznivou chuťovou a nutriční stránku daných potravin. Jak bylo uvedeno v textu již několikrát, prekursor pro vznik akrylamidu jsou reaktanty Maillardovy reakce, asparagin a redukující cukry. Při snižování těchto reaktantů v surovinách užívaných k výrobě potravin, je důležité myslet na to, že sama Maillardova reakce je v potravinách během zpracování žádoucí. Poskytuje potravině charakteristické sensorické vlastnosti. Úplná eliminace tvorby akrylamidu je zcela nemožná, asparagin i cukry jsou důležitými živinami, které se přirozeně vyskytují v mnoha potravinách, neboť jsou důležitou živinou pro růst a vývoj rostlin.

V příručce Toolboxu se můžeme například dočíst, že půdy, které jsou chudé na síru nejsou vhodné pro pěstování obilovin. Malé množství síry totiž v půdě vede k větší tvorbě asparaginu v obilných zrnech, a tudíž k vyššímu vzniku akrylamidu při pečení z mouk těchto zrn. Dále je v příručce uvedeno několik přísad, které snižují hladinu akrylamidu. Mezi ně patří přidání vápenatých solí (uhličitanu vápenatého nebo síranu vápenatého), kypřící látky hydrogenuhličitanu sodného nebo přidání enzymu asparaginázy (The Commission of the European Communities 2017).

U hranolek se doporučení týkají například výběru odrůd brambor. K eliminaci akrylamidu je vhodnější použít odrůdy s nižším obsahem cukrů. Dále je důležité brambory skladovat při 6 °C a třídít nezralé hlízy. Při přípravě hranolků je nejefektivnější blanširování nakrájených hranolků ve vodě, tento krok sníží především množství redukujících cukrů (The Commission of the European Communities 2017).

Různými způsoby eliminace akrylamidu v potravinách se zabývá mnoho studií. Například byl zkoumán vliv ošetření povrchu brambor před jejich grilováním. Kdy se ukázalo, že ošetření povrchu brambor olejem je významné pro snížení hladiny akrylamidu. U ošetřených brambor rostlinným olejem je dosaženo kratší doby jejich přípravy než u brambor neošetřených, vlivem tepelné vodivosti aplikovaného oleje (Hanley et al. 2005).

Velmi účinné, v eliminaci tvorby akrylamidu, jsou nukleofily jiných aminokyselin, než je asparagin. Asparagin s jinou aminokyselinou soutěží o karbonylovou sloučeninu, tím klesá množství vytvořeného akrylamidu. Nukleofily se mohou přidávat reverzibilně nebo ireverzibilně k akrylamidu. Nejúčinnějšími nukleofily jsou sloučeniny s thiolovou skupinou, například cystein a jeho deriváty. Zároveň jsou thioly účinnější pro odstraňování akrylamidu než aminosloučeniny (Zamora et al. 2016).

Podobně účinný je také hydrogensířičitan sodný, který se používá jako kypřící přísada při pečení. Významně snižuje hladinu akrylamidu například u perníku. Naopak kypřící látka hydrogenuhličitan amonný tvorbu akrylamidu silně zvyšuje, díky atomu dusíku, který se zabudovává do akrylamidu (Amrein et al. 2004).

Zajímavé jsou studie, které se zabývají stabilitou akrylamidu během skladování. Například Hoenicke & Gatermann (2005) ve své studii, kdy byl akrylamid analyzován v různých vzorcích potravin před uskladněním a tři měsíce po skladování, testovali stabilitu akrylamidu v různých druzích hotových potravin. Vysoká stabilita akrylamidu byla zaznamenána ve většině matricích jako jsou: sušenky, kukuřičné lupínky, křupavé chleby, bramborové lupínky a arašídy. Dále zůstal akrylamid stabilní v rozpustné kávě a v kávových náhražkách. K mírnému poklesu došlo u dietních cukrovinek. Nižší stabilita akrylamidu v dietních sušenkách je dána především náhradou sacharózy za fruktózu, právě vyšší podíl fruktózy byl u dietních sušenek odpovědný za nižší stabilitu akrylamidu. Významný pokles byl zaznamenán u kakaového prášku z 265 mg.kg<sup>-1</sup> na 180 mg.kg<sup>-1</sup>. Dále také u kávy z obsahu akrylamidu 305 mg.kg<sup>-1</sup> na 210 mg.kg<sup>-1</sup>. Za příčinu degradace akrylamidu během skladování u kakaa a kávy byla určena reakce akrylamidu s látkami obsahujícími sulfanylovou skupinu -SH. To, že akrylamid reaguje s některými látkami v potravině během skladování, nebylo překvapující, jelikož je akrylamid velmi reaktivní látkou. Naopak odpar akrylamidu během skladování je velmi nepravděpodobný a byl vyloučen. Akrylamid je totiž za normálních okolností poměrně stálý a neodpařuje se ani při zahřátí na 120 °C, navíc byly všechny vzorky skladované bez přístupu vzduchu. Lze vyloučit i klesající obsah akrylamidu v důsledku jeho

polymerace vlivem UV záření. Všechny vzorky byly skladované i bez přístupu světla. Při skladování kávy dochází k reakci akrylamidu s látkami, které vznikají během pražení kávy, ty jsou zodpovědné za pokles akrylamidu. Stejně je tomu i u kakaa. Z výsledků studie je patrné, že koncentrace akrylamidu mohou u některých potravin klesat v průběhu jejich skladování vlivem reakčních složek některých potravin s akrylamidem, především u kávy a kakaa.

#### 3.5.5.1 Vliv rostlinných složek na tvorbu akrylamidu

Na snižování akrylamidu v hotových, tepelně upravených výrobcích například z brambor, mohou mít vliv například i látky, které se v rostlinách přirozeně vyskytují. Studie z roku 2010 potvrdila negativní vliv na tvorbu akrylamidu u fenolických sloučenin v bramborových hlízách. Z této studie vyplývá, že vhodný výběr odrůdy, která by byla bohatá na obsah fenolických sloučenin, může předcházet vyšší tvorbě akrylamidu během tepelného zpracování brambor (Zhu et al. 2010).

Rostlinou, která přirozeně obsahuje látky, které mají negativní vliv na vznik akrylamidu, je například pohanka. Přidání pohankové mouky do receptur se jeví jako velmi účinné ve snaze snižovat obsah akrylamidu v pečených výrobcích. Její přidání může snižovat obsah akrylamidu skoro o polovinu. Pohankové mouky obsahují přirozeně méně aminokyseliny asparaginu než mouky žitné a další (Zieliński et al. 2010).

Negativní vliv na tvorbu akrylamidu má také allicin. Allicin je přírodní sloučenina, která se vyskytuje v čerstvém drceném česneku nebo v česnekovém prášku (Lawson et al. 1992). Tato látka má antioxidační účinek, z toho důvodu se používá nejen jako koření, ale také jako bylinný lék na zánětlivá onemocnění. V potravinové matrici allicin účinně snižuje tvorbu akrylamidu o více než polovinu (Yuan et al. 2011).

Obecně lze říct, že sloučeniny, které mají antioxidační vlastnosti, jako jsou například: fenolové sloučeniny, flavonoidy, vitaminy a fenolové extrakty z koření, mohou omezovat tvorbu akrylamidu (Marková et al. 2012). Antioxidanty eliminují tvorbu akrylamidu během Maillardovy reakce tím, že reagují s jedním z hlavních prekurzorů, s aminokyselinou asparaginem. Tím poté dochází ke snížení obsahu volného asparaginu, který vstupuje do Maillardovy reakce a indikuje tvorbu akrylamidu (Ou et al. 2010).

## 3.6 Metody stanovení akrylamidu

Poté, co švédští vědci v roce 2002 informovali o znepokojivě vysokých hladinách akrylamidu v bramborových výrobcích (SNFA 2002), začali vědci zpracovávat metody pro co nejpřesnější stanovení akrylamidu v potravinových matricích. Určení množství akrylamidu v potravinách stěžuje nízká molekulová hmotnost, malá těkavost, vysoká polarita a reaktivita akrylamidu (Oracz et al. 2011).

Bezpečnost potravin a jejich kvalita jsou pečlivě sledovány vnitrostátními orgány. Ke kontrole jejich bezpečnosti a kvality se využívají analytické metody, které jsou ideálně co nejefektivnější, nejlevnější a nejvýkonnější. Využívají se především ke kontrole atributů kvality (Kepekci Tekkeli et al. 2012).

Metody, které se ke stanovení akrylamidu využívají, se od sebe liší především různými úpravami vzorků v závislosti na druhu matrice. Rozdíly jsou v použití způsobů extrakce a čištění vzorků. Nejčastěji jsou ke stanovení akrylamidu používány dvě metody: plynová

chromatografie (GC) a kapalinová chromatografie (LC). Ty jsou využívány nejčastěji ve spojení s hmotnostní spektrometrií (MS), což je metoda založená na detekci hmotností atomů, molekul a jejich částí (Stadler & Scholz 2004).

### 3.6.1 Extrakce, čištění a derivatizace

Jak již bylo uvedeno v kapitole popisující fyzikálně-chemické vlastnosti akrylamidu, akrylamid je nejvíce rozpustný ve vodě. Při přípravách vzorků je tedy vždy důležité vzorek extrahovat ve vodě třepáním. Aby byla extrakce snazší, lze směs homogenizovaného vzorku ve vodě zahřát ve vodní lázni, aby došlo k bobtnání směsi (Biedermann et al. 2002). Poté se směs odstředí nebo se může podrobit čištění a derivatizaci, aby se ze směsi odstranily koextrakční látky. Při metodě založené na kapalinové chromatografii se krok derivatizace neobjevuje. Při použití metody plynové chromatografie je obvyklým krokem právě derivatizace, konkrétně bromace analytu (Bologna et al. 1999).

### 3.6.2 Separace, detekce, identifikace a kvantifikace

Nejčastějšími metodami využívanými pro stanovení akrylamidu ve vzorcích jsou plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrickou detekcí a vysoce účinná kapalinová chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrickou detekcí (Castle & Eriksson 2005).

Výhoda metody plynové chromatografie je, že umožňuje vysoké rozlišení. Výhoda metody kapalinové chromatografie je, že lze vstříkovat vodné extrakty ve velkých objemech a není u nich nutná derivatizace. Její nevýhoda oproti plynové chromatografii je špatné rozlišení na kolonách a společné vymývání s jinými sloučeninami, to může vést k falešným signálům. Z tohoto důvodu se používá technika tandemové hmotnostní spektrometrie (MS/MS), která je více citlivá (Castle & Eriksson 2005).

Kvantifikace je prováděna za pomoci vnitřního standardu, kdy je nutné zohledňovat odezvy analytu a standardu. Použití vnitřního standardu je velmi důležité. Jeho použití dokáže kompenzovat ztráty během čištění a vstříkování (Castle & Eriksson 2005).

### 3.6.3 Plynová chromatografie (GC)

Při stanovení akrylamidu se při plynové chromatografii může, ale nemusí, použít derivatizace bromací analytu. Tímto krokem se docílí vyšší selektivity a nižších detekčních limitů. Bromace je sice časově náročnější, ale zaručuje větší přesnost celého měření (Bologna et al. 1999). Po bromaci dojde ke snížení polaritě akrylamidu, a tedy k jeho lepší extrakci do organických rozpouštědel (Pittet et al. 2004). Pokud je prováděna analýza bez derivatizace, je možné použít tandemovou hmotnostní spektrometrii (MS/MS), kterou lze dosáhnout nižších limitů detekce (Castle & Eriksson 2005).

Nejčastější detektory, které jsou v této metodě využívány, jsou hmotnostní spektrometry (MS). Dále se využívají například plamenově-ionizační detektory (FID) nebo detektory elektronového záchytu (ECD) (Oracz et al. 2011).

### 3.6.4 Kapalinová chromatografie (LC)

V současné době se více využívá alternativa k plynové chromatografii s hmotnostní spektrometrií (GC-MS) a to metoda kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií (LC-MS/MS). Tato metoda se vyznačuje vysokou citlivostí bez nutnosti provádět derivatizaci (Zhang et al. 2005).

LC-MS/MS je pro stanovení akrylamidu nejvhodnější. Tandemové spojení hmotnostních spektrometrů je vhodné především pro analýzu polárních a netěkavých sloučenin, jako je akrylamid (Oracz et al. 2011).

Mezi nepoužívanější ionizační techniky u metody kapalinové chromatografie jsou: ionizace elektrosprejem (ESI) nebo chemická ionizace (APCI). Obě tyto techniky umožňují analyzovat velmi polární látky, jakou je akrylamid (Oracz et al. 2011).

V této práci je při stanovování vzorků použita metoda kapalinové chromatografie za použití elektrosprejové ionizace s tandemovou hmotnostní spektrometrií (LC-ESI-MS/MS).

## 4 Metodika

### 4.1 Specifikace analyzovaných odrůd

V rámci pokusu bylo použito celkem 13 vybraných různobarevných odrůd brambor (žluté, červené a fialové odrůdy). Konkrétně se jednalo o odrůdy: Mulberry Beauty, Figaro, Blue Star, Valfi, Highland Burgundy Red, Violet Queen, Verdi, Honorata, Red Emmalie, Rosemarie, Europrima, Magenta Love a Val Blue. Detailněji jsou odrůdy popsány v tabulkách č. 5–17.

**Tabulka č. 5** Specifikace odrůdy Mulberry Beauty.

Odrůda	Mulberry Beauty
Barva slupky	Červená
Barva dužiny	Červená
Ranost	Pozdní
Varný typ	B
Tvar hlíz	Oválný
Země původu	Holandsko

**Tabulka č. 6** Specifikace odrůdy Figaro.

Odrůda	Figaro
Barva slupky	Žlutá
Barva dužiny	Světle žlutá
Ranost	Středně raná
Varný typ	-
Tvar hlíz	Kulatý až oválný
Země původu	Německo

**Tabulka č. 7** Specifikace odrůdy Blue Star.

Odrůda	Blue Star
Barva slupky	Fialová
Barva dužiny	Fialová, mramorovaná
Ranost	Polopozdní
Varný typ	B
Tvar hlíz	Oválný/dlouze oválný
Země původu	Holandsko

**Tabulka č. 8** Specifikace odrůdy Valfi.

Odrůda	Valfi
Barva slupky	Fialová
Barva dužiny	Fialová, mramorovaná
Ranost	Středně rané až polopozdní
Varný typ	BC
Tvar hlíz	Oválný
Země původu	Česká republika

**Tabulka č. 9** Specifikace odrůdy Highland Burgundy Red.

<b>Odrůda</b>	<b>Highland Burgundy Red</b>
Barva slupky	Červená
Barva dužiny	Červená s bílými okraji
Ranost	Středně rané
Varný typ	BC
Tvar hlíz	Dlouhý
Země původu	Německo

**Tabulka č. 10** Specifikace odrůdy Violet Queen.

<b>Odrůda</b>	<b>Violet Queen</b>
Barva slupky	Fialová
Barva dužiny	Fialová
Ranost	Středně rané
Varný typ	AB
Tvar hlíz	Dlouze oválný
Země původu	Holandsko

**Tabulka č. 11** Specifikace odrůdy Verdi.

<b>Odrůda</b>	<b>Verdi</b>
Barva slupky	Fialová
Barva dužiny	Žlutá
Ranost	Středně rané
Varný typ	-
Tvar hlíz	Kulatý až oválný
Země původu	Německo

**Tabulka č. 12** Specifikace odrůdy Honorata.

<b>Odrůda</b>	<b>Honorata</b>
Barva slupky	Žlutá, síťovaná
Barva dužiny	Bílá až světle žlutá
Ranost	Středně rané
Varný typ	-
Tvar hlíz	Kulatý až oválný
Země původu	Německo

**Tabulka č. 13** Specifikace odrůdy Red Emmalie.

<b>Odrůda</b>	<b>Red Emmalie</b>
Barva slupky	Červená
Barva dužiny	Červená
Ranost	Rané až středně rané
Varný typ	B
Tvar hlíz	Dlouhý
Země původu	Německo

**Tabulka č. 14** Specifikace odrůdy Rosemarie.

Odrůda	Rosemarie
Barva slupky	Červená
Barva dužiny	Červená
Ranost	Středně rané
Varný typ	AB
Tvar hlíz	Dlouze oválný
Země původu	Německo

**Tabulka č. 15** Specifikace odrůdy Europrima.

Odrůda	Europrima
Barva slupky	Žlutá
Barva dužiny	Žlutá
Ranost	Rané
Varný typ	BC
Tvar hlíz	Kulatý/krátce oválný
Země původu	Německo

**Tabulka č. 16** Specifikace odrůdy Magenta Love.

Odrůda	Magenta Love
Barva slupky	Červená
Barva dužiny	Červená
Ranost	Rané
Varný typ	A
Tvar hlíz	Dlouhý
Země původu	Holandsko

**Tabulka č. 17** Specifikace odrůdy Val Blue.

Odrůda	Val Blue
Barva slupky	Fialová
Barva dužiny	Fialová, mramorovaná
Ranost	Rané
Varný typ	B
Tvar hlíz	Dlouhý
Země původu	Česká republika

## 4.2 Specifikace pokusných lokalit

Všech 13 testovaných odrůd brambor bylo pěstováno na dvou pokusných lokalitách současně, ČZU Praha-Suchdol a VÚB Valečov, v roce 2019.

Na obou stanovištích byly brambory pěstovány stejnou technologií, integrovaným způsobem pěstování. Integrovaný způsob pěstování je směr ekologického zemědělství, ve kterém je minimalizováno množství použitých pesticidů a minerálních hnojiv. Jako předplodina byla na obou stanovištích zvolena ozimá pšenice. Plocha pozemků byla 11,25 m<sup>2</sup>.



Před sázením pokusných bramborových hlíz byla na pozemek aplikována minerální hnojiva. V dávkách 260 kg.ha<sup>-1</sup> močoviny (tj. 1205 kg N) a 400 kg.ha<sup>-1</sup> Patentkali (tj. 120 kg K<sub>2</sub>O, 40 kg MgO a 68 kg S). Výsadba byla zahájena 3.5.2019. Spon výsadby byl 0,75 x 0,29 m. Technologie zpracování půdy bez odkaménkování s použitím kapkové závlahy.

Na lokalitách bylo zvoleno následující ošetření porostu bez mechanické kultivace: ošetření 1x herbicid, 1x insekticid (mandelinka bramborová), 6x fungicid (plíseň bramborová, alternáriová skvrnitost). Ukončení vegetace k datu 20.9.2019 rozbitím natě a sklizeň hlíz následovala 3.10.2019 vyorávačem Juko a ručním sběrem.

#### 4.2.1 ČZU Praha-Suchdol

Stanoviště experimentálního pole ČZU Praha-Suchdol se vyznačuje následujícími parametry:

- geografická poloha: 286 m n.m., 50° 7'40'' zem. šířky., 14° 22'33'' zem. délky,
- půdní druh: černozem,
- průměrná roční teplota vzduchu: 9,1 °C,
- průměrný roční úhrn srážek: 495 mm.

##### 4.2.1.1 Průběh počasí

V tabulce č. 18 jsou uvedené průměrné měsíční teploty a měsíční úhrny srážek za vegetační období duben–září roku 2019, které jsou porovnávány s průměrnými měsíčními teplotami a úhrny srážek v letech 2005-2019. Z tabulky můžeme vyčíst, že měsíc duben lze hodnotit z hlediska srážek a průměrné měsíční teploty jako nadnormální. Nicméně i přesto byl měsíc duben nejsušším vegetačním měsícem roku 2019 (31,2 mm). Měsíc květen byl naopak podnormální jak v úhrnu srážek, tak teplotně. Měsíc červen byl mimořádně teplotně nadnormální, byl to nejteplejší vegetační měsíc roku 2019. Průměrná měsíční teplota činila 22,67 °C (překročila normál o 4,48 °C). Srážkově byl červen výrazně podnormální, bylo naměřeno pouze 54 % normálu. Měsíc červenec teplotně překročil normál o 0,31 °C. Srážek bylo naměřeno 76 % oproti normálu. Měsíc srpen byl teplotně nad normálem o 0,74 °C. Úhrn srážek byl nejvyšší za celý vegetační rok 2019, 71,60 mm (s mírnou odchylkou od normálu, 103 %). Poslední vegetační měsíc září byl lehce teplotně nadnormální o 0,89 °C. Srážek bylo naměřeno 128 % normálu.

Celkově bylo vegetační období roku 2019 o 0,38 °C nad normálem a úhrn srážek byl s odchylkou od normálu -38,31 mm.

**Tabulka č. 18** Průběh počasí na stanovišti ČZU Praha-Suchdol ve vegetačním období (duben–září) roku 2019.

Měsíc	Průměrná měsíční teplota vzduchu [°C]			Měsíční úhrn srážek [mm]		
	Normál [2005–2019]	2019	Odchylka od normálu	Normál [2005–2019]	2019	Odchylka od normálu
duben	10,59	10,91	+ 0,32	28,88	31,20	+ 2,32
květen	14,40	11,93	- 4,47	65,78	64,20	- 1,58
červen	18,19	22,67	+ 4,48	76,45	41,30	-35,15
červenec	20,25	20,56	+ 0,31	71,94	54,80	- 17,14
srpen	19,21	19,95	+ 0,74	69,29	71,60	+ 2,31
září	13,80	14,69	+ 0,89	38,37	49,30	+ 10,93

#### 4.2.2 VÚB Valečov

Druhé stanoviště experimentálního pole VÚB Valečov se vyznačuje následujícími parametry:

- geografická poloha: 460 m n.m., 49° 38'40" zem. šířky, 15° 29'45" zem. délky,
- půdní druh: kambizem pseudoglejová/písčitohlinitá půda,
- průměrná roční teplota vzduchu: 6,9 °C,
- průměrný roční úhrn srážek 649 mm.

##### 4.2.2.1 Průběh počasí

V tabulce č. 19 jsou uvedené průměrné měsíční teploty a měsíční úhrny srážek za vegetační období duben–září roku 2019, které jsou porovnávány s průměrnými měsíčními teplotami a úhrny srážek v letech 1961–1990. Měsíc duben lze hodnotit jako srážkově podnormální, naměřeno bylo pouze 36 % normálního úhrnu srážek. Tyto srážky spadly až v samém závěru měsíce. Teplotně byl duben nadnormální. Měsíc květen byl srážkově nadnormální se srážkami 110,6 mm (150 % normálu). Průměrná měsíční teplota byla ve srovnání s normálem nižší o 1,4 °C. Měsíc červen byl teplotně mimořádně nadnormální a byl to nejteplejší měsíc vegetačního období 2019. Průměrná měsíční teplota vzduchu (21 °C) překročila normál o 5,9 °C. Srážek bylo naměřeno pouze 60 % normálu, z toho rozhodující množství spadlo ve dvou přívalových srážkách. Měsíce červen a duben lze považovat za nejsušší měsíce vegetačního období. Měsíce červenec a srpen lze hodnotit jako normální, pouze s malými odchylkami od normálu. Také rozložení srážek bylo rovnoměrnější než v předcházejícím období. Září bylo srážkově nadnormální, s měsíčním úhrnem srážek na úrovni 188 % normálu. Nejvýznamnější srážky byly naměřeny v první dekádě měsíce.

Vegetační období roku 2019 bylo v průměru o 1,7 °C teplejší ve srovnání s normálem a úhrn srážek s odchylkou od normálu + 27 mm lze považovat za normální. Vzhledem k nadnormálnímu průběhu teplot a nízké zásobě vody v půdním profilu lze vegetační období považovat za sušší.

**Tabulka č. 19** Průběh počasí na stanovišti VÚB Valečov ve vegetačním období (duben–září) roku 2019.

Měsíc	Průměrná měsíční teplota vzduchu [°C]			Měsíční úhrn srážek [mm]		
	Normál [1961–1990]	2019	Odchylka od normálu	Normál [1961–1990]	2019	Odchylka od normálu
duben	7,10	9,20	+ 2,10	41,60	15,20	- 26,40
květen	12,00	10,60	- 1,40	73,50	110,60	+ 37,10
červen	15,10	21,00	+ 5,90	94,00	56,90	- 37,10
červenec	16,80	18,40	+ 1,60	77,80	89,30	+ 11,50
srpen	16,70	18,80	+ 2,10	79,20	76,20	- 3,00
září	13,20	13,10	- 0,10	51,10	96,00	+ 44,90

### 4.3 Kulinární úpravy

Brambory, které byly pro účely analýzy vyhodnocovány, byly tepelně ošetřeny jednou z kulinárních úprav, které způsobují vznik akrylamidu. Konkrétně byly brambory podrobeny pečení.

Umyté bramborové hlízy byly podélně rozporcovány na čtvrtky a osušeny papírovou utěrkou. Poté byly vloženy do vyhřáté horkovzdušné pece, kde byly po 120–150 g pečeny při teplotě 180 °C po dobu 30 minut.

Po vyndání z horkovzdušné pece brambory 15 minut chladly. Po vychladnutí byly vloženy do sáčků z polyethylénu a následně zmrazeny.

Takto upravené vzorky byly následně lyofilizovány (120 h) v lyofilizátroou poté podrobeny analýze na obsah akrylamidu.

### 4.4 Analytické stanovení

#### 4.4.1 Použité chemikálie

- Hexan p.a. (Lachner, Česká republika)
- 1,2,3-13C3 Akrylamid (99 %; Cambridge Isotope Laboratories, MA, USA)
- Akrylamid ( $\geq 99$  %; Merck, Německo)
- Síran hořečnatý, bezvodý (>98 %; VWR International, PA, USA)
- Chlorid sodný p.a. (Lachner, Česká republika)
- Acetonitril HPLC grade (Fisher Scientific, PA, USA)
- Methanol HPLC grade (Fisher Scientific, PA, USA)

#### 4.4.2 Použité přístroje

- Horkovzdušná trouba (Venticell 111, BMT Medical Technology, Ltd., Brno, Česká republika)
- Lyofilizátor (Lyovac GT2, Steris, Německo)
- Laboratorní váhy (EW 420-3NM, KERN, Německo)

- Analytické váhy (770-14, KERN, Německo)
- Třepačka (GFL 3006, Německo)
- Centrifuga (5810R, Eppendorf, Německo)
- Vortex (Basic 3; IKA Werke GmbH & Co. KG, Německo)
- Demineralizátor vody (Simplicity UV; Merck Millipore, KGaA, Německo)
- Kapalinový chromatograf (UltiMate 3000 RS, Thermo Fisher Scientific, MA, USA)
- Hmotnostní spektrometr (Hybridní trojitý kvadrupól s lineární iontovou pastí, 3200 QTRAP AB Sciex, WA, DC, USA; ESI ionizace)

#### 4.4.3 Laboratorní pomůcky

Laboratorní sklo a porcelán, laboratorní stojany a držáky, automatické pipety, plastové 50ml Falcon kyvety, skleněné 8ml a 4ml vialky, injekční stříkačky, nylonové mikrofiltry, třecí miska s tloučkem

#### 4.4.4 Příprava vzorků k analýze

Do plastové 50ml Falcon kyvety byl navážen cca 1 g lyofilizovaného vzorku pečených brambor, který byl předtím zhomogenizován ve třecí misce s tloučkem. K takto upravenému vzorku bylo přidáno 10 ml hexanu. Následně byl vzorek vložen na 10 min na třepačku (250 kmitů/min). Po vytřepání bylo ke vzorku přidáno 20 ml destilované H<sub>2</sub>O a 100 µl interního standardu akrylamidu (IS, 1,2,3-13C<sub>3</sub> akrylamid) o koncentraci 20 µg.ml<sup>-1</sup>. Po přidání destilované vody a interního standardu byl vzorek opět vložen na 10 min na třepačku (250 kmitů/min), dále vložen do odstředivky a odstředěn při 5 °C a 3000 otáčkách po dobu 10 min. Poté bylo do další 50ml Falcon kyvety s naváženými 4 g MgSO<sub>4</sub> a 0,5 g NaCl opatrně odebráno 10 ml vodné fáze extraktu z odstředěného vzorku, následně bylo rychle přidáno 10 ml acetonitrilu a směs byla ihned roztrpána. Poté byl vzorek vložen na 5 min na třepačku (250 kmitů/min) a dále odstředěn při 5 °C, 5 min a 4000 otáčkách. V závěru se z horní acetonitrilové vrstvy odebral 1 ml do skleněných 8ml vialek, který byl odpařen do sucha pod dusíkem. Nakonec byl vzorek rekonstituován do 1 ml H<sub>2</sub>O, promíchán na vortexu, přefiltrován přes nylonový mikrofiltr do skleněných vialek a analyzován na LC-ESI-MS/MS.

#### 4.4.5 LC-ESI-MS/MS analýza akrylamidu

##### 4.4.5.1 Podmínky chromatografické separace

- Chromatografická kolona: Atlantis T3 (3 µm; 2.1 x 150 mm; Waters, USA)
- Teplota kolony: 30 °C
- Mobilní fáze: B: 5 % MeOH, C: 95 % H<sub>2</sub>O
- Eluce: isokratická
- Průtok: 0,3 ml.min<sup>-1</sup>
- Teplota autosampleru: 10 °C
- Doba analýzy: 10 min
- Nástřik: 5 µl

#### 4.4.5.2 Podmínky ve zdroji detektoru (ESI pozitivní mód):

**Tabulka č. 20** Parametry zdroje detektoru ESI.

Parametry zdroje	Hodnota
Ochranný plyn [psi]	20
Kolizní plyn [psi]	střední
Napětí zdroje [V]	5500
Teplota [°C]	600
Zmlžovací plyn [psi]	40
Turboplyn [psi]	40

#### 4.4.5.3 Parametry detektoru pro stanovení akrylamidu

**Tabulka č. 21** Nastavení detektoru při stanovování akrylamidu.

Analyt	$t_R$ [min]	Q1 [Da]	Q3 [Da]	Čas [msec]	DP [V]	EP [V]	CEP [V]	CE [V]	CXP [V]
Akrylamid	2.30	72.0	55.0	100.0	29.0	6.0	7.0	16.0	2.2
Akrylamid IS 13C3	2.30	75.0	58.0	100.0	29.0	9.0	6.0	16.0	2.2

$t_R$  – retenční čas; DP – deklasterační potenciál; EP – vstupní potenciál; CEP – vstupní potenciál do cely; CE – kolizní energie; CXP – výstupní potenciál z cely

#### 4.4.5.4 Identifikace a kvantifikace akrylamidu

Identifikace akrylamidu ve vzorcích byla provedena porovnáním kvantifikačního a konfirmačního přechodu a retenčního času vzorků a retenčních časů standardů. Kvantifikace akrylamidu ve vzorcích byla provedena metodou interní kalibrace. Rozsah kalibrační přímky činil 0,001-0,4  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ . Jako interní standard byl použit izotopově značený 1,2,3-<sup>13</sup>C akrylamid. Limit detekce akrylamidu, stanovený jako poměr S (signál)/N (šum) = 3, činil 0,05  $\text{ng}\cdot\text{ml}^{-1}$  extraktu (10  $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$  suchého vzorku).

#### 4.4.5.5 Statistická analýza dat

Naměřená data byla zpracována v programech Analyst Software 1.7 (AB Sciex, WA, DC, USA) a Excel (Microsoft, WA, USA). Statistická analýza byla provedena v programu Statistica (ver. 12; StatSoft, Inc., OK, USA). Vliv genotypu, lokality a jejich interakce na obsah akrylamidu ve zpracovaném produktu byly hodnoceny faktoriální analýzou rozptylu (ANOVA;  $p < 0,05$ ). Pro detailní statistické vyhodnocení byl použit Tukeyův Post Hoc HSD test.

## 5 Výsledky

Provedený experiment byl zaměřen na stanovení obsahu akrylamidu v pečených bramborových hlízách, metodou kapalinové chromatografie za použití elektrosprejové ionizace s tandemovou hmotnostní spektrometrií (LC-ESI-MS/MS).

Dále byl v rámci pokusu zkoumán vliv odrůdy, lokality a jejich interakce na výsledný obsah zkoumaného procesního kontaminantu. Pokus byl proveden na pečených bramborových hlízách pěstovaných a sklizených v roce 2019 na dvou různých pokusných stanovištích: ČZU Praha-Suchdol a VÚB Valečov. Celkem bylo zkoumáno 13 odrůd brambor (tři žluté, pět červených a pět fialových odrůd): Mulberry Beauty, Figaro, Blue Star, Valfi, Highland Burgundy Red, Violet Queen, Verdi, Honorata, Red Emmalie, Rosemarie, Europrima, Magenta Love a Val Blue.

Naměřené výsledky jsou vyjádřené jako průměrné hodnoty stanovené ze tří paralelních opakování.

Ze statistického zhodnocení výsledků měření vyplývá (příloha č. 1, obrázek č.1), že existují významné statistické rozdíly ve schopnosti testovaných odrůd tvořit akrylamid během tepelné úpravy vlivem působení testovaných faktorů: odrůda, lokalita, odrůda x lokalita.

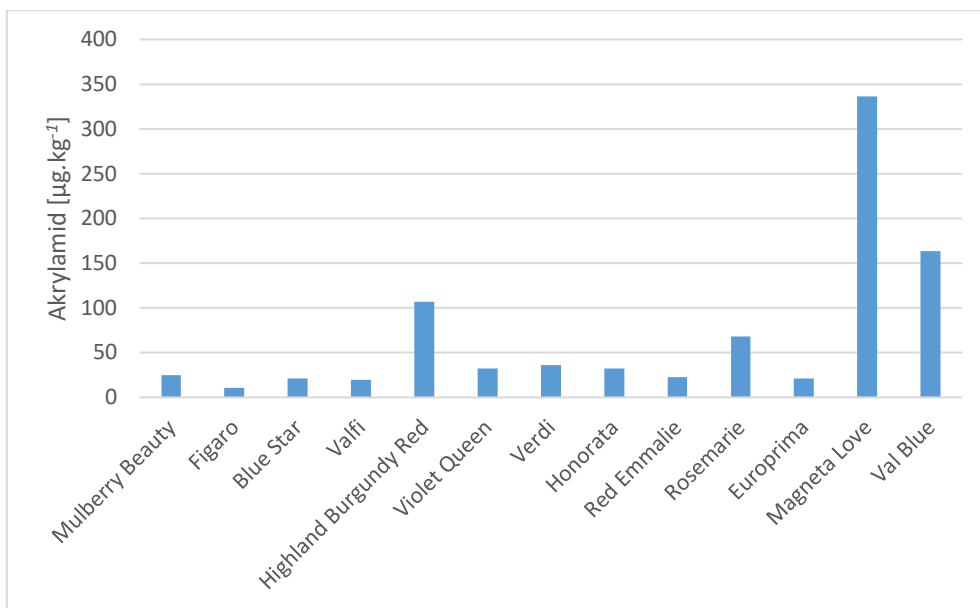
### 5.1 Vliv genotypu brambor na tvorbu akrylamidu v pečených bramborách

Statistické zhodnocení výsledků vlivu genotypu na tvorbu akrylamidu v tepelně zpracovaných bramborových hlízách (příloha č. 2, obrázek č. 1) potvrdilo, že existují statisticky významné rozdíly ve schopnosti odrůd tvořit během pečení akrylamid.

Celkový průměrný obsah akrylamidu v pečených hlízách brambor v rámci všech analyzovaných genotypů experimentální sklizně v roce 2019 na obou lokalitách činil 68,89 g.kg<sup>-1</sup>.

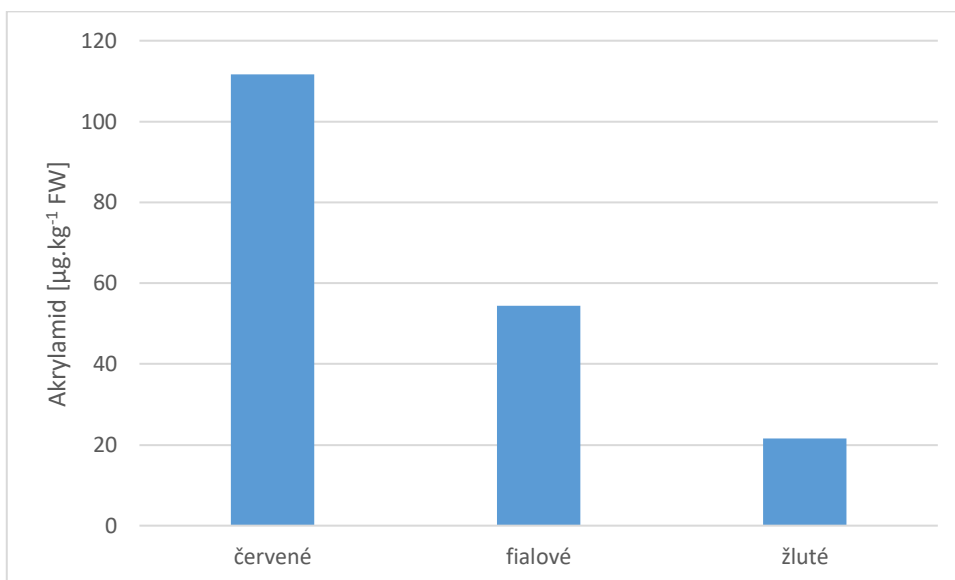
Na obrázku č. 6 můžeme vidět, že nejvyšší obsah akrylamidu ve zpracovaných hlízách byl nalezen v červené odrůdě Magenta Love (336,71 µg.kg<sup>-1</sup>). Vyšší obsah akrylamidu byl také typický pro fialovou odrůdu Val Blue (163,54 µg.kg<sup>-1</sup>), červenou odrůdu Highland Burgundy Red (106,61 µg.kg<sup>-1</sup>) a červenou odrůdu Rosemarie (67,74 µg.kg<sup>-1</sup>). Naopak nejnižší tendenci k tvorbě akrylamidu během tepelného zpracování měla žlutá odrůda Figaro (10,82 µg.kg<sup>-1</sup>). Nízké obsahy akrylamidu vykazovala dále fialová odrůda Valfi (19,27 µg.kg<sup>-1</sup>), fialová odrůda Blue Star (21,26 µg.kg<sup>-1</sup>) a žlutá odrůda Europrima (21,46 µg.kg<sup>-1</sup>).

Statistické zhodnocení výsledků odhalilo významné rozdíly mezi odrůdami s vysokým obsahem akrylamidu. Tyto odrůdy: Magenta Love, Val Blue, Highland Burgundy Red a Rosemarie se od sebe významně v obsahu akrylamidu lišily (příloha č. 2, obrázek č. 1). Naopak odrůdy, pro které byl typický nižší obsah akrylamidu v tepelně zpracované hlíze: Figaro, Valfi, Blue Star, Europrima Red Emmalie a Mulberry Beauty, se od sebe významně nelišily.



**Obrázek č. 6** Grafické znázornění vlivu genotypu na obsah akrylamidu v pečených hlízách brambor.

Vyšší tendenci k tvorbě akrylamidu během zpracování měly barevné odrůdy hlíz (obrázek č. 7). Nejvyšší tendenci k tvorbě akrylamidu měly hlízy červené, které průměrně obsahovaly množství  $111,75 \mu\text{g.kg}^{-1}$  akrylamidu. Nižší tendenci k tvorbě akrylamidu měly fialově zbarvené hlízy ( $54,44 \mu\text{g.kg}^{-1}$ ). Nejlépe v analýze obstály žluté odrůdy s průměrným obsahem  $21,51 \mu\text{g.kg}^{-1}$  akrylamidu. Je nutné uvést, že žluté odrůdy byly v pokusu zastoupeny pouze třemi odrůdami. Naopak odrůdy fialové a červené barvy hlízy měly každá pět zástupců.

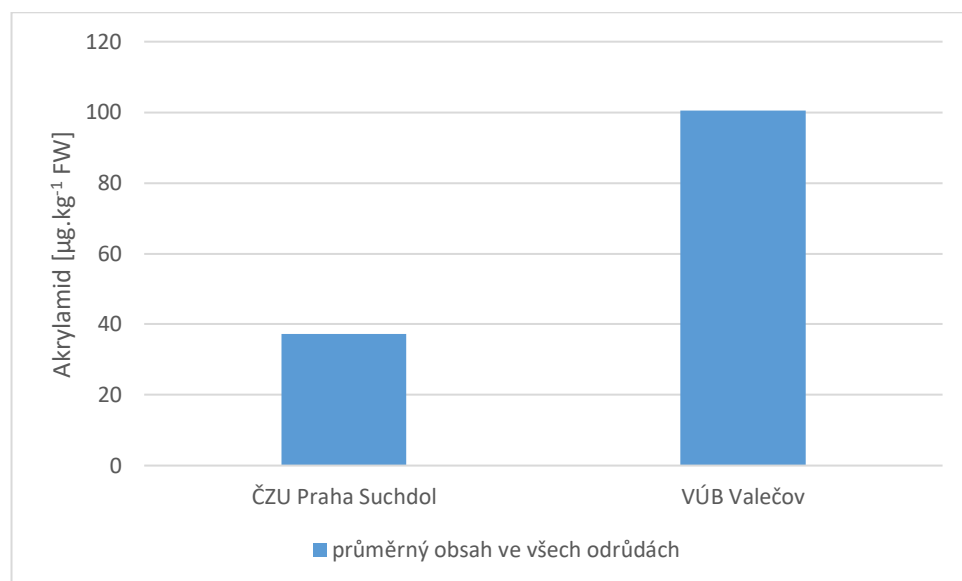


**Obrázek č. 7** Grafické znázornění průměrného obsahu akrylamidu v závislosti na barvě hlíz.

## 5.2 Vliv environmentálních faktorů na výsledný obsah akrylamidu v pečených bramborách

Statistické zhodnocení výsledků analýzy obsahů akrylamidu v pečených bramborových hlízách ukázalo významné rozdíly v tvorbě akrylamidu v bramborových hlízách pěstovaných na lokalitě ČZU Praha-Suchdol a VÚB Valečov. Bylo potvrzeno, že environmentální faktory významně ovlivňují tvorbu akrylamidu (příloha č. 2, obrázek č. 2).

Významně vyšší tvorba akrylamidu byla zjištěna u hlíz pěstovaných na lokalitě VÚB Valečov, znázorněno na obrázku č. 8. V průměru byl obsah akrylamidu ve zpracovaných bramborových hlízách z této lokality  $100,50 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Pečené bramborové hlízy z druhé pokusné lokality ČZU Praha-Suchdol měly 2,7 krát nižší průměrné obsahy akrylamidu ( $37,27 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ).



**Obrázek č. 8:** Grafické znázornění environmentálního vlivu na obsah akrylamidu v pečených hlízách brambor.

## 5.3 Interakce genotypu a environmentálních faktorů na výsledný obsah akrylamidu v pečených bramborách

Ze statistického zhodnocení naměřených dat vyplývá, že odrůda a lokalita mají interakční efekt na obsah akrylamidu v pečených bramborách. Námi pěstované odrůdy brambor v rámci dvou lokalit reagovaly ve tvorbě akrylamidu odlišně (příloha č. 2, obrázek č. 3). Vliv interakce těchto dvou faktorů je patrný z grafického znázornění v příloze č. 2 na obrázku č. 4.

Statisticky významné rozdíly ve tvorbě akrylamidu v závislosti na pěstované odrůdě a lokalitě pěstování byly nalezeny u červené odrůdy Magenta Love, která měla na lokalitě VÚB Valečov nejvyšší obsah akrylamidu ze všech analyzovaných odrůd brambor ( $610,81 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), patrné z grafického znázornění (obrázek č. 9). Na rozdíl od druhé pěstební lokality ČZU Praha-Suchdol, kde vykazovala tato odrůda významně nižší obsah akrylamidu ( $62,61 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ). Fialová odrůda Val Blue pěstovaná na lokalitě VÚB Valečov vykazovala také významně vyšší obsahy akrylamidu v pečených bramborách ( $289,30 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) oproti druhé pěstební lokalitě ČZU Praha-Suchdol ( $37,77 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ). Žlutá odrůda Honorata reagovala na lokalitě VÚB

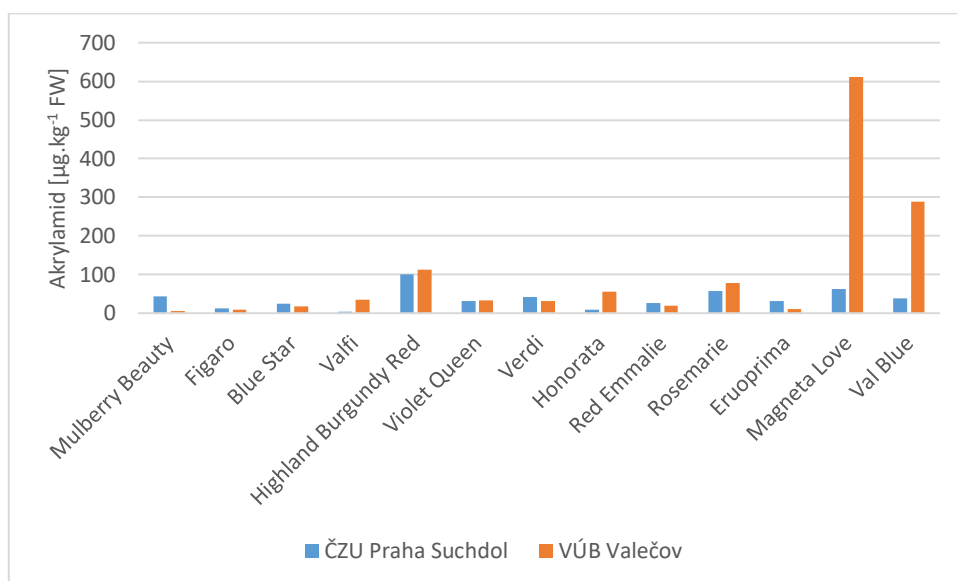


Valečov také významně vyšší tvorbou akrylamidu ( $55,61 \mu\text{g.kg}^{-1}$ ) oproti lokalitě ČZU Praha-Suchdol ( $8,91 \mu\text{g.kg}^{-1}$ ). Dále významně vyšší tvorbou akrylamidu během tepelného zpracování reagovaly fialové hlízy odrůdy Valfi z lokality VÚB Valečov ( $34,15 \mu\text{g.kg}^{-1}$ ) oproti lokalitě ČZU Praha-Suchdol, kde tato odrůda dokonce vykazovala nejnižší množství akrylamidu z celého analytického měření ( $4,38 \mu\text{g.kg}^{-1}$ ).

Statisticky nevýznamné rozdíly byly naměřené u červené odrůdy Highland Burgundy Red, která po zpracování na lokalitě VÚB Valečov vykazovala statisticky nevýznamně vyšší obsah akrylamidu ( $112,75 \mu\text{g.kg}^{-1}$ ) oproti zpracovaným hlízám pěstovaným na lokalitě ČZU Praha-Suchdol ( $100,47 \mu\text{g.kg}^{-1}$ ). Další statisticky nevýznamně vyšší obsahy na lokalitě VÚB Valečov vykazovaly odrůdy Rosemarie a Violet Queen oproti lokalitě ČZU Praha-Suchdol.

Naopak červená odrůda Mulberry Beauty reagovala zcela opačně. Hlízy pěstované na lokalitě ČZU Praha-Suchdol vykazovaly statisticky významně vyšší obsahy akrylamidu po zpracování ( $44,35 \mu\text{g.kg}^{-1}$ ) oproti hlízám pěstovaným na lokalitě VÚB Valečov ( $6,01 \mu\text{g.kg}^{-1}$ ).

Statisticky nevýznamné rozdíly byly zaznamenány u bramborových hlíz fialové odrůdy Verdi, které po zpracování vykazovaly nevýznamně vyšší obsahy akrylamidu ( $41,21 \mu\text{g.kg}^{-1}$ ) na lokalitě ČZU Praha-Suchdol oproti lokalitě VÚB Valečov ( $30,69 \mu\text{g.kg}^{-1}$ ). Stejně statisticky nevýznamně vyšší obsahy na lokalitě ČZU Praha-Suchdol vykazovaly také odrůdy Blue Star, Europrima, Red Emmalie a Figaro oproti pěstební lokalitě VÚB Valečov.



**Obrázek č. 9:** Grafické znázornění obsahu akrylamidu naměřeného v testovaných odrůdách na obou zkušebních lokalitách.

## 6 Diskuse

Statistické zhodnocení výsledků pokusu potvrdilo námi stanovené hypotézy. V provedeném experimentu byl potvrzen vliv odrůdy bramborových hlíz na tvorbu akrylamidu během tepelného zpracování a vliv environmentálních faktorů. Dále byl potvrzen vliv interakce genotypu a environmentálních faktorů na obsah akrylamidu v pečených bramborových hlízách.

### 6.1 Zhodnocení vlivu genotypu

V provedeném experimentálním pokusu byl stanoven průměrný obsah akrylamidu ( $68,89 \mu\text{g.kg}^{-1}$ ) ve 13 různých genotypech pečených brambor (ve 3 žlutých, v 5 modrých a v 5 červených odrůdách), pěstovaných na dvou lokalitách (ČZU Praha-Suchdol a VÚB Valečov) ve vegetačních měsících (duben–září) roku 2019.

Nejvyšší průměrná hodnota akrylamidu, stanovená ze třech opakování, byla nalezena v červené odrůdě Magenta Love ( $610,81 \mu\text{g.kg}^{-1}$ ) z lokality VÚB Valečov. Naopak nejnižší průměrná hodnota byla stanovena ve fialové odrůdě Valfi ( $4,38 \mu\text{g.kg}^{-1}$ ) z lokality ČZU Praha-Suchdol.

Námi naměřená nejvyšší hodnota u odrůdy Magenta Love ( $610,81 \mu\text{g.kg}^{-1}$ ), která svou hodnotou vybočovala nad ostatními měřenými koncentracemi akrylamidu v rámci našeho pokusu, vybočuje i ve srovnání s jinými studiemi. Například švédská studie, která stanovovala množství akrylamidu v pěti švédských odrůdách pečených brambor, stanovila více jak dvojnásobně nižší nejvyšší naměřenou hodnotu akrylamidu ( $270 \mu\text{g.kg}^{-1}$ ). Nicméně, v rámci našeho experimentu byla naměřena mnohonásobně nižší koncentrace akrylamidu ( $4,38 \mu\text{g.kg}^{-1}$ , odrůda Valfi) oproti výsledkům švédské studie, kde byla naměřena nejnižší koncentrace akrylamidu  $140 \mu\text{g.kg}^{-1}$  (Skog et al. 2008).

Pokud námi stanovenou průměrnou hodnotu ( $68,89 \mu\text{g.kg}^{-1}$ ) porovnáme s průměrnými hodnotami z monitoringu, který byl prováděn pod záštitou Evropské komise v letech 2007–2010 napříč evropskými státy v kategorii pečené bramborové hranolky, zjistíme, že námi naměřené hodnoty v pečených bramborách měly o 84,38 % nižší průměrnou hodnotu akrylamidu (The Commission of the European Communities 2007). V rámci legislativy není kategorie pečených bramborových hlíz/hranolků přesně vymezena. Námi analyzované pečené bramborové hlízy nemůžeme objektivně porovnat s porovnávací hodnotou, která byla stanovena pro hranolky k přímé spotřebě ( $500 \mu\text{g.kg}^{-1}$ ) ani s jinou kategorií tepelně zpracovaných brambor, z nařízení Evropské komise ze dne 20. listopadu 2017 č. 2158/2017. Kategorie bramborových výrobků s porovnávacími hodnotami jsou uvedené v kapitole č. 3.5.1, v tabulce č. 3.

Nejvyšší statistický rozdíl v obsahu akrylamidu byl nalezen mezi červenou odrůdou Magenta Love ( $336,71 \mu\text{g.kg}^{-1}$ ) a žlutou odrůdou Figaro ( $10,82 \mu\text{g.kg}^{-1}$ ). Rozdílné schopnosti ve tvorbě akrylamidu v těchto odrůdách mohou být způsobeny rozdílným složením hlíz, především v zastoupení redukujících cukrů. Jak uvádí Amrein et al. (2003), zastoupení redukujících cukrů v bramborových hlízách má na výsledný obsah akrylamidu větší vliv než obsah volné aminokyseliny asparaginu (viz kapitola č. 3.5.2). Obsah sacharidů, v rámci odrůd, je také více variabilní než obsah asparaginu. Na změnu obsahu redukujících cukrů má vliv především odrůda a skladovací teplota. S ohledem na stejné skladovací podmínky všech

analyzovaných odrůd brambor, můžeme vliv skladovací teploty na obsah redukujících cukrů v bramborových hlízách vyloučit. Nicméně nemůžeme vyloučit, že některé odrůdy mohly během stejných skladovacích podmínek reagovat odlišně a tvořit více prekurzorů v podobě redukujících cukrů (glukózy, fruktózy) než jiné odrůdy. Aby mohlo být určeno, jak velký vliv skladování na změnu ve složení bramborových hlíz mělo, muselo by být provedeno analytické stanovení jednotlivých prekurzorů před a po skladování. Například studie anglických vědců, která sledovala tvorbu akrylamidu ve zpracovaných bramborových hlízách 20 odrůd, které byly pěstovány na dvou lokalitách (Doncaster a Woburn) v Anglii, sledovala při analytickém stanovení množství akrylamidu ve zpracovaných bramborových výrobcích také rozdíly změn ve složení redukujících cukrů během skladování (při teplotě 8 °C). Studie prokázala, že některé jimi analyzované odrůdy reagovaly ve tvorbě redukujících cukrů při stejných podmínkách odlišně (Muttucumaru et al. 2017).

Úroveň prekurzorů akrylamidu se u kultivarů brambor výrazně liší, jak uvádí Becalski et al. (2004). Vliv na tvorbu akrylamidu mají, kromě redukujících cukrů a asparaginu, podle několika studií také fenolické sloučeniny. Cheng et al. (2009) uvádějí, že fenolické látky mají schopnost inhibovat tvorbu akrylamidu během Maillardovy reakce tím, že zachycují karbonyl. Bramborové hlízy tyto sloučeniny přirozeně obsahují. Nejvíce jsou v hlízách zastoupeny jednoduché fenolové kyseliny (chlorogenová kyselina, skořicová kyselina, p-kumarová kyselina atd.), dále pak flavonoidy, především anthokyaniny (Friedman 2003). Barvené hlízy brambor (červené, fialové) obsahují těchto polyfenolických látek více než žlutomasé odrůdy. Kalita et al. (2013) uvádějí, že díky vyššímu obsahu fenolických látek (především chlorogenové kyselině) červené a fialové odrůdy obsahují méně akrylamidu než žlutomasé. V přítomnosti chlorogenové kyseliny vědci evidovali snížení akrylamidu až o 38 %. Nicméně, během této studie bylo také zjištěno, že pokud bylo v bramborových hlízách přítomno přebytné množství redukujících sacharidů, chlorogenová kyselina tvorbu akrylamidu nesnižovala, naopak evidovali zvýšení tvorby. Vliv fenolických látek na tvorbu akrylamidu v bramborových hlízách není prozatím zcela objasněn. Například Bassama et al. (2010) uvádějí, že fenolové sloučeniny nezmírňují tvorbu akrylamidu. Naopak studie vědců Zhu et al. (2010), Kotsiou et al. (2011) a Ou et al. (2010) uvádějí, že fenolické sloučeniny mají pozitivní vliv na snižování akrylamidu. Téma vlivu fenolických sloučenin na tvorbu akrylamidu v tepelně zpracovaných bramborových výrobcích vyžaduje větší míru prozkoumání.

Z výsledků našeho experimentu se domníváme, že bramborové hlízy žluté odrůdy Figaro obsahují méně redukujících cukrů oproti ostatním odrůdám. Navrhujeme zpracovat další analýzu těchto 13 odrůd brambor, která by určila složení a vliv prekurzorů (redukujících sacharidů, volného asparaginu) na tvorbu akrylamidu.

Na základě výsledků doporučujeme preferenci žlutých a fialových odrůd, které v pečeném stavu vykazovaly nižší koncentrace akrylamidu než odrůdy červené. Příkladem červené odrůdy, která je dle našeho experimentu zcela nevhodná pro přípravu pečených brambor, je odrůda Highland Burgundy Red, která vykazovala vysoké koncentrace akrylamidu v rámci obou lokalit (ČZU Praha-Suchdol 100,47  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  a VÚB Valečov 112,75  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) a také červená odrůda Magenta Love, jejíž průměrná koncentrace (v rámci obou lokalit) byla 336,71  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ .

## 6.2 Zhodnocení vlivu environmentálních faktorů

Provedený experiment odhalil, že odrůdy pěstované na pokusné lokalitě VÚB Valečov měly statisticky významně vyšší schopnost tvořit během pečení akrylamid ( $100,50 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) než bramborové hlízy pěstované na experimentálním poli ČZU Praha-Suchdol ( $37,27 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ).

Výsledky pokusu odhalily, že na potenciální tvorbu akrylamidu má významný vliv nejen genotyp, ale i lokalita. K závěru, že lokalita má určující vliv, došla i studie autorů Knusten et al. (2009), která zkoumala vliv odrůdy, lokality a skladování na tvorbu akrylamidu v pečených bramborových hlízách dvou odrůd pěstovaných na třech různých lokalitách v Norsku.

V rámci lokality působí několik environmentálních faktorů. Například je to zemědělský systém, půdní typ, meteorologické podmínky atd. Agronomický postup na obou experimentálních lokalitách byl totožný. Vliv způsobu hnojení, ošetření nebo způsob sklizně brambor na potenciální tvorbu akrylamidu můžeme označit za zanedbatelný. Amrein et al. (2003) dokonce uvádějí, že hnojení ani systém zemědělství nemá významný vliv na tvorbu akrylamidu v hlízách. V jejich studii neměl zkoumaný faktor systému zemědělství statisticky významný vliv na koncentraci prekurzorů akrylamidu v bramborových hlízách po jejich tepelné úpravě. Nicméně, je nutné zmínit studii vědců De Wilde et al. (2006a), která se zabývala vlivem hnojení na obsah akrylamidu ve smažených bramborových hlízách. Do studie byly zařazeny tři odrůdy brambor (Bintje, Ramos a Saturna) a jejím cílem bylo určit vliv hnojení na tvorbu akrylamidu. Autorům se podařilo prokázat, že snížené množství aplikace dusíkatého hnojiva vedlo ke zvýšené koncentraci redukcujících cukrů o 40 % (v sušině) u všech sledovaných odrůd, s následným zvýšením koncentrace akrylamidu v hranolkách po usmažení (nárůst o 30–65 %). Experimentální pole obou našich lokalit, byla v rámci experimentu hnojena stejně, vliv dusíkatých hnojiv můžeme vyloučit. Nicméně experimentální pole se lišila typem půdy, mohla tedy mít rozdílné zásoby živin. Lokalita ČZU Praha-Suchdol se vyznačovala půdním typem černozem, lokalita VÚB Valečov měla písčito-hlinitý půdní typ. De Wilde et al. (2006b) uvádějí ve svém experimentu, kde použili odlišnou tepelnou úpravu brambor než my – smažení, a ve kterém sledovali vliv rozdílného půdního typu dvou lokalit (jílovitý půdní typ x písčito-hlinitý půdní typ), že hlízy pěstované na jednom typu půdy neměly vyšší potenciál k tvorbě akrylamidu. Stejně tak neměl půdní druh dle jejich experimentu vliv na chemické složení hlíz, tedy na obsah prekurzorů akrylamidu. Zda byl písčito-hlinitý půdní typ zodpovědný v našem experimentu za vyšší průměrnou tvorbu akrylamidu v pečených hlízách na lokalitě VÚB Valečov nemůžeme potvrdit. Stejně tak, nemůžeme přesně určit rozdíly v zásobách živin.

Statisticky významné rozdíly v obsahu akrylamidu můžeme dále odůvodnit odlišnými povětrnostními podmínkami lokalit ve vegetačním období (duben–září) roku 2019. Z tabulek č. 18–19, které shrnují průběh počasí na obou lokalitách, vyplývá, že na pěstební lokalitě ČZU Praha-Suchdol bylo v měsících duben–září roku 2019 v průměru o  $1,61 \text{ }^\circ\text{C}$  tepleji a dále zde dopadlo v průměru o  $131,80 \text{ mm}$  srážek méně než na lokalitě VÚB Valečov. Z těchto údajů se můžeme domnívat, že rozdíly v potenciální tvorbě akrylamidu v bramborových hlízách během pečení byly dány rozdíly v průměrné teplotě a sumě srážek na pokusných lokalitách. Olsson et al. (2004) v rámci své studie uvádějí, že vliv roku (vegetačních podmínek) může často maskovat vliv genotypu. Vědci Haase & Webera (2003) uvádějí, že plodiny, které byly v rámci jejich studie pěstované ve sklizňovém roce s extrémně horkými letními měsíci, následně

vykazovaly po zpracování nižší potenciál ve tvorbě akrylamidu. Na základě jejich studie můžeme nižší obsah akrylamidu ve zpracovaných hlízách brambor z lokality ČZU Praha-Suchdol vysvětlit teplejšími meteorologickými podmínkami oproti lokalitě VÚB Valečov. Dle De Meulenaer et al. (2008) mají povětrnostní podmínky významný vliv právě na obsah redukcujících cukrů, které s obsahem akrylamidu nejvíce korelují. Dále mají vliv i na množství sušiny a volných aminokyselin (asparaginu). Výjimečně teplá vegetační období způsobují nižší obsah prekurzorů – redukcujících cukrů a tím i nižší tendenci k tvorbě akrylamidu během tepelné úpravy.

Významný vliv povětrnostních podmínek na obsah prekurzorů v bramborových hlízách a na následnou tvorbu akrylamidu uvádějí i Viklund et al. (2008). Jejich výsledky jsou ale odlišné od ostatních studií. Vegetační rok 2006, kdy byl jejich experiment prováděn, se vyznačoval vyššími průměrnými teplotami a extrémně nízkými srážkami (můžeme přirovnat k naší lokalitě ČZU Praha-Suchdol). Vědci zaznamenali během tohoto roku vyšší obsahy glukózy (4,2krát) a fruktózy (5,6krát) oproti předchozím experimentálním vegetačním rokům 2004 a 2005, kdy byly pěstovány stejné klony bramborových hlíz. O vyšším obsahu cukrů v bramborových hlízách během stresujících povětrnostních podmínek (teplo, sucho) hovoří i Amrein et al. (2003). Po tepelné úpravě (smažené lupínky) hlízy pěstované v povětrnostních podmínkách roku 2006 vykazovaly v průměru dvakrát vyšší obsah akrylamidu (Viklund et al. 2008).

Vzhledem k vyšším průměrným koncentracím akrylamidu v pečených hlízách z lokality VÚB Valečov se jeví jako vhodnější pěstební lokalita ČZU Praha-Suchdol. Přesto, některé odrůdy na v průměru horší lokalitě VÚB Valečov vykazovaly nižší koncentrace akrylamidu. Byla to například žlutá odrůda Mulberry Beauty (6,01  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  VÚB Valečov, 44,35  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  ČZU Praha-Suchdol). Podobně se chovaly také odrůdy Verdi, Europrima, Red Emmalie, Blue Star a Figaro.

### **6.3 Zhodnocení interakce genotypu a lokality**

Provedený pokus potvrdil interakci mezi genotypem a pěstební lokalitou na výsledný obsah akrylamidu v bramborách po upečení.

Náš experiment není jediným, ve kterém vycházely odlišné koncentrace akrylamidu u odrůd pěstovaných na více lokalitách po tepelné úpravě (Muttucumaru et al. 2017, Knutsen et al. 2009, Whittaker et al. 2010).

Výběr pěstební lokace brambor má zásadní vliv na genotypovou expresi redukcujících cukrů, které jsou významným prekurzorem a nejvíce s koncentrací akrylamidu korelují (Whittaker et al. 2010). Potenciálně dobrý genotyp pro smažení či pečení na jedné lokalitě se může jevit na druhé lokalitě jako špatný. Z tohoto důvodu nelze odrůdy brambor klasifikovat jako dobré či špatné pro tepelnou úpravu (Muttucumaru et al. 2008). Složení makronutrientů je z velké části dáno genotypem. Nicméně, například vlastnosti půdy mohou složení nutrientů výrazně ovlivnit. Rostliny přizpůsobují svůj metabolismus obsahu a dodávce minerálních prvků z půdy (Manzelli et al. 2010). Minerální prvek, který může ovlivňovat tvorbu akrylamidu během tepelné úpravy, je například zinek, který má vliv na metabolismus sacharidů (Whittaker et al. 2010).

Vliv interakce genotypu a lokality je nejvíce patrný u odrůdy Magenta Love. Pečené bramborové hlízy z lokality ČZU Praha-Suchdol měly průměrný obsah akrylamidu. Na druhé lokalitě, VÚB Valečov, výrazně nadprůměrný, téměř desetkrát vyšší než na lokalitě ČZU Praha-Suchdol. Konkrétní environmentální faktor nebo skupinu faktorů které způsobily jiné chování této odrůdy nemůžeme určit.

## 7 Závěr

Cílem práce bylo stanovit obsah akrylamidu metodou HPLC-ESI-MS/MS, v pečených bramborech připravených ze 13 odrůd s různým zabarvením hlíz: Mulberry Beauty, Figaro, Blue Star, Valfi, Highland Burgundy Red, Violet Queen, Verdi, Honorata, Red Emmalie, Rosemarie, Europrima, Magenta Love a Val Blue. Tyto odrůdy byly pěstovány na dvou experimentálních lokacích – ČZU Praha-Suchdol a VÚB Valečov, ve vegetačních měsících (duben–září) roku 2019. Dále bylo cílem práce vyhodnotit pomocí vhodných statistických metod vliv genotypu brambor, environmentálních faktorů a interakci genotypu a environmentálních faktorů na tvorbu akrylamidu v pečených bramborových hlízách.

Průměrná koncentrace akrylamidu v pečených bramborech byla v rámci celého pokusu stanovena na hodnotu 68,89  $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ .

Statistické zhodnocení výsledků potvrdilo, že existuje významný rozdíl ve schopnosti odrůd brambor syntetizovat akrylamid během tepelné úpravy. Nejvyšší schopnost tvorby akrylamidu, v rámci obou lokalit, byla zjištěna u červené odrůdy Magenta Love, naopak nejnižší schopnost u žluté odrůdy Figaro. Dále bylo zjištěno, že červené odrůdy brambor měly vyšší tendenci syntetizovat během pečení akrylamid než odrůdy s fialovým a žlutým zabarvením hlíz.

Statistické zhodnocení výsledků dále potvrdilo významný vliv environmentálních faktorů na tvorbu akrylamidu v pečených hlízách brambor. Pečené brambory, které pocházely z lokality VÚB Valečov, vykazovaly v průměru 2,7krát vyšší koncentrace vytvořeného akrylamidu oproti pečeným bramborám pocházejícím z lokality ČZU Praha-Suchdol.

Dále byl prokázán vliv obou faktorů (odrůdy a lokality) na obsah akrylamidu ve výsledném produktu.

S ohledem na výsledky, které práce přinesla a vzhledem k nespočtu studií, které se zabývaly karcinogenními, genotoxickými a neurotoxickými vlastnostmi akrylamidu, doporučujeme pro pěstování analyzovaných genotypů spíše lokalitu ČZU Praha-Suchdol. Odrůdu Magenta Love nedoporučujeme pěstovat ani na lokalitě ČZU Praha-Suchdol. Dle výsledků našeho experimentu není tato odrůda vhodná k pěstování na přípravu pečených brambor.

## 8 Literatura

- Alves RC, Soares C, Casal S, Fernandes JO, Oliveira MBPP. 2010. Acrylamide in espresso coffee: Influence of species, roast degree and brew length: Influence of species, roast degree and brew length. *Food Chemistry* **119**:929–934.
- Amrein TM et al. 2003. Potential of Acrylamide Formation, Sugars, and Free Asparagine in Potatoes: A Comparison of Cultivars and Farming Systems: A Comparison of Cultivars and Farming Systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**:5556–5560.
- Amrein TM, Andres L, Escher F, Amadò R. 2007. Occurrence of acrylamide in selected foods and mitigation options. *Food Additives and Contaminants* **24**:13–25.
- Amrein TM, Schönbacher B, Escher F, Amadò R. 2004. Acrylamide in Gingerbread: Critical Factors for Formation and Possible Ways for Reduction: Critical Factors for Formation and Possible Ways for Reduction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **52**:4282–4288.
- Anese M, Nicoli MC, Verardo G, Munari M, Mirolo G, Bortolomeazzi R. 2014. Effect of vacuum roasting on acrylamide formation and reduction in coffee beans. *Food Chemistry* **145**:168–172.
- Anese M. 2016. Acrylamide in Coffee and Coffee Substitutes. Pages 181–195 in Gökmen V, editor. *Acrylamide in Food: Analysis, Content and Potential Health Effects*. Academic Press, United States.
- Arvanitoyannis IS, Dionisopoulou N. 2014. Acrylamide: Formation, Occurrence in Food Products, Detection Methods, and Legislation: Formation, Occurrence in Food Products, Detection Methods, and Legislation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **54**:708–733.
- Bagdonaite K, Derler K, Murkovic M. 2008. Determination of Acrylamide during Roasting of Coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **56**:6081–6086.
- Bassama J, Brat P, Bohuon P, Boulanger R, Günata Z. 2010. Study of acrylamide mitigation in model system: Effect of pure phenolic compounds. *Food Chemistry* **123**:558–562.
- Becalski A, Lau BP-Y, Lewis D, Seaman SW, Hayward S, Sahagian M, Ramesh M, Leclerc Y. 2004. Acrylamide in French Fries: Influence of Free Amino Acids and Sugars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **52**:3801–3806.
- Biedermann M, Biedermann-Brem S, Noti A, Grob K, Egli P, Mändli H. 2002. Two GC-MS methods for the analysis of acrylamide in foods. *Mitt. Lebensm. Hyg.* **93**:638–652.
- Bologna LS, Andrawes FF, Barvenik FW, Lentz RD, Sojka RE. 1999. Analysis of residual acrylamide in field crops. *J. Chromatogr. Sci.* **37**:240–244.
- Castle L, Eriksson S. 2005. Analytical methods used to measure acrylamide concentrations in foods. *J AOAC Int.* **88**:274–284.



- Çebi A. 2016. Acrylamide Intake, Its Effects on Tissues and Cancer. Pages 63–91 in Gökmen V, editor. *Acrylamide in Food: Analysis, Content and Potential Health Effects*. Academic Press, United States.
- Claus A, Carle R, Schieber A. 2008a. Acrylamide in cereal products: A review. *Journal of Cereal Science* **47**:118–133.
- Claus A, Mongili M, Weisz G, Schieber A, Carle R. 2008b. Impact of formulation and technological factors on the acrylamide content of wheat bread and bread rolls. *Journal of Cereal Science* **47**:546–554.
- Claus A, Schreiter P, Weber A, Graeff S, Herrmann W, Claupein W, Schieber A, Carle R. 2006. Influence of Agronomic Factors and Extraction Rate on the Acrylamide Contents in Yeast-Leavened Breads. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **54**:8968–8976.
- Coffin RH, Yada RY, Parkin KL, Grodzinski B, Stanley DW. 1987. Effect of Low Temperature Storage on Sugar Concentrations and Chip Color of Certain Processing Potato Cultivars and Selections. *Journal of Food Science* **52**:639–645. John Wiley.
- Cwиковá O. 2014. Toxické účinky akrylamidu a jeho výskyt v potravinách. *Chemické listy* **108**:205–210.
- De Meulenaer B et al. 2008. Comparison of potato varieties between seasons and their potential for acrylamide formation. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **88**:313–318.
- de Vleeschouwer K, Plancken IV der, Van Loey A, Hendrickx ME. 2007. Kinetics of Acrylamide Formation/Elimination Reactions as Affected by Water Activity. *Biotechnology Progress* **23**:722–728.
- De Wilde T et al. 2006a. Influence of Fertilization on Acrylamide Formation during Frying of Potatoes Harvested in 2003. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **54**:404408.
- De Wilde T et al. 2006b. Selection Criteria for Potato Tubers To Minimize Acrylamide Formation during Frying. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **54**:2199–2205.
- ECHA (European Chemicals Agency). 2010. Acrylamide included in the REACH Candidate List of Substances of Very High Concern for Authorisation. ECHA Press, Helsinki.
- Eriksson S. 2005. Acrylamide in food products: Identification, formation and analytical methodology. Doctoral Thesis. Sweden.
- EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). 2015. Scientific Opinion on Acrylamide in Food. *EFSA Journal* **13**:4104.
- Evropská komise. Nařízení komise (EU) č. 10/2011 ze dne 14.ledna 2011 o materiálech a předmětech z plastů určených pro styk s potravinami. Belgie, Brusel.
- Fennell TR, Sumner SCJ, Snyder RW, Burgess J, Spicer R, Bridson WE, Friedman MA. 2004. Metabolism and Hemoglobin Adduct Formation of Acrylamide in Humans. *Toxicological Sciences* **85**:447–459.

- Fiselier K, Bazzocco D, Gama-Baumgartner F, Grob K. 2005. Influence of the frying temperature on acrylamide formation in French fries. *European Food Research and Technology* **222**:414–419.
- FoodDrinkEurope. 2019. Acrylamide Toolbox 2019. Available from <https://www.fooddrinkeurope.eu/> (accessed September 2020).
- Freisling H, Slimani N. 2016. Challenges in Estimating Dietary Acrylamide Intake. Pages 19–37 in Gökmen V, editor *Acrylamide in Food: Analysis, Content and Potential Health Effects*. Academic Press, United States.
- Friedman M. 2003. Chemistry, Biochemistry, and Safety of Acrylamide. A Review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**:4504–4526.
- Haase NU, Weber L. 2003. Variability of sugar content in potato varieties suitable for processing. *Science and Technology Food, Agriculture & Environment* **1**:80–81.
- Habermann CE. 1991 Acrylamide. Pages 251–266 in Kirk-Othmer, editor. *Encyclopedia of Chemical Technology*. J. Wiley & Sons. New York, United States.
- Hagmar L et al. 2001. Health effects of occupational exposure to acrylamide using hemoglobin adducts as biomarkers of internal dose. *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health* **27**:219–226.
- Hanley AB, Offen C, Clarke M, Ing B, Roberts M, Burch R. 2005. Acrylamide Reduction in Processed Foods. Pages 38–7392 in *Chemistry and Safety of Acrylamide in Food*, 561st. Springer-Verlag, New York.
- Heath Jr. CW, Falk H, Creech Jr. JL. 1975. Characteristics of Cases of Angiosarcoma of the Liver Among Vinyl Chloride Workers in the United States. *Annals of the New York Academy of Sciences* **246**:231–236.
- Hoenicke K, Gatermann R. 2005. Studies on the Stability of Acrylamide in Food During Storage. *Journal of AOAC International* **88**:268–273.
- Cheng K-W, Zeng X, Tang YS, Wu J-J, Liu Z, Sze K-H, Chu IK, Chen F, Wang M. 2009. Inhibitory Mechanism of Naringenin against Carcinogenic Acrylamide Formation and Nonenzymatic Browning in Maillard Model Reactions. *Chemical Research in Toxicology* **22**:1483–1489.
- International Agency for Research on Cancer (IARC). 1994. Acrylamide. Pages 389–433. *Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Some Industrial Chemicals*, vol. 60. International Agency for Research on Cancer, Lyon.
- Kalita D, Holm DG, Jayanty SS. 2013. Role of polyphenols in acrylamide formation in the fried products of potato tubers with colored flesh. *Food Research International* **54**:753–759.
- Kepekci Tekkeli SE, Önal C, Önal A. 2012. A Review of Current Methods for the Determination of Acrylamide in Food Products. *Food Analytical Methods* **5**:29–39.
- Knutsen SH, Dimitrijevic S, Molteberg EL, Segtnan VH, Kaaber L, Wicklund T. 2009. The influence of variety, agronomical factors and storage on the potential for acrylamide

- formation in potatoes grown in Norway. *LWT – Food Science and Technology* **42**:550–556.
- Kocadağlı T, Gökmen V. 2016. Metabolism of Acrylamide in Humans and Biomarkers of Exposure to Acrylamide. Pages 109–128 in Gökmen V, editor. *Acrylamide in Food: Analysis, Content and Potential Health Effects*. Academic Press, United States.
- Kotsiou K, Tasioula-Margari M, Capuano E, Fogliano V. 2011. Effect of standard phenolic compounds and olive oil phenolic extracts on acrylamide formation in an emulsion system. *Food Chemistry* **124**:242–247.
- Lai HM, Lin TC. 2006. Bakery products: science and technology. Pages 3–6 in Hui HY, editor. *Bakery products. Science and technology*. Blackwell Publishing Professional, Iowa (USA).
- Lantz I, Ternité R, Wilkens J, Hoenicke K, Guenther H, van der Stegen GHD. 2006. Studies on acrylamide levels in roasting, storage and brewing of coffee. *Molecular Nutrition & Food Research* **50**:1039–1046.
- Lawson LD, Ransom DK, Hughes BG. 1992. Inhibition of whole blood platelet-aggregation by compounds in garlic clove extracts and commercial garlic products. *Thrombosis Research* **65**:141–156.
- LoPachin RM, Ross JF, Lehning EJ. 2002. Nerve Terminals as the Primary Site of Acrylamide Action: A Hypothesis. *NeuroToxicology* **23**:43–59.
- LoPachin RM. 2004. The Changing View of Acrylamide Neurotoxicity. *NeuroToxicology* **25**:617–630.
- Luning P, Sanny M. 2016. Acrylamide in Fried Potato Products. Pages 159–179 in Gökmen V, editor. *Acrylamide in Food: Analysis, Content and Potential Health Effects*. Academic Press, United States.
- Madle S, Broschinski L, Mosbach-Schulz O, Schöning G, Schulte A. 2003. Zur aktuellen Risikobewertung von Acrylamid in Lebensmitteln. *Bundesgesundheitsblatt – Gesundheitsforschung – Gesundheitsschutz* **46**:405–415.
- Manzelli M, Romagnoli S, Ghiselli L, Benedettelli S, Palchetti E, Andrenelli L, Vecchio V. 2010. Typicity in Potato: Characterization of Geographic Origin. *Italian Journal of Agronomy* **5**:61–68.
- Marková L, Ciesarová Z, Kukurová K, Zieliński H, Przygodzka M, Bednáriková A, Šimko P. 2012. Influence of various spices on acrylamide content in buckwheat ginger cakes. *Chemical Papers* **66**:949–954.
- Marsh GM, Lucas LJ, Youk AO, Schall LC. 1999. Mortality patterns among workers exposed to acrylamide: 1994 follow up. *Occupational and Environmental Medicine* **56**:181–190.
- Matthäus B, Haase NU, Vosmann K. 2004. Factors affecting the concentration of acrylamide during deep-fat frying of potatoes. *European Journal of Lipid Science and Technology* **106**:793–801.

- Matthäus B, Haase NU. 2016. Acrylamide in ready-to-eat foods. Pages 353–382 in *Food Hygiene and Toxicology in Ready-to-Eat Foods*. Elsevier. Available at <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128019160000200> (accessed November 24, 2020).
- Mesias M, Morales FJ. 2016. Acrylamide in Bakery Products. Pages 131–157 in Gökmen V, editor. *Acrylamide in Food: Analysis, Content and Potential Health Effects*. Academic Press, United States.
- Ministerstvo zdravotnictví. 2000. Vyhláška Ministerstva zdravotnictví č. 376/2000 Sb., kterou se stanoví požadavky na pitnou vodu a rozsah a četnost její kontroly. Česká republika.
- Ministerstvo zemědělství. 1997. Vyhláška č. 333/1997 Sb. Ministerstva zemědělství, kterou se provádí § 18 odst. 1 písm. a), b), g) a h) zákona č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích a o změně a doplnění některých souvisejících zákonů, pro mlýnské obilné výrobky, těstoviny, pekařské výrobky a cukrářské výrobky a těsta. Česká republika.
- Mojska H. 2016. Secular Trends in Food Acrylamide. Pages 39–59 in Gökmen V, editor. *Acrylamide in Food: Analysis, Content and Potential Health Effects*. Academic Press, United States.
- Mottram DS, Wedzicha BL, Dodson AT. 2002. Acrylamide is formed in the Maillard reaction. *Nature* **419**:448–449.
- Muttucumaru N, Elmore JS, Curtis T, Mottram DS, Parry MAJ, Halford NG. 2008. Reducing Acrylamide Precursors in Raw Materials Derived from Wheat and Potato. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **56**:6167–6172.
- Muttucumaru N, Powers SJ, Elmore JS, Dodson A, Briddon A, Mottram DS, Halford NG. 2017. Acrylamide-forming potential of potatoes grown at different locations, and the ratio of free asparagine to reducing sugars at which free asparagine becomes a limiting factor for acrylamide formation. *Food Chemistry* **220**:76–86.
- Nehlig A. 2011. Physiological effects of coffee and human health. A review. *Cah Agric* **21**:197–207.
- Nicoli MC, Anese M, Manzocco L, Lerici CR. 1997. Antioxidant Properties of Coffee Brews in Relation to the Roasting Degree. *LWT – Food Science and Technology* **30**:292–297.
- O’Keefe JH, Bhatti SK, Patil HR, DiNicolantonio JJ, Lucan SC, Lavie CJ. 2013. Effects of Habitual Coffee Consumption on Cardiometabolic Disease, Cardiovascular Health, and All-Cause Mortality. *Journal of the American College of Cardiology* **62**:1043–1051.
- Olsson K, Svensson R, Roslund C-A. 2004. Tuber components affecting acrylamide formation and colour in fried potato: variation by variety, year, storage temperature and storage time. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **84**:447–458.
- Oracz J, Nebesny E, Żyżelewicz D. 2011. New trends in quantification of acrylamide in food products. *Talanta* **86**:23–34.

- Ou S, Shi J, Huang C, Zhang G, Teng J, Jiang Y, Yang B. 2010. Effect of antioxidants on elimination and formation of acrylamide in model reaction systems. *Journal of Hazardous Materials* **182**:863–868.
- Parzefall W. 2008. Minireview on the toxicity of dietary acrylamide. *Food and Chemical Toxicology* **46**:1360–1364.
- Pastoriza S, Rufián-Henares JÁ, Morales FJ. 2012. Reactivity of acrylamide with coffee melanoidins in model systems. *LWT – Food Science and Technology* **45**:198–203.
- Pedreschi F, Kaack K, Granby K. 2004. Reduction of acrylamide formation in fried potato slices. *Lebensmittel-Wissenschaft Und-Technologie – Food Science and Technology* **37**:679–685.
- Pittet A, Périsset A, Oberson J-M. 2004. Trace level determination of acrylamide in cereal-based foods by gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* **1035**:123–130.
- Rice JM. 2005. Review The carcinogenicity of acrylamide. *Mutation Research* **580**:3–20.
- Roach JAG, Andrzejewski D, Gay ML, Nortrup D, Musser SM. 2003. Rugged LC-MS/MS Survey Analysis for Acrylamide in Foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**:7547–7554.
- Rosén J, Hellenäs K-E. 2002. Analysis of acrylamide in cooked foods by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Analyst* **127**:880–882.
- Şenyuva HZ, Gökmen V. 2005. Study of acrylamide in coffee using an improved liquid chromatography mass spectrometry method: Investigation of colour changes and acrylamide formation in coffee during roasting: Investigation of colour changes and acrylamide formation in coffee during roasting. *Food Additives & Contaminants* **22**:214–220.
- Skog K, Viklund G, Olsson K, Sjöholm I. 2008. Acrylamide in home-prepared roasted potatoes. *Molecular Nutrition & Food Research* **52**:307–312.
- Smith CJ, Perfetti TA, Mullens MA, Rodgman A, Doolittle DJ. 2000. “IARC Group 2B Carcinogens” reported in cigarette mainstream smoke. *Food and Chemical Toxicology* **38**:825–848.
- Smith EA, Oehme FW. 1991. Acrylamide and Polyacrylamide: A Review of Production, Use, Environmental Fate and Neurotoxicity: A Review of Production, Use, Environmental Fate and Neurotoxicity. *Reviews on Environmental Health* **9**:215–228.
- Sobel W, Bond GG, Parsons TW, Brenner FE. 1986. Acrylamide cohort mortality study. *Occupational and Environmental Medicine* **43**:785–788.
- Sohn M, Ho C-T. 1995. Ammonia Generation during Thermal Degradation of Amino Acids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **43**:3001–3003.
- Stadler RH, Blank I, Varga N, Robert F, Hau J, Guy PA, Robert M-C, Riediker S. 2002. Acrylamide from Maillard reaction products. *Nature* **419**:449–450.

- Stadler RH, Scholz G. 2004. Acrylamide: an Update on Current Knowledge in Analysis, Levels in Food, Mechanisms of Formation, and Potential Strategies of Control: an Update on Current Knowledge in Analysis, Levels in Food, Mechanisms of Formation, and Potential Strategies of Control. *Nutrition Reviews* **62**:449–467.
- Stadler RH, Studer A. 2016. Acrylamide Formation Mechanisms. Pages 1–17 in Gökmen V, editor. *Acrylamide in Food: Analysis, Content and Potential Health Effects*. Academic Press, United States.
- Surdyk N, Rosén J, Andersson R, Åman P. 2004. Effects of Asparagine, Fructose, and Baking Conditions on Acrylamide Content in Yeast-Leavened Wheat Bread. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **52**:2047–2051. American Chemical Society.
- Swedish National Food Administration (SNFA). 2002. Analytical methodology and survey results for acrylamide in foods. Available from <https://www.livsmedelsverket.se> (accessed September 2020).
- Taeymans D et al. 2004. A Review of Acrylamide: An Industry Perspective on Research, Analysis, Formation, and Control: An Industry Perspective on Research, Analysis, Formation, and Control. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* **44**:323–347.
- Tareke E, Rydberg P, Karlsson P, Eriksson S, Törnqvist M. 2000. Acrylamide: A Cooking Carcinogen? *Chemical Research in Toxicology* **13**:517–522.
- Tepe Y. 2016. Acrylamide in Surface and Drinking Water. Pages 275–293 in Gökmen V, editor. *Acrylamide in Food: Analysis, Content and Potential Health Effects*. Academic Press, United States.
- The Commission of the European Communities. 2007. Commission recommendation of 3 May 2007 on the monitoring of acrylamide levels in food (notified under document number C(2007) 1873). *Official Journal of the European Union* 123/33, Brusel.
- The Commission of the European Communities. 2017. Commission regulation (EC) No 2158/2017 of 20 November 2017 establishing mitigation measures and benchmark levels for reduction of the presence of acrylamide in food. Pages 24–44 in *Official Journal of the European Union*, Brusel.
- Velíšek J, Hajšlová J. 2009. *Chemie potravin 2*. OSSIS. Tábor.
- Viklund GÅI, Olsson KM, Sjöholm IM, Skog KI. 2008/08/01. Impact of Harvest Year on Amino Acids and Sugars in Potatoes and Effect on Acrylamide Formation during Frying. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **56**:6180–6184.
- Whittaker A, Marotti I, Dinelli G, Calamai L, Romagnoli S, Manzelli M, Palchetti E, Vecchio V, Benedettelli S. 2010/09/01. The influence of tuber mineral element composition as a function of geographical location on acrylamide formation in different Italian potato genotypes. *Journal of the science of food and agriculture* **90**:1968–1976.
- Wnorowski A, Yaylayan VA. 2003. Monitoring Carbonyl-Amine Reaction between Pyruvic Acid and  $\alpha$ -Amino Alcohols by FTIR Spectroscopy A Possible Route To Amadori Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**:6537–6543.

- Yasuhara A, Tanaka Y, Hengel M, Shibamoto T. 2003. Gas Chromatographic Investigation of Acrylamide Formation in Browning Model Systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**:3999–4003.
- Yaylayan VA, Perez Locas C, Wnorowski A, O'Brien J. 2005. Mechanistic Pathways of Formation of Acrylamide from Different Amino Acids. Pages 191–203 in *Chemistry and Safety of Acrylamide in Food*, 561st. Springer-Verlag, New York.
- Yuan Y, Shu C, Zhou B, Qi X, Xiang J. 2011. Impact of selected additives on acrylamide formation in asparagine/sugar Maillard model systems. *Food Research International* **44**:449–455.
- Zamora R, Delgado RM, Hidalgo FJ. 2016. Use of Nucleophilic Compounds, and Their Combination, for Acrylamide Removal. Pages 297–307 in Gökmen V, editor. *Acrylamide in Food: Analysis, Content and Potential Health Effects*. Academic Press, United States.
- Zhang Y, Zhang G, Zhang Y. 2005. Occurrence and analytical methods of acrylamide in heat-treated foods: Review and recent developments: Review and recent developments. *Journal of Chromatography A* **1075**:1–21.
- Zhu F, Cai Y-Z, Ke J, Corke H. 2010. Compositions of phenolic compounds, amino acids and reducing sugars in commercial potato varieties and their effects on acrylamide formation. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **90**:2254–2262.
- Zieliński H, Amigo-Benavent M, Castillo M, Michalska-Ciechanowska A, Zielinska D. 2010. Formulation and baking process affect Maillard reaction development and antioxidant capacity of ginger cakes. *Journal of Food and Nutrition Research* **49**:140–148.
- Zyzak DV et al. 2003. Acrylamide Formation Mechanism in Heated Foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**:4782–4787.

## 9 Seznam použitých zkratek a symbolů

2A	skupina pravděpodobně karcinogenních látek pro člověka (dle klasifikace Mezinárodní agentury pro výzkum rakoviny, IARC)
ČZU	Česká zemědělská univerzita
DNA	deoxyribonukleová kyselina
ECD	detektor elektronového záchytu (an electron capture detector)
EFSA	Evropský úřad pro bezpečnost potravin (European Food Safety Authority)
ECHA	Evropská agentura pro chemické látky (European Chemicals Agency)
FID	plamenoionizační detektor (a flame ionization detector)
FW	čerstvá hmotnost (fresh weight)
GC	plynová chromatografie (gas chromatography)
GC-MS	plynová chromatografie s hmotnostní spektrometrií (gas chromatography-mass spectrometry)
IARC	Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny (International Agency for Research on Cancer)
LC	kapalinová chromatografie (liquid chromatography)
LC-ESI-MS/MS	kapalinová chromatografie za použití elektrosprejové ionizace s tandemovou hmotnostní spektrometrií (liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry)
LC-MS/MS	kapalinová chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií (liquid chromatography with tandem mass spectrometry)
MS	hmotnostní spektrometrie (mass spectrometry)
MS/MS	tandemová hmotnostní spektrometrie (tandem mass spectrometry)
NOAEL	nejvyšší dávka nebo expoziční koncentrace látky, při které nebyl pozorován žádný škodlivý účinek (No Observed Adverse Effect Level)
SNFA	Švédský národní úřad pro potraviny (Swedish National Food Administration)
VÚB	Výzkumný ústav bramborářský



## 10 Samostatné přílohy

### Příloha č. 1 Statistické vyhodnocení výsledků faktoriální ANOVA

1.faktor: odrůda, 2. faktor: lokalita, 3.faktor odrůda x lokalita, závisle proměnná: obsah akrylamidu, hladina významnosti  $\alpha=0,05$

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro AA ( $\mu\text{g/kg FW}$ ) (Tab_AA_brambory pecene) Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	SČ	Stupně volnosti	PČ	F	p
Abs. člen	370116.1	1	370116.1	5448.3	0.0000
Odrůda	601778.9	12	50148.2	738.2	0.0000
Lokalita	77957.1	1	77957.1	1147.6	0.0000
Odrůda*Lokalita	476502.4	12	39708.5	584.5	0.0000
Chyba	3532.5	52	67.9		

Obrázek č. 1 F-test.

### Příloha č. 2 Statistické podrobné vyhodnocení pomocí Tukeyova HSD testu

Závisle proměnná obsah akrylamidu

Č. buňky	Tukeyův HSD test; proměnná AA ( $\mu\text{g/kg FW}$ ) (Tab_AA_brambory pecene) Homogenní skupiny, alfa = .05000 (Neúplné vyhledávání) Chyba: meziskup. PČ = 67.933, sv = 52.000								
	Odrůda	AA ( $\mu\text{g/kg FW}$ ) Průměr	1	2	3	4	5	6	7
2	Figaro	10.82	****						
4	Valfi	19.27	****	****					
3	Blue Star	21.26	****	****	****				
11	Europrima	21.46	****	****	****				
9	Red Emmalie	22.52	****	****	****				
1	Mulberry Beauty	25.18	****	****	****				
6	Violet Queen	32.20		****	****				
8	Honorata	32.26		****	****				
7	Verdi	35.95			****				
10	Rosemarie	67.74				****			
5	Highland Burgundy Red	106.61					****		
13	Val Blue	163.54						****	
12	Magenta Love	336.71							****

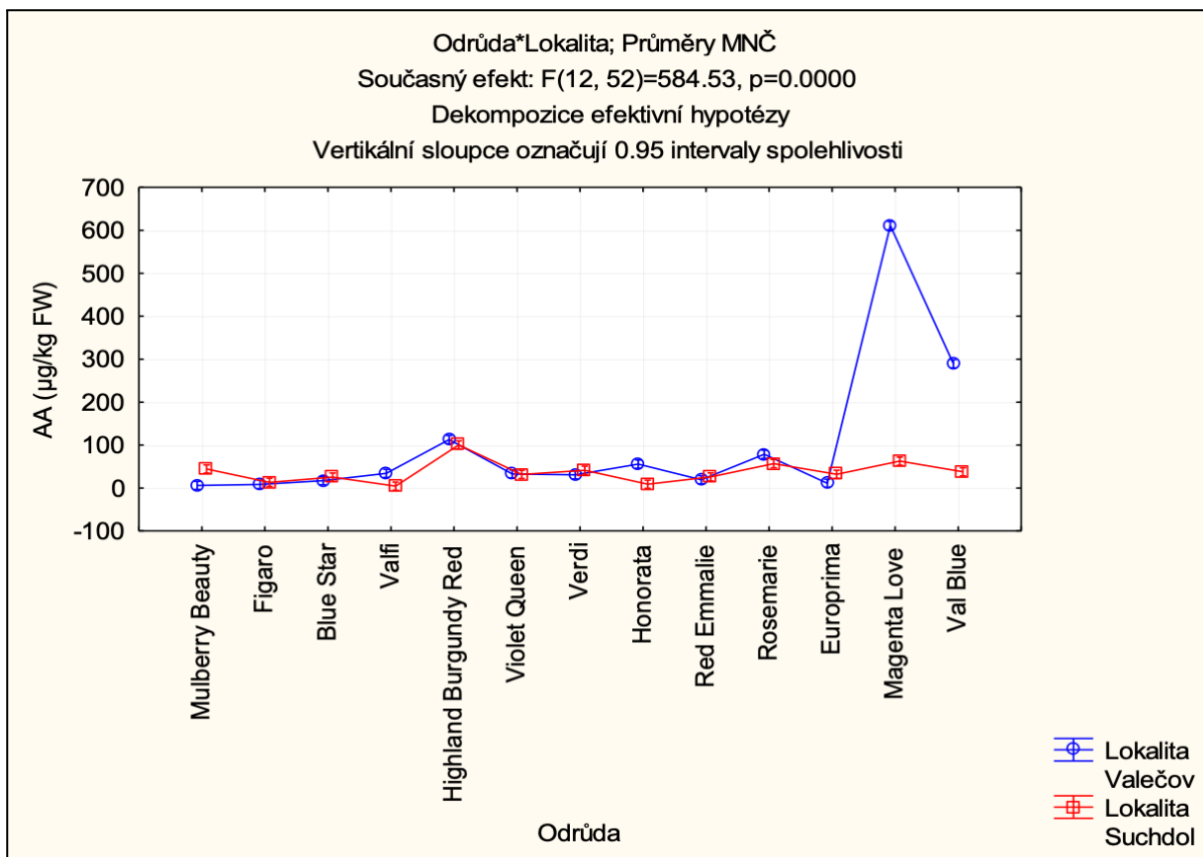
Obrázek č. 1 Vliv genotypu na tvorbu akrylamidu během tepelné úpravy, faktor: odrůda.

Č. buňky	Tukeyův HSD test; proměnná AA ( $\mu\text{g/kg FW}$ ) (Tab_AA_brambory pecene) Homogenní skupiny, alfa = .05000 Chyba: meziskup. PČ = 67.933, sv = 52.000			
	Lokalita	AA ( $\mu\text{g/kg FW}$ ) Průměr	1	2
2	Suchdol	37.27	****	
1	Valečov	100.50		****

Obrázek č. 2 Vliv lokality na tvorbu akrylamidu během tepelné úpravy, faktor: lokalita.

Tukeyův HSD test; průměrná AA (µg/kg FW) (Tab_AA_brambory pecene)																
Homogenní skupiny, alfa = .05000 (Neúplné vyhledávání)																
Chyba: meziskup. PČ = 67.933, sv = 52.000																
Č. buňky	Odrůda	Lokalita	AA (µg/kg FW) Průměr	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
8	Valfi	Suchdol	4.38	****												
1	Mulberry Beauty	Valečov	6.01	****	****											
3	Figaro	Valečov	8.41	****	****	****										
16	Honorata	Suchdol	8.91	****	****	****										
21	Europrima	Valečov	11.08	****	****	****										
4	Figaro	Suchdol	13.22	****	****	****	****									
5	Blue Star	Valečov	17.17	****	****	****	****	****								
17	Red Emmalie	Valečov	19.19	****	****	****	****	****	****							
6	Blue Star	Suchdol	25.35	****	****	****	****	****	****							
18	Red Emmalie	Suchdol	25.85	****	****	****	****	****	****							
13	Verdi	Valečov	30.69	****	****	****	****	****	****	****						
12	Violet Queen	Suchdol	31.73	****	****	****	****	****	****	****						
22	Europrima	Suchdol	31.85	****	****	****	****	****	****	****						
11	Violet Queen	Valečov	32.67	****	****	****	****	****	****	****						
7	Valfi	Valečov	34.15	****	****	****	****	****	****	****						
26	Val Blue	Suchdol	37.77	****	****	****	****	****	****	****	****					
14	Verdi	Suchdol	41.21	****	****	****	****	****	****	****	****	****				
2	Mulberry Beauty	Suchdol	44.35	****	****	****	****	****	****	****	****	****				
15	Honorata	Valečov	55.61	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****			
20	Rosemarie	Suchdol	56.82	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****			
24	Magenta Love	Suchdol	62.61	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****			
19	Rosemarie	Valečov	78.65	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****		
10	Highland Burgundy Red	Suchdol	100.47	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****		
9	Highland Burgundy Red	Valečov	112.75	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	
25	Val Blue	Valečov	289.30	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****
23	Magenta Love	Valečov	610.81	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****	****

Obrázek č. 3 Statistické hodnocení environmentálních faktorů a jejich interakce s genotypem na tvorbu akrylamidu během zpracování bramborových hlíz. Faktor: odrůda x lokalita.



Obrázek č. 4 Interakční graf, faktor: odrůda x lokalita.