

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra genetiky a šlechtění



Akrylamid ve výrobcích z brambor

Bakalářská práce

Autor práce: **Jan Jiruška**

Vedoucí práce: **Ing. Vladimíra Sedláková, Ph.D.**

© 2016 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou bakalářskou práci "Akrylamid ve výrobcích z brambor" jsem vypracoval samostatně pod vedením vedoucího bakalářské práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autor uvedené bakalářské práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 15.4.2016

Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval vedoucí mé práce Ing. Vladimíře Sedlákové, Ph.D. za odbornou pomoc a konzultace s ní spojenou.

Souhrn

Tato literární rešerše byla zpracována na tematiku zabývající se akrylamidem (AA), jeho detekcí a jeho redukcí. Je v ní popsán základní botanický popis bramboru hlíznatého, včetně vypsání registrovaných odrůd v České republice, které se používají především pro tepelné zpracování. Pozornost je také věnována chemickému složení hlíz. Dále je práce zaměřená na samotný AA. O něm se uvádí, že může působit karcinogenně a neurotoxicky, zvláště díky tomu, že se v organismu přeměňuje na reaktivnější sloučeninu, glycidamid. Díky pokusům na zvířatech jsou v dnešní době odhaleny tyto negativní účinky na lidský organismus.

AA vzniká tepelnou úpravou brambor, která překročí 120 °C, zvláště se tedy jedná o brambůrky a lupínky (chipsy). Jde o reakci volné aminokyseliny (především asparaginu) a redukujícího cukru (většinou glukóza nebo fruktóza). Konkrétně jde o několik za sebou jdoucích reakcí, které jsou zahrnuty v Maillardově reakci. Při této reakci vzniká ve výrobku typická chuť a vůně. Bohužel, jeden z vedlejších produktů je právě AA.

V dnešní době probíhá stále větší snaha o to, jak vznik samotného AA co nejvíce zredukovat. Jsou zde zahrnuty způsoby od pěstování, průmyslovou úpravu brambor až po přidávání aditiv při tepelné úpravě. Stále více pozornosti si získávají antioxidanty, které mohou vzniku AA výrazně zabránit. Dále jsou v práci nashromážděny informace o moderních analytických metodách, detekujících AA v potravinách. Zahrnuty jsou i rychlé detekční metody, které si získávají stále větší oblibu ze strany vědců.

Klíčová slova: akrylamid, brambor, DNA, zdravotní rizika, analytické metody

Summary

This thesis provides a review describing acrylamide (AA), its detection and reduction. Botanical description and list of registered varieties of *Solanum tuberosum* in the Czech Republic is provided. Attention is paid to chemical composition of tubers. Next step is about AA. AA can cause carcinogenic and neurotoxic effects, particularly because it can be converted to a more reactive compound glycidamide in a human body. Thanks to animal experiments, we can reveal negative effects on the human body.

AA is formed by heat treatment over 120 °C in potatoes. Therefore, it's in potato chips and crisps. It's reaction of the free amino acids (especially asparagine) and reducing sugars (mostly glucose or fructose). It's all about several consecutive reactions that are included in the Maillard reaction. This reaction causes typical taste and aroma in products. Unfortunately, AA is one of the byproducts.

Today, formation of acrylamide has growing attention, because scientists want to reduce it as much as possible. Growing, industrial processing of potatoes and addition of additives during heat treatment is included. Antioxidants can significantly prevent formation of AA in food. There are also gathered informations on advanced analytical methods to detect AA in food. Rapid methods of detection are becoming more popular by scientists, that's why they are also included.

Keywords: acrylamide, potato, DNA, health risks, analytical methods

Obsah

1	Úvod.....	8
2	Cíl práce	9
3	Literární přehled	10
3.1	Brambor hlíznatý.....	10
3.1.1	Obecný popis	10
3.1.2	Chemické složení hlíz	13
3.1.2.1	Škrob	13
3.1.2.2	Dusíkaté látky.....	14
3.1.2.3	Minerální látky	15
3.1.2.4	Glykosidy.....	16
3.1.3	Potravinářské využití bramborových hlíz	17
3.2	Akrylamid	18
3.2.1	Akrylamid obecně.....	18
3.2.2	Prekurzory akrylamidu.....	21
3.2.3	Způsoby vzniku akrylamidu	21
3.2.4	Obsah akrylamidu v brambůrkách.....	23
3.3	Analytické metody detekce akrylamidu.....	24
3.3.1	Rychlé detekční metody	25
3.3.1.1	Metody indikující barvu	25
3.3.1.2	Enzymatická metoda ELISA.....	26
3.4	Biomarkery akrylamidu	27
3.5	Karcinogenní účinky AA.....	28
3.6	Redukce akrylamidu	29
3.6.1	Možné strategie pro snížení obsahu akrylamidu	30
3.6.1.1	Bramborový kultivar	30
3.6.1.2	Vlastnosti půd a hnojení	30
3.6.1.3	Klimatické podmínky a zralost hlíz.....	31
3.6.1.4	Skladování brambor	31
3.6.1.5	Kontrola kvality přijímaných brambor	32
3.6.1.6	Krájení	32
3.6.1.7	Blanšírování.....	33
3.6.1.8	Použití aditiv nebo výrobních pomůcek	33

3.6.1.9	Sušení.....	34
3.6.1.10	Smažení.....	35
3.6.1.11	Vliv kuchyňské soli na snížení obsahu akrylamidu	36
3.7.1.12	Vliv antioxidantů	36
3.6.1.12	Potlačení tvorby asparagin - syntetázy.....	37
4	Diskuze.....	38
5	Závěr	39
6	Seznam použitých zdrojů:.....	40
7	Seznam tabulek.....	47
8	Seznam obrázků.....	47

1 Úvod

Brambory patří mezi hlavní pěstované světové plodiny. Mezi oblíbenou úpravu této potraviny patří smažení. Poměrně nedávno bylo zjištěno, že právě během smažení při vysoké teplotě, zvláště vyšší než 120 °C, vzniká v bramborách akrylamid (AA). Tento fakt potvrdilo několik na sobě nezávislých výzkumů. Hlavními prekurzory AA jsou glukosa, fruktosa a asparagin. Při tepelné úpravě probíhá v bramborách tzv. Maillardova reakce, kde dochází k reakci těchto redukujících cukrů a asparaginu. Je to neenzymatická reakce, která je doprovázena typickým hnědnutím brambor, kde mimo jiné vzniká již zmiňovaný AA. Ten je nejvíce obsažen v hranolkách a brambůrkách. Dále je také obsažen například v sušenkách, oplatkách, chlebu, instantní kávě, ale i například v dětské výživě. Je známo, že AA je neurotoxický. Několik toxikologických studií prokázalo jeho genotoxické účinky na pokusech se zvířaty, což ukázalo potenciální riziko pro lidské zdraví. Proto v roce 1994 Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny klasifikovala AA jako možný karcinogen pro člověka na základě jeho karcinogenity u hlodavců. Jeho zvýšený příjem může přispívat ke vzniku rakoviny obzvláště ledvin a tlustého střeva. Od té doby se vědci začali zajímat o způsoby, kterými by se dal snížit jeho obsah v tepelně upravovaných výrobcích z brambor.

V dnešní době se již o AA ví mnohem více, než dříve a moderní věda dokáže, s pomocí různých analytických metod, zjistit jeho přesný obsah v daném výrobku. Díky tomu je možné testovat různé technologie, aby byl tento obsah co nejvíce snížen. V tomto případě se bavíme o produktech v potravinářském průmyslu. Problém v této tématice je, že jen málo lidí si uvědomuje negativní dopad špatné úpravy pokrmů, které obsahují škrob. Jedna z mnoha chyb je příliš dlouhé smažení a s tím spojené přepalování oleje a podobně. Proto jsem se v této bakalářské práci soustředil na popis vzniku samotného AA a popsal jeho negativní účinky a způsoby, jak jeho vzniku co nejvíce zabránit.

2 Cíl práce

Cílem práce je shromáždit, prostudovat a posoudit současné literárně prezentované poznatky o akrylamidu ve výrobcích z brambor. Jedním z dílčích cílů práce je zaměřit se zejména na aktuální trendy výzkumu této problematiky s využitím moderních molekulárních metod analýzy nukleových kyselin.

3 Literární přehled

3.1 Brambor hlíznatý

3.1.1 Obecný popis

Brambor obecný neboli lilek brambor (*Solanum tuberosum* Linnaeus Sp.) je vytrvalá bylina se svazčitými kořeny a podzemními oddenkovými hlízkami různého tvaru, vyrůstajícími na bělavých výběžcích (stolonech), na povrchu nejčastěji světle hnědými a nesoucími pupeny (očka) v postavení odpovídajícím postavení listů na lodyze (Slavík a kol., 2000). Existuje sedm pěstovaných druhů brambor, vyskytujících se v polyploidních sériích se základním číslem 12, v rozmezí od diploidů po pentaploidy. Obsahují základních 12 chromozomů, celkový počet záleží na stupni ploidie (Bradshaw a Mackay, 1994). Brambory jsou zlepšující plodinou v osevních sledech, základní potravinou, důležitou surovinou pro potravinářský a škrobárenský průmysl, ale i nevšední květinou našich polí (Vokál a kol., 2013). Lodyha je bohatě větvená, 60 - 100 cm vysoká, přímá až poléhavá, hranatá (Slavík a kol., 2000). Listy jsou přetřhaně lichozpeřené. Středem listu probíhá vřetenno, které je pokračováním řapíku (Vokál a kol., 2013). Je složená z jařem střídavě velkých a malých, 3 - 7 cm dlouhých, vejčitých celokrajných lístků. Lodyha i listy jsou s krátkými chlupy a drobnými žlázkami. Květy jsou uspořádány v mnohokvětých vijanech, které skládají vrcholíky na článkovaných stopkách. Kalich je zelený a v průměru 5 až 10 mm dlouhý, s pěti kopinatými špičatými cípy. Korunu má kolovitou, 25 - 35 mm v průměru a je buď bílá, růžová nebo fialová. Brambor má kulaté bobule, jsou 20 - 40 mm v průměru a jsou zelené až žlutozelené (Slavík a kol., 2000).

Brambor pochází z Jižní Ameriky, do Evropy byl přivezen v 16. století (Slavík a kol., 2000). Brambory měly své nezastupitelné místo také ve vyspělém zemědělství indiánských kultur. Tamní rolníci dobře znali jejich hodnotu, uznávali, že je v dobách neúrody chrání před hladem, a dovedli je konzervovat sušením (Vokál a kol., 2013). U nás byl původně pěstován jako botanická kuriozita, užitkově jako potravina ve větším měřítku teprve od 2. poloviny 18. století (Slavík a kol., 2000). Znalosti o pěstování a užití brambor jako nové polní plodiny se do zemí Koruny české bezpochyby dostávaly z několika směrů - od sousedů ze Saska, Bavorska či Rakouska, i když lidová tradice mylně přisuzuje jejich všeobecné rozšíření válkám prusko - rakouským, přesněji vpádu Prusů, obecně nazývaných Branibory (Vokál a kol., 2013). Brambor se u nás pěstuje jako jednoletá rostlina, a to s různou intenzitou po

celém území. Nejvíce je pěstování rozšířeno na území tzv. bramborářského výrobního typu, pahorkatinných a podhorských oblastech, především na Českomoravské vrchovině, v jihočeských rybníčních pánvích, v Poodří aj. (Slavík a kol., 2000). Brambory jsou již od samého počátku jejich potravinářského využití u nás označovány jako tzv. druhý chléb (Rybáček a kol., 1988). Brambor nemá zvláštní nároky na půdu, nejvhodnější jsou však čerstvě vlhké, hlinitopísčité nebo písčitohlinité půdy. Pro dobré výnosy požaduje hnojení a dostatek vláhy (Slavík a kol., 2000).

Brambor se pěstuje pro podzemní stonkové hlízy, které mají vysoký obsah glycidů, zvláště škrobu. Spolu s obilninami tvoří základ výživy lidstva v mírných pásmech. Brambory se používají jako potravina, krmivo i průmyslová surovina (např. výroba bioetanolu, škrobu). V dřívější době se u nás vyrábělo o mnoho více lihu, protože vznikaly lihovary poblíž každého zemědělského družstva (Čermák, 2013). Pokrmy z brambor mají jednoduchou a rychlou přípravu, např. vařením nebo pečením. Brambory současně na jednotce plochy poskytují větší množství potravy než obilniny, ze kterých se před kuchyňskou úpravou semílá mouka (Rybáček a kol., 1988). V roce 1992 se brambory pěstovaly na ploše 110 000 ha s celkovým výnosem přes 2100 tun (Slavík a kol., 2000). V roce 2012 bylo podle údajů ČSÚ osázeno již jen celkem 30650 ha bramboru, z toho 23650 ha v zemědělském sektoru (Čermák, 2013). A v roce 2014 bylo osázeno celkem 30089 ha brambor, z toho 23993 ha v zemědělském sektoru (Čermák, 2015).

Brambory jsou jednou z nejpěstovanějších světových zemědělských plodin, a jsou spotřebovávány denně miliony lidí z různých kulturních prostředí. Jsou pěstovány přibližně v 80 % zemích světa a celosvětová produkce je okolo 300 milionů tun za rok. Tato produkce je vyšší pouze u pšenice, kukuřice a rýže. V roce 2006 Severní Amerika produkovala 25 081 tis. tun brambor (Vokál a kol., 2013), jenom USA produkuje bezmála 8 milionů tun mražených a smažených produktů z brambor za rok (Pedreschi et al., 2006). Bez nadsázky můžeme říci, že brambory jsou nejlepším potravinovým koncentrátem na světě a navíc jsou poměrně levným zdrojem energie a nutričně významných látek (Čepl a kol., 2012).

Existuje mnoho odrůd brambor. Některé odrůdy jsou však přímo určené pro produkci hranolek a lupínků (tab. 1). Obecně mezi ně patří odrůdy s velkými, dlouhými, oválnými hlízami, které mají středně velký obsah sušiny a malý obsah redukujících cukrů. Co se týče

výroby lupínků, jsou preferovány odrůdy s ještě nižším obsahem redukujících cukrů, vyšším obsahem sušiny a především středně velké, oválné hlízy (Vinci et al., 2012).

Tabulka 1 Seznam registrovaných odrůd bramboru (převzato z: Čermák, 2015)

Odrůda	Užitkový směr*	Odrůda	Užitkový směr*	Odrůda	Užitkový směr*
Berber	smaž + konz	Ramos	hra + lup + konz	Sagitta	konz + smaž
Koruna	smaž + konz	Bella	konz + hra	Verdi	lupínky
Saline	smaž + konz	Bettina	smaž + konz	Victoria	smaž + konz
Vera	smaž + konz	Courage	lupínky	Vladan	smaž + škrob
Bernard	škrob + lup	Golf	lupínky	Voyager	konz + hra
Camilla	hra + konz	Hommage	konz + hra	Apolena	lupínky
Felsina	smaž + konz	Innovator	hranolky	Asterix	smaž + konz
Jitka	konz + lup + smaž	Jolana	konz + lup	Désirée	smaž + konz
Karlina	smaž + such + konz	Marlen	lup + hra	Ornella	škrob + smaž
Miranda	konz + hra + lup	Opal	lupínky	Panda	škrob + smaž
Rembrandt	lup + hra + konz	Priamos	škrob + lup		
Tomensa	smaž + škrob	Quarta	smaž + konz		

*Užitkový směr: konz - přímý konzum hra - hranolky
škrob - výroba škrobu lup - lupínky (chipsy)
such – suché výrobky smaž - smažené výrobky (hra + lup)

3.1.2 Chemické složení hlíz

Hlíza bramboru obsahuje podle odrůdy, termínu sklizně i délky a způsobu skladování asi 20 % sušiny a 80 % vody. Sušinu tvoří zejména sacharidy (11 – 18 %), dusíkaté látky (2 %) a minimum tuků (0,1 %) (Čepl a kol., 2012). Obsah sušiny u brambor určených k přímé spotřebě je rozhodující podle toho, zda spotřebitel dává přednost bramborám moučnatým (vyšší obsah sušiny) nebo lojovitým (nižší obsah sušiny). Výše obsahu sušiny je ovlivněna především odrůdou, a to z 81,58 %, prostředí působí z 10,85 % a interakce odrůda / prostředí ze 7,30 % (Rybáček a kol., 1988).

3.1.2.1 Škrob

Hlavní zásobní látkou bramboru je škrob, který plní funkci sytící (např. obsah škrobu 15 % představuje 87 % celkové energetické hodnoty hlízy) (Vokál a kol., 2013). Škrob je tvořen dvěma komponenty v poměru dosahujícím hodnot až 1 : 4. Tyto komponenty jsou amyulóza a amylopektin. Odlišují se od sebe strukturou, vztahem k barvení jódem a chováním ve vodním prostředí (Rybáček a kol., 1988). Amyulóza je v podstatě lineární molekula, ve které jsou spojeny molekuly D - glukózy α (1 - 4) glykosidickými vazbami. Molekula amylopektinu je velmi velká, její molekulová hmotnost je přes 10^7 daltonů a je složena z rozvětveného řetězce několika tisíc glukózových jednotek (Anniston a Topping, 1994). Obsah škrobu v bramborové hlíze je geneticky fixován, tj., je závislý především na odrůdě (Rybáček a kol., 1988). Přes svou vysokou energetickou hodnotu ale bramborový škrob patří k méně stravitelným. V syrových hlízách je málo přístupný pankreatické amyλάze (Vokál a kol., 2013). Zpracování škrobu má za následek změnu jeho struktury, proto ovlivňuje jeho trávení a tím jeho výživovou hodnotu (Anniston a Topping, 1994). Malý, ale významný podíl bramborového škrobu je rezistentní k trávení enzymy v žaludku a tenkém střevě a dostává se tedy do tlustého střeva v zásadě v intaktní podobě. Z fyziologického hlediska je tento rezistentní škrob považován za vlákninu, což přispívá k ochraně proti rakovině tlustého střeva, snižuje hladinu glukózy v krvi a zvyšuje inzulínovou senzitivitu. Množství rezistentního škrobu v bramborách velmi závisí na způsobu úpravy (Vokál a kol., 2013). Stravitelnost škrobu se zvýší jeho mazováním při vyšších teplotách. Hlízy odrůd určených pro konzumní účely ho obsahují v průměru 11–16 % (i více), minimální hodnota obsahu škrobu u brambor určených pro zpracovatelský průmysl je 18 % v čerstvé hmotě (Čepl a kol.,

2012). Škrob musí být kompletně rozložen na molekuly glukózy, než je vstřebán v tenkém střevě. Rozklad škrobu je způsoben trávicími enzymy, mezi které patří např. α - amyláza (Anniston a Topping, 1994). Škrob plní v rostlinném organismu funkci hlavní zásobní látky, jelikož je pohotovou zásobou glukózy. V buňkách hlíz brambor je uložen v podobě micel, zvaných škrobová zrna. Bramborové škroby obsahují lasturovitá škrobová zrna o různé velikosti, od 15 do 50 μm , ale mohou být i větší (Čepl a kol., 2012). Amylóza a amylopektin mohou tvořit krystalické struktury, nicméně větší význam v těchto strukturách má amylopektin, protože máčení škrobových zrn ve vodě vyluhuje amylózu, přičemž krystalická struktura zůstává neporušená (Anniston a Topping, 1994). Rozmístění škrobu v hlíze není zcela rovnoměrné, nejvyšší koncentrace jsou dosahovány v oblasti centrálního kruhu cévních svazků (Čepl a kol., 2012). Bobtnání škrobových zrn je rovněž úzce spjato s chováním brambor při vaření. Škrobová zrna postupně zvětšují při vaření svůj objem, vytvářejí tak tlaky na buněčné stěny, které, podle svých vlastností, se pak deformují, až mohou prasknout a uvolnit buněčný obsah do obklopujícího prostředí. Výsledkem tohoto procesu je pak rozvaření brambor v různém stupni (Rybáček a kol., 1988). V bramborových hlízách se kromě škrobu vyskytují další polysacharidy, které vytvářejí buněčné stěny a mezibuněčné složky. Tyto polysacharidy jsou označovány jako vláknina (hrubá vláknina, celulóza, hemicelulózy, pentózany a pektin) (Čepl a kol., 2012).

3.1.2.2 Dusíkaté látky

Další kalorickou složkou bramborové hlízy jsou dusíkaté látky. Aminokyseliny jsou základními stavebními kameny bílkovin a představují pouze okolo 2 % celkového obsahu dusíku v listech brambor (s aminoskupinou). Oproti tomu v hlíze je to dokonce až 50 % (Chawla et al., 2012). Představují zhruba 11,7 % z celkového energetického obsahu hlízy. Obsah dusíkatých látek je do jisté míry závislý na odrůdě. Podmínky prostředí (výživa) však mohou výrazně změnit odrůdovou fixaci (Rybáček a kol., 1988). Podíl bílkovin v obsahu dusíkatých látek kolísá vlivem genotypu bramboru a podmínek prostředí v širokém rozpětí (Vokál a kol., 2013). Souhrnně lze říci, že odrůdy s kratší vegetační dobou inklinují k hromadění vyššího obsahu dusičnanů než odrůdy s delší vegetační dobou. Souvisí to s fyziologií vývoje rostlin, kdy rostlina potřebuje určitý čas a podmínky k přeměně přijatých dusičnanů na další složky až bílkoviny (Míča a kol., 1991). Bílkovina brambor není chemicky

homogenní složkou. Je tvořena zhruba ze 70 % globulinem (tuberin) a z 30 % albuminem (tuberinin) (Rybáček a kol., 1988). Příjem a obsah bílkovin brambor je ukázán v tabulce 2.

Tabulka 2 Porovnání rozdílu v příjmu bílkovin spotřebitelem mezi konzumními bramborami a luštěninami (převzato z: Vokál a kol., 2013)

Rostlinný produkt	Obsah bílkovin (g / kg čerstvé hmoty)	Průměrná spotřeba (kg / osoba / rok)	Příjem bílkovin (g / osoba / rok)
Bramborové hlízy	10	74 - 76	759
Luštěniny	asi 200	1,5 - 2,0	300 - 400

Další složkou dusíkatého komplexu představují volné aminokyseliny. Vedle dvaceti běžných aminokyselin byly prokázány i některé aminokyseliny, které se obvykle nevyskytují. Významnou složkou z hlediska celkového metabolismu dusíkatých látek jsou amidy glutamin a asparagin (Rybáček a kol., 1988). Asparagin je v hlízách brambor převládající volnou aminokyselinou a tvoří až 25 % všech volných aminokyselin (Chawla et al., 2012).

Další významnou složku dusíkatého komplexu tvoří také dusičnany (Vokál a kol., 2013). Obsah dusičnanů v bramborách není vysoký, představuje zhruba 4 % celkového dusíku, je však svým dopadem v potravinářské sféře významný (Rybáček a kol., 1988).

3.1.2.3 Minerální látky

Brambory jsou významným zdrojem minerálních látek (viz. tabulka 3), především draslíku, jenž má v organismu více funkcí, včetně ovlivňování kontrakce svalů, přenosu nervových impulzů a regulace tlaku krve. Brambory neobsahují žádný sodík (Vokál a kol., 2013). Podobně jako ostatní látky jsou i minerální látky v hlíze nerovnoměrně rozloženy (Rybáček a kol., 1988). Tepelná úprava brambor má nezanedbatelný vliv na obsah minerálních látek v hlízách (True et al., 1979).

Tabulka 3 Obsah minerálních látek v hlíze (převzato z: Vokál a kol., 2013)

Minerální látka	Obsah v mg / 100 g čerstvé hmoty
Fosfor	30 - 60
Draslík	280 - 564
Vápník	5 - 18
Hořčík	14 - 18
Železo	0,4 - 1,6
Zinek	cca 0,3

3.1.2.4 Glykosidy

Hlízy bramboru přirozeně obsahují i látky, které při vyšším obsahu působí negativně na zdraví konzumentů. Jde hlavně o α - solanin a β - chaconin (Vokál a kol., 2013), které mají stejnou aglykonovou bázi solanidin (tab. 3) (Maga, 1994).

Tabulka 4 Strukturní vztah solaninu a chaconinu (převzato z: Maga, 1994)

Glykosid	Struktura
α - Solanin	Solanidin + galaktóza + glukóza + rhamnóza
β - Solanin	Solanidin + galaktóza + glukóza
γ - Solanin	Solanidin + galaktóza
α - Chaconin	Solanidin + glukóza + rhamnóza + rhamnóza
β - Chaconin	Solanidin + glukóza + rhamnóza
γ - Chaconin	Solanidin + glukóza

Jejich hladina je však sledována a při standardním způsobu skladování ve tmě by ke zvýšenému obsahu (nad 200 mg / kg) nemělo dojít. Přítomnost hlíz na světle vede k jejich zelenání a ke zvýšení obsahu glykolalkaloidů, který také závisí na způsobu kuchyňské úpravy hlíz (Vokál a kol., 2013). Ve skutečnosti, pokud je v USA více než 5 % sklizených brambor

odstraněno kvůli zezelenání, je to pouze vada. Pokud je to více než 10 % sklizených brambor, je to bráno jako vážná vada (Maga, 1994). V hlíze je jejich největší podíl soustředěn ve slupce a ve vnějších vrstvách (Rybáček a kol., 1988). Uvnitř hlízy jsou glykolalkaloidy nerovnoměrně rozmístěny, což může vést k nepřiměřeně vysokým koncentracím v některých částech brambory, takže pokud jsou zkonsumovány, mohou způsobit zdravotní problémy (Maga, 1994). Glykosidy se podílejí na chuti brambor a to tak, že zdrsňují jejich chuť (Rybáček a kol., 1988). Mezi vedlejší glykolalkaloidy, které jsou obsaženy v bramborách, patří α a β solamarin, demissidin a 5β – solanidan – 3 – α - ol. U lidí, kteří konzumovali brambory s vysokým obsahem glykolalkaloidů, došlo k otravám, přičemž jejich symptomy zahrnovaly gastrointestinální a neurologické poruchy (Maga, 1994).

3.1.3 Potravinářské využití bramborových hlíz

V České republice se podle potravinářského využití brambory rozdělují na (Vokál a kol., 2013):

- Konzumní rané
- Konzumní ostatní
- Konzumní z ekologických hospodářství
- Pro výrobu škrobu
- Pro produkci potravinářských výrobků

V současné době mají největší podíl brambory pěstované ke konzumním účelům (asi 78 %), z toho 22 % brambory pro produkci potravinářské výrobky (Vokál a kol., 2013). Základním požadavkem je maximální využití sklizených hlíz (Rybáček a kol., 1988).

Podle vyhlášky č. 157 / 2003 Sb. se výrobky z brambor člení na skupiny:

- Brambory konzumní syrové loupané
- Brambory konzumní loupané předvařené, vařené nebo jinak konzervované
- Brambory konzumní sušené
- Bramborová mouka
- Bramborová kaše sušená
- Bramborové lupínky smažené
- Bramborové hranolky před smažené
- Bramborové plátky před smažené*

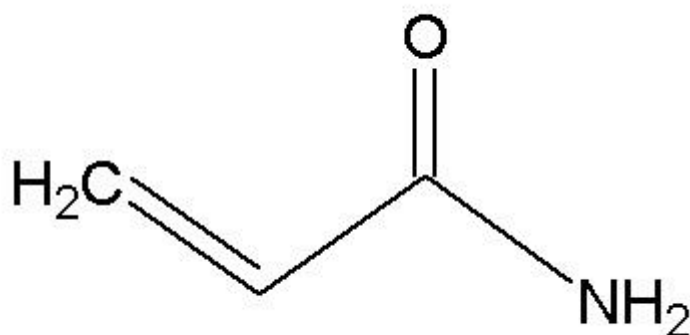
- Bramborové krokety předsmažené*
- Bramborová kaše vařená

* připouští se název dle dalších tvarů

Smažené výrobky jsou takové, které se smaží na oleji nebo tuku. Množství vody ve výrobcích se řídí podle zpracování. U hranolků se sníží obsah vody přibližně o 20 %, u lupínků klesne až na 2 - 3 % (Rybáček a kol., 1988). Základním požadavkem na odrůdu je úroveň hladiny redukujících cukrů, obsah sušiny, obsah škrobu, klíčení ve skladu (délka dormance) a skladovatelnost. V poslední době se sleduje i obsah volné aminokyseliny asparaginu, jenž patří s redukujícími cukry mezi prekurzory AA (Vokál a kol., 2013).

3.2 Akrylamid

3.2.1 Akrylamid obecně



Obrázek 1 Strukturální vzorec akrylamidu

Akrylamid (AA) je malá organická sloučenina (obr. 1) s vysokou rozpustností ve vodě a je mírně reaktivní s ostatními organickými molekulami s vazbou jak na dusík, tak i na kyslík (Bethke et Bussan, 2013). Je to pevná krystalická látka, bezbarvá, bez zápachu, s nízkou molekulární hmotností (Riboldi et al, 2014), jeho systematický název zní prop - 2 - enamid (Mlčoch, 2011). AA je v chemickém průmyslu používán od roku 1950 jako meziproduct při výrobě polyakrylamidových polymerů z důvodu zlepšení přilnavosti a zesílení polymerů. Polymerizovaný AA je široce používán jako flokulační činidlo v čištění odpadních vod nebo

například v papírenské a textilní výrobě. Rozšířená je rovněž jeho aplikace jako činidlo v cementové kaši při stavbě základů přehrad, kanalizací a tunelů, nebo také v kosmetice a v elektroforézních gelech (Vinci et al., 2012).

Nebezpečí pro zdraví člověka, spojená s manipulací a dýcháním akrylamidových monomerů, byla poprvé identifikována v šedesátých letech minulého století. Chronická expozice vysokým množstvím AA monomeru prokázala, že má za následek neurotoxické účinky, kdy u jedinců, kteří s ním byli neustále ve styku, docházelo ke svalové slabosti, ztrátě citlivosti či chybějícím reflexům (Bethke et Bussan, 2013).

V roce 2002 Švédská národní potravinářská správa poprvé zaznamenala přítomnost AA v potravinách. Na základě tohoto zjištění zhodnotilo několik epidemiologických studií jeho potenciální souvislost s rakovinou různých orgánů, jako například pohlavních orgánů, gastrointestinálního traktu, ledvin, plic a mozku (Virk-Baker et al., 2014). AA vyvolal velký veřejný rozruch v souvislosti s otázkami bezpečnosti z důvodu jeho neurotoxicity, genotoxicity a jeho potenciálně karcinogenních účinků. Šlo o potraviny bohaté na sacharidy, které prošly úpravami při vysoké teplotě (Zhu et al., 2016). Zjistilo se, že AA není obsažen v potravinách, které předtím nebyly tepelně upraveny, proto byla za důvod vzniku AA považována právě tepelná úprava (Pedreschi et al., 2006). Tato zjištění byla potvrzena jinými výzkumnými skupinami a od té doby vznikla snaha co nejvíce AA porozumět, pokud jde o mechanismus jeho vzniku v potravinách, rizika spojená se spotřebiteli a možné strategie pro snížení jeho obsahu (Vinci et al., 2012).

Tabulka 5 Potraviny s nejčastějším výskytem akrylamidu (převzato z: Vokál a kol., 2013)

Potravinové výrobky	Koncentrace akrylamidu ($\mu\text{g} / \text{kg}$)	
	střední hodnota	maximální hodnota
Cereálie a cereální výrobky	343	7834
Chléb a rohlíky	446	3436
Bramborová kaše	16	69
Pečené brambory	169	1270
Bramborové lupínky	752	4080
Bramborové hranolky	334	5312
Bramborové krokety	110	750
Káva (mletá, instantní)	288	1291
Kávové extrakty	1100	4948
Zelený čaj	306	660
Zelenina	17	202
Dětská výživa (piškoty, suchary)	181	1217

AA je vedlejším produktem smažení vznikající z redukcí cukrů (glukóza a fruktóza) reagujících s aminokyselinou (asparagin) v průběhu Maillardovy reakce, což je reakce zodpovědná za hnědnutí potravin při smažení, vaření a pražení. Obsah AA ve smažených potravinách je tedy ovlivněn takovými faktory, jako je délka smažení, teplota smažení, vlhkost a množství redukcí cukrů a asparaginu v syrových potravinách (Virk-Baker et al, 2013). Publikované údaje ukazují, že ke vzniku AA je potřeba nejméně 100 °C (Pedreschi et al., 2006). U brambor může být jeho hladina ovlivněna odrůdou, používáním hnojiv nebo skladovací teplotou (Virk-Baker et al, 2014). Například skladování brambor při teplotě -2 °C přispívalo ke zvýšenému obsahu redukcí cukrů oproti skladování v teplotě 20°C (Biedermann-Brem et al., 2003).

3.2.2 Prekurzory akrylamidu

Cukry jsou prekurzory (látky, které se zúčastní chemické reakce, při které vzniká jiná sloučenina) některých těkavých sloučenin, které z nich vznikají buď varem, popř. jinou tepelnou úpravou brambor. Koncentrace vytvořených sloučenin je závislá na druhu cukru, jeho koncentraci a teplotě. Vedle tří hlavních cukrů, mezi které patří glukóza, fruktóza a disacharid sacharóza, byly v bramborách prokázány i jiné monosacharidy, jako je manóza, xylóza, trisacharid rafinóza apod. (Čepl a kol., 2012).

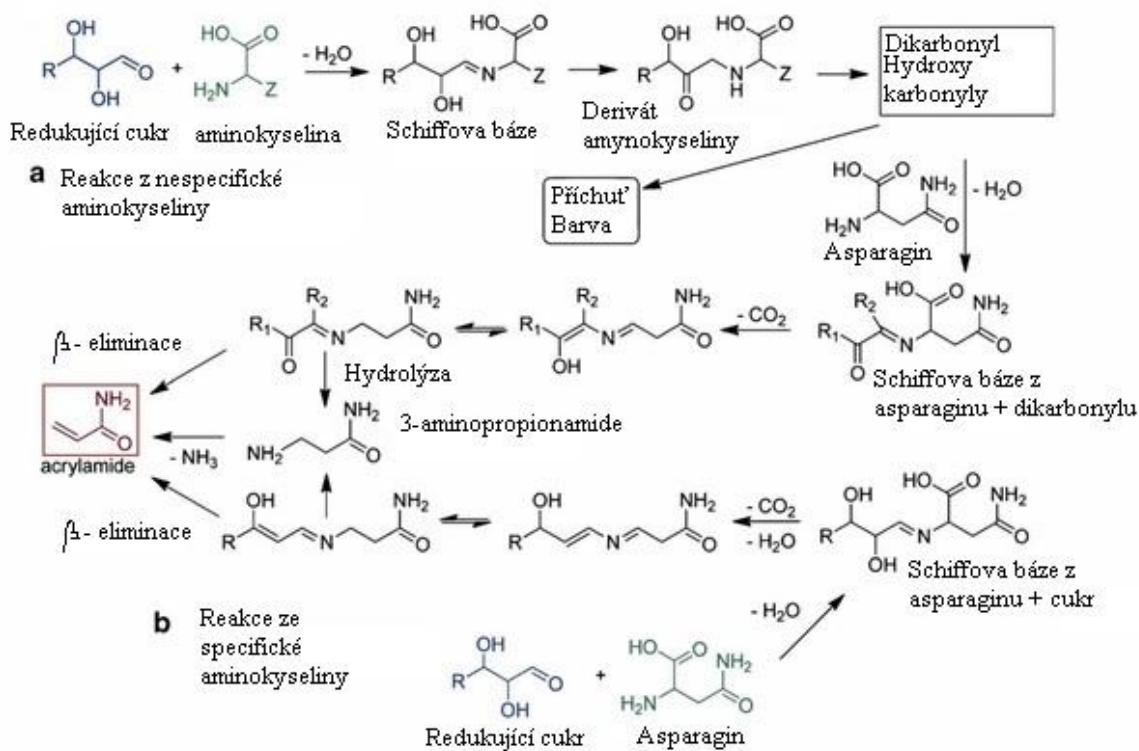
AA vzniká z interakce mezi redukujícími cukry a asparaginem při zvýšených teplotách, nebo z redukujících cukrů a jiných aminokyselin, které mohou produkovat kyselinu akrylovou, jakými jsou například beta alanin, kyselina asparagová, karnosin, cystein a serin. Vzhledem k přítomnosti redukujících cukrů a aminokyselin v potravinách, může být tvorba AA sledována dvojitým způsobem a to buď, obecně, vznikem z reakce různých aminokyselin nebo naopak vznikem z konkrétní aminokyseliny (např. asparagin) (Nguyen et al., 2016). Právě asparagin je nejvíce zastoupenou volnou aminokyselinou v bramborách. Ve své molekule obsahuje chirální uhlíkový atom, díky kterému má asparagin dvě různé konfigurace. Konkrétně jde o konfigurace L a D (Pacák, 1997). Obsah asparaginu v hlízách závisí na faktorech, jakými jsou odrůda, lokalita pěstování, hnojení, skladování a jejich zpracování. Nejvyšší obsah v hlízách bramboru byl naměřen 93,9 mg / 100g v čerstvé hmotě (Pedreschi et al., 2006).

3.2.3 Způsoby vzniku akrylamidu

Brzy po objevení AA v tepelně upravených jídlech vědci oznámili, že AA vzniká v průběhu Maillardovy reakce. Tato neenzymatická, hnědnoucí reakce ovlivňuje mnoho aspektů kvality potravin jako například příchut', barvu a aroma (Mottram et al., 2002). Asparagin může uvolnit AA v tepelně iniciované dekarboxylaci a deaminaci, ale v přítomnosti redukujících cukrů je vznik AA z asparaginu výrazně vyšší (Vinci et al., 2012). Hlavním mechanismem vzniku AA je reakce karbonylové sloučeniny (přednostně alfa - hydroxykarbonyl) s asparaginem, což má za následek konjugaci N - glykosylu a vznik dekarboxylované Schiffovy báze (po dehydrataci za vysokých teplot). Tato reakce zahrnuje několik za sebou jdoucích reakcí (obr. 2), které mají vysoce reaktivní meziprodukty, což vede ke vzniku AA v potravinách (Mottram et al., 2002).

Řetězec těchto reakcí:

- Dekarboxylace Schiffovy báze může vést po rozkladu přímo ke vzniku AA a iminu nebo po hydrolýze na 3 - aminopropanol a karbonylové sloučeniny. V tomto ohledu je třeba poznamenat, že se 3 - aminopropanol může vyskytovat v bramborách jako takových.
- Následná eliminace amoniaku z 3 - aminopropanolu dává vzniku AA.
- Případně, hydrolýza iminu, dávající vznik Streckerově aldehydu, může vést ke vzniku AA, i když v malém množství (Vinci et al. 2012).



Obr. 2 Reakce vedoucí ke vzniku akrylamidu (převzato a upraveno z: Bethke a Bussan, 2013)

Je pravděpodobné, že se na vzniku AA podílí i jiné složky než redukující cukry a asparagin, které určují jeho finální obsah. Jednou skupinou z těchto látek, které mohou hrát roli v tvorbě AA, jsou antioxidanty. Byla zjištěna silná závislost mezi celkovou kapacitou antioxidantů a obsahem AA v bramborových lupínkách. V experimentech porovnávajících vytvořený AA v ohřátém, usušeném bramborovém prášku z bramborových hlíz několika odrůd, byl spojen vysoký počet fenolických sloučenin s nižším obsahem vzniklého AA. Jiná data ukazují, že antioxidanty nemusí mít žádný vliv na vznik AA nebo jeho obsah zvyšují.

Například žádný z šesti fenolických antioxidantů, včetně kyseliny ferulové, katechinu a epikatechinu, se stejnými koncentracemi glukózy a asparaginu, v uměle vytvořeném modelovém systému nesnižují obsah AA (Bethke et Bussan, 2013).

3.2.4 Obsah akrylamidu v brambůrkách

Od roku 2002 do roku 2011 proběhla statistická kontrola obsahu AA v brambůrkách. Za necelých 10 let bylo dodáno 40455 vzorků z více než 20 Evropských zemí, což z této statistiky dělá největší evropskou databázi, co se týče obsahu AA. Tyto údaje byly získány z většiny z čerstvých a nakrájených brambor. Byla použita analytická metoda LC - MS / MS (viz. kapitola níže) (Powers et al., 2013).

Tabulka 6 Počet pozorování, průměr (ng / g), minimální a maximální hodnoty AA ve vzorcích brambůrků od roku 2002 do roku 2011 (převzato z: Powers et al., 2013)

Rok	Počet pozorování	Průměr	Minimum	Maximum
2002	42	763	70	2500
2003	136	573	160	2080
2004	321	624	130	4450
2005	230	621	100	1780
2006	1151	577	22	2830
2007	3206	570	30	5900
2008	5692	472	30	4300
2009	6493	500	40	6000
2010	10971	435	22	12000
2011	12213	358	17	3090

Tabulka 6 ukazuje, že každým rokem přibývá počet měřených vzorků a je zřejmé, že obsah AA se každým rokem snižuje. Od roku 2002, kdy průměrný obsah AA byl 763 ng / g se průměrná hodnota dostala až na 358 ng / g, která byla naměřena v roce 2011. Patrně nesrovnalosti jsou od roku 2002 – 2005, kdy není zřetelný každoročně menší průměr AA, ale

to může být způsobeno nedostatkem analyzovaných vzorků. Powers a kolektiv (2013) uvádějí, že nejnižší hodnoty AA byly naměřeny v červenci, kdy začínou být ve výrobě používány nové sezónní brambory ve většině evropských zemí. Poslední dva roky (2010 - 2011) ukázaly jasně nejlepší výsledky v redukování AA (Powers et al., 2013).

3.3 Analytické metody detekce akrylamidu

Přesná kvantifikace akrylamidu obsaženém v jídle, použitím moderní technologie jako je chromatografie a elektroforéza, potřebuje kompletní a laboratorní izolaci vzorku a je potřeba oddělit látky, které mohou interferovat s výsledným vzorkem. Kromě toho, procedura přípravy vzorku často zahrnuje jak extrakci matrice DNA ze vzorku jídla, tak derivatizaci (cílená chemická reakce pro určitý typ sloučenin), která zlepší přesnost analýzy. Vzhledem ke komplexní povaze potravinových matic je pro analytika izolace jednotlivých látek mimořádně obtížná (Oracz et al., 2011).

Standardní metody pro zjišťování AA jsou kapalinová chromatografie (LC) a vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC) v kombinaci s hmotnostní spektrometrií (MS) (Hu et al., 2015). Kapalinová chromatografie je běžně užívána k separaci a kvantifikaci sloučenin, které jsou dobře rozpustné ve vodě a jsou stálé, proto někdy způsobují problémy v analytické plynové chromatografii (Oracz et al., 2011). Zkoušky odborné způsobilosti (n=10) pořádané Performance Food Analysis Assessment Scheme (FAPAS) odhalily, že LC – MS / MS je spolehlivá metoda a má širokou aplikaci. Zjistila mimo jiné, že se AA nachází v 349 potravinách kolujících na čínském trhu (Hu et al., 2015). Některá nová řešení, jakými jsou menší velikosti částic kolony matrice a konstrukce chromatografů, které mohou pracovat pod mnohem větším tlakem, v porovnání s tradičním HPLC systémem, vedla k vývoji ultra - účinné kapalinové chromatografie (UPLC) (Oracz et al., 2011). UPLC umožňuje lepší oddělení AA v maticích potravin v kratším retenčním čase a vyšší citlivost (Hu et al., 2015). UPLC je také vhodná pro vícenásobnou rutinní analýzu (Oracz et al., 2011).

V poslední době se rozšířila UPLC – MS / MS, která úspěšně potvrzuje přítomnost AA a aplikuje současné metody stanovení AA, jeho prekurzorů a meziproductů během Maillardovy reakce. Byly vyvinuty dvě metody plynové chromatografie (GC) a to podle použití derivatizace, které ukazují uspokojivou shodu s metodou LC - MS na detekci AA v různých potravinách (Hu et al., 2015). Nejpopulárnější metoda derivatizace AA je jeho

bromace před analýzou. Tato technika je vysoce selektivní a zlepšuje přesnost testů, ale také účinně kompenzuje obtížný a časově náročný proces derivatizace (Oracz et al., 2011). Derivatizovaná plynová chromatografie spojená s metodou hmotnostní spektrometrie (GC - MS) byla díky své vysoké citlivosti navržena pro detekci stopového množství AA v potravinách na bázi obilovin (Hu et al., 2015).

Další skupina separačních technik v kvantifikaci AA je založena na elektroforéze. Kapilární elektroforéza (CE) je relativně nová a stále se vyvíjející metoda používaná v testech potravin obsahujících AA. Je to univerzální a rychlá technika umožňující rozlišení směsí látek a zároveň rozlišuje polární a nepolární sloučeniny (Oracz et al., 2011).

Většina organizací a vlád určilo nebo doporučilo uvedené metody jako standardní metody pro detekci AA v tepelně upravených jídlech. V posledním desetiletí byla aplikace standardních nebo konvenčních metod v detekci AA přezkoumána mnoha vědci. Některé studie využívaly rychlé detekční metody, které postrádaly systematické a komplexní analýzy. Nové způsoby pro analýzu AA, které zahrnují rychlé detekční metody, jsou proto diskutovány na základě nových poznatků (Hu et al., 2015).

3.3.1 Rychlé detekční metody

Pro stanovení obsahu AA lze dále použít rychlé detekční metody, které jsou založeny hlavně na biochemických vlastnostech AA, biomateriálech s vysokou a specifickou interakcí s AA nebo změnách fyzikálně - chemických vlastností tepelně upravených jídel v souvislosti s AA. Patří mezi ně elektrochemické biosenzory, ELISA, fluorescence a počítačová analýza (Hu et al., 2015).

3.3.1.1 Metody indikující barvu

Vznik AA je spojen s barevnou změnou, které se říká hnědnoucí proces v Maillardově reakci, spojené s redukcí cukry a asparaginem. Některé studie ukázaly spojitost mezi úrovní hnědnutí a koncentrací AA v různých produktech. Šlo o produkty jako například bramborové lupínky, káva a smažené hranolky. Nedávný výzkum zaměřený na měření barvy potravin si osvojil tzv. *L, a, b* systém, jakýsi mezinárodní standard pro měření barvy, kde *L* je jas nebo světlost složky, *a* je od zelené barvy po červenou a *b* je od modré barvy po žlutou. *A* a *b* jsou dvě chromatické komponenty (Bethke et Bussan, 2013). Hu a kol. (2015) oznámil

vztah mezi červeným parametrem (a) a obsahem AA během zahřívání v zelené kávě, pšeničné mouce a bramborových lupínkách. Proto může být červený parametr (a) použit jako indikátor posouzení obsahu AA v tepelně upravených výrobcích. Bohužel, k získání přesných dat se nedá použít pouze červený parametr (a) kvůli nerovnému povrchu vzorků. Z toho důvodu byla navržena počítačová analýza, která řeší tyto problémy s klasifikací a měřením. Tato počítačová metoda používá analýzu obrázků použitím různých algoritmů a korelací mezi úrovní hnědnutí a koncentrací AA v průběhu Maillardovy reakce (Hu et al., 2015). Blízký vztah mezi barvou výrobku a obsahem AA byl pozorován pouze tehdy, pokud vzorky obsahovaly stejný obsah vody. Je důležité zmínit, že při nízkém obsahu vody, reakce tvořící AA, jsou více citlivé na teplotu než hnědnoucí reakce. Z tohoto důvodu dochází při vyšších teplotách nepřímo úměrně ke zvýšení obsahu AA vůči hnědnutí, které se zde vyskytuje (Bethke et Bussan, 2013).

Závěrem lze konstatovat, že detekce AA na základě hnědnutí výrobků je snadno ovladatelná a je nezávislá na složitých nástrojích. Příprava a hodnocení vzorků, díky pořizování fotografií výrobků, během tepelných procesů může být monitorována bez jejich předpřípravy. Kromě toho, optimalizací počtu kamer a intervalu detekce, může tato metoda dosáhnout cíle online a efektivně. Mohou být nastaveny různé prahové hodnoty, v závislosti na různých potravinách. Tato metoda, založená na hnědnutí, je citlivá na mnoho faktorů, jakými jsou například intenzita světla, tvar a plochost vzorků, ohnisková vzdálenost a další parametry fotografování. Nicméně, v porovnání s jinými novými metodami, tato metoda může být vhodnější pro efektivní předběžné sledování tvorby AA během potravinových procesů (Hu et al., 2015).

3.3.1.2 Enzymatická metoda ELISA

ELISA je rychlá metoda založená na rozpoznání navázání antigenu s protilátkou, která má vysokou specifitu a afinitu (Hu et al., 2015). Tato metoda dokáže změřit rozsah 10 - 100000 ng v jednom mililitru (Hu et al., 2014). ELISA má mnoho výhod. Patří mezi ně dobrá citlivost, selektivita, vysoká propustnost a její schopnost propojení s jinými technologiemi, jako například rozšíření biotin - avidin. Proto ELISA přitahuje stále větší pozornost v detekci AA v potravinách. V této nové oblasti je důležité vyvíjení vhodných antigenů, které si opatří protilátky s vysokou afinitou a zesílí signál. AA chybí silné epitopové skupiny a nevykazuje

žádnou imunogenicitu kvůli své nízké molekulární hmotnosti. Z tohoto důvodu by měl být kompletní antigen syntetizován nejprve pomocí konjugace AA s některými imunostimulačními bílkovinami. Poté může být protilátka AA vyrobena pomocí imunitní reakce, kterou stimuluje komplex antigenu. Z tohoto hlediska byly popsány tři kroky. První krok je použití glutaraldehydu ke konjugaci. Zadruhé, při tvorbě Schiffovy báze se aldehydové skupiny chovají jako spojovací most pro amino skupiny bílkovin a AA. A zatřetí, využitím této metody se spojí AA s albuminem hovězího séra, kde se uměle syntetizuje antigen (Hu et al., 2015). Preston a kol. (2008) vyprodukoval polyklonální protilátku s použitím kyseliny 3 - merkaptobenzoové (3 - MBA), která derivuje AA a v metodě ELISA pomáhá k jeho detekci (Hu et al., 2014). Tato metoda je jednoduchá a pohodlná, ale může mít za následek nízkou účinnost a dokonce může způsobit ztrátu dalších antigenních epitopů (Hu et al., 2015).

3.4 Biomarkery akrylamidu

Epidemiologické studie používají dotazníky o potravinách, díky kterým se přibližně dá zjistit příjem a působení AA. Tento nepřímý postup nemusí brát v úvahu rozdíly v obsahu AA mezi výrobky stejného typu. Taktéž nebere v potaz rozdíly mezi domácí přípravou a osobní preferencí, což může mít za následek vyšší obsah AA v závislosti na tom, jak jsou tyto potraviny připraveny (Bethke et Bussan, 2013). Hemoglobinové addukty AA a glycidamidu byly úspěšně vyvinuty jako biomarkery expozice AA a používají se ke zkoumání účinků na lidské a zvířecí zdraví. Vyhodnocení expozice AA s využitím těchto biomarkerů poskytuje komplexní informace o množství AA, který vstoupil do lidského těla v předchozích dvou až třech měsících. To i v případě, že skutečná expozice už nějakou dobu neprobíhala. Sice nelze stanovit množství, ale díky biomarkerům se dá zjistit zdroj expozice AA (Vesper et al., 2007). Bethke a Bussan (2013) uvádějí, že proběhla studie, která sledovala 374 případů rakoviny prsu a 274 kontrol žen po menopauze a zjistili zvýšený výskyt karcinomu prsu, který byl spojen s vyšší koncentrací AA adduktů. Ženy s vyšší koncentrací AA adduktů hemoglobinu měly 2,7 krát zvýšené riziko vzniku rakoviny prsu v porovnání s ženami, které měly menší koncentraci AA adduktů. To samé se nedá říct o adduktech glycidamidu, protože jeho vyšší koncentrace nezpůsobovaly zvýšení rizika vzniku rakoviny. Z tohoto důvodu lze usuzovat, že AA možná indukuje rakovinu negenotoxickým mechanismem (Bethke et Bussan, 2013). O tom, že je AA obsažen také v cigaretovém kouři už se ví poměrně dlouho. Proto jsou

prováděny studie, které sledují posuzování různých zdrojů expozice AA na základě již zmiňovaných biomarkerů (Vesper et al., 2007).

Biomarkery AA, které jsou přijímány potravou, byly použity v pilotní studii, aby se prozkoumala možná souvislost mezi chronickým požíváním bramborových lupínků, obsahujících AA, a oxidativním stresem působícím na lymfocyty. Ve čtyřech týdnech byly denně podávány dobrovolníkům bramborové lupínky obsahující AA. Zvýšený obsah hemoglobinových adduktů byl zjištěn u všech dobrovolníků. Autoři experimentu dospěli k závěru, že chronický příjem AA, obsaženém v potravinách může vyvolat oxidativní stres skrz aktivaci leukocytů a zvýšenou produkci reaktivních kyslíkových radikálů. Také naznačili, že dlouhodobá konzumace vysokých dávek AA v jídle může způsobit chronický zánět a může přispívat k rozvoji aterosklerózy, stejně jako může zvýšit riziko vzniku ischemické choroby srdeční (Bethke et Bussan, 2013).

3.5 Karcinogenní účinky AA

AA je reprodukční toxin, který účinkuje převážně při expozici u mužů. Tento toxin se do těla dostává právě konzumací potravin, bohatých na sacharidy, upravených při vysokých teplotách nebo v prostředí průmyslu, kde je AA používán (Katen a Roman, 2015). Podle údajů získaných ze studií na zvířatech se AA rychle vstřebává do pokožky a do sliznice při vdechování. Přijme-li se AA orální cestou, je dobře absorbován a široce distribuován do tkání, mezi které patří i plod. Nicméně, studie ukazují, že karcinogenita AA může být modulována v hormonálním systému (Vinci et al, 2012). Akutní expozice vysokým dávkám AA u myši a potkanů způsobuje snížení plodnosti u samců, pokud jde o snížení počtu spermií a jejich kvality, snížení velikosti vrhu, zvýšení zlomů vláken DNA a převládající úmrtnost potomstva (Katen a Roman, 2015). Z tohoto důvodu mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny klasifikovala AA jako potenciální lidský karcinogen a byl zařazen do skupiny 2A (Watzek et al., 2013).

Cyp2e1 (Cytochrom P450) je enzym, který se podílí na metabolismu AA na glycidamid, reaktivnější sloučeninu, která je schopná vázat se kovalentně na DNA (Katen a Roman, 2015). Rozdíly v expozici glycidamidu můžou mít za následek polymorfismy Cyp2e1, které vedou k tomu, že tento enzym může mít rozdílnou katalytickou rychlost. Kromě toho, sloučeniny, které mohou potlačit aktivitu Cyp2e1, jako je například allyl a

diallyl sulfid, mohou potlačit tvorbu glycidamidu u lidí. Diallyl sulfid, který je obsažen v česneku, inhibuje Cyp2e1 a potlačuje metabolismus AA na glycidamid v krysích játrech (Virk-Baker et al., 2014). Chronická expozice u samců myší, v dávkách podobných u lidí, prokázala, že glycidamidové addukty se vyskytují v zárodečných buňkách. Další zkoumání ukázalo, že se přítomnost glycidamidu projeví na spermiích v nadvarleti, přičemž Cyp2e1 nejvíce působí v těle nadvarlete. Zárodečné buňky v pozdější fázi spermatogeneze a dozrávající spermie mají deficit opravy DNA a toto poškození setrvává až do vyzrání spermií a tím se snižuje schopnost oplodnění. Tento efekt má důsledky pro další generace. Genetická poškození, která jsou přenášena na potomstvo, mohou vést ke genetické predispozici k onemocnění, jako je rakovina (Katen a Roman, 2015). Rice (2005) uvádí, že po provedení pokusů na myších, u nich byl zjištěn zvýšený počet plicních adenomů.

Mezi roky 1991 a 2000 byly analyzovány spojitosti mezi rizikem vzniku rakoviny a příjmem smažených a pečených brambor. Pelucchi a kol. (2003) uvádí, že byly sledovány rakoviny dutiny ústní a hltanu, jícnu, hrtanu, prsou, vaječnicků, tlustého střeva a konečníku. Všechny tyto případy rakoviny byly histologicky potvrzeny. Tato vyšetření byla provedena propojenou sítí nemocnic ve Švýcarsku a Itálii a nebyly zjištěny žádné důkazy o interakci s věkem, pohlavím, alkoholem či používáním tabáku. Všem pacientům bylo méně než 80 let. Výsledek této studie zaznamenal korelaci okolo 0,51, což znamená, že konzumace smažených či pečených brambor a riziko rakoviny nemá dostatečný vztah se vznikem výše uvedených druhů rakovin (Pelucchi a kol., 2003). Testy, týkající se konzumace AA z potravin, ukázaly variabilní výsledky. Mohlo to být z důvodu neadekvátních nástrojů nebo z důvodu nedostatečné účinnosti testujících metod (Riboldi et al., 2014).

Podle široké databáze příjmu AA, prezentované na 72. zasedání JECFA (Joint FAO / WHO Expert Committee on Food Additives), je denní příjem AA v západních zemích v rozmezí 0,4 - 0,6 mikrogramů na kilogram hmotnosti. Evropský úřad pro bezpečnost potravin v nedávné době vypočítal průměrný příjem AA u dospělých lidí v Evropě na 0,31 - 1,1 mikrogramu na kilogram hmotnosti (Watzek et al., 2013).

3.6. Redukce akrylamidu

Bramborové výrobky jsou silně náchylné k tvorbě AA. Na jedné straně je to obsah prekurzorů a na druhé straně jsou to použité tradiční teplotní podmínky pečení (teploty >120

°C) (Vinci et al., 2012; Singh, Kaur, 2016). Snížení obsahu AA v upravených bramborových výrobcích se stalo úkolem pro bramborový průmysl v mnoha státech. Dalo by se říci, že redukce akrylamidu vyžaduje komplexní dohled od farmy až po talíř konzumenta (Bethe et Bussan, 2013). Všechny potenciální strategie pro prevenci tvorby AA mohou být rozděleny na několik způsobů. Jeden z nich je odstranění prekurzorů a další je ovlivnění Maillardovy reakce. Maillardova reakce je bohužel nezbytná pro požadovanou a charakteristickou chuť výrobku, proto se většina vědců snaží zaměřit se na eliminaci prekurzorů AA bez ovlivnění konečné specifikace a kvality produktu (Vinci et al., 2012).

3.6.1 Možné strategie pro snížení obsahu akrylamidu

3.6.1.1 Bramborový kultivar

Složení bramborových hlíz je popsáno v kapitole výše. Důležitou roli hraje koncentrace asparaginu, který je relativně v nadbytku v porovnání s redukujícími cukry (Vokál a kol., 2013). Díky tomu se dá říci, že asparagin představuje omezující faktor v tvorbě AA a do značné míry určuje vznik AA v bramborových výrobcích (Bethke et Bussan, 2013; Vinci et al., 2012; Singh, Kaur, 2016). Některé odrůdy jsou na výrobu hranolků vhodnější, než ostatní. Pro jejich výrobu jsou preferovány odrůdy, které mají velkou, dlouhou, oválnou hlízu obsahují poměrně hodně sušiny a malý obsah redukujících cukrů. Co se týče výroby lupínků, jsou preferovány kultivary s ještě nižším obsahem redukujících cukrů, vyšším obsahem sušiny a středně velkými hlízami (Torres a Parreño, 2009). Sklizeň nezralých a tedy menších hlíz souvisí s vyšším obsahem redukujících cukrů a tím i se zvýšeným rizikem vzniku AA u konečného smažení (De Wilde, 2006).

3.6.1.2 Vlastnosti půd a hnojení

Typ půdy může mít vliv na specifickou hmotnost hlíz díky své schopnosti zadržovat vodu, odvodňování, provzdušnění, strukturu a teplotě (Torres a Parreño, 2009). Nicméně byly zjištěny pouze malé rozdíly v tvorbě AA u 16 různých odrůd, které byly pěstovány buď v hlinitopísčité, nebo jílovité půdě (De Wilde et al., 2006). Whittaker et al. (2010) dospěli k závěru, že lokalita pěstování měla významný vliv na minerální složení hlíz. Snížení obsahu redukujících cukrů bylo v negativní korelaci s draslíkem a vápníkem, ale v pozitivní korelaci s obsahem zinku a mědi. Studie, která zkoumala hnojení dusíkem, zaznamenala dopad na snížení koncentrací asparaginu a redukujících cukrů. Snížení dávek dusíkatých hnojiv

znamenal zvýšení obsahu redukujících cukrů, což vedlo ke zvýšení tvorby AA (De Wilde et al., 2006). Mírné hnojení dusíkem v kombinaci s dobrou saturací draslíkem může mít za následek nízké hladiny volného asparaginu a redukujících cukrů v hlízách (Vinci et al., 2012). Z důvodu získání hlíz méně náchylným k tvorbě AA by měla být hnojiva správně kombinována (De Wilde et al., 2006). Půdní kompozice a hnojení má vliv na minerální složení hlíz. Studie ukazují, že minerální složení při růstu hlízy se podílí na tvorbě prekurzorů AA (Singh, Kaur, 2016). Zároveň je potřeba zohlednit možné negativní dopady na životní prostředí a právní limity hnojení (De Wilde et al., 2006).

3.6.1.3 Klimatické podmínky a zralost hlíz

Klimatické podmínky během vývoje hlíz a v blízkosti období sklizně mohou ovlivnit náchylnost k tvorbě AA v bramborách. Po dobu 9 měsíců skladování byl zkoumán vliv odrůd pro výrobu hranolek (Bintje a Ramos) a lupínků (Lady Rosetta a Saturna) na chemickém složení brambor. Výsledky ukázaly, že proměnlivé klimatické podmínky mají významný vliv na obsah redukujících cukrů, sušiny a volných aminokyselin v hlízách (De Meulenaer et al., 2008). Byl zaznamenán nižší obsah cukru po mimořádně horkých létech, což mělo za následek pokles tvorby AA ve smažených bramborách. Po celou dobu zrání hlíz jsou živiny dopravovány z listů do hlíz. Díky tomu, že natě dozrávají dříve než hlízy, je před sklizní pozorován pokles hladiny cukrů v hlízách, protože jim listy již nedodávají živiny (Torres a Parreño, 2009). Tento pokles koncentrace cukrů je tedy signálem chemické zralosti hlíz a naznačuje, že může proběhnout sklizeň, při které bude v hlízách pravděpodobně ideální obsah redukujících cukrů (Singh, Kaur, 2016). Sklizeň nezralých a tedy menších hlíz souvisí s vyšším obsahem redukujících cukrů v hlízách, a tudíž zvyšuje tvorbu AA u konečného smažení (De Wilde et al., 2006). Zralost hlízy při sklizni ovlivňuje nejen hladinu cukru v hlízách, ale také ovlivňuje enzymatický systém, který je zodpovědný za sládnutí brambor v chladu. Tento agronomický aspekt je však závislý na skladování brambor (Vinci et al., 2012).

3.6.1.4 Skladování brambor

Obvykle jsou po sklizni hlízy uloženy až několik měsíců ve skladech, aby byla zajištěna dodávka brambor po celý rok. Nicméně, některé skladovací podmínky mohou způsobit, že brambory v sobě hromadí nepřijatelné množství cukrů, i když byly tyto hladiny přijatelné při sklizni (Singh, Kaur, 2016). Probíhá zde stárnutí sládnutí, v kombinaci s

nízkými teplotami jsou to hlavní příčiny akumulace cukru během skladování. Nízká teplota skladování (<8 °C) je však výhodná, protože zamezí klíčení hlíz a kromě toho jsou hlízy méně náchylné k onemocnění (Amrein et al., 2004). Bohužel tato alternativa má však zásadní vliv na akumulaci redukujících cukrů a následně tvorbu AA ve smažených bramborových výrobcích. Obsah asparaginu se naštěstí nezdá být citlivý na různé skladovací teploty ani při delší době skladování. Obsah redukujících cukrů není významně ovlivněn, pokud jsou brambory skladovány při 8 °C (De Wilde et al., 2006). Proto by měly být bramborové hlízy skladovány ideálně při teplotě okolo 8 °C (Kumar et al., 2004).

3.6.1.5 Kontrola kvality přijímaných brambor

Jak je zřejmé, výše uvedené agronomické aspekty nevyhnutelně vedou k větší variabilitě surového materiálu mezi jednotlivými obdobími. A to dokonce i v rámci stejné skladovací sezóny. Redukující cukry jsou důležitým parametrem při kontrole kvality brambor při jejich zpracování s ohledem nejen na tvorbu AA (De Wilde et al., 2006), ale také na finální barvu smažených bramborových výrobků (Pedreschi et al., 2008).

Současná kritéria pro kontrolu kvality před přijetím brambor pro výrobu jsou: (převzato z: Vinci et al., 2012)

- Třídění podle velikosti (menší hlízy mají tendenci hromadit více redukujících cukrů)
- Stanovení sušiny
- Vyhodnocení barev (test po krátkém smažení, obvykle 180 °C po dobu 3 minut)

Později jsou rozděleny brambory podle barevné specifikace (záleží na zákazníkovi), a poté jsou buď zamítnuty pro zpracování, nebo po vhodných úpravách přijmuty (např. optimalizované blanširovací podmínky) (Vinci et al., 2012). V dnešní době je rozšířena metoda prosvěcování surového materiálu a analýza v počítači, díky které se dá určit obsah redukujících cukrů, díky tomu umožňuje lepší identifikaci brambor náchylných k tvorbě AA (Bethke et Bussan, 2013, Hu et al., 2015). V praxi tato metoda umožňuje minimalizovat riziko vzniku AA v hotových bramborových výrobcích. (Bethke et Bussan, 2013).

3.6.1.6 Krájení

AA vzniká v povrchové vrstvě bramborového výrobku a proto velikost a tvar výrobku (poměr povrchu k objemu) má rovněž vliv na konečný obsah AA. Z toho vyplývá, že tenčí a

menší plátky budou při konečném smažení obsahovat zvýšenou hladinu AA (Matthäus et al., 2004). Kromě toho, obvodové oblasti hlíz mají vyšší obsah redukujících cukrů, proto jsou tyto jemné plátky náchylné k přehřátí při smažení (Vokál a kol., 2013). Z tohoto důvodu by eliminace těchto plátek mohla přispívat ke snížení obsahu AA ve výrobku (Foot et al., 2007).

3.6.1.7 Blanšírování

Blanšírování je důležitou operací v průmyslovém procesu výroby hranolek a její složitost se mezi výrobními linkami může lišit. Během tohoto procesu se inaktivují enzymy a je vytvořena vrstva želatinovaného škrobu, což je látka, která omezuje absorpci oleje a zlepšuje texturu (Moreira et al., 1999). Kromě toho, blanšírování rovněž přispívá k jednotné barvě výrobku po konečném smažení. Během této operace se také vyluhují prekurzory AA, což má za následek snížení celkového obsahu AA v konečném výrobku (Pedreschi et al., 2008). Blanšírovací podmínky (teplota a čas) mohou být pozměňovány, dokud nedojde k optimální extrakci redukujících cukrů. V rámci zachování specifikace produktu se zvyšuje intenzita blanšírování ke konci bramborové sezóny. Je to z důvodu sládnutí hlíz s přibývajícím dobou skladování. Nicméně, extrémní blanšírovací podmínky mohou mít za následek texturovou a nutriční ztrátu, tudíž blanšírování musí probíhat v rámci určitých omezení. Nejvyšší redukce (67 %) byla zaznamenána při teplotě 80 °C a 30 minutách. V blanšírovací vodě došlo k poklesu extrakce cukrů o 10 % (Mestdagh et al., 2008). Na druhé straně, výměna blanšírovací vody s čistou vodou není proveditelná, jak z pohledu životního prostředí, tak i pohledu ekonomického. Pokud jde o obsah AA ve finálním výrobku, v následném kroku se přidává dextróza jako aditivum, což znamená, že záměna blanšírovací vody za čerstvou víceméně ztrácí svůj význam (Vinci et al., 2012).

3.6.1.8 Použití aditiv nebo výrobních pomůcek

V bramborovém průmyslu se používají dvě základní látky. Je to pyrofosforečnan sodný (PFS, E450) a dextróza (glukóza). PFS, který má pH okolo 4,7 se přidává z důvodu, aby se zamezilo hnědnutí blanšírovaných bramborových plátků (Singh, Kaur, 2016). Důvod, proč se přidává dextróza je ten, že přispívá k jednotné a standardizované barvě konečného výrobku. Namočení do dextrózy může způsobit tvorbu AA (Vinci et al., 2012). V USA mají povoleno používání barevných aditiv, mezi které patří například karamel nebo annatto. Oproti tomu, barevná aditiva jsou pro tento druh potravin v Evropě stále zakázána. Byla popsána

další aditiva, která snižují tvorbu AA v potravinách (Singh, Kaur, 2016). Organické kyseliny jsou známé pro jejich zmírňující efekt při nízkém pH, protože způsobují protonaci amino skupin asparaginu. Toto by mohlo zablokovat nukleofilní adici asparaginu s karbonylovou složkou a tím zároveň zabránit vzniku následné Schiffovy báze, což je klíčková reakce v průběhu Maillardovy reakce a tvorbě AA (Vinci et al., 2012).

Mono a divalentní kationty (např. sodné a vápenaté) efektivně redukují tvorbu AA. Bylo popsáno, že tyto ionty mohou interagovat s asparaginem, což také vede k prevenci tvorby Schiffovy báze (Gökmen a Senyuva, 2007). Přidáním vápenatých iontů se naměřilo snížení pH příslušných matric potravin a tím i snížení obsahu AA (Mestdagh et al., 2008).

Volné aminokyseliny jako glycin, cystein a lysin snižují tvorbu AA a to buď tak, že podporují konkurenční reakce, nebo kovalentně váží AA, který je vytvořen prostřednictvím Michaelova typu adičních reakcí, vedoucích k tvorbě aduktů (Friedman, 2003). Přítomnost aminokyselin, jiných než asparaginu, může mít vliv na kinetiku tvorby nebo eliminaci AA (Claeys et al., 2005).

Asparagináza je enzym, který hydrolyzuje asparagin na asparagovou kyselinu a amoniak. Tento enzym může redukovat tvorbu AA v jídle a to díky odstranění prekurzoru asparaginu. Po přidání enzymu do těsta výrobku byl naměřen nižší obsah AA, a to díky tomu, že asparagin je snadno přístupný pro enzym, který ho přemění na kyselinu asparagovou (Pedreschi et al., 2008). Použití asparaginázy na výrobky z brambor, které jsou z tuhých nařezaných plátků, je složitější vzhledem k méně optimálnímu kontaktu mezi enzymem a substrátem (Hendriksen et al. 2009), z tohoto důvodu je před aplikací enzymu zapotřebí nejprve použít blanšírování (Pedreschi et al., 2008).

3.6.1.9 Sušení

Sušení blanšírovaných nebo namáčených bramborových řezů před konečným smažením snižuje vstřebávání tuku a hydrolýzu olejů (Choe a Min, 2007). Kromě toho, snižuje také vznik AA ve smažených hranolkách, díky kratší době smažení, s výsledkem stejné kvality, co se týče barvy a křehkosti produktu (Vinci et al., 2012).

3.6.1.10 Smažení

Další a velmi důležitou metodou úpravy bramborových výrobků je smažení. Tento krok je poslední, ve kterém se tvoří AA. Druh smažení dramaticky ovlivňuje vznik AA v konečných výrobcích (Singh, Kaur, 2016). V tomto kroku probíhá hnědnutí výrobku, tvoří se aroma a mění se textura. To všechno díky probíhající Maillardově reakci. Tvorba AA je přímo úměrná hnědnutí výrobků, přičemž záleží hlavně na podmínkách samotného smažení (zejména čas a teplota) (Mestdagh et al., 2008). Delší čas a zároveň vyšší teploty vedou ke zvýšené tvorbě AA a tmavší barvě hranolek. Na druhé straně, smažení při teplotách, nižších než 140 °C, vede k delší době smažení a zvyšuje absorpci tuku. Proto by měly být kontrolovány teplota a čas smažení, aby nevznikalo velké množství AA. To znamená, že by teplota neměla přesáhnout 170 °C, a zároveň by se teplota měla na konci procesu snížit (Singh, Kaur, 2016). Gertz a Klostermann (2002) provedli studii, která zkoumala druh použitého oleje v hranolkách. V průmyslu je přednostně používán palmový olej, protože má nízkou nákupní cenu a má zároveň dobrou tepelnou stabilitu. Potraviny upravované na tomto oleji mají vynikající senzorycké vlastnosti. Některé studie ukázaly, že palmový olej, v porovnání s řepkovým a slunečnicovým olejem, způsobuje tvorbu většího obsahu AA. To samé se ukázalo v porovnání olivového oleje s kukuřičným (Gertz a Klostermann, 2002).

V dnešní době se používají dva druhy smažení, a to tradiční a vakuové. Smažení se provádí tak, že se hranolky ponoří do horkého oleje a tím se zapečetí jejich chuť a zůstane v nich jejich šťáva. Tradiční smažení se provádí při atmosférickém tlaku, kdy teplota oleje je obvykle okolo 160 - 200 °C. Vakuové smažení se provádí při tlaku, menším než atmosférickém, obvykle nižším než 6,65 kPa. Při sníženém tlaku je snížen bod varu oleje, přičemž je snížena i vlhkost potravin (Granda, Moreira, 2005). Snížení bodu varu oleje má hned několik výhod. První z nich je, že je snížen obsah oleje v produktu. Druhou výhodou je zachování barvy a chuti, a třetí výhodou je, že se zachovává kvalita oleje po delší dobu (Shyu et al., 1998). Proto smažení při sníženém tlaku může mít za následek velké snížení obsahu AA, a to až o 94 %. Bohužel, v praxi je tento způsob smažení použitelný pouze při výrobě smažených lupínků (Granda a Moreira, 2005).

3.6.1.11 Vliv kuchyňské soli na snížení obsahu akrylamidu

Kolek a kol. (2006) poprvé provedli výzkum, který prokazatelně inhiboval vznik AA přidáním chloridu sodného (NaCl). V ekvimolární směsi asparaginu a glukózy byl prozkoumán mechanismus, ve kterém vzniká AA. Pro stanovení AA použili kombinaci plynové chromatografie a hmotnostní spektrometrie (Kolek a kol., 2006). Po přidání soli došlo ke snížení konečného obsahu AA v testovaném vzorku. Největší úbytek (až o 32 %) AA zaznamenalo přidání soli v množství okolo 1 % celkové hmotnosti vzorku. Toto zjištění je důležité pro praktickou aplikaci v tepelném technologickém zpracování potravin, protože přidání okolo 1 % soli je běžné v mnoha potravinářských výrobcích. Díky této studii bylo zaznamenáno, že přidáním soli je urychlena redukce AA prostřednictvím jeho polymerace (Kolek a kol., 2006).

3.7.1.12 Vliv antioxidantů

Mezi parametry, které mají vliv na hladinu AA v potravinách, je nutné zařadit také antioxidanty. U antioxidantů byl zjištěn vliv na Maillardovu reakci, a tudíž ovlivňují tvorbu AA (Zhu et al., 2010). Mechanismus však ještě nebyl zcela prozkoumán, přesto stojí za zmínku. Vědci a technologové potravin dříve používali již zmiňované extrakty a čisté antioxidanty, za účelem inhibování tvorby AA (Jin et al., 2013). Doplnkové faktory, spojené s přidáním antioxidantů, jako je například snížení pH nebo přítomnost aminokyselin v extraktech, mohou ovlivnit obsah AA, a proto je poměrně obtížné srovnávat výsledky různých studií (Mestdagh et al., 2009). Snížení obsahu AA byla hlášena u bramborových řezů, které prošly úpravou s extraktem bambusových listů a fenolovým extraktem z oregana (Vinci et al., 2012). Li a kol. (2012) zjistili, že antioxidanty bambusových listů, erythorbát sodný (konzervační látka, silně toxická), čajové polyfenoly a vitamín E jsou schopné snížit hladinu AA v některých produktech. Jin et al. (2013) uvádí, že díky svým známým antioxidačním vlastnostem, byl navržen rozmarýn jako účinný inhibitor AA. Tato studie ukázala, že došlo ke snížení AA ve smažených bramborových plátcích, pokud byl rozmarýn přidán buď do kukuřičného, nebo olivového oleje. Pokud byl přidán vodný extrakt z rozmarýnu, rozmarýnový olej a sušené rozmarýnové listy do demonstrativní přípravy chleba, v porovnání s chlebem bez rozmarýnu, došlo ke snížení obsahu AA o 62, 67 a 57 % (Jin et al., 2013).

3.6.1.12 Potlačení tvorby asparagin - syntetázy

Simultánní utlumení asparagin - syntetázy 1 a 2 (StAst1 a StAst2) způsobuje snížení tvorby asparaginu v hlízách, a tím potenciálně sníží vznik AA. Fenotyp utlumených linií působil normálně u hlíz pěstovaných ve skleníku, ale hlízy pěstované na polích byly malé a rozpraskané. Asparagin – syntetáza (Ast) katalyzuje poslední krok ve tvorbě asparaginu. Proto vyvinuli vědci transgenní odrůdy brambor, ve kterých je utlumen StAst1 a StAst2 (Chawla et al., 2012). Molekulární a genetické analýzy ukazují, že geny Ast jsou regulovány rozdílně podněty životního prostředí (světlo / tma, stres), nebo metabolickým stavem (cukr a hladina dusíku). V hlízách je glutamin přeměněn na asparagin díky StAst1, nikoliv však StAst2 (Lam et al., 2003). Konstruktivní utlumení StAst1 ovlivňuje celou sklizeň, včetně obsahu dusíku a obsahu bílkovin. Utlumení StAst1 bylo však dostatečným důkazem, protože dokázalo zredukovat obsah asparaginu a zároveň neměl negativní vliv na sklizeň na testovacím poli. Současné testování utlumení StAst1 v hlízách ukazuje, že snižuje obsah volného asparaginu, přičemž v hlízách zůstává vyšší obsah glutaminu, a zároveň neovlivňuje růst rostliny nebo fenotyp hlízy. Tato strategie může být bezpečně použita ke snížení obsahu AA v hranolkách (Chawla et al., 2012). Zvýšený obsah glutaminu nezmění kvalitu brambor jako potravin, protože jeho obsah je stále v bezpečném rozsahu (Davies, 1977). Eventuální nahrazení existujících brambor odrůdami s nízkým obsahem StAst1 může snížit příjem AA až o 30 % (Chawla et al., 2012).

5 Diskuze

V této práci je shromážděno mnoho zdrojů, které jsou od objevení akrylamidu aktuální. Je zde popsán obecný popis brambor, včetně chemického složení hlíz a seznamu pěstovaných brambor pro tepelné zpracování. Tepelnou úpravou brambor vzniká akrylamid. Zajímavé o akrylamidu je, že se v šedesátých letech minulého století začal používat v chemickém průmyslu (Vinci et al., 2012). Lidé s ním přicházeli každodenně do styku, aniž by tušili, jaký může mít akrylamid negativní dopad na jejich zdraví. Jak je tedy možné, že je jeho obsah v dnešní době tak sledován? Právě v roce 2002 vědci konstatovali, že je akrylamid obsažen také v potravinách (Mottram et al., 2002). Po tomto objevu provedli vědci v Číně statistickou studii, kdy naměřili obsah akrylamidu v 349 potravinách, kolujících na čínském trhu (Hu et al., 2015). Poté se provedlo několik studií dokazujících, že může akrylamid působit genotoxicky a karcinogenně (Katen a Roman, 2015). Zpětně se tak zjistilo, proč vlastně dělníci, kteří přicházeli denně do styku s akrylamidem, měli takové zdravotní potíže, jako je svalová slabost či ztráta reflexů. Mnoho z nich zemřelo na různé druhy rakovin (Bethke et Bussan, 2013).

Zahrnuta je analýza samotného akrylamidu z matrice DNA potravin. Díky moderním technologiím je zjišťování akrylamidu poměrně rychlé a přesné. Mezi nejznámější metody patří sledování barevných změn v průběhu hnědnutí. Je založena na biochemických vlastnostech akrylamidu, kdy přístroj sleduje právě barevnou změnu produktu (Hu et al., 2015).

V další části této rešerše je objasněno několik způsobů, jak co nejvíce akrylamid eliminovat. Domnívám se, že existuje o mnoho více metod, zaměřil jsem se pouze na několik z nich. V některých způsobech byla zjištěna poměrně výrazná redukce akrylamidu. Tyto způsoby jsou však testovány převážně v laboratorních podmínkách či uměle vytvořených sklenicích a nějakou dobu potrvá, než se dostanou do každodenní zemědělské praxe. Domnívám se, že pokud se podaří tyto metody celosvětově realizovat, zredukuje se obsah AA v bramborových výrobcích a vzhledem k jeho negativním dopadům, je to další z mnoha důležitých cílů, jak ochránit lidské zdraví.

4 Závěr

Brambory jsou lidmi konzumovány již dlouhou dobu. Díky moderním technologiím se zjistilo, že při tepelné úpravě vzniká ve výrobcích z brambor akrylamid. Zjištění, že je toxický akrylamid obsažen v potravinách, zaznamenal prudký zájem ze strany vědců. Nejvíce akrylamidu bylo naměřeno v hranolkách a lupínkách. Od roku 2002 proběhlo mnoho studií a byl proveden nespočet analýz, co vlastně akrylamid, obsažený v mnoha potravinách, může způsobit v lidském organismu.

Akrylamid působí v organismu karcinogenně a genotoxicky. Díky cytochromu P450 se však může přeměnit na reaktivnější sloučeninu glycidamid, který je pro lidský organismus ještě více nebezpečný. Z tohoto důvodu bylo zkoumáno mnoho způsobů, jak obsah akrylamidu co nejvíce snížit. Akrylamid je bohužel vedlejší produkt Maillardovy reakce, která má však na konečný výrobek pozitivní vliv, co se týče chuti a vůně. Tepelnou úpravou se v bramborách také odstraní glykosidy, především solanin a chaconin, které taktéž škodí lidskému organismu. Proto je zde popsáno mnoho způsobů, jak tepelně zpracovat finální produkt tak, aby měl správné sensorické vlastnosti a zároveň vzniklo co nejméně akrylamidu.

V laboratorních podmínkách lze změřit obsah akrylamidu ve stopovém množství. Nejmodernější laboratoře používají technologie jako je chromatografie a elektroforéza. Je však potřeba oddělit látky, které mohou interferovat se vzorkem. Často se také odděluje matrice DNA potravin za účelem přípravy vzorku a přesného měření. Pokud je potřeba zjistit co nejrychleji obsah akrylamidu, používají se rychlé detekční metody, založené na biochemických vlastnostech akrylamidu a fyzikálně – chemických vlastnostech tepelně upravených jídel.

6 Seznam použitých zdrojů:

Amrein, T. M., Schönbacher, B., Rohner, F., Lukac, H., Schneider, H., Keiser, A., Escher, F., Amadò, R. (2004). Potential for acrylamide formation in potatoes: data from the 2003 harvest. *European Food Research and Technology*. 219. 572 – 578.

Anniston, G., Topping, D.L. (1994). Nutritional role of resistant starch: Chemical structure vs Physiological Function. *Annual Review of Nutrition*. 14. 297 - 320.

Bethke, P.C., Bussan, A.J. (2013). Acrylamide in processed potato products. *American Journal of Potato Research*. 90. 403 – 424.

Biedermann-Brem, S., Noti, A., Grob, K., Imhof, D., Bazzacco, D. (2003). How much reducing sugar may potatoes contain to avoid excessive acrylamide formation during roasting and baking? *European Food Research Technologies*. 217. 369 – 373.

Bradshaw, J. E., Mackay, G. R. (1994). *Potato genetics*. CAB International, Cambridge. 552 s. ISBN 0-85198-869-5.

Chawla, R., Shakya, R., Rommens, C.M. (2012). Tuber-specific silencing of asparagine synthetase-1 reduces the acrylamide-forming potential of potatoes grown in the field without affecting tuber shape and yield. *Plant Biotechnology Journal*. 10. 913 – 924.

Choe, E., Min, D. B. (2007). Chemistry of deep-fat frying oils. *Journal of Food Science*. 72. 77 – 86.

Claeys, W. L., De Vleeschouwer, K., Hendrickx, M. (2005). Kinetics of acrylamide formation and elimination during heating of an asparagine-sugar model system. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 53. 9999 – 10005.

Čepl, J., Červínová, E., Čížek, M., Domkářková, J., Exnarová, J., Greplová, M., Hausvater, E., Krpálková, A., Vokál, B., Zášková, J. (2012). *Máme rádi brambory: proč jsou brambory zdravé, jak je správně nakupovat i pěstovat, úspěšné projekty PRV a několik osvědčených receptů*. Praha: Ministerstvo zemědělství České republiky. 111 s. ISBN 978-80-7434-060-4.

Čermák, V. (2013). Seznam doporučených odrůd bramboru 2013. Úřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský v Brně. ISBN 978-80-7401-072-9. Dostupné z: http://eagri.cz/public/web/file/271573/Brambor_2013.pdf

Čermák, V. (2015). Seznam doporučených odrůd bramboru 2015. Úřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský v Brně. ISBN 978-80-7401-107-8. Dostupné z: http://eagri.cz/public/web/file/401313/SDO_brambor_2015.pdf

Davies, A.M.C. (1977). The free amino acids of tubers of potato varieties grown in England and Ireland. *Potato Research*. 20. 9 – 21.

De Meulenaer, B., De Wilde, T., Mestdagh, F., Govaert, Y., Ooghe, W., Fraselle, S., Demeulemeester, K., Peteghem, C.V., Calus, A., Degroodt, J.M., Verhé, R. (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 Wilde, T., De Meulenaer, B., Mestdagh, F., Govaert, Y., Vandeburie, S., Ooghe, W. (2006). Influence of fertilization on acrylamide formation during frying of potatoes harvested in 2003. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 54. 404 – 408.

Foot, R. J., Haase, N. U., Grob, K., Gondé, P. (2007). Acrylamide in fried and roasted potato products: A review on progress in mitigation. *Food Additives and Contaminants*. 24. 37 – 46.

Friedman, M. (2003). Chemistry, biochemistry, and safety of acrylamide. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51. 4504 – 4526.

Gertz, C., Klostermann, S. (2002). Analysis of acrylamide and mechanisms of its formation in deep-fried products. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 104. 762 – 771.

Gökmen, V., Senyuva, H. Z. (2007). Effects of some cations on the formation of acrylamide and furfurals in glucose–asparagine model system. *European Food Research and Technology*. 225. 815 – 820.

Granda, C., Moreira, R. G. (2005). Kinetics of acrylamide formation during traditional and vacuum frying of potato chips. *Journal of Food Process Engineering*. 28. 478 – 493.

- Hendriksen, H. V., Kornbrust, B. A., Ostergaard, P. R., Stringer, M. A. (2009). Evaluating the potential for enzymatic acrylamide mitigation in a range of food products using an asparaginase from *Aspergillus oryzae*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 57. 4168 – 4176.
- Hu, Q., Xu, X., Fu, Y., Li, Y. (2015). Rapid methods for detecting acrylamide in thermally processed foods: A review. *Food Control*. 56. 135 – 146.
- Hu, Q., Xu, X., Li, Z., Zhang, Y., Wang, J., Fu, Y. (2014) Detection of acrylamide in potato chips using a fluorescent sensing method based on acrylamide polymerization - induced distance increase between quantum dots. *Biosensors and Bioelectronics*. 54. 64 – 71.
- Jin, Ch., Wu, X., Zhang, Y. (2013). Relationship between antioxidants and acrylamide formation: A review. *Food Research International*. 51. 611 – 620.
- Katen, A.L., Roman, S.D. (2015). The genetic consequences of paternal acrylamide exposure and potential for amelioration. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. 777. 91 – 100.
- Kolek, E., Šimko, P., Šimon, P. (2006). Effect of NaCl on decrease of acrylamide content in a heat - threated model food matrix. *Journal of Food and Nutrition Research*. 45. 17 – 20.
- Kumar, D., Singh, B. P., Kumar, P. (2004). An overview of the factors affecting sugar content of potatoes. *Annals of Applied Biology*. 145. 247 – 256.
- Lam, H.M., Wong, P., Chan, H.K., Yam, K.M., Chen, L., Chow, C.M., Coruzzi, G.M. (2003). Overexpression of the *ASN1* gene enhances nitrogen status in seeds of *Arabidopsis*. *Plant Physiol*. 132. 926 – 935.
- Li, D., Chen, Y., Zhang, Y. Lu, B., Jin, Ch., Wu, X., Zhang, Y. (2012). Study on Mitigation of Acrylamide Formation in Cookies by 5 Antioxidants. 77. 1144 – 1149.
- Maga, J.A. (1994). Glycoalkaloids in Solanaceae. *Food Reviews International*. 10. 385 – 418.

Matthäus, B., Haase, N. U., 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.

Mestdagh, F., De Wilde, T., Fraselle, S., Govaert, Y., Ooghe, W., Degroodt, J. M., Verhé, R., Van Peteghem, C., De Meulenaer, B. (2008). Optimization of the blanching process to reduce acrylamide in fried potatoes. *Food Science and Technology*. 41. 1648 – 1654.

Mestdagh, F., Van Peteghem, C., De Meulenaer, B. (2009). A farm-to-fork approach to lower acrylamide in fried potatoes. *IV Potatoes*. 3. 66 – 75.

Ministerstvo zemědělství. 2003. Vyhláška č. 157/2003, kterou se stanoví požadavky pro čerstvé ovoce a čerstvou zeleninu, zpracované ovoce a zpracovanou zeleninu, suché skořápkové plody, houby, brambory a výrobky z nich, jakož i další způsoby jejich označování. Česká republika: Sbírka zákonů České republiky. Příloha 15.

Míča, B., Penk, J., Vokál, B. (1991). Dusičnany v bramborách a možnosti snížení jejich obsahu. České Budějovice: Park Centrum. 75 s. ISBN 80-7084-039-0.

Mlčoch, Z. (2011). Akrylamid a jeho vliv na lidské zdraví, které potraviny obsahují Akrylamid. In: MUDr. Zbyněk Mlčoch [online] [cit.2012-05-04]. Dostupné z: <http://www.zbynekmlcoch.cz/informace/medicina/clanky-studie/akrylamid-a-jeho-vliv-na-lidske-zdravi-co-obsahuje-akrylamid>

Moreira, R. G., Castell-Perez, M., Barrufet, M. A. (1999). Deep - fat frying: Fundamentals and applications. Gaithersburg, MD: Aspen Publishers. 13. 350 p.

Mottram, D.S., Wedzicha, B.L., Dodson, A.T. (2002). Acrylamide is formed in the Maillard reaction. *Nature*. 3. 448 – 449.

Nguyen, H.T., Van der Fels-Klerx, H.J., Peters, R.J.B., Van Boekel, M.A.J.S. (2016). Acrylamide and 5 - hydroxymethylfurfural formation during baking of biscuits: Part I: Effects of sugar type. *Food Chemistry*. 192. 575 – 585.

Nico, W., Scherbl, D., Schug, M., Hengstler, J.G., Baum, M., Habermeyer M., Richling, E., Eisenbrand, G. (2013). Toxicokinetics of acrylamide in primary rat hepatocytes: coupling to

glutathione is faster than conversion to glycidamide. *Archives of Toxicology*. 87(8). 1545 - 1556.

Oracz, J., Nebesny E., Zyzelewicz D. (2011). New trends in quantification of acrylamide in food products. *Talanta journal*. 86. 23 – 34.

Pacák, J. 1978. *Stručné základy organické chemie*. SNTL. Praha. 471 s.

Pedreschi, F., Kaack, K., Grandby, K. (2006). Acrylamide content and color development in fried potato strips. *Food Research International*. 39. 40 – 46.

Pedreschi, F., Kaack, K., & Granby, K. (2008). The effect of asparaginase on acrylamide formation in French fries. *Food Chemistry*. 109. 386 – 392.

Pelucchi, C., Francheschi, S., Levi, F., Trichopoulos, D., Bosetti, C., Negri, E., Vecchia L.C. (2003). Fried potatoes and human cancer. *Int. J. Cancer*. 105. 558 – 560.

Powers, S.J., Mottram, D.S., Curtis, A., Halford N.G. (2013). Acrylamide concentrations in potato crisps in Europe from 2002 to 2011. *Food Additives & Contaminants*. 30:9. 1493 – 1500.

Preston, A., Fodey, T., & Elliott, C. (2008). Development of a high-throughput enzyme-linked immunosorbent assay for the routine detection of the carcinogen acrylamide in food, via rapid derivatisation pre-analysis. *Analytica Chimica Acta*. 608 (2). 178 - 185.

Riboldi, B.P., Vinhas, Á.M., Moreira, J.D. (2014). Risks of dietary acrylamide exposure: A systematic review. *Food Chemistry*. 157. 310 – 322.

Rice, J.M. (2005). The carcinogenicity of acrylamide. *Mutation Research*. 84. 275 – 282.

Rybáček, V. a kolektiv. 1988. *Brambory*. Státní zemědělské nakladatelství, Praha, 360 s.

Shyu, S., Hay, L., Hwang, L.S. (1998). Effect of vacuum frying on the oxidative stability of oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 75. 1393 – 1398.

Singh, J., Kaur, L. (eds.). 2016. *Advances in Potato Chemistry and Technology*. Riddet Institute and Massey Institute of Food Science and Technology. New Zealand. 725 s. ISBN: 978-0-12-800002-1

Slavík, B. a kolektiv (2000). *Květena České republiky 6*. Academia, Praha, 770 s.

Torres, M. D. A., Parreño, W. C. (2009). Thermal processing and quality optimization. *Advances in potato chemistry and technology*. 1. 163 – 219.

True, R.H., Hogan, J.M., Augustin, J., Johnson, S.R., Teitzel, C., Toma, R.B., Orr, P. (1979). Changes in the nutrient composition of potatoes during home preparation: III. Minerals. *American Potato Journal*. 56. 339 – 350.

Vesper, H.W., Bernert, J.T., Ospina, M., Meyers, T., Ingham, L., Smith, A., Myers, G.L. (2007). Assessment of the Relation between Biomarkers for Smoking and Biomarkers for Acrylamide Exposure in Humans. *American Association for Cancer Research*. 16. 2471 – 2478.

Vinci, R.M., Mestdagh, F., Meulenaer, B. (2012). Acrylamide formation in fried potato products - Present and future, a critical review on mitigation strategies. *Food Chemistry*. 133. 1138 – 1154.

Virk-Baker, M.K., Nagy, T.R., Barnes, S., Groopman, J. (2014). Dietary Acrylamide and Human Cancer: A Systematic Review of Literature. *Nutrition and Cancer*. 66. 774 – 790.

Vokál, B., a kol. (2013). *Brambory: šlechtění, pěstování, užití, ekonomika*. 1. vyd. Praha: Profi Press, 2013. 160 s. ISBN 978-80-86726-54-0.

Watzek, N., Schrebl, D., Schug, M., Hengster, J.G., Baum, M., Habermeyer, M., Richling, E., Eisenbrand, G. (2013). Toxicokinetics of acrylamide in primary rat hepatocytes: coupling to glutathione is faster than conversion to glycidamide. *Archives of Toxicology*. 87. 1545 – 1556.

Whittaker, A., Marotti, I., Dinelli, G., Calamai, L., Romagnoli, S., Manzelli, M., et al. (2010). 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.

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.

Zhu, Y., Wang, P., Wang, F., Zhano, M., Hu, X., Chen, F. (2016). The kinetics of the inhibition of acrylamide by glycine in potato model systems. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 96. 548 – 554.

7 Seznam tabulek

Tab. 1 Seznam registrovaných odrůd bramboru

Tab. 2 Porovnání rozdílu v příjmu bílkovin spotřebitelem mezi konzumními bramborami a luštěninami

Tab. 3 Obsah minerálních látek v hlíze (převzato z: Vokál a kol., 2013)

Tab. 4 Strukturní vztah solaninu a chaconinu

Tab. 5 Potraviny s nejčastějším výskytem akrylamidu

Tab. 6 Počet pozorování, průměr (ng / g), minimální a maximální hodnoty akrylamidu ve vzorcích brambůrků od roku 2002 do roku 2011

8 Seznam obrázků

Obr. 1 Strukturní vzorec akrylamidu

Obr. 2 Reakce vedoucí ke vzniku akrylamidu