



**ΤΕΙ ΚΑΛΑΜΑΤΑΣ**  
**ΣΧΟΛΗ ΤΕΧΝΟΛΟΓΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ**

**ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΣ ΑΚΡΥΛΑΜΙΔΙΟΥ ΣΕ ΠΡΟΪΟΝΤΑ**  
**ΤΡΟΦΙΜΩΝ ΚΑΙ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΕΣ ΑΠΟΜΑΚΡΥΝΣΗΣ ΤΟΥ**



**ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**  
**ΜΑΡΙΑ ΒΛΑΧΟΥ**

**ΚΑΛΑΜΑΤΑ 2014**

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Από αυτή τη θέση θα ήθελα να αναφερθώ και να εκφράσω τις ολόθερμες ευχαριστίες μου σε όλους εκείνους, οι οποίοι με την καθοδήγηση και τη συνεργασία τους συνετέλεσαν στην ολοκλήρωση της εργασίας αυτής.

Ευχαριστώ τον Αναπληρωτή Καθηγητή κ. Θ. Βαρζάκα που ανέλαβε τη πτυχιακή μου εργασία. Οι υποδείξεις και η επίβλεψή του ήταν καθοριστικές καθ' όλη τη διάρκεια εκπόνησης της μελέτης.

Ένα μεγάλο ευχαριστώ οφείλω στη Διοίκηση του Ι.ΤΕ.ΓΕ.Π.-ΕΛ.Γ.Ο. “Δήμητρα” διότι μου έδωσαν τη δυνατότητα να εκπονήσω αυτή τη διατριβή. Ιδιαίτερος οφείλω να ευχαριστήσω τα στελέχη του Εργαστηρίου Γενετικής Ταυτοποίησης Δρ Δημήτρη Αργυρόπουλο και Δρ Χαρούλα Ψαλλίδα για την εμπιστοσύνη με την οποία με δέχθηκαν στο Εργαστήριο, αλλά και για τη βοήθεια και την υποστήριξή τους σε όλα τα στάδια εκπόνησης της μελέτης αυτής.

## Περίληψη

Το ακρυλαμίδιο ( $\text{CH}_2 = \text{CH}-\text{CONH}_2$ ), είναι ένα βιομηχανικό προϊόν που χρησιμοποιείται σε όλο τον κόσμο για τη σύνθεση του πολυακρυλαμιδίου, το οποίο έχει βρει εφαρμογή σε πολλούς κλάδους. Όμως, το μονομερές ακρυλαμίδιο παραπροϊόν της αντίδρασης Maillard που συντίθεται στα τρόφιμα κατά τη θερμική κατεργασία τους, έχει βρεθεί ότι επιφέρει επιπτώσεις στην υγεία των ζώων και πιθανότατα να συνδέεται με καρκινογένεση στους ανθρώπους. Το γεγονός αυτό επεσήμανε την ανάγκη να αποκτηθεί καλύτερη κατανόηση του τρόπου δημιουργίας και διανομής του στα τρόφιμα. Η καλύτερη κατανόηση της σύνθεσής του, αλλά και των επιπτώσεών του στα τρόφιμα, μπορεί να οδηγήσει στη βελτίωση των διεργασιών των τροφίμων με στόχο τη μείωση της περιεκτικότητάς του και με αποτέλεσμα την ασφάλεια των καταναλωτών.

## ABSTRACT

Acrylamide ( $\text{CH}_2 = \text{CH}-\text{CONH}_2$ ) is an industrial product used worldwide to synthesize polyacrilamide, which has many applications. However, the monomer acrylamide, which is Maillard's reaction byproduct, synthesized in foods during thermal treatment has been found to have implications in animal's health and probably is related to human carcinogenicity. This fact indicates the need to obtain a better understanding of how it is created and is distributed in the food. A better understanding of its composition and its impact in food can lead to the development of improved food in order to reduce acrylamide's content and thus to the safety of consumer.

## Πίνακας περιεχομένων

Περίληψη.....	3
ABSTRACT .....	3
Πίνακας Πινάκων .....	5
Πίνακας Σχημάτων .....	5
Κεφάλαιο 1 .....	7
1. Ακρυλαμίδιο: Σχηματισμός , που χρησιμοποιείται, φυσικές και χημικές ιδιότητες.....	7
Εισαγωγή.....	7
1.1 Τι είναι το ακρυλαμίδιο (AA) - Χημική δομή .....	8
1.2 Χημική σύνθεση ακρυλαμιδίου .....	8
1.3 Χρήσεις ακρυλαμιδίου .....	10
Κεφάλαιο 2 .....	11
2. Βιοχημεία σχηματισμού του ακρυλαμιδίου.....	11
2.1 Φυσικοί παράγοντες.....	11
2.2 Βιοχημικές αντιδράσεις σχηματισμού του ακρυλαμιδίου - Αντίδραση Maillard .....	14
2.3 Παράγοντες που επιδρούν στην Maillard και το σχηματισμό ακρυλαμιδίου ..	19
Κεφάλαιο 3 .....	25
3. Επίδραση γενετικών παραγόντων στο σχηματισμό AA .....	25
3.1 Γενετικοί παράγοντες.....	25
Κεφάλαιο 4 .....	28
4. Τοξικότητα ακρυλαμιδίου και νομοθεσία .....	28
4.1 Όρια και νομοθεσία.....	28
4.2 Μεθοδολογίες προσδιορισμού .....	30
Κεφάλαιο 5 .....	34

5. Συζήτηση: Ανάλυση δεδομένων για τις διαδικασίες παρεμπόδισης σχηματισμού ακρυλαμιδίου .....	34
5.1 Τρόποι για έλεγχο ή παρεμπόδιση ακρυλαμιδίου στην αντίδραση Maillard.....	36
5.2 Τεχνικές γενετικής μηχανικής για το ακρυλαμίδιο .....	41
5.3 Περιβαλλοντικοί παράγοντες.....	42
5.4 Μείωση ακρυλαμιδίου σε τρόφιμα με το μεγαλύτερο ποσοστό κατανάλωσης	44
5.4. Συμπεράσματα- Μελλοντικοί στόχοι .....	48
6. Βιβλιογραφία .....	50

## Πίνακας Πινάκων

Πίνακας 1: μέθοδοι μαγειρέματος με συγκέντρωση ακρυλαμιδίου .....	12
Πίνακας 2 : παραγωγή ακρυλαμιδίου από διάφορα σάκχαρα .....	14
Πίνακας 3: Σημεία καπνού διαφόρων ελαίων .....	18
Πίνακας 4 : Αποτελέσματα μελέτης για το σχηματισμό ακρυλαμιδίου από δείγματα, πατάτας, ασπαραγίνης, και ασπαραγίνης-λυσίνης/κυστεΐνης .....	24
Πίνακας 5: Ενδεικτικές τιμές σε κατηγορίες πρωινού ακρυλαμιδίου .....	29
Πίνακας 6: ενδεικτικές τιμές του περιεχόμενου ακρυλαμιδίου σε διάφορα τρόφιμα	34
Πίνακας 7 : επίδραση του σχήματος και του τρόπου παρασκευής πατάτας στο ακρυλαμίδιο .....	46

## Πίνακας Σχημάτων

Σχήμα 1: Μοριακός τύπος ακρυλαμιδίου.....	8
Σχήμα 2: τα παραπάνω γραφήματα μας δείχνουν την περιεκτικότητα ακρυλαμιδίου με τη διακύμανση της θερμοκρασίας θέρμανσης και του χρόνου θέρμανσης σε μικροκύματα στα παρακάτω μοντέλα : (Α) ασπαραγίνη-γλυκόζη (Β) ασπαραγίνη-φρουκτόζη και (Γ) ασπαραγίνη-σακχαρόζη .....	12

Σχήμα 3 : αντίδραση Maillard .....	16
Σχήμα 4 : Μηχανισμός παραγωγής του ακρυλαμιδίου από ασπαραγίνη και μία καρβονυλομάδα Πηγή :Stadler et al., 2004 .....	17
Σχήμα 5 : Σχηματισμός ακρυλαμιδίου σε συστήματα ασπαραγίνης – γλυκόζης (μαύρες μπάρες) ή φρουκτόζης (άσπρες μπάρες) ως συνάρτηση της υγρασίας (180°C, 5min)..	20
Σχήμα 6: Σχηματισμός ακρυλαμιδίου κατά τη θέρμανση ισομοριακού μίγματος ασπαραγίνης και γλυκόζης για 5 (●) και 60 (▲)λεπτά. ....	22
Σχήμα 7 : Τα τρία στάδια μεταβολισμού για πρόδρομες ουσίες του ακρυλαμιδίου.....	25
Σχήμα 8: Φάσματα μάζας των παραγώγων ακρυλαμιδίου :.....	31
Σχήμα 9 : Το παραπάνω σχήμα μας δείχνει τη σύγκριση μεταξύ των πραγματικών και προβλεπόμενων τιμών ακρυλαμιδίου σε δείγματα πατάτας (συγκέντρωση ακρυλαμιδίου σε αναλογία με τη θερμοκρασία και το χρόνο). Οι μαύροι κύκλοι είναι οι πραγματικές τιμές ακρυλαμιδίου και το περίγραμμα της επιφάνειας είναι οι προβλεπόμενες τιμές. ....	33
Σχήμα 10: Επίδραση της θερμοκρασίας και του χρόνου τηγανίσματος στο σχηματισμό ακρυλαμιδίου σε τηγανιτές πατάτες. ....	40
Σχήμα 11: Η επίδραση του χρόνου αποθήκευσης και της θερμοκρασίας στο σχηματισμό ακρυλαμιδίου.....	45
Σχήμα 12 : Συγκέντρωση ακρυλαμιδίου σε συνάρτηση με τη συγκέντρωση γλυκόζης σε τηγανιτές πατάτες. ....	47
Σχήμα 13: συγκέντρωση ακρυλαμιδίου σε συνάρτηση με το χρόνο σε δείγματα σίκαλης, πατάτας και σιταριού.....	48

## Κεφάλαιο 1

### 1. Ακρυλαμίδιο: Σχηματισμός , που χρησιμοποιείται, φυσικές και χημικές ιδιότητες.

#### Εισαγωγή

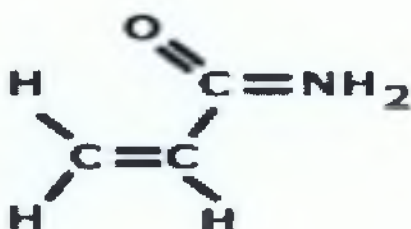
Το ακρυλαμίδιο (ΑΑ) είναι μια δυνητικά καρκινογόνος ουσία ,η οποία σχηματίζεται με τη θερμική επεξεργασία των τροφίμων. Οι πρώτες προσπάθειες για τον προσδιορισμό του ακρυλαμιδίου στα τρόφιμα ξεκίνησαν το 2002 και παρουσιάζονται στην έκθεση που δημοσιεύθηκε από τη Σουηδική Εθνική Διοίκηση Τροφίμων ( Στοκχόλμης 2002 ) σχετικά με τα υψηλά επίπεδα ακρυλαμιδίου σε θερμικά επεξεργασμένα προϊόντα πατάτας και άλλα τρόφιμα. Το ακρυλαμίδιο στα τρόφιμα δεν σχηματίζεται με φυσικό τρόπο και αρκετές μελέτες επιβεβαίωσαν τα υψηλά επίπεδα του ακρυλαμιδίου σε τηγανητά και σε ένα ευρύ φάσμα επεξεργασμένων τροφίμων, τα οποία είναι σημαντικά, λόγω του υψηλού σχετικά ρυθμού κατανάλωσής τους. Σε αυτά περιλαμβάνονται κυρίως προϊόντα πατάτας (τηγανητές πατάτες, ψητά στο φούρνο τσιπς, πατατάκια, κ.α.), διάφορες τροφές με βάση τα δημητριακά, όπως τα δημητριακά πρωινού, τα μπισκότα, το ψωμί (ειδικά φρυγανισμένο ψωμί), πίτες, κέικ, ραδίκια, καφές και υποκατάστατα του καφέ, η σοκολάτα, φρυγανιές για μωρά, και διάφορες άλλες παιδικές τροφές (Serife Evrim Kerekcı Tekkeli., 2011)

Ειδικότερα, το ακρυλαμίδιο σχηματίζεται μετά από τις θερμικές επεξεργασίες όπως το τηγάνισμα, το ψήσιμο και το ψήσιμο σε θερμοκρασίες γύρω στους 120 ° C ,φθάνοντας σε πολύ υψηλά επίπεδα σε θερμοκρασίες μεταξύ 160 ° C και 180 ° C (Serife Evrim Kerekcı Tekkeli., 2011 ). Μέσω αυτών των θερμοκρασιακών επεξεργασιών λαμβάνει χώρα η αντίδραση Maillard, η οποία έχει σαν αποτέλεσμα την εμφάνιση επιθυμητών οργανοληπτικών χαρακτηριστικών, όπως το καστανό χρώμα, η χαρακτηριστική γεύση και το άρωμα, αλλά και τη δυσμενή συνέπεια που είναι ο σχηματισμός του ακρυλαμιδίου. Το ακρυλαμίδιο λοιπόν σχηματίζεται κατά τη μεταποίηση και την παρασκευή τροφίμων, κατά την προσπάθεια βελτίωσης της γεύσης και διατήρησης των θρεπτικών συστατικών (Mendel Friedman Service και Don Mottram., 2005).

Τέλος, το ακρυλαμίδιο απορροφάται ταχέως από τον άνθρωπο και τα ζώα μετά την κατάποση του και διανέμεται σε πολλά όργανα όπως ο θύμος αδένας, το ήπαρ, η καρδιά, ο εγκέφαλος, και τα νεφρά (Qinqin Hu a ,Xiahong Xu et al., 2013). Τα ανωτέρω θα αναλυθούν λεπτομερώς στα επόμενα κεφάλαια.

### 1.1 Τι είναι το ακρυλαμίδιο (AA) - Χημική δομή

Το ακρυλαμίδιο είναι χαμηλού μοριακού βάρους βινυλική ένωση. Πρόκειται για μία άχρωμη και άοσμη κρυσταλλική ουσία, υπό μορφή σκόνης που διαλύεται εύκολα στο νερό, στην αιθανόλη, στη μεθανόλη, στον αιθέρα και την ακετόνη ενώ είναι αδιάλυτο στο επτάνιο και στο βενζόλιο. (ΕΦΕΤ 2002) Η χημική δομή του ακρυλαμιδίου είναι (C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>NO) (S.Emmanual Joshua Jebasingh et al 2013 ) και η ανοικτή του μορφή παρουσιάζεται στο σχήμα 1 :



Σχήμα 1: Μοριακός τύπος ακρυλαμιδίου

Πηγή: Mendel Friedman Service και Don Mottram., 2005

### 1.2 Χημική σύνθεση ακρυλαμιδίου

Το ακρυλαμίδιο παρασκευάστηκε για πρώτη φορά το 1893 στη Γερμανία, ενώ η βιομηχανική παρασκευή του άρχισε το 1954. Στις ΗΠΑ εκτιμάται ότι η παραγωγή του φθάνει τους 100.000 τόνους ετησίως, ενώ η παγκόσμια φθάνει τους 400.000 τόνους. Η πρώτη ύλη για την παρασκευή του ακρυλαμιδίου είναι το ακρυλονιτρίλιο (CH<sub>2</sub>=CH-CN), βιομηχανικό προϊόν, το οποίο παρασκευάζεται σε μεγάλες ποσότητες και χρησιμοποιείται για την παρασκευή πολυακρυλικών πολυμερών (Mc Murry J.,



2005) . Επιπρόσθετα έχει αναφερθεί και βιοτεχνολογική παραγωγή ακρυλαμιδίου με τη χρήση στελεχών διαφόρων βακτηρίων (γένη *Rhodococcus* sp., *Pseudomonas* spp.) ( Kim and Hyun 2002). Με πλήρη υδρόλυση το ακρυλονιτρίλιο παρέχει ακρυλικό οξύ ( $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{COOH}$ ). Με ελεγχόμενη υδρόλυση του ακρυλονιτρίλιου παράγεται ακρυλαμίδιο σύμφωνα με την αντίδραση:



Πηγή : Mc Murry J., 2005

Η παραπάνω αντίδραση πραγματοποιείται παρουσία κραμάτων χαλκού. Οι σχετικά υψηλές απαιτούμενες θερμοκρασίες (80-140 °C) οδηγούν σε μερικό πολυμερισμό του προϊόντος, όπως επίσης και στο σχηματισμό σημαντικών ποσοτήτων ακρυλικού οξέος. Σήμερα έχει αρχίσει να κατακτά έδαφος η ενζυμική υδρόλυση του ακρυλονιτρίλιου, που θεωρείται αποδοτικότερη και περιβαλλοντικά ασφαλέστερη . Χρησιμοποιείται το ένζυμο νιτριλοϋδρατάση (nitrile hydratase) που καταλύει την υδρόλυση των νιτριλίων προς τα αντίστοιχα αμίδια.



Πρόσθετο πλεονέκτημα της ενζυμικής μεθόδου είναι ότι το προϊόν περιέχει μόλις ίχνη του ανεπιθύμητου ακρυλικού οξέος (0,02 %) (Mc Murry J., 2005) .

Το μονομερές ακρυλαμίδιο είναι η δομική μονάδα που αντιδρά με τον αέρα δημιουργώντας προϊόντα πολυμερισμού (πολυακρυλαμίδιο) που με τη σειρά του χρησιμοποιείται στις βιομηχανίες χάρτου και κλωστοϋφαντουργίας, ως κροκιδωτικό μέσο στην επεξεργασία των λυμάτων, ως βελτιωτικό εδάφους, στην επεξεργασία μεταλλευμάτων και σε καλλυντικά. Η μονομερής μορφή του ακρυλαμιδίου έχει δείξει ότι είναι ένας πιθανός κίνδυνος για την υγεία του ανθρώπου και είναι μία γνωστή νευροτοξική ένωση (Serife Evrim Kepekci Tekkeli., 2011).

### 1.3 Χρήσεις ακρυλαμιδίου

Το ακρυλαμίδιο χρησιμοποιείται στη βιομηχανία όπως στην κατασκευή πλαστικών, συμπεριλαμβανομένων ορισμένων συσκευασιών τροφίμων, στην παραγωγή συνθετικού καουτσούκ, σε ορισμένα συμπολυμερή, αλλά και στον καθαρισμό του νερού. Όταν προστίθεται στο νερό, αυτό πήζει με αποτέλεσμα να παγιδεύονται τα αιωρούμενα στερεά σωματίδια κάνοντας πιο εύκολη την απομάκρυνσή τους κατά τη διάρκεια της επεξεργασίας του πόσιμου νερού. Το ακρυλαμίδιο δεν σχηματίζει χημικές ενώσεις με το έδαφος, αλλά αποικοδομείται από μικροοργανισμούς, οι οποίοι υπάρχουν στο έδαφος και το νερό, μέσα σε λίγες ημέρες. Το ακρυλαμίδιο που δεν πήζει παραμένει στο νερό ως πρόσμιξή του, σύμφωνα με τους κανονισμούς των ΗΠΑ (Υπηρεσία Προστασίας του Περιβάλλοντος), με ανώτερο όριο 0,5 ppb (parts per billion). Η μονομερής μορφή του ακρυλαμιδίου χρησιμοποιείται κυρίως σε ερευνητικά εργαστήρια για την παρασκευή πηκτωμάτων.

Το πήκτωμα ακρυλαμιδίου χρησιμοποιείται για την ηλεκτροφόρηση, μια τεχνική που χρησιμοποιεί επίπεδες πηκτές πολυακρυλαμιδίου για το διαχωρισμό και την απομόνωση πρωτεϊνών και DNA. Επίσης χρησιμοποιείται για την παραγωγή χρωμάτων, στην κατασκευή των φραγμάτων, σιράγγων και αποχετεύσεων. Άλλες εφαρμογές του είναι η χρήση του στη παραγωγή οργανικών χημικών ουσιών, μεταλλευμάτων, αλλά και στην επεξεργασία του αργού πετρελαίου. Λόγω των μεγάλων περιοχών εφαρμογής του ακρυλαμιδίου, η ετήσια παραγωγή του στην Ευρωπαϊκή Ένωση (ΕΕ) είναι 80.000 έως 100.000 τόνοι (Semih Ötles and Serkan Ötles 2004).

## Κεφάλαιο 2

### 2. Βιοχημεία σχηματισμού του ακρυλαμιδίου

#### 2.1 Φυσικοί παράγοντες

##### 2.1.1 Τρόποι μαγειρέματος

Η πρώτη ανίχνευση ακρυλαμιδίου έγινε σε τηγανιτή πατάτα. Τμήματα του τηγανισμένου λίπους διαπερνούν το προϊόν και συμβάλουν στη μοναδική γεύση του. Το εξωτερικό στρώμα του προϊόντος υποβάλλεται σε περαιτέρω αύξηση της θερμοκρασίας και φθάνει τους 120°C. Στη συνέχεια λαμβάνει χώρα η αντίδραση Maillard (αναλύεται παρακάτω), με αποτέλεσμα να σχηματιστεί το επιθυμητό χρώμα και γεύση. Με αυτόν τον τρόπο σχηματίζεται το ακρυλαμίδιο κατά το τηγάνισμα πατάτας. Επιπρόσθετα, ελέγχθηκαν διαφορετικές μέθοδοι μαγειρέματος, συμπεριλαμβανομένης και της θέρμανσης σε φούρνο μικροκυμάτων. Εκτός από τη μέθοδο του βρασμού, όλες οι άλλες μέθοδοι οδήγησαν στο σχηματισμό ακρυλαμιδίου. Σε άψητα προϊόντα όμως η συγκέντρωση ακρυλαμιδίου είναι κάτω από το όριο ανίχνευσης (15-50 μικρογραμμάρια (μg) την ημέρα, ανάλογα με το σωματικό βάρος). ( Mendel Friedman Service και Don Mottram., 2005).

Πίνακας 1: μέθοδοι μαγειρέματος με συγκέντρωση ακρυλαμίδιου

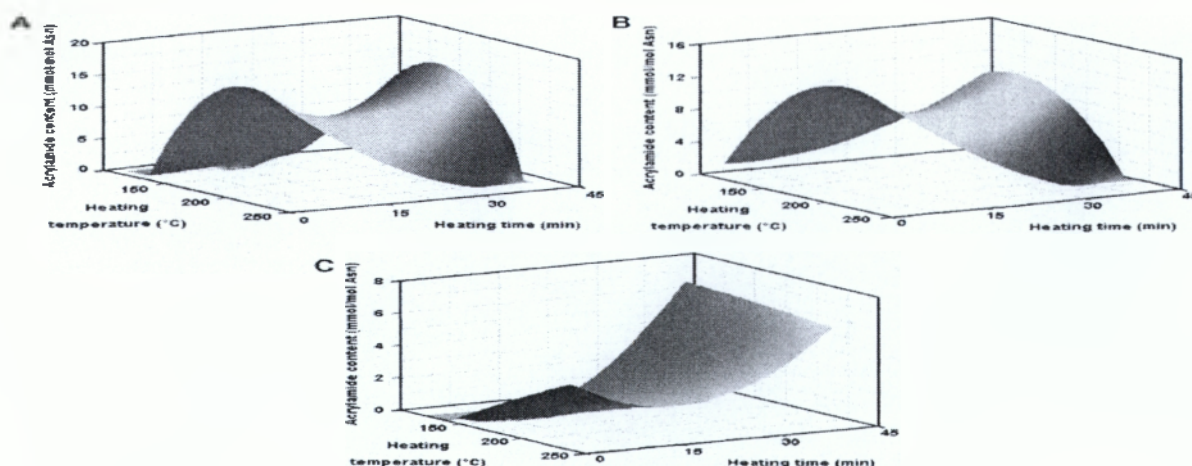
Μέθοδοι μαγειρέματος		Ακρυλαμίδιο ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )	
Πριν την τελική προετοιμασία	$B_{416 \pm 61^a}$	$C_{252 \pm 72^a}$	$D_{322 \pm 154^a}$
Τηγάνισμα	$B_{597 \pm 67^b}$	$C_{418 \pm 53^b}$	$D_{495 \pm 114^b}$
Ψήσιμο	$B_{727 \pm 71^c}$	$C_{557 \pm 51^c}$	$D_{630 \pm 100^c}$
Μικροκύματα	$B_{790 \pm 64^d}$	$C_{676 \pm 59^d}$	$D_{725 \pm 107^d}$

**B:** τηγανιτές πατάτες **C:** άλλα προϊόντα πατάτας **D:** όλα τα προϊόντα

**a, b, c, d :** ( $P \leq 0,05$ )

**Πηγή :** Joanna Michalak · Elzbieta Gujska., 2011

### 2.1.2 Θερμοκρασία μαγειρέματος και χρονική διάρκεια μαγειρέματος



**Σχήμα 2:** τα παραπάνω γραφήματα μας δείχνουν την περιεκτικότητα ακρυλαμίδιου με τη διακύμανση της θερμοκρασίας θέρμανσης και του χρόνου

**θέρμανσης σε μικροκύματα στα παρακάτω μοντέλα : (Α) ασπαραγίνη-γλυκόζη (Β) ασπαραγίνη- φρουκτόζη και (Γ) ασπαραγίνη-σακχαρόζη.**

**Πηγή :** Yu Zhang, Haoran Fang , 2007

Τα παραπάνω γραφήματα έχουν ενδιαφέρον διότι παρουσιάζουν δύο διαφορετικούς παράγοντες οι οποίοι επηρεάζουν το σχηματισμό ακρυλαμιδίου σε συγκεκριμένες περιοχές θερμοκρασίας θέρμανσης και χρόνου θέρμανσης. Πιο αναλυτικά για το σύστημα ασπαραγίνη – γλυκόζη (Α), η περιεκτικότητα ακρυλαμιδίου αυξήθηκε όταν υπήρχε υψηλή θερμοκρασία σε συνδυασμό με σύντομο χρόνο θέρμανση (  $T > 190^{\circ}\text{C}$  ,  $t < 20$  λεπτά ) ή χαμηλή θερμοκρασία με μεγάλο χρονικό διάστημα θέρμανσης (  $T < 180^{\circ}\text{C}$  ,  $t > 30$  λεπτά ). Επίσης έχει βρεθεί το σημείο καμπής (  $T = 187^{\circ}\text{C}$  ,  $t = 22$  λεπτά), το οποίο παρουσιάζει το ελάχιστο επίπεδο ακρυλαμιδίου (  $10,5 \text{ mmol/ mol Asn}$ ). Παρόμοια αποτελέσματα βρέθηκαν και στο σύστημα ασπαραγίνη – φρουκτόζη (Β) σχετικά με το σχηματισμό του ακρυλαμιδίου, δηλαδή υψηλή περιεκτικότητα ακρυλαμιδίου βρέθηκε όταν εφαρμόστηκε υψηλή θερμοκρασία σε συνδυασμό με σύντομο χρόνο θέρμανσης(  $T > 175^{\circ}\text{C}$  ,  $t < 20$  λεπτά) ή χαμηλή θερμοκρασία για μεγάλο χρονικό διάστημα (  $T < 170^{\circ}\text{C}$  ,  $t > 25$  λεπτά). Όμοια βρέθηκε το σημείο καμπής (  $T = 174^{\circ}\text{C}$  ,  $t = 25$  λεπτά) το οποίο έδειξε την ελάχιστη περιεκτικότητα σε ακρυλαμίδιο (  $8,6 \text{ mmol/mol Asn}$ ). Ενδιαφέρον παρουσιάζει το ότι κατά τη θέρμανση με μικροκύματα, παράχθηκε πολύ υψηλότερη συγκέντρωση ακρυλαμιδίου από το σύστημα ασπαραγίνη-φρουκτόζη σε σύγκριση με το σύστημα ασπαραγίνη-γλυκόζη.

Όσον αφορά το σύστημα ασπαραγίνη-σακχαρόζη (Γ) κατά τη διάρκεια θέρμανσης με μικροκύματα, η ποσότητα του ακρυλαμιδίου αυξήθηκε με την αύξηση του χρόνου θέρμανσης και την αύξηση της θερμοκρασίας( $T > 360^{\circ}\text{C}$  και  $t < 25$  λεπτά ή  $T < 350^{\circ}\text{C}$  και  $t > 30$  λεπτά). Με ακριβή υπολογισμό βρέθηκε και το σημείο καμπής (  $T = 358^{\circ}\text{C}$  ,  $t = 26$  λεπτά) το οποίο έδειξε την ελάχιστη περιεκτικότητα σε ακρυλαμίδιο (  $3,2 \text{ mmol / mol Asn}$ ). Συνοψίζοντας, από τα παραπάνω καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι μεταξύ των τριών συστημάτων η προστιθέμενη σακχαρόζη είναι 50% μικρότερη από την γραμμομοριακή ποσότητα της προστιθέμενης γλυκόζης ή φρουκτόζης. Άρα συμπεραίνουμε ότι η παραγόμενη συγκέντρωση ακρυλαμιδίου είναι μικρότερη στο σύστημα ασπαραγίνη-σακχαρόζη σε σύγκριση με τα άλλα δύο συστήματα( ασπαραγίνη-γλυκόζη και ασπαραγίνη-φρουκτόζη)( Taeymans et al., 2004).

Επιπρόσθετα, όσον αφορά τα έλαια τηγανίσματος (βαμβακέλαιο, ελαιόλαδο, φυσικέλαιο, καρδαμέλαιο, λίπος, σογιέλαιο και ηλιέλαιο) σε δείγματα τσιπς πατάτας με τα οποία τηγανίστηκαν, το αποτέλεσμα ήταν ότι με κανένα από τα παραπάνω έλαια δεν υπήρχε ιδιαίτερη αύξηση του σχηματισμού του ακρυλαμιδίου, με εξαίρεση το ελαιόλαδο, με το οποίο προκλήθηκε περίπου 300% αύξηση της συγκέντρωσης του ακρυλαμιδίου σε σύγκριση με τα υπόλοιπα έλαια. (Yi Xu et al., 2013 ). Μία πρόσφατη μελέτη σύγκρινε την επίδραση του τηγανίσματος με την επίδραση του ψήσιματος για το περιεχόμενο ακρυλαμιδίου σε πατατάκια. Οι ερευνητές κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι το ψήσιμο στους  $T = 170^{\circ}\text{C}$  δημιούργησε διπλάσια ποσότητα ακρυλαμιδίου σε σύγκριση με το τηγάνισμα στην ίδια θερμοκρασία (Raquel Medeiros Vinci et al., 2011).

## 2.2 Βιοχημικές αντιδράσεις σχηματισμού του ακρυλαμιδίου - Αντίδραση Maillard

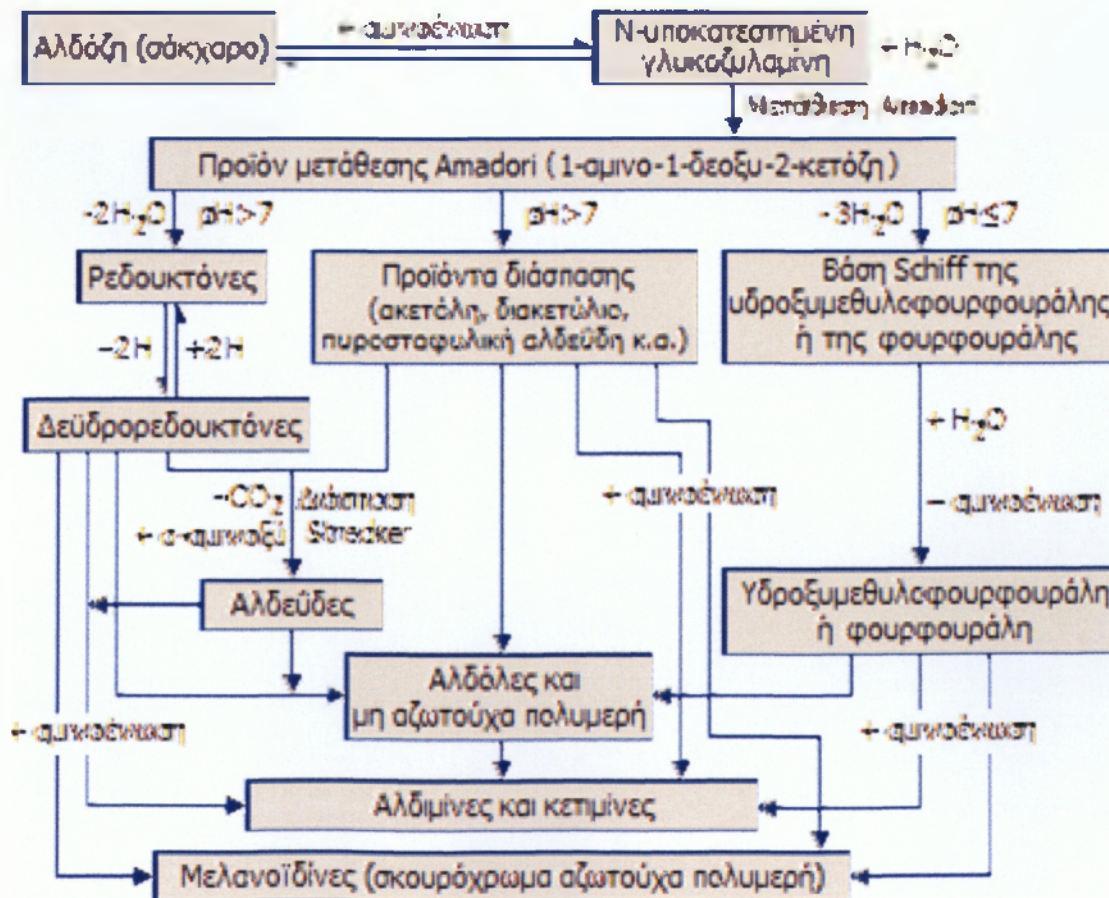
Τα σάκχαρα και η ελεύθερη ασπαραγίνη είναι οι κύριες πηγές για τη βιοσύνθεση του ακρυλαμιδίου με φυσικές διαδικασίες. Αυτό αποδείχτηκε μετά από μελέτες των Taeymans et al., 2004, οι οποίοι σύγκριναν την αντίδραση της φρουκτόζης, της σουκρόζης και της γλυκόζης με την ασπαραγίνη σε αλεύρι σίτου και κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι όλα τα σάκχαρα παράγουν ακρυλαμίδιο και τη μεγαλύτερη συγκέντρωση την έδωσε η φρουκτόζη. Ειδικότερα οι βιοχημικές αντιδράσεις που περιγράφουν τη διαδικασία σχηματισμού ακρυλαμιδίου είναι αυτές που περιγράφουν την αντίδραση Maillard.

**Πίνακας 2 : παραγωγή ακρυλαμιδίου από διάφορα σάκχαρα**

Σάκχαρο	Ακρυλαμίδιο( $\mu\text{g}$ )
Φρουκτόζη	110
Σουκρόζη	92
Γλυκόζη	72

Πηγή :Taeymans D et al., 2004

Η αντίδραση Maillard αποτελεί έναν πολύπλοκο μηχανισμό αντιδράσεων που λαμβάνει χώρα κατά τη διάρκεια της θερμικής επεξεργασίας των τροφίμων και έχει ως θετικό αποτέλεσμα την εμφάνιση των επιθυμητών οργανοληπτικών χαρακτηριστικών όπως είναι το καστανό χρώμα, η χαρακτηριστική γεύση και το άρωμα, όμως, το μειονέκτημα της είναι ότι ένα από τα προϊόντα της είναι το ακρυλαμίδιο. Η αντίδραση αυτή πραγματοποιείται μεταξύ καρβονυλοενώσεων με αμινομάδες με αποτέλεσμα τη δημιουργία σκουρόχρωμων προϊόντων γνωστών και ως μελανοϊδίνες. Έχει αποδειχτεί ότι το μοντέλο α-υδρόξυ καρβονύλιο είναι πιο αποτελεσματικό από το δι-καρβονύλιο για την παραγωγή ακρυλαμιδίου, επομένως η φρουκτόζη που περιέχει δύο α-υδρόξυ ομάδες καρβονυλίου αυξάνει το σχηματισμό ακρυλαμιδίου περίπου κατά δύο φορές περισσότερο σε σύγκριση με τα υπόλοιπα αναγωγικά σάκχαρα ( Yi Xua et al ., 2014) . Οι παράγοντες που καθορίζουν το ρυθμό ανάπτυξης της αντίδρασης Maillard είναι η θερμοκρασία, το είδος και η συγκέντρωση του αναγόμενου σακχάρου και της αμινοενώσεως, η ενεργότητα του νερού ( $a_w$ ), η παρουσία ιόντων χαλκού και το pH ( Tezer N, Ozkan R.,2001).

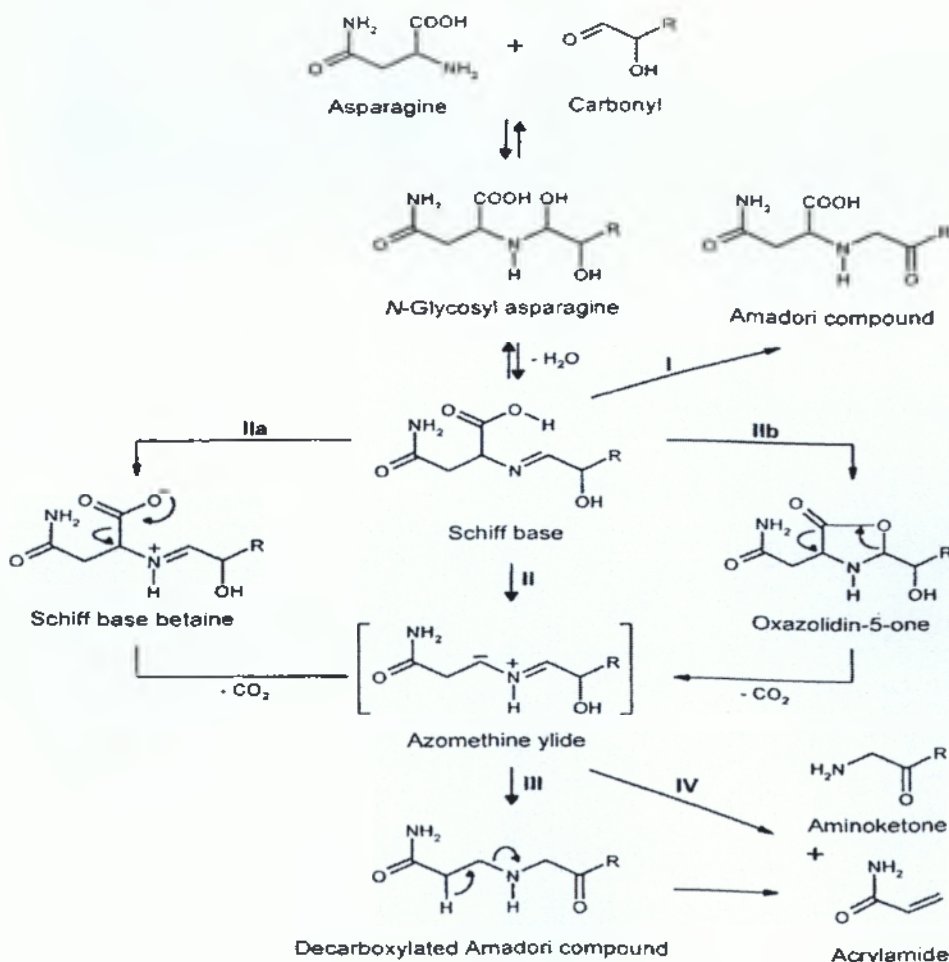


## Σχήμα 3 : αντίδραση Maillard

Πηγή : Martins S et al., 2001

## 2.2.1 Μηχανισμός ασπαραγίνης- γλυκόζης μέσω Maillard για το σχηματισμό ακρυλαμιδίου

Οι Blank et al. το 2005 με τα πειράματα τους επιβεβαίωσαν το ρόλο των ενδιάμεσων προϊόντων των αρχικών σταδίων της αντίδρασης Maillard για το σχηματισμό του ακρυλαμιδίου, δηλαδή του N- γλυκοζίτη που παράγεται από την ασπαραγίνη και τα σάκχαρα (Stadler et al.2003), της αντίστοιχης αποκαρβονυλομένης βάσης Schiff (Zyzak et al., 2003) και του προϊόντος Amadori (Yaylayan et al., 2003). Πιο αναλυτικά, στηριζόμενοι στο μηχανισμό που πρότειναν οι Stadler et al. 2004 περιγράφουν τη διαδικασία ως εξής :





**Σχήμα 4 : Μηχανισμός παραγωγής του ακρυλαμιδίου από ασπαραγίνη και μία καρβονυλομάδα** Πηγή :Stadler et al., 2004

Το πρώτο κρίσιμο βήμα είναι η αντίδραση μεταξύ ασπαραγίνης και καρβονυλίου, κατά προτίμηση κάποιου α - υδροξύ - καρβονυλίου, που έχει σαν αποτέλεσμα το συζευγμένο ενδιάμεσο, το οποίο κάτω από συνθήκες υψηλής θερμοκρασίας υδρολύεται και σχηματίζει τη βάση Schiff. Εάν η υγρασία βρίσκεται σε χαμηλά επίπεδα, ο N-γλυκοζίτης αλλά και η βάση Schiff είναι σταθερά. Σε υψηλής υγρασίας όμως συστήματα, η βάση Schiff μπορεί να υδρολυθεί στις πρόδρομες ενώσεις της ή να αναδιαταχθεί σε προϊόν Amadori (σχήμα :4) που δεν οδηγεί απαραίτητα στο σχηματισμό ακρυλαμιδίου, αλλά ακόμη και υπό συνθήκες χαμηλής υγρασίας, αυτό είναι το κύριο προϊόν(προϊόν Amadori) που στη συνέχεια οδηγεί στο σχηματισμό των 1- και 3- δεοξυσοσών (deoxyosones). Οι δεοξυσοσόνες στη συνέχεια, αποσυντίθενται και δίνουν χρώμα και άρωμα. Εναλλακτικά η βάση Schiff μπορεί να αποκαρβοξυλιωθεί σε ένα ενδιάμεσο προϊόν, το αζωμεθινικό υλίδιο (azomethine ylide) (Σχήμα :4, path II), που παρουσιάζει δύο σταθερές δομές συντονισμού, η μία εκ των οποίων οδηγεί στην αποκαρβοξυλιωμένη ένωση Amadori (Σχήμα:4,path III). Προϋπόθεση της αντίδρασης αυτής είναι η παρουσία μια υδροξυλομάδας στη β θέση ως προς το άτομο του αζώτου στη βάση του Schiff. Για αυτό και αντιδρώντα όπως 1-υδρόξυ- κετόνες (π.χ. φρουκτόζη, ακετόλη) και 2-υδρόξυαλδεύδες (π.χ. γλυκόζη, 2-υδρόξυ-1-βουτανάλη) παράγουν περισσότερο ακρυλαμίδιο σε σχέση με τις α-δικαρβονυλικές ενώσεις. Η αποκαρβοξυλίωση της βάσης Schiff σε αζωμεθινικό υλίδιο (azomethine ylide) μέσω της διαδρομής IIa, θεωρείται πιο πιθανή σε σχέση με τον κλασικό μηχανισμό αποικοδόμησης Strecker. Εναλλακτικά, μέσω της διαδρομής IIb, η βάση Schiff μπορεί να κυκλοποιηθεί. Τα προϊόντα και των δύο αυτών αντιδράσεων μπορούν να αποκαρβοξυλιωθούν και να οδηγήσουν ξανά στο προϊόν Amadori (Σχήμα: 4 path III). Στη συνέχεια απελευθερώνεται ακρυλαμίδιο μαζί με μία αμινοκετόνη, μέσω μιας αντίδρασης β- απαλοιφής και διαχωρισμού του δεσμού άνθρακα - αζώτου (Blank et al., 2005).

### 2.2.2 Σχηματισμός μέσω της ακρολεΐνης

Ακόμη το ακρυλαμίδιο μπορεί να σχηματιστεί μέσω του ακρυλικού οξέος και με τη παρουσία αμμωνίας. Το ακρυλικό οξύ παράγεται από την ακρολεΐνη (όπως αναφέραμε και παραπάνω), η οποία μπορεί να σχηματιστεί μέσω της θερμικής οξειδωσης των λιπαρών οξέων ή τη θερμική αφυδάτωση της γλυκερόλης. Η ακρολεΐνη αυξάνεται καθώς αυξάνεται και η ακορεστότητα των ελαίων. Πιο συγκεκριμένα, με τη θέρμανση των ελαίων πάνω από το σημείο καπνού τους, η γλυκερόλη υποβαθμίζεται σε ακρολεΐνη. Στον παρακάτω πίνακα φαίνονται τα σημεία καπνού μερικών από τα πιο συνηθισμένα έλαια. Στην αρχή το έλαιο υδρολύεται σε γλυκερόλη και λιπαρά οξέα και στη συνέχεια η ακρολεΐνη παράγεται από την αφυδάτωση της γλυκερόλης.

**Πίνακας 3: Σημεία καπνού διαφόρων ελαίων**

Έλαιο	Σημείο καπνού (°C)
Φοινικέλαιο	240
Φυστικέλαιο	220
Ελαιόλαδο	210
Ηλιέλαιο & Σόγια	170
Καλαμποκέλαιο	160
Μαργαρίνη	150
Βούτυρο	110

Πηγή: Taeymans et al., 2004

Παράλληλα, το ακρυλικό οξύ μπορεί να παραχθεί μέσω της αντίδρασης Maillard, είτε από ασπαρτικό οξύ με μια αντίδραση ανάλογη με αυτή που περιγράφεται από τους Yaylayan et al. (2003) για το σχηματισμό του ακρυλαμιδίου, είτε μέσω των προϊόντων του μηχανισμού αποικοδόμησης Strecker συμπεριλαμβάνοντας την 2-προπενάλη. Στην τελευταία περίπτωση, η παρουσία του ελεύθερου ασπαρτικού οξέος είναι απαραίτητη για την παραγωγή του ακρυλικού οξέος μαζί με μια πηγή καρβονυλίου.

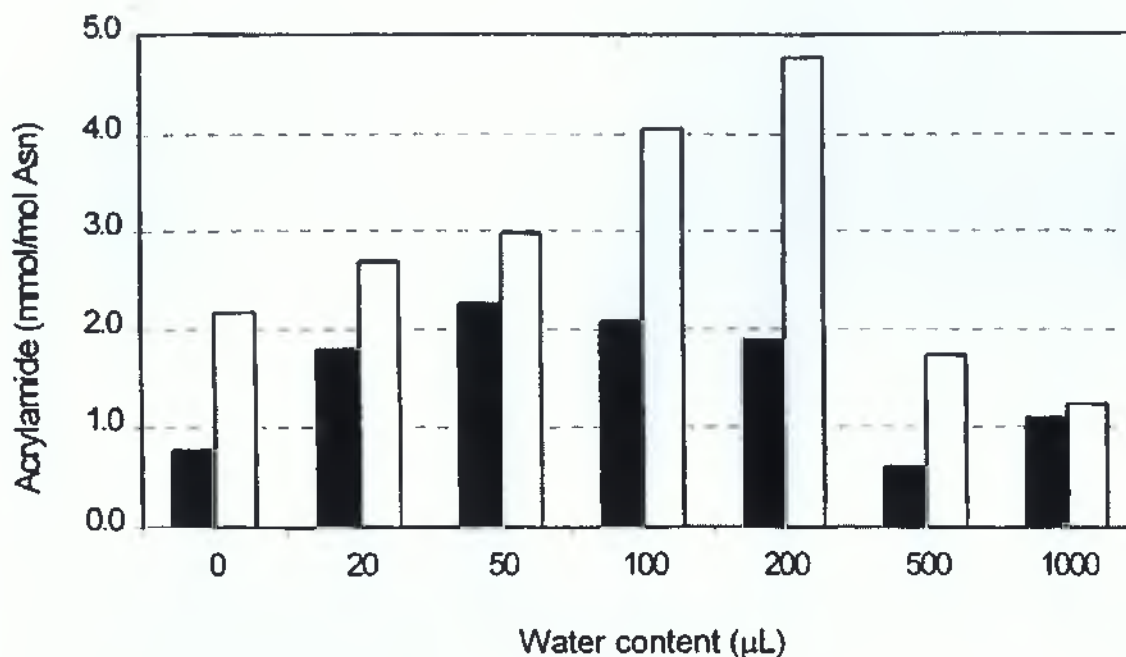
### 2.2.3 Σχηματισμός ακρυλαμιδίου μέσω αντιδράσεων αμινοξέων τα οποία δεν περιλαμβάνουν την ακρολεΐνη

Υπάρχουν πολλοί διαφορετικοί μηχανισμοί με τους οποίους σχηματίζεται ακρυλαμίδιο μέσω αμινοξέων (ή και πρωτεϊνών) χωρίς να χρειαστεί να περάσουν από το στάδιο της ακρολεΐνης. Αυτό λαμβάνει χώρα στο πλαίσιο πολύπλοκων μηχανισμών και αντιδράσεων που περιλαμβάνουν πολλά διαφορετικά στάδια και συμμετέχουν υδρολύσεις, ανακατατάξεις, αποκαρβοξυλιώσεις και απαμινώσεις. Μερικά παραδείγματα των διαδρομών αντίδρασης που έχουν προταθεί είναι και η αποκαρβοξυλίωση και η απαμίνωση της ασπαραγίνης καθώς και οι μετασχηματισμοί δεϋδροαλανινών (που σχηματίζονται από τη σερίνη ή τη κυστεΐνη).

## 2.3 Παράγοντες που επιδρούν στην Maillard και το σχηματισμό ακρυλαμιδίου

### 2.3.1 Υγρασία και ενεργότητα νερού ( $a_w$ )

Ο ρόλος του νερού στην αντίδραση Maillard είναι διπλός. Δηλαδή συμμετέχει και ως αντιδρών αλλά και ως μεταφορικό μέσο των υπόλοιπων αντιδρώντων. Στα αρχικά στάδια της αντίδρασης, 3 mol νερού σχηματίζονται για κάθε mol υδρογονάνθρακα. Οπότε καταλαβαίνουμε ότι η αντίδραση δεν ευνοείται σε περιβάλλον που υπάρχει υψηλή ενεργότητα νερού. Αν και το νερό μπορεί να καταστέλλει την αρχική αντίδραση παραγωγής της γλυκοζυλαμίνης, στη συνέχεια όμως ενισχύει την απαμίνωση για την αντίδραση παραγωγής του ακρυλαμιδίου. Αντίθετα, όταν υπάρχει πολύ χαμηλή υγρασία, τα αντιδρώντα έχουν πολύ χαμηλή κινητικότητα και γι' αυτό παρεμποδίζεται η αντίδραση. Έγιναν μελέτες σε συστήματα μοντέλων για την ιδανική συγκέντρωση νερού, την ενεργότητα νερού αλλά και τη σχετική υγρασία και καταλήγουν στο συμπέρασμα ότι εξαρτώνται από τα αντιδρώντα αλλά και από τους δείκτες που χρησιμοποιούμε για την αντίδραση Maillard (είτε την απώλεια της λυσίνης, είτε την ένταση της αμαύρωσης). Τελικά, φτάνουμε στο συμπέρασμα ότι η ιδανική ενεργότητα βρίσκεται ανάμεσα στις τιμές 0,3 και 0,7 (Eichner K. and Karel M. 1972).



Σχήμα 5 : Σχηματισμός ακρυλαμιδίου σε συστήματα ασπαραγίνης – γλυκόζης (μαύρες μπάρες) ή φρουκτόζης (άσπρες μπάρες) ως συνάρτηση της υγρασίας (180°C, 5min)

Πηγή :Blank et al., 2005

### 2.3.2 Συγκέντρωση και είδος αναγωγικών σακχάρων

Η αντίδραση Maillard απαιτεί σάκχαρα. Η αντιδραστικότητα των διαφορετικών σακχάρων μπορεί να κατηγοριοποιηθεί ως εξής:

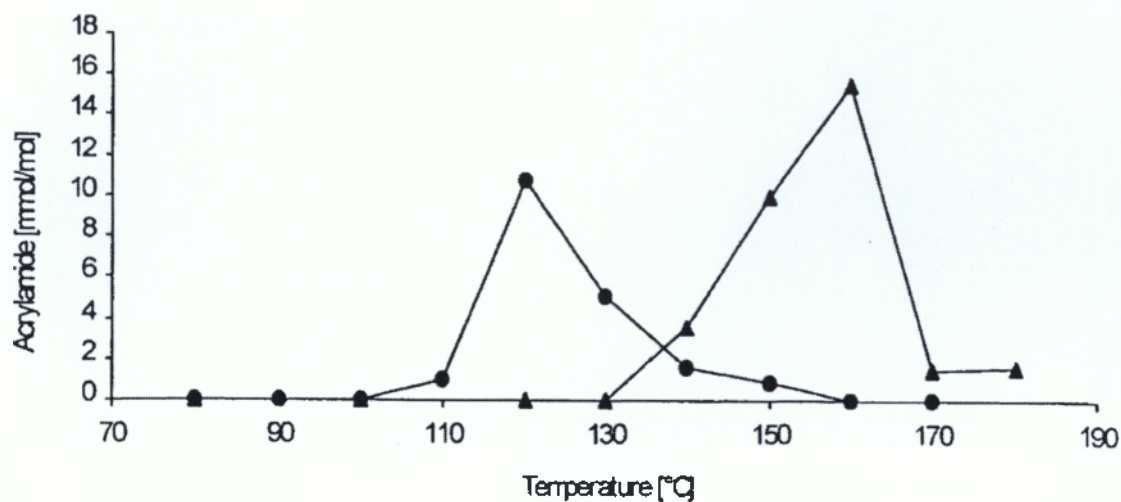
- Όσο μικρότερη είναι η ανθρακική αλυσίδα του σακχάρου, τόσο περισσότερο ακρυλαμίδιο παράγεται. Γενικότερα, όσο μικρότερη είναι η ανθρακική αλυσίδα του σακχάρου, τόσο μεγαλύτερη είναι η απώλεια της λυσίνης και άρα τόσο πιο εύκολο είναι να αντιδράσει. Το μόριο αναγκάζεται να πάρει τη δομή κυκλικής ημιακετάλης και επομένως το καρβονύλιο αντιδρά πιο εύκολα με την α-αμίνη π.χ. της ασπαραγίνης.
- Οι πεντόζες είναι πιο δραστικές από τις εξόζες και τους δισακχαρίτες στην παραγωγικότητα του καστανού χρώματος.
- Οι αλδόζες είναι πιο αντιδραστικές από τις κετόζες και σε υδατικά διαλύματα αλλά και σε περιβάλλον με χαμηλότερη υγρασία.

- Συγκρίνοντας ισομερή σάκχαρα, σημαντικό ρόλο παίζει και η στερεοχημεία τους.

Πιο συγκεκριμένα, έχει μελετηθεί η επίδραση των διαφορετικών σακχάρων στην παραγωγή του ακρυλαμιδίου. Οι Taeymans et al. το 2004 συγκρίνοντας την αντίδραση της φρουκτόζης, της σουκρόζης και της γλυκόζης με την ασπαραγίνη σε δείγματα αλεύρου σίτου, κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι όλα τα σάκχαρα παρήγαγαν ακρυλαμίδιο και τη μεγαλύτερη συγκέντρωση την έδωσε η φρουκτόζη (Πίνακας 2). Όμως στα αποτελέσματα αυτά κατέληξαν και άλλοι ερευνητές όπως είναι οι Biedermann et al. (2002c), οι Stadler et al. (2002) καθώς και οι Yaylayan et al. (2003). Επίσης, έχει παρατηρηθεί ότι για παράδειγμα σε δείγματα πατάτας, η συγκέντρωση ακρυλαμιδίου αυξάνεται γραμμικά με την αύξηση της γλυκόζης ή της φρουκτόζης όταν η συγκέντρωσή τους παραμένει κάτω από το 3% περίπου (Taeymans D et al., 2004).

### 2.3.3 Θερμοκρασία και χρόνος

Η εξάρτηση των χημικών αντιδράσεων από τη θερμοκρασία εκφράζεται συνήθως με την ενέργεια ενεργοποίησης της εξίσωσης Arrhenius. Όσο μεγαλύτερη είναι η τιμή της, τόσο περισσότερο εξαρτάται ο ρυθμός της αντίδρασης από τη θερμοκρασία. Οι ενέργειες ενεργοποίησης για την αντίδραση Maillard κυμαίνονται από 10 έως 160 kJ/mol και εξαρτώνται εκτός από άλλα και από το pH και την ενεργότητα του νερού του συστήματος στο οποίο πραγματοποιείται η αντίδραση (Blank et al., 2005).



Σχήμα 6: Σχηματισμός ακρυλαμιδίου κατά τη θέρμανση ισομοριακού μίγματος ασπαραγίνης και γλυκόζης για 5 (●) και 60 (▲) λεπτά.

Πηγή :Blank et al., 2005

### 2.3.4 pH

Ο σχηματισμός του ακρυλαμιδίου εξαρτάται από το pH όπως ακριβώς και η αντίδραση Maillard. Το pH επηρεάζει τόσο την αντιδραστικότητα των σακχάρων όσο και των αμινομάδων. Το υψηλό pH ευνοεί την μορφή ανοιχτής αλυσίδας του σακχάρου και την μη πρωτονιομένη μορφή της αμινομάδας. Το προτεινόμενο ιδανικό pH είναι μεταξύ 7–8 (Mendel Friedman Service και Don Mottram., 2005). Σύμφωνα με μελέτη, ο σχηματισμός του ακρυλαμιδίου μειώνεται κατά 99 % σε σύστημα ασπαραγίνης – γλυκόζης με μείωση του pH του ρυθμιστικού διαλύματος των φωσφορικών από 7 σε 4. Με τη μείωση του pH οι ελεύθερες μη πρωτονιομένες αμινομάδες της ασπαραγίνης μετατρέπονται σε πρωτονιομένες αμίνες ( $-NH_3^+$ ) και έτσι μπλοκάρεται ο σχηματισμός της βάσης Schiff, που είναι ένα βασικό βήμα για το σχηματισμό του ακρυλαμιδίου. Οι Jung et al. (2003) έδειξαν ότι μειώνοντας το pH, εμποτίζοντας ψητά ή τηγανητά τσιπς καλαμποκιού και τηγανιτές πατάτες σε διάλυμα κιτρικού οξέος 0,1 - 0,2 % και 1 – 2 %, αντίστοιχα, μειώθηκαν τα επίπεδα του ακρυλαμιδίου στο προϊόν. Παρόμοιες

παρατηρήσεις έγιναν και από τους Pedreschi et al. (2004) που εμπότισαν σε διαλύματα 1 και 2 % κιτρικού οξέος φέτες από πατάτες οι οποίες στη συνέχεια τηγανίστηκαν στους 150 °C. Από τα δείγματα που εμβαπτίστηκαν σε κιτρικό οξύ δεν φάνηκε να επηρεάζονται η ασπαραγίνη ή τα σάκχαρα, επομένως η μείωση του ακρυλαμιδίου αποδίδεται κυρίως στην ελάττωση του pH. Παρόλα αυτά, όταν η θερμοκρασία τηγανίσματος ανέβηκε στους 170 °C και 190 °C, το κιτρικό οξύ δεν φάνηκε να επηρεάζει το περιεχόμενο ακρυλαμιδίου. Ένα μειονέκτημα της εμβάπτισης τροφίμων σε διάλυμα κιτρικού οξέως είναι η πιθανή όξυνση ή η αλλαγή χρώματος και υφής αν δεν ακολουθηθεί πιστά μια συγκεκριμένη διαδικασία. Επίσης τα τηγανιτά σκευάσματα μπορεί να υποβαθμιστούν ποιοτικά (τάγγισμα).

### 2.3.5 Περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες

Το ακρυλαμίδιο μετρήθηκε σε διάφορα τρόφιμα και φάνηκε ότι σε προϊόντα κρέατος οι ποσότητές του είναι πολύ χαμηλότερες. Αυτό οφείλεται σε συνδυασμό παραγόντων όπως ότι είναι τρόφιμα υψηλής υγρασίας, ότι περιέχουν σχετικά πιο μικρή ποσότητα ασπαραγίνης και ότι έχουν πολλές πρωτεΐνες με τις οποίες συνδέεται το ακρυλαμίδιο μετά την παραγωγή του. Παράλληλα, άλλες μελέτες έδειξαν ότι με τη προσθήκη άλλων αμινοξέων σε συστήματα ασπαραγίνης – γλυκόζης μειώθηκε η παραγωγή ακρυλαμιδίου. Πιο συγκεκριμένα, τα αποτελέσματα της προσθήκης κυστεΐνης και λυσίνης φαίνονται στο παρακάτω πίνακα. Οι μετρήσεις έγιναν σε δείγμα πατάτας (Biedermann M., et al 2002).

**Πίνακας 4 : Αποτελέσματα μελέτης για το σχηματισμό ακρυλαμιδίου, ασπαραγίνης και ασπαραγίνης – λυσίνης / κυστεΐνης από δείγματα πατάτας**

Αμινοξύ	Ακρυλαμίδιο (μg/ δοκιμαστικό σωλήνα)
Δείγμα αναφοράς ( μόνο πατάτα)	<0,1
Ασπαραγίνη ( 0,5 mmol)	46 ± 1
Ασπαραγίνη ( 1mmol)	50 ± 16
Ασπαραγίνη (0,5mmol) + Λυσίνη (0,5mmol)	34 ± 4
Ασπαραγίνη (0,5mmol) + Κυστεΐνη (0,5mmol)	10 ± 4

**Πηγή :** Taeymans et al., 2004

Επιπλέον, όσον αφορά τη συσχέτιση του χρώματος που προκαλείται από την αντίδραση Maillard με το σχηματισμό ακρυλαμιδίου προέκυψε το συμπέρασμα ότι το χρώμα μπορεί να είναι ένας καλός δείκτης της περιεκτικότητας ακρυλαμιδίου σε ορισμένα συστήματα, αλλά αυτές οι δύο έννοιες δεν είναι άρρηκτα συνδεδεμένες ( Mendel Friedman Service και Don Mottram., 2005).

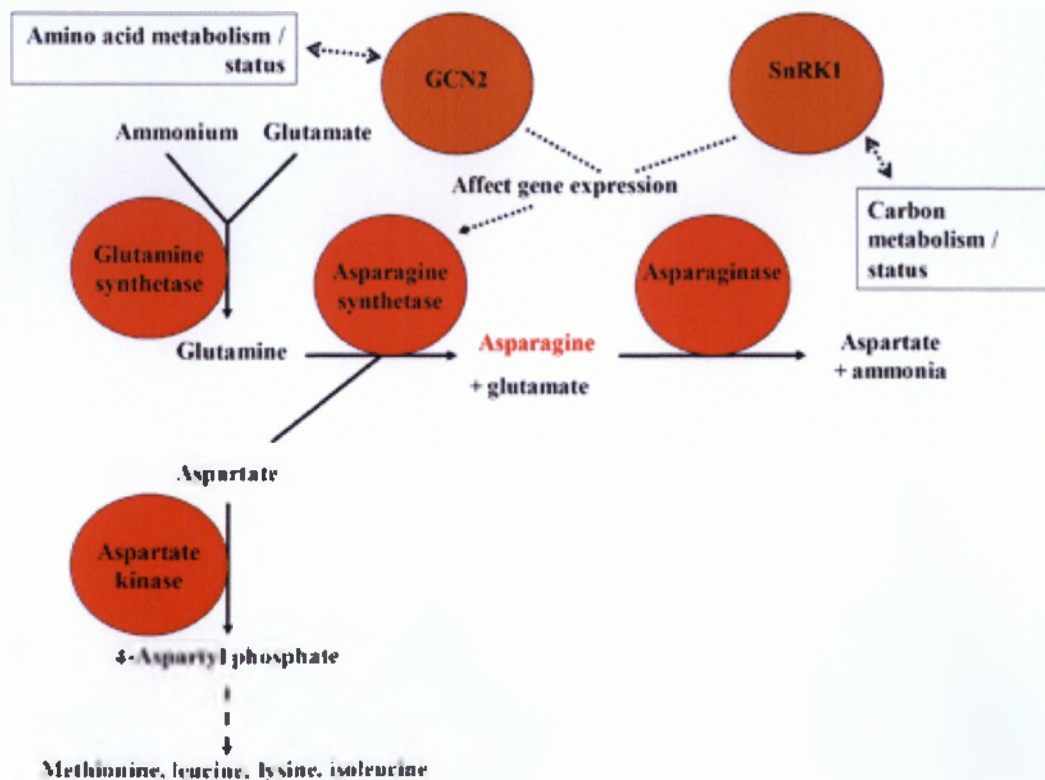


## Κεφάλαιο 3

### 3. Επίδραση γενετικών παραγόντων στο σχηματισμό ΑΑ

#### 3.1 Γενετικοί παράγοντες

Οι διαδικασίες που έχουν αναφερθεί και περιγράφουν τις βιοχημικές οδούς που οδηγούν στο σχηματισμό του ακρυλαμιδίου βρίσκονται παράλληλα και υπό τον έλεγχο γενετικών παραγόντων. Οι παράγοντες αυτοί αφορούν γονίδια που κωδικοποιούν ενζυμα που μετέχουν στις αντιδράσεις μέσω σύνθετων βιοχημικών μηχανισμών, καθώς η έκφρασή τους επηρεάζεται και από περιβαλλοντικούς παράγοντες (σχήμα 7).



Σχήμα 7 : Τα τρία στάδια μεταβολισμού για πρόδρομες ουσίες του ακρυλαμιδίου

Πηγή: Halford *et al*, 2012

Στο σχήμα 7 παρουσιάζονται ένζυμα που μετέχουν στο μεταβολισμό της ασπαραγίνης. Η βιοσύνθεση απαιτεί την αφομοίωση της αμμωνίας για την παραγωγή γλουταμίνης, μια αντίδραση που προκαλείται από τα ένζυμα λιγάση της γλουταμίνης και γλουταμική συνθάση (Lea και Mifflin, 2003, Lea και Azevedo, 2007, Lea *et al.*, 2007). Η γλουταμίνη στη συνέχεια παρέχει το άζωτο που απαιτείται για το σχηματισμό της ασπαραγίνης από ασπαρτικό και ασπαραγινική λιγάση. Δύο άλλα ένζυμα κλειδιά είναι η ασπαραγινάση, η οποία καταλύει την υδρόλυση της ασπαραγίνης με αποτέλεσμα την παραγωγή του ασπαρτικού και αμμωνίας και η ασπαρτική κινάση, η οποία ανταγωνίζεται για ασπαρτικό προκειμένου να παράξει 4- φωσφοροασπαρτυλικό, πρόδρομη ένωση για τα αμινοξέα μεθειονίνη, λευκίνη, λυσίνη και ισολευκίνη.

### 3.1.1 Τα γονίδια *SnRK1*

Όπως έχει αναφερθεί, τα απλά σάκχαρα ενέχονται άμεσα στο σχηματισμό ακρυλαμιδίου. Η ομάδα των γονιδίων *SnRK1* έχει πολλαπλές δράσεις με βασική λειτουργία στις πατάτες την επίδρασή της στην έκφραση της συνθετάσης της σουκρόζης. Ειδικότερα, αυτή η πρωτεϊνική κινάση ελέγχει την κατανομή του άνθρακα μεταξύ της βιοσύνθεσης του αμύλου και άλλων γλυκολυτικών μεταβολικών οδών σε κονδύλους πατάτας μέσω της διαφοροποίησης της έκφρασης των *SuSy* και *AGPase* γονιδίων.

### 3.1.2 Τα γονίδια *GCN2*

Η *GCN2* πρωτεϊνική κινάση αποτελεί ένα βασικό παράγοντα ελέγχου για την πρωτεϊνική σύνθεση σε όλα τα ευκαρυωτικά είδη. Η έκφραση του γονιδίου *GCN2* ενεργοποιείται σε χαμηλές συγκεντρώσεις ελεύθερων αμινοξέων και η παραγόμενη πρωτεϊνική κινάση δρα με φωσφορυλίωση της α- υπομονάδας του ευκαρυωτικού παράγοντα έναρξης μετάφρασης (*eIF2*), μειώνοντας έτσι το ρυθμό της πρωτεϊνικής σύνθεσης. Παραδόξως, φωσφορυλίωση του *eIF2* οδηγεί επίσης σε αύξηση της μετάφρασης ενός παράγοντα μεταγραφής, *GCN4*, με αποτέλεσμα την έκφραση πολλών γονιδίων, συμπεριλαμβανομένων κάποιων γονιδίων που κωδικοποιούν ένζυμα που εμπλέκονται στη βιοσύνθεση αμινοξέων. Η βιοσύνθεση των αμινοξέων ως εκ τούτου

ρυθμίζεται σε απόκριση προς τις συγκεντρώσεις ελεύθερων αμινοξέων και συντονίζεται με τον έλεγχο της πρωτεϊνοσύνθεσης. Ο μηχανισμός έχει λιγότερο μελετηθεί σε σχέση με παρόμοιες διαδικασίες των μυκήτων και απαιτεί περισσότερη έρευνα (Halford Nigel, Prosser Ian. 2013. Over -expression of GCN2-type protein kinase in plants patent WO 2013038202 A2 ).

## Κεφάλαιο 4

### 4. Τοξικότητα ακρυλαμιδίου και νομοθεσία

Από μελέτες που έχουν γίνει βρέθηκε ότι το ακρυλαμίδιο προκαλεί καρκίνο σε ζώα τα οποία εκτέθηκαν σε πολύ υψηλές δόσεις. Το 2010, η JECFA (Κοινή Οργάνωση Τροφίμων και Γεωργίας / Παγκόσμιος Οργανισμός Υγείας επιτροπής εμπειρογνομόνων για τα πρόσθετα τροφίμων) κατέληξε στο συμπέρασμα ότι το ακρυλαμίδιο προκαλεί ανησυχία για την υγεία του ανθρώπου και προτείνει επιπλέον μακροχρόνιες μελέτες. Επιπλέον, έχει προκαλέσει νευρική βλάβη σε άτομα που έχουν εκτεθεί σε πολύ υψηλά επίπεδα, όμως λιγότερο σαφείς είναι οι κίνδυνοι από το ακρυλαμίδιο που βρίσκεται στα τρόφιμα. Θεωρείται γενετοξική καρκινογόνος ουσία, διότι έχει τη δυνατότητα να προκαλεί καρκίνο κατά την αλληλεπίδρασή του με το γενετικό υλικό (DNA) σε κύτταρα. (Serife Envrin Kerekci Tekkeli.,2011). Επίσης η έκθεση του ανθρώπου σε ακρυλαμίδιο προκαλεί νευροτοξικότητα, η οποία χαρακτηρίζεται από αδυναμία των σκελετικών μυών και μούδιασμα των χεριών και των ποδιών. ( Mendel Friedman Service και Don Mottram., 2005).

Η χημική δομή του ακρυλαμιδίου (προπ-2-εναμίδιο), παρουσιάζει δύο πολικούς και δύο μη πολικούς χαρακτήρες. Αυτοί οι χαρακτήρες θεωρήθηκαν η βάση της τοξικότητας του ακρυλαμιδίου, καθώς επέτρεψαν να διαλυθεί το υδατικό μέρος του αίματος στον πολικό χαρακτήρα και να διαπεράσει ο μη πολικός χαρακτήρας τη μεμβράνη του πλάσματος (Hassan M. Albishria και Deia Abd El-Hady, 2014).

#### 4.1 Όρια και νομοθεσία

Υπάρχουν κάποιες ενδεικτικές τιμές ακρυλαμιδίου σε προϊόντα δημητριακών, οι οποίες δεν είναι τα όρια ασφαλείας, αλλά σε περίπτωση υπέρβασης, θα πρέπει να διεξαχθεί μεταγενέστερη έρευνα. Τα προϊόντα δημητριακών χωρίζονται σε 5 κατηγορίες με τις σχετικές ενδεικτικές τιμές του ακρυλαμιδίου ως εξής:

**Πίνακας 5: Ενδεικτικές τιμές σε κατηγορίες πρωινού ακρυλαμιδίου**

Κατηγορίες πρωινού	Τιμές A ( $\mu\text{g kg}^{-1}$ )
Μαλακό ψωμί	150
Πρωινό χωρίς δημητριακά με μούσλι και κουάκερ	400
Μπισκότα, κράκερ, τραγανό ψωμί και παρόμοια προϊόντα	500
Μπισκότα και φρυγανιές για βρέφη και μικρά παιδιά	250
Μεταποιημένα τρόφιμα με βάση τα δημητριακά για βρέφη και μικρά παιδιά	100

Πηγή : Veronika Forstova et al.,2014

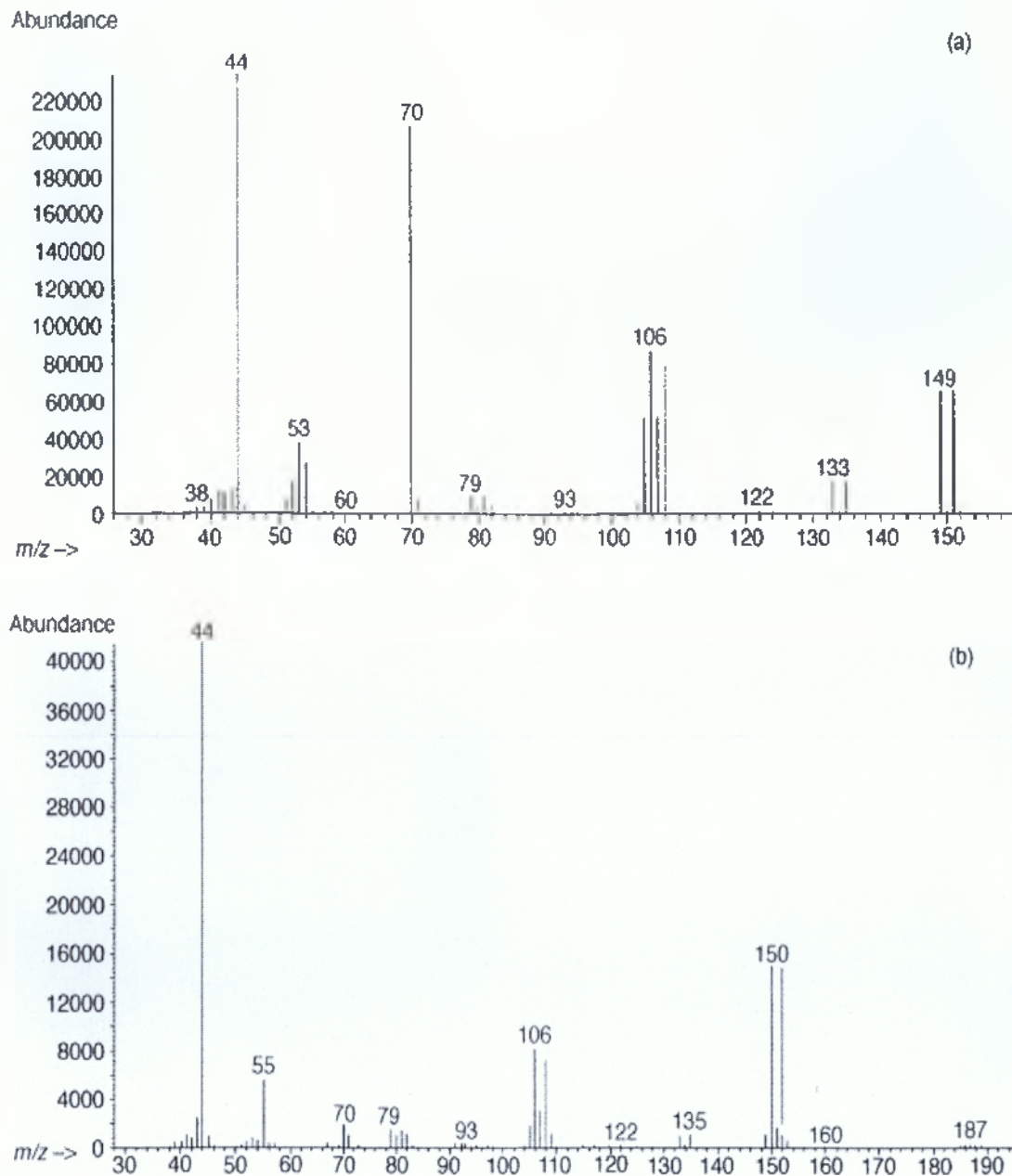
Επιπλέον, η μέση περιεκτικότητα ακρυλαμιδίου στο μαλακό ψωμί κυμαίνεται μεταξύ 30 και 75  $\mu\text{g kg}^{-1}$  στα έτη 2007-2010 ( EFSA, 2012 ). Η JECFA αναφέρει ότι τα τρόφιμα εκείνα που συνεισφέρουν περισσότερο στη συνολική πρόσληψη ακρυλαμιδίου στις περισσότερες χώρες είναι τα πατατάκια ( 16-30%) και τα συναφή σνακ (46-69%), ο καφές (13-30%), τα γλυκίσματα και τα μπισκότα (10-20%) και τα αρτοσκευάσματα (10-30%). Τα άλλα τρόφιμα συνεισφέρουν λιγότερο από 10% της συνολικής πρόσληψης ακρυλαμιδίου, η οποία στην Ευρωπαϊκή Ένωση κυμαίνεται από 0,3-1,4  $\mu\text{g}$  ανά κίλο σωματικού βάρους ανά ημέρα. Επίσης, πρόσφατα, η επιτροπή εμπειρογνομόνων της FAO / WHO ανέφερε στοιχεία σχετικά με τα επίπεδα ακρυλαμιδίου στα τρόφιμα που αναλύθηκαν μεταξύ του έτους 2004 και του 2009 από 31 χώρες (12.582 αναλυτικά αποτελέσματα από ενιαία ή σύνθετα δείγματα). Τα αποτελέσματα έδειξαν ότι υπήρχαν μεγάλες συγκεντρώσεις ακρυλαμιδίου στα τρόφιμα, οι οποίες είναι 399 έως 1.202  $\mu\text{g} / \text{kg}$  για πατατάκια, 159-963  $\mu\text{g} / \text{kg}$  για τηγανιτές πατάτες, 169-518  $\mu\text{g} / \text{kg}$  για τα cookies, 87-459  $\mu\text{g} / \text{kg}$  για κριτσίνια και κράκερ και 3 έως 68  $\mu\text{g} / \text{l}$  για τον καφέ (FAO / WHO, 2011). Επιπλέον η FAO /

WHO, όσον αφορά τα πρόσθετα τροφίμων (JECFA), εκτιμά ότι η μέση διαιτητική πρόσληψη ακρυλαμιδίου στο γενικό πληθυσμό, συμπεριλαμβανομένων και των παιδιών, είναι από 1 έως 4  $\mu\text{g} / \text{kg}$  σωματικού βάρους / ημέρα. Αξιοσημείωτο είναι ότι τα παιδιά καταναλώνουν διπλάσια ποσότητα ακρυλαμιδίου σε σύγκριση με τους ενήλικες καταναλωτές με βάση το σωματικό βάρος (FAO / WHO, 2011) (Raquel Medeiros Vinci et al., 2012).

Παρά το γεγονός ότι το περιεχόμενο του ακρυλαμιδίου που βρέθηκε στις χώρες της ΕΕ σε μαλακό ψωμί είναι αρκετά χαμηλό, για τις ευρωπαϊκές δίαιτες αποτελεί μια σημαντική πηγή ακρυλαμιδίου (EFSA, 2011). Τα αποτελέσματα που προέκυψαν στο πλαίσιο της έκθεσης της ΕΑΑΤ (Ευρωπαϊκή Αρχή για την Ασφάλεια των Τροφίμων) δείχνουν ότι η συμβολή στην διατροφική πρόσληψη ακρυλαμιδίου από μαλακό ψωμί στις χώρες της ΕΕ (Ευρωπαϊκής Ένωσης) είναι περίπου 20% μεταξύ των παιδιών και των εφήβων και έως 30% μεταξύ των ενηλίκων (EFSA, 2011). Τα ποσοστά αυτά επηρεάζονται από πολλούς παράγοντες, όπως η ηλικία ή το φύλο των ερωτηθέντων και από τις συνήθειες του καταναλωτή. (Veronika Forstova et al., 2014). Το ποσοστό πρόσληψης ακρυλαμιδίου στη διατροφή δεν επηρεάζεται μόνο από το επίπεδο του στα τρόφιμα, αλλά και από το πόσο μεγάλο μέρος αυτής της τροφής καταναλώνεται. Δηλαδή τα τρόφιμα που αποτελούν τη βάση της διατροφής μας μπορεί να είναι χαμηλά σε περιεκτικότητα ακρυλαμιδίου, όμως καταναλώνονται σε μεγάλες ποσότητες επί καθημερινή βάση, με αποτέλεσμα να οδηγεί στην αύξηση της κατανάλωσης ακρυλαμιδίου (Mendel Friedman Service και Don Mottram., 2005).

## 4.2 Μεθοδολογίες προσδιορισμού

Μέχρι τώρα οι κύριες μέθοδοι που έχουν χρησιμοποιηθεί για τον προσδιορισμό του ακρυλαμιδίου στα τρόφιμα είναι η GC/MS (το χαμηλότερο επίπεδο που μπορεί να μετρηθεί κατά τη χρήση GC-MS είναι στην κλίμακα από 5 έως 10  $\mu\text{g} / \text{kg}$ ) και η LC/MS (το όριο μέτρησης αυτής της μεθόδου είναι 20 έως 50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ), όμως οι διαδικασίες αυτές είναι σχετικά δαπανηρές και χρονοβόρες.



**Σχήμα 8: Φάσματα μάζας των παραγώγων ακρυλαμιδίου :**  
**α) 2-βρωμοπροπεναμίδιο β) 2,3-διβρωμοπροπεναμίδιο**

**Πηγή:** Yu Zhanga et al., 2005

Πρόσφατα, αναφέρθηκαν κάποιες ελπιδοφόρες προσεγγίσεις για τον ποσοτικό προσδιορισμό του ακρυλαμιδίου στα τρόφιμα, όπως είναι οι ηλεκτροχημικοί βιοαισθητήρες και οι ανοσοδοκιμασίες. Αλλά και η μέθοδος HPLC θα μπορούσε αποτελεσματικά να χρησιμοποιηθεί για τον καθορισμό του ακρυλαμιδίου στα τρόφιμα, ο σχηματισμός του οποίου θα πρέπει να διατηρείται όσο το δυνατόν χαμηλότερος. Αν

και υπάρχει ένας μεγάλος αριθμός μεθόδων σχετικά με τον προσδιορισμό του ακρυλαμιδίου, εξακολουθούν όμως να υπάρχουν αρκετά μειονεκτήματα όσον αφορά την πολυπλοκότητα των σταδίων καθαρισμού κατά τη διάρκεια της προετοιμασίας, τις χρονοβόρες διαδικασίες που απαιτούνται για κάθε δείγμα, αλλά και την κλασματοποίηση της HPLC . Επιπλέον, οι περισσότερες από τις μεθόδους που χρησιμοποιούνται, είτε εκλύουν μεγάλη ποσότητα τοξικών διαλυτών, είτε έχουν μεγάλο κόστος. Για να επιλυθούν αυτά τα προβλήματα θα πρέπει να αναπτυχθεί μία μέθοδος ανάλυσης η οποία θα έχει μικρό κόστος και θα είναι φιλική προς το περιβάλλον. (Hassan M. Albishria και Deia Abd El-Hady., 2014).

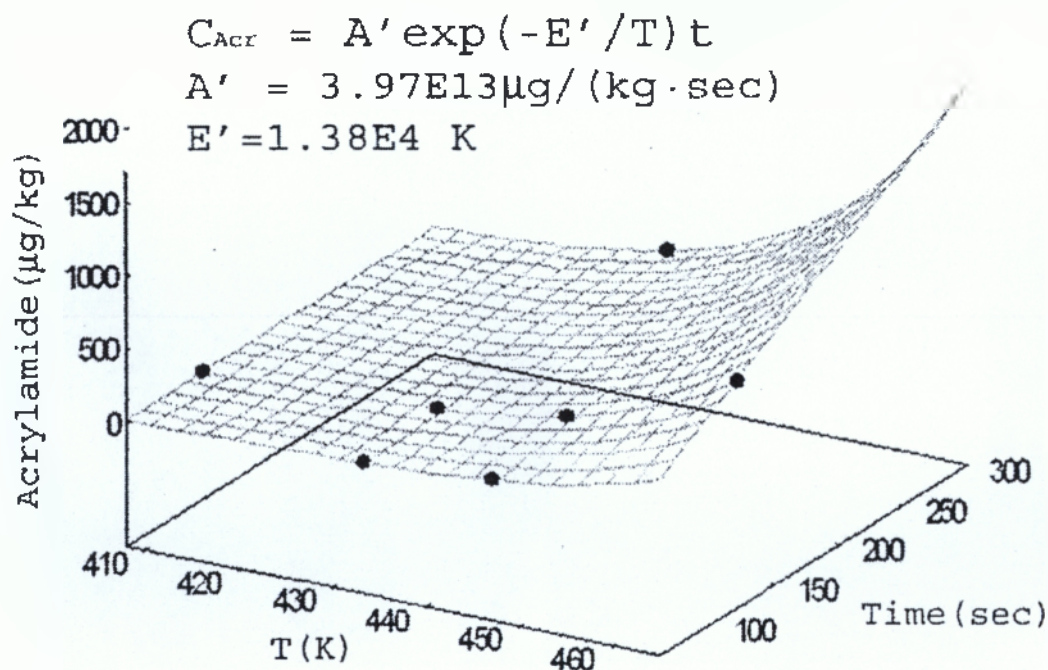
Μία τέτοια μέθοδος είναι η ELISA (ανάλυση ELISA), η οποία είναι μία γρήγορη, ισχυρή και υψηλής απόδοσης μέθοδος, με εναλλακτικές λύσεις για ενόργανες μεθόδους. Η ELISA ικανοποιεί τα κριτήρια απόδοσης και την επικύρωση των μεθόδων ανίχνευσης και έχει χρησιμοποιηθεί εκτεταμένα για τον έλεγχο τροφίμων και περιβαλλοντικών τοξικών ουσιών( Milan Franek., 2014). Επίσης η μέθοδος FLD (Ferro Liquid Display) παρουσιάζει εξαιρετικά χαρακτηριστικά όπως είναι η εύκολη λειτουργία, ο σύντομος χρόνος ανίχνευσης, το χαμηλό κόστος, αλλά και η καλή επιλεκτικότητα για τον προσδιορισμό του ακρυλαμιδίου (Congcong Liua et al., 2014)

Όμως, πρόσφατα χρησιμοποιήθηκε ακόμη μία μέθοδος, η on-line παρακολούθηση της παραγωγής του ακρυλαμιδίου. Αυτή η μέθοδος μας δίνει τη δυνατότητα να έχουμε γρήγορα αποτελέσματα αλλά και την εικόνα των κινητικών και φυσικών διεργασιών που εμπλέκονται. Με αυτόν τον τρόπο ανακαλύφθηκε η επίδραση της θερμοκρασίας και της υγρασίας στο σχηματισμό ακρυλαμιδίου.

Στόχος αυτής της ανακάλυψης ήταν να καθοριστεί η σχέση μεταξύ της παρατηρούμενης αέριας φάσης του ακρυλαμιδίου και της πραγματικής συγκέντρωσης σε ένα δείγμα, αλλά και να διερευνηθεί κατά πόσο η παραγωγή του χρώματος οφείλεται σε προϊόντα αντίδρασης Maillard και αν αυτό σχετίζεται με τη ποσότητα του ακρυλαμιδίου που σχηματίζεται. Τα συμπεράσματα αυτά διαπιστώθηκαν σε δείγματα πατάτας, σίκαλης και σιταριού, τα οποία ψήθηκαν σε φούρνο μεταφοράς θερμότητας για πάνω από 50 λεπτά στους 180°C. Στη συνέχεια λεπτοαλεσμένο δείγμα τοποθετήθηκε στην αντίδραση on-line και θερμάνθηκε ισόθερμα στους 160, 180 και 200°C. Στις περισσότερες περιπτώσεις ο σχηματισμός ακρυλαμιδίου έφτασε στο μέγιστο μέσα σε 8 λεπτά και στη συνέχεια μειώθηκε εφόσον τα δείγματα είχαν



ξεπεράσει τη περιοχή σχηματισμού ακρυλαμίδιου. Η μέγιστη αυτή τιμή καταγράφηκε ως η συγκέντρωση αέριας φάσης. Αυτή η σταθερή μείωση του ακρυλαμίδιου που παρατηρήθηκε μετά τη μέγιστη τιμή του, συνέβη διότι το ακρυλαμίδιο καταναλώνεται από μια ανταγωνιστική αντίδραση, η οποία γίνεται εμφανής όταν τα περισσότερα από τα βασικά αντιδραστήρια (ασπαραγίνη, αναγωγικά σάκχαρα και προϊόντα αντίδρασης Maillard) έχουν εξαντληθεί. Σε υψηλότερες θερμοκρασίες αυτή η εξάντληση λαμβάνει χώρα ταχύτερα με αποτέλεσμα και η κατανάλωση ακρυλαμίδιου να επιταχύνεται.



Σχήμα 9 : Το παραπάνω σχήμα μας δείχνει τη σύγκριση μεταξύ των πραγματικών και προβλεπόμενων τιμών ακρυλαμίδιου σε δείγματα πατάτας (συγκέντρωση ακρυλαμίδιου σε αναλογία με τη θερμοκρασία και το χρόνο). Οι μαύροι κύκλοι είναι οι πραγματικές τιμές ακρυλαμίδιου και το περίγραμμα της επιφάνειας είναι οι προβλεπόμενες τιμές.

Πηγή: Mendel Friedman Service και Don Mottram., 2005

## Κεφάλαιο 5

### 5. Συζήτηση: Ανάλυση δεδομένων για τις διαδικασίες παρεμπόδισης σχηματισμού ακρυλαμιδίου

Στα προηγούμενα κεφάλαια έγινε διερεύνηση και παρουσίαση των βιοχημικών διαδικασιών και των παραγόντων που συντελούν στη δημιουργία ακρυλαμιδίου. Ο σκοπός της διερεύνησης αυτής αποσκοπεί με βάση τον τρόπο σχηματισμού του ακρυλαμιδίου να αναπτυχθούν μεθοδολογίες που θα συμβάλουν στην πρόληψη και τη μείωσή του κατά την επεξεργασία των τροφίμων. Ενδεικτικά αναφέρεται ότι εξετάζοντας τον πίνακα 6 (κεφάλαιο 5), όπου παρουσιάζονται συνοπτικά τιμές του περιεχόμενου ακρυλαμιδίου σε διάφορα επεξεργασμένα τρόφιμα, παρατηρείται ότι συγκρινόμενος με αυτές του πίνακα 5 (κεφάλαιο 4) για τα επιτρεπόμενα όρια, υφίσταται σημαντική διαφορά που καθιστά επιτακτική την αναζήτηση μεθοδολογιών πρόληψης και αποφυγής σχηματισμού του ακρυλαμιδίου.

**Πίνακας 6: ενδεικτικές τιμές του περιεχόμενου ακρυλαμιδίου σε διάφορα τρόφιμα**

Κατηγορίες Φαγητών	Ενδεικτική Τιμή (MG/KG)
Τηγανιτές πατάτες - Έτοιμα γεύματα	600
Πατατάκια από φρέσκες πατάτες	
Ζύμη	1000
Κράκερ με βάση τη πατάτα	
Μαλακό ψωμί	
Ψωμί με βάση το σιτάρι	80
Μαλακό ψωμί με βάση εκτός από το σιτάρι	150

Δημητριακά πρωινού (εκτός από μούσλι και πόριτζ)	
Προϊόντα από πίτουρο-Δημητριακά ολικής άλεσης	400
Προϊόντα με βάση το σιτάρι και τη σίκαλη	300
Καλαμπόκι, βρώμη, ξεφλουδισμένο σιτάρι-Προϊόντα με βάση το σιτάρι και το ρύζι	200
Μπισκότα και Γκοφρέτες	500
Κράκερ με εξαίρεση τη βάση πατάτας	500
Κράκερ	450
Τραγανό ψωμί	1000
Ψωμί από τζίντζερ και παρόμοια προϊόντα αυτής της κατηγορίας	500
Καβουρδισμένος καφές	450
Στιγμιαίος (δ/τος) καφές	900
Υποκατάστατα του καφέ	
Υποκατάστατα του καφέ με βάση κυρίως τα σιτηρά	2000
Άλλα υποκατάστατα του καφέ	4000
Παιδικές τροφές εκτός τις μεταποιημένες τροφές με βάση τα σιτηρά	
Χωρίς αποξηραμένα δαμάσκηνα	50
Με αποξηραμένα δαμάσκηνα	80
Μπισκότα και φρυγανιές για βρέφη και μικρά παιδιά	200
Μεταποιημένες τροφές για βρέφη και μικρά παιδιά	
Τρόφιμα εκτός μπισκότων και φρυγανιές	50

Πηγή : Yi Xu et al.,2014

Η πρόληψη στο σχηματισμό ακρυλαμιδίου θα μπορούσε να επικεντρωθεί στην αντίδραση Maillard που αποτελεί τη βασική διαδικασία σχηματισμού του. Περισσότερες λεπτομέρειες για την επίδραση των παραγόντων στην αντίδραση Maillard έχουν ήδη αναφερθεί στο κεφάλαιο 2. Με βάση αυτούς τους παράγοντες μπορεί να υπάρξει μια πρώτη αντιμετώπιση στο σχηματισμό ακρυλαμιδίου. Περαιτέρω αναφέρονται συνοπτικά διαδικασίες παρεμπόδισης σχηματισμού ακρυλαμιδίου με βάση τη συγκεκριμένη βιοχημική αντίδραση αλλά, δεν αποτελούν τη μοναδική ή και ιδανική λύση.

### **5.1 Τρόποι για έλεγχο ή παρεμπόδιση ακρυλαμιδίου στην αντίδραση Maillard**

- Προσθήκη χημικών ουσιών που συναγωνίζονται την αμινομάδα, προς το σχηματισμό ομοιοπολικών προϊόντων με το καρβονύλιο του σακχάρου, όπως είναι η κυστεΐνη που σχηματίζει θυζολιδίνη. Η μέθοδος αυτή ακόμη εξετάζεται.
- Απομάκρυνση των υδατανθράκων που προσβάλλονται , μέσω διάλυσης ή με ενζυμική δράση. Είναι ένας τρόπος που δεν χρησιμοποιείται σε πολλά τρόφιμα.
- Προσθήκη χημικών ουσιών που μπλοκάρουν την καρβονυλική ομάδα των σακχάρων, όπως είναι τα θειώδη άλατα. Η τεχνική αυτή χρησιμοποιείται ιδιαίτερα σήμερα.
- Μείωση του pH.
- Μείωση της ενεργότητας του νερού (  $a_w$ ). Σε χαμηλότερες τιμές ενεργότητας νερού , παρατηρείται μείωση του ρυθμού.
- Μείωση της θερμοκρασίας.
- Απομάκρυνση του  $O_2$  και των μετάλλων ειδικά στις περιπτώσεις που υπάρχει ασκορβικό οξύ (Mendel Friedman Service, Don Mottram., 2005).

### 5.1.1 Φυσικοχημικές

Μερικοί από τους τρόπους που παρεμποδίζουν το σχηματισμό του ακρυλαμιδίου όσον αφορά το ψωμί, είναι το μέγεθος της αραίωσης, όπου αποτελεί ένα σημαντικό παράγοντα για την περιεκτικότητα του ακρυλαμιδίου, ενώ σχηματισμός του ακρυλαμιδίου είναι μεγαλύτερος στην κρούστα του ψωμιού, όπου η θερμοκρασία φθάνει σε υψηλότερες τιμές από ό, τι στην ψίχα του, όπου οι θερμοκρασίες δεν υπερβαίνουν τους 100 °C. Δηλαδή με την παραγωγή ενός μεγαλύτερου σε μέγεθος ψωμιού μπορούμε να επιτύχουμε μείωση της μέσης περιεκτικότητας του ακρυλαμιδίου λόγω της αραίωσης που προκαλείται από τη μείωση της αναλογίας της επιφάνειας προς τον όγκο. Επομένως, συμπεραίνουμε ότι, η θερμοκρασία αλλά και ο χρόνος ψησίματος είναι καθοριστικοί παράγοντες για το σχηματισμό ακρυλαμιδίου (FDE,2011). Ακόμη, μερικές μελέτες έχουν δείξει ότι ένας άλλος τρόπος μείωσης του ακρυλαμιδίου κατά 50% είναι η παρατεταμένη ζύμωση της ζύμης( 1 ώρα μετά)( Veronika Forstova et al.,2014).

Όσον αφορά τους διάφορους τύπους μπισκότων, η αύξηση του ακρυλαμιδίου επηρεάζεται από τον τύπο αλεύρου που χρησιμοποιείται. Δηλαδή, η προσθήκη αλεύρου ολικής άλεσης και πίτουρων αυξάνει τη συγκέντρωση του ακρυλαμιδίου σε σύγκριση με ένα απλό αλεύρι( Mendel Friedman Service και Don Mottram., 2005).

Επίσης, μεγάλο ενδιαφέρον υπάρχει για την αντικατάσταση των συνθετικών αντιοξειδωτικών και των τεχνητών προσθέτων στα τρόφιμα από φυσικά αντιοξειδωτικά. Δεδομένου ότι τα φυσικά αντιοξειδωτικά προέρχονται από φυσικές πηγές, δίνουν αδιαμφισβήτητη ασφάλεια στους καταναλωτές και το πλεονέκτημα να προστίθενται σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις. Παράδειγμα τέτοιων προϊόντων είναι το εκχύλισμα δενδρολίβανου, το οποίο είναι εξίσου αποτελεσματικό σε σύγκριση με άλλα αντιοξειδωτικά που χρησιμοποιούνται συνήθως για τη συντήρηση των τροφίμων ( Simona Urbancic et al., 2014). Επιπρόσθετα εκχυλίσματα είναι η μέντα, το κύμινο και ο γλυκάνισος, τα οποία συμβάλλουν στη μείωση του ακρυλαμιδίου κατά 75%, 73% και 69% αντίστοιχα (Yi Xu et al., 2014).

Όσον αφορά τους τρόπους μείωσης του ακρυλαμιδίου κατά το μαγείρεμα, βρέθηκε ότι το τηγάνισμα υπό κενό μειώνει αποτελεσματικά το σχηματισμό ακρυλαμιδίου (έως

94%) σε πατατάκια, χωρίς να επηρεάσει τα χαρακτηριστικά του χρώματος και της υφής σε σύγκριση με δείγματα, τα οποία έχουν τηγανιστεί υπό ατμοσφαιρικές συνθήκες. Αυτό, είναι αποτέλεσμα των χαμηλότερων θερμοκρασιών που χρησιμοποιούνται κατά τη διάρκεια του τηγανίσματος υπό κενό. Επιπλέον, με αυτή τη μέθοδο επιτυγχάνουμε τη μείωση της πρόσληψης ελαίου σε μεγάλο βαθμό στα τηγανιτά τρόφιμα και σνακ σε σύγκριση με το τηγάνισμα υπό ατμοσφαιρικές συνθήκες (Monica Anese et al., 2013).

Όσον αφορά τα πατατάκια, τα οποία έχουν τηγανιστεί με μη επεξεργασμένα έλαια βρέθηκε ότι περιέχουν υψηλότερα επίπεδα ακρυλαμιδίου σε σύγκριση με τα πατατάκια που έχουν τηγανιστεί με εξευγενισμένα ή επεξεργασμένα έλαια. Αυτό οφείλεται στην απομάκρυνση των οξειδωμένων προϊόντων ή/και των πρόδρομων ενώσεων καρβονυλίου με τη μέθοδο του ραφινάρισματος (Mendel Friedman Service και Don Mottram., 2005). Ακόμη, ένας τρόπος παρεμπόδισης του ακρυλαμιδίου είναι τα τεμαχισμένα κομμάτια πατάτας να ξεραθούν πριν το τηγάνισμα, ώστε να μειωθεί η ποσότητα απορρόφησης λαδιού. Η μέθοδος αυτή προσφέρει την ανάγκη μικρότερου χρόνου τηγανίσματος, αλλά με την ίδια ποιότητα προϊόντος, όσον αφορά το χρώμα και την τραγανότητα.

Επιπλέον έχουν γίνει προσπάθειες ώστε να βρεθούν πιθανές τεχνολογικές παρεμβάσεις για τη μείωση των επιπέδων του ακρυλαμιδίου στα τρόφιμα. Αυτές περιλαμβάνουν διεργασίες που αφορούν την παρεμπόδιση της αντίδρασης Maillard αλλά και τον έλεγχο της τυποποίησης. Επίσης έχει διερευνηθεί η εφαρμογή χαμηλής πίεσης για τη μείωση των επιπέδων ακρυλαμιδίου. Όμως το κενό μπορεί να χρησιμοποιηθεί είτε για την αφαίρεση ακρυλαμιδίου είτε, για να παρεμποδιστεί ο σχηματισμός του. Στην πρώτη περίπτωση (αφαίρεση ακρυλαμιδίου) εφαρμόζεται κενό στο τελικό προϊόν, δηλαδή όταν έχει ολοκληρωθεί η διαδικασία μαγειρέματος, προκειμένου να απομακρυνθεί το ήδη διαμορφωμένο ακρυλαμίδιο. Η διαδικασία αυτή επέτρεψε την απομάκρυνση μεγάλης ποσότητας ακρυλαμιδίου από μπισκότα και πατατάκια αφού προηγουμένως είχαν ενυδατωθεί σε υψηλή περιεκτικότητα νερού. Το κενό επίσης μπορεί να εφαρμοστεί και κατά τη διαδικασία της θέρμανσης με στόχο την ελαχιστοποίηση του ακρυλαμιδίου.(Monica Anese et al., 2013).

Ένας άλλος τρόπος μείωσης της περιεκτικότητας του ακρυλαμιδίου και συγκεκριμένα στα άλευρα είναι η προσθήκη γαλακτικού οξέος, αλλά και η αντικατάσταση του όξινου ανθρακικού αμμωνίου ως παράγοντα αύξησης .

Πιο συγκεκριμένα, σε ομογενοποιημένο δείγμα πατάτας, το οποίο είχε θερμανθεί στο φούρνο προστέθηκαν ελεύθερα αμινοξέα με αποτέλεσμα η περιεκτικότητα του ακρυλαμιδίου να μειωθεί περισσότερο από όλα τα αμινοξέα που δοκιμάστηκαν ( γλυκίνη, αλανίνη, λυσίνη, γλουταμίνη και γλουταμινικό οξύ ) με εξαίρεση την ασπαραγίνη (Friedman Service και Don Mottram., 2005). Αλλά και η μείωση της ασπαραγίνης συμβάλλει στην παρεμπόδιση του σχηματισμού του ακρυλαμιδίου.

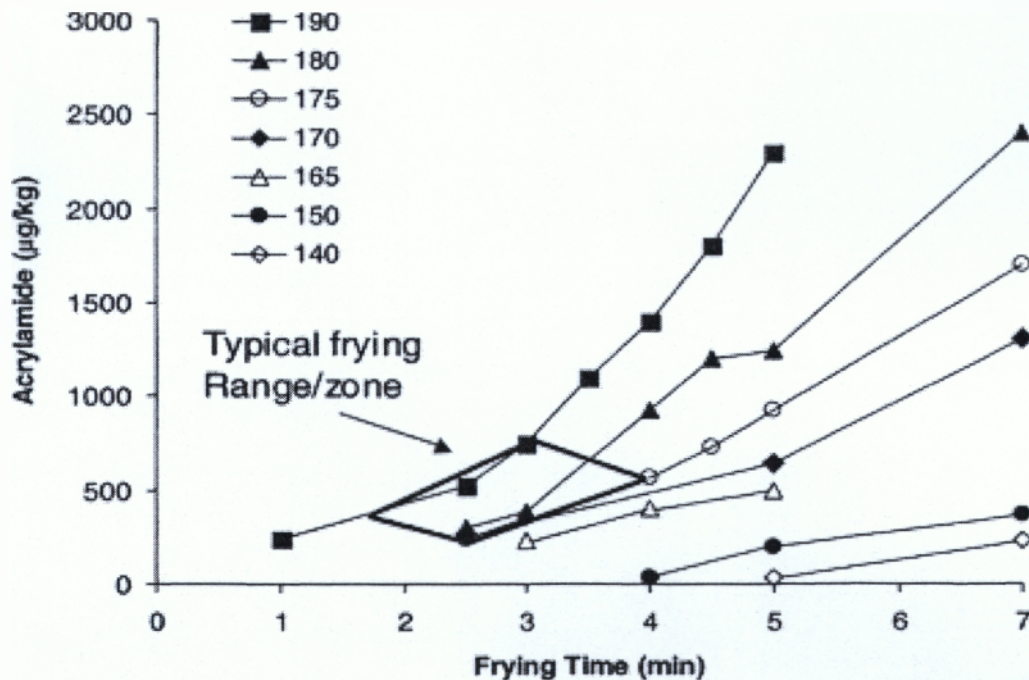
Αυτό επιτυγχάνεται με :

- Την επιλογή των ποικιλιών( π.χ πατάτας, δημητριακών) που περιέχουν χαμηλότερα επίπεδα ασπαραγίνης .
- Την εξάλειψη των ενζύμων τα οποία ελέγχουν τη βιοσύνθεση της ασπαραγίνης καταστέλλοντας τα γονίδια που τα κωδικοποιούν.
- Υδρόλυση της ασπαραγίνης σε ασπαρτικό οξύ από οξύ και/ή ασπαραγινάση/αμιδάση.
- Μετατροπή της ασπαραγίνης σε N-ακετυλασπαραγίνη μέσω ακετυλίωσης . (Javad Keramat et al ., 2010).

Επιπρόσθετοι τρόποι μείωσης του ακρυλαμιδίου σε πατάτες και τσιπς είναι αφού κοπούν οι πατάτες σε λωρίδες να εμβαπτιστούν σε διάλυμα ασπαραγινάσης, με αποτέλεσμα τη μείωση του ακρυλαμιδίου κατά 60-90%. Αλλά και η εμβάπτισή τους σε απεσταγμένο νερό και διάλυμα κιτρικού οξέος μειώνει το σχηματισμό ακρυλαμιδίου μετά το τηγάνισμα. Επιπρόσθετα η διαβροχή των τσιπς πατάτας με διάλυμα οξικού οξέος για εξήντα λεπτά στους 20°C πριν από το τηγάνισμα καταλήγει σε μείωση του ακρυλαμιδίου κατά 90%(Yi Xia και Bo Cui., 2014). Τέλος από μελέτες που έγιναν, βρέθηκε ότι οι φαινολικές ενώσεις, οι οποίες δεν περιέχουν αλδευδικές ομάδες στις δομές τους, συμβάλλουν στη μείωση του ακρυλαμιδίου.

Έχει αναφερθεί ότι το pH είναι ένα μέσο το οποίο μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τον έλεγχο του σχηματισμού ακρυλαμιδίου σε ορισμένα προϊόντα διατροφής. Αυτό βασίζεται στο γεγονός ότι η αρχική αντίδραση αμινο-καρβονύλιο παρεμποδίζεται λόγω της πρωτονίωσης της αμινομάδας σε χαμηλό pH ( έχει αναλυθεί παραπάνω) (I. Blank et al.,2005 ).

Οι προαναφερόμενες μέθοδοι παρουσιάζουν αρκετά μειονεκτήματα. Για αυτό, η μέθοδος η οποία χρησιμοποιείται περισσότερο μέχρι σήμερα με βάση τις βιοχημικές διαδικασίες της αντίδρασης Maillard, είναι η προσθήκη θειωδών αλάτων για τη παρεμπόδιση του ενζυμικού μαυρίσματος στα τρόφιμα. Οι προηγούμενες προσεγγίσεις αφορούν κυρίως λύσεις που σχετίζονται με τη παρεμπόδιση της αντίδρασης. Επιπρόσθετα αναζητούνται λύσεις που στηρίζονται στην πρόληψη δημιουργίας ακρυλαμιδίου μέσω της παρεμπόδισης σχηματισμού των αντιδρώντων ουσιών ασπαραγίνης και σακχάρων. Οι λύσεις αυτές αφορούν τεχνικές μοριακής γενετικής, κλασσικής βελτίωσης ποικιλιών ή καλλιεργητικές τεχνικές. Προσεγγίσεις αυτού του τύπου αναλύονται περαιτέρω.



Σχήμα 10: Επίδραση της θερμοκρασίας και του χρόνου τηγανίσματος στο σχηματισμό ακρυλαμιδίου σε τηγανιτές πατάτες.

Πηγή : Raquel Medeiros Vinci et al ., 2011



## 5.2 Τεχνικές γενετικής μηχανικής για το ακρυλαμίδιο

Όπως έχει ήδη αναφερθεί ομάδες γονιδίων ελέγχουν το σχηματισμό σακχάρων και πρωτεϊνών μέσω βιοχημικών ενζυμικών διαδικασιών (κεφάλαιο:3.1γενετικοί παράγοντες). Τα γονίδια που κωδικοποιούν τα προαναφερθέντα ένζυμα είναι πιθανοί στόχοι για γενετική τροποποίηση. Η μείωση της έκφρασης του γονιδίου συνθετάση ασπαραγίνης με παρεμβολή RNA (RNAi), έχει ήδη δείχθει ότι είναι αποτελεσματική στη μείωση του σχηματισμού ακρυλαμιδίου σε πατάτα (Rommens *et al.*, 2008). Επιπρόσθετα και οι ομάδες των γονιδίων *SnRK1* και *GCN2* αποτελούν στόχους για γενετικές τροποποιήσεις που επηρεάζουν τον τελικό σχηματισμό ακρυλαμιδίου μέσω του ελέγχου πρόδρομων ουσιών. Διαγονιδιακές σειρές που υπερεκφράζουν τα *SnRK1* περιέχουν μέχρι και 83% λιγότερη γλυκόζη και 30% περισσότερο άμυλο (McKibbin *et al.*, 2006). Η υπερέκφραση ενός άλλου παράγοντα μεταβολικών διεργασιών, των γονιδίων *GCN2*, έχει δείχθει ότι μειώνουν σημαντικά την έκφραση του γονιδίου συνθετάση της ασπαραγίνης (Byrne *et al.*, 2012). Ειδικότερα, υπέρ-έκφραση του *GCN2* επιτρέπει τον έλεγχο της συγκέντρωσης ελεύθερων αμινοξέων για τη βελτίωση της διατροφικής ασφάλειας σε ψήσιμο φούρνου και τηγάνισμα σε πρώτες ύλες, όπως το σιτάρι, το καλαμπόκι και οι πατάτες.

Οι λύσεις με βάση τη γενετική μηχανική έχουν το πλεονέκτημα της ταχύτητας και της αποτελεσματικότητας ως προς την επίτευξη των επιδιωκόμενων στόχων. Παρ' όλα αυτά, σε πολλές χώρες, λόγω της νομοθεσίας για χρήση ΓΤΟ (γενετικών τροποποιημένων οργανισμών), οι γενετικά τροποποιημένες ποικιλίες για χαμηλό ακρυλαμίδιο δεν επιτρέπεται να χρησιμοποιούνται. Αντίθετα, καλλιεργητικές τεχνικές και κλασσικά βελτιωμένες ποικιλίες αποτελούν μια εναλλακτική προσέγγιση για μείωση πρόδρομων ουσιών που συντελούν στο σχηματισμό ακρυλαμιδίου και αναλύονται περαιτέρω.

## 5.3 Περιβαλλοντικοί παράγοντες

### 5.3.1 Κλίμα

Οι κλιματολογικές συνθήκες κατά τη διάρκεια της ανάπτυξης των φυτικών προϊόντων και η περίοδος συγκομιδής μπορούν να επηρεάσουν το σχηματισμό του ακρυλαμιδίου. Αυτό είναι ιδιαίτερα εμφανές στους κόνδυλους της πατάτας. Για παράδειγμα, τα εξαιρετικά ζεστά καλοκαίρια οδήγησαν σε μείωση της περιεκτικότητας ζάχαρης των κονδύλων με αποτέλεσμα τη μείωση του ακρυλαμιδίου σε τηγανιτές πατάτες. (Raquel Medeiros Vinci et al .,2012)

### 5.3.2 Έδαφος

Ο τύπος του εδάφους μπορεί να επηρεάσει το ειδικό βάρος των κονδύλων και αυτό οφείλεται στην ικανότητα συγκράτησης νερού, στον αερισμό, στη δομή, τη θερμοκρασία και τη γονιμότητα του εδάφους. Ωστόσο, οι De Wilde et al.(2006), ανέφεραν μικρές διαφορές στο σχηματισμό ακρυλαμιδίου όταν συνέκριναν 16 διαφορετικές ποικιλίες που καλλιεργούνται σε αμμοπηλώδη εδάφη με χόμα αργίλου. Ακόμη σε πρόσφατη μελέτη, εξετάστηκε η επίδραση της σύνθεσης του κονδύλου σε μεταλλικά στοιχεία (η οποία επηρεάζεται τόσο από την περιεκτικότητα σε ανόργανα άλατα όσο και από το pH του εδάφους), στην έκφραση της ασπαραγίνης και των αναγωγικών σακχάρων (Whittaker et al., 2010). Οι συγγραφείς κατέληξαν στο συμπέρασμα ότι η περιοχή της καλλιέργειας επηρεάζει σημαντικά την επίδραση της ανόργανης σύνθεσης των κονδύλων. Κατά συνέπεια όταν μειώνεται η περιεκτικότητα της ζάχαρης στους κονδύλους επηρεάζεται αρνητικά η ανόργανη σύνθεση τους, στη περίπτωση όπου στο έδαφος υπάρχει κάλιο και ασβέστιο αντίθετα με την ύπαρξη ψευδαργύρου και χαλκού στο έδαφος η ανόργανη σύνθεση των κονδύλων επηρεάζεται θετικά.

Έχει βρεθεί από διάφορες μελέτες ότι η αζωτούχος λίπανση επηρεάζει την συγκέντρωση ασπαραγίνης και σακχάρων. Με μείωση της αζωτούχου λίπανσης ενισχύεται η συγκέντρωση των αναγωγικών σακχάρων με αποτέλεσμα την αύξηση του σχηματισμού ακρυλαμιδίου (De Wilde et al., 2006). Μία μέτρια αζωτούχος λίπανση σε

συνδυασμό με τη προσθήκη καλίου οδηγεί σε χαμηλά επίπεδα της ελεύθερης ασπαραγίνης και τη μείωση των σακχάρων σε κονδύλους. Αντίθετα, ο συνδυασμός της υψηλής συγκέντρωσης φωσφόρου με χαμηλή συγκέντρωση καλίου έχει αναφερθεί ότι αυξάνει την ασπαραγίνη και μειώνει τη συγκέντρωση των σακχάρων σε πατάτες. Από τα παραπάνω καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι η ύπαρξη μεταλλικών στοιχείων στην ανάπτυξη κονδύλων πατάτας, είτε λόγω της σύνθεσης του εδάφους ή της λίπανσης, έχει αντίκτυπο στις συγκεντρώσεις των πρόδρομων ενώσεων του ακρυλαμιδίου στα προϊόντα πατάτας. Τέλος θα πρέπει να υπάρχει ισορροπία μεταξύ των επιπέδων λίπανσης, προκειμένου οι κόνδυλοι πατάτας να είναι λιγότερο επιρρεπείς στο σχηματισμό ακρυλαμιδίου. Παράλληλα θα πρέπει να ληφθούν υπόψη οι πιθανές περιβαλλοντικές επιπτώσεις και τα ενδεικνυόμενα όρια γονιμοποίησης (Raquel Medeiros Vinci et al .,2012).

### 5.3.3 Ωρίμανση- Συγκομιδή

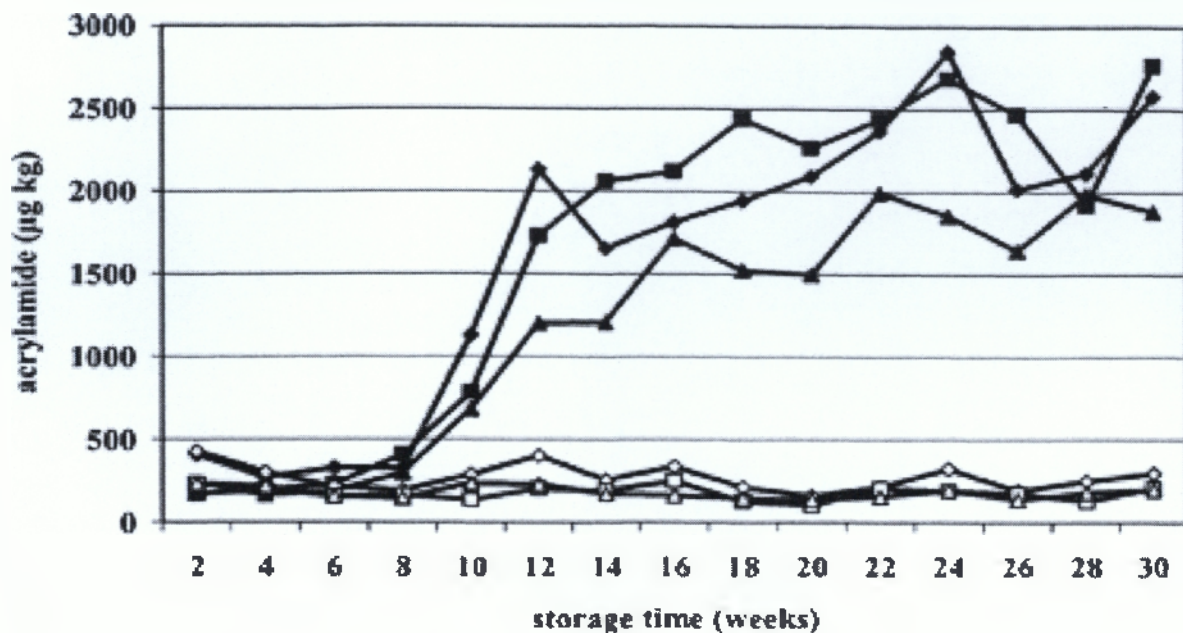
Κατά τη διάρκεια της ωρίμανσης των κονδύλων, τα θρεπτικά συστατικά μεταφέρονται από τα φύλλα προς τον κόνδυλο. Όμως σε περιπτώσεις όπως το αμπέλι η πτώση των επιπέδων σακχάρου παρατηρείται κανονικά. Επομένως η μείωση της συγκέντρωσης του σακχάρου είναι μια ένδειξη της χημικής ωριμότητας και υποδηλώνει ότι η συγκομιδή μπορεί να προχωρήσει με τη μέγιστη διατήρηση της ποιότητας η οποία θα παραμείνει και κατά τη διάρκεια της αποθήκευσης (Torres & Parreno, 2009). Η συγκομιδή των ανώριμων και συνεπώς μικρότερων κονδύλων σχετίζεται με μεγαλύτερη μείωση της περιεκτικότητας σακχάρων του κόνδυλου με αποτέλεσμα να αυξηθεί ο σχηματισμός ακρυλαμιδίου κατά την τελική επεξεργασία τους. Ωστόσο, η ωριμότητα του κόνδυλου μετά τη συγκομιδή δεν επηρεάζεται μόνο από τη μείωση των επιπέδων σακχάρου αλλά και από τις ενζυμικές διαδικασίες του φυτού (Raquel Medeiros Vinci et al .,2012).

Οι εφαρμογές των ανωτέρω μεθόδων είτε βιοχημικές, είτε γενετικές-καλλιεργητικές αναφέρονται παρακάτω για κάποια από τα προϊόντα με ευρεία κατανάλωση.

## 5.4 Μείωση ακρυλαμιδίου σε τρόφιμα με το μεγαλύτερο ποσοστό κατανάλωσης

- Πατάτα :** Η σύνθεση της πατάτας ποικίλλει σημαντικά μεταξύ των διαφόρων ποικιλιών, αλλά γενικά περιλαμβάνει 63-87% νερό, 13-37% ξηρή ύλη, 13-30% υδατάνθρακες, 0,7 - 4,6% πρωτεΐνες, 0,02 - 0,96% λιπίδια, 0,2 έως 3,5% ίνες, και 0,4-2 % τέφρα (Raquel Medeiros Vinci et al ., 2012). Πολλές έρευνες έχουν γίνει μέχρι σήμερα για τη μείωση ακρυλαμιδίου στα προϊόντα πατάτας και ιδιαίτερα στις τηγανιτές πατάτες. Τα μέτρα για τη μείωση του ακρυλαμιδίου στα προϊόντα αυτά είναι η ελεγχόμενη θερμοκρασία αποθήκευσης ακατέργαστης πατάτας, η επιλογή συγκεκριμένων ποικιλιών πατάτας και οι συνθήκες επεξεργασίας κατά το τηγάνισμα. Όσον αφορά την αποθήκευση της ακατέργαστης πατάτας και πιο συγκεκριμένα την περίπτωση της κατεψυγμένης πατάτας, θερμοκρασίες 8-10 °C προκαλούν μια έντονη αύξηση στην περιεκτικότητα των αναγωγικών σακχάρων, τα οποία προέρχονται από το περιεχόμενο άμυλο και η δράση αυτή καλείται <<low temperature sweetening>>. Τα απελευθερωμένα σάκχαρα αφενός προστατεύουν την πατάτα από την ψύξη, αλλά αφετέρου οδηγούν σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις ακρυλαμιδίου κατά τη θέρμανση.. Ακόμα και η ψύξη για μικρό χρονικό διάστημα ( λιγότερο από πέντε ημέρες) φαίνεται να προκαλεί ανάλογα αποτελέσματα στο παραγόμενο ακρυλαμίδιο.( Belitz et al., 1987).

Επίσης και το φως είναι ένας παράγοντας που ευνοεί το σχηματισμό ακρυλαμιδίου στη πατάτα. Αυτό οφείλεται στο γεγονός ότι η ύπαρξη φωτός στο χώρο αποθήκευσης της πατάτας προκαλεί αύξηση της συγκέντρωσης των σακχάρων.( Biedermann M.και Biedermann-Brem S., 2002).



Σχήμα 11: Η επίδραση του χρόνου αποθήκευσης και της θερμοκρασίας στο σχηματισμό ακρυλαμιδίου.

Πηγή : Raquel Medeiros Vinci et al ., 2011

Ένας ακόμη τρόπος μείωσης του ακρυλαμιδίου κατά το μαγείρεμα στο σπίτι είναι η θερμοκρασία να μη ξεπερνά τους 175 °C την ώρα του τηγανίσματος, με αποτέλεσμα το προϊόν μας να πάρει ένα χρυσοκίτρινο χρώμα. Θα πρέπει όμως να σημειωθεί ότι η συνολική θερμική ισχύς και όχι η απόλυτη θερμοκρασία είναι αυτή που επηρεάζει το σχηματισμό του ακρυλαμιδίου. Για το λόγο αυτό ίσως μια ακόμη καλύτερη μέθοδος είναι το τηγάνισμα για σύντομο χρονικό διάστημα σε υψηλές θερμοκρασίες, η οποία βοηθά στη μείωση της θερμικής ισχύος. Τέλος, θα πρέπει να ληφθεί υπόψη ότι η μέθοδος την οποία θα επιλέξουμε για τη μείωση του ακρυλαμιδίου δε θα πρέπει να θέτει σε κίνδυνο την ποιότητα και τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του προϊόντος. Γι αυτό καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι η πιο κατάλληλη μέθοδος είναι η μείωση της ασπαραγίνης χρησιμοποιώντας το ένζυμο ασπαραγινάση, η οποία εφαρμόζεται σε πατατάκια ( μείωση ακρυλαμιδίου έως 97%) και σε τηγανιτές πατάτες ( έως 80%) , διατηρώντας τη γεύση και το χρώμα τους. ( Mendel Friedman Service και Don

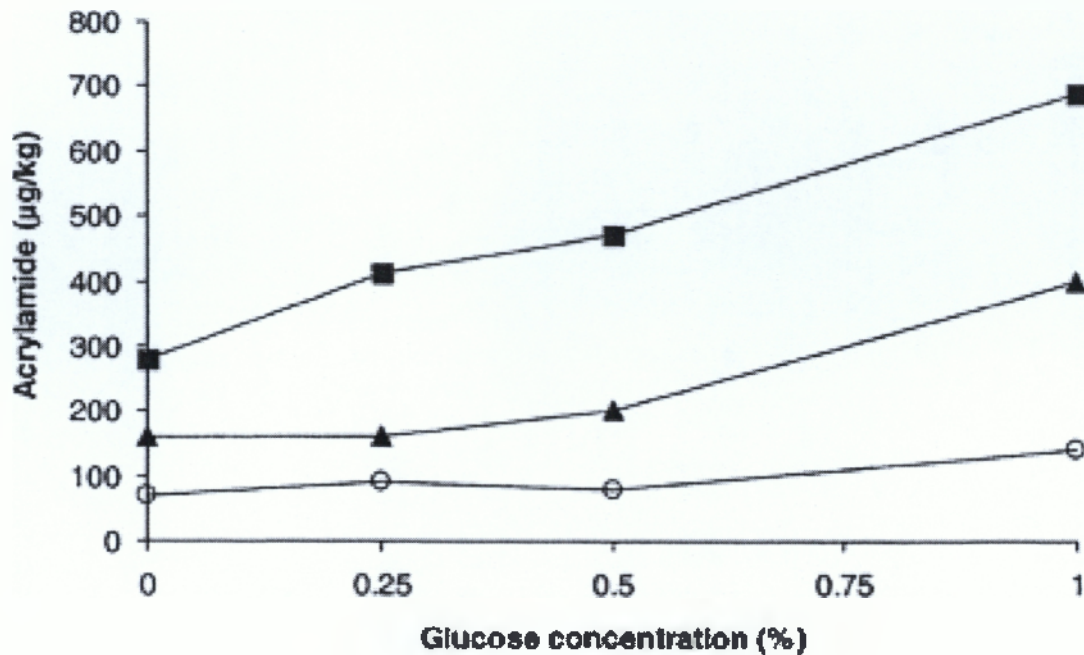
Mottram., 2005). Το ακρυλαμίδιο σχηματίζεται στην επιφανειακή στρώση του προϊόντος πατάτας, επομένως ένας ακόμη τρόπος μείωσης του ακρυλαμιδίου έχει να κάνει με τον τρόπο κοπής τους. Συγκεκριμένα, στην περίπτωση των τηγανιτών πατατών, ενδείκνυται να κόβονται είτε σε φέτες είτε σε λωρίδες και στη συνέχεια να εμβαπτίζονται σε διάλυμα ενζύμου ασπαραγινάσης με συγκέντρωση έως 12000 ASNU/ L νερού για καθορισμένο χρόνο ( όπου 1 ASNU είναι η ποσότητα του ενζύμου που απαιτείται για τη παραγωγή 1 μmol αμμωνίας ανά λεπτό κάτω από συγκεκριμένες συνθήκες αντίδρασης) (Hendriksen H et al., 2009)

**Πίνακας 7 : επίδραση του σχήματος και του τρόπου παρασκευής πατάτας στο ακρυλαμίδιο**

Σχήμα	Μέθοδοι Παρασκευής	Ακρυλαμίδιο(μg/kg)
Λεπτοκομμένες	Πριν την τελική προετοιμασία	410 ± 41
	Τηγάνισμα	539 ± 45
	Ψήσιμο	660 ± 51
	Μικροκύματα	744 ± 72
Χοντροκομμένες	Πριν τη τελική προετοιμασία	358 ± 81
	Τηγάνισμα	568 ± 41
	Ψήσιμο	704 ± 68
	Μικροκύματα	763 ± 55

**Πηγή :** Joanna Michalak · et al., 2011

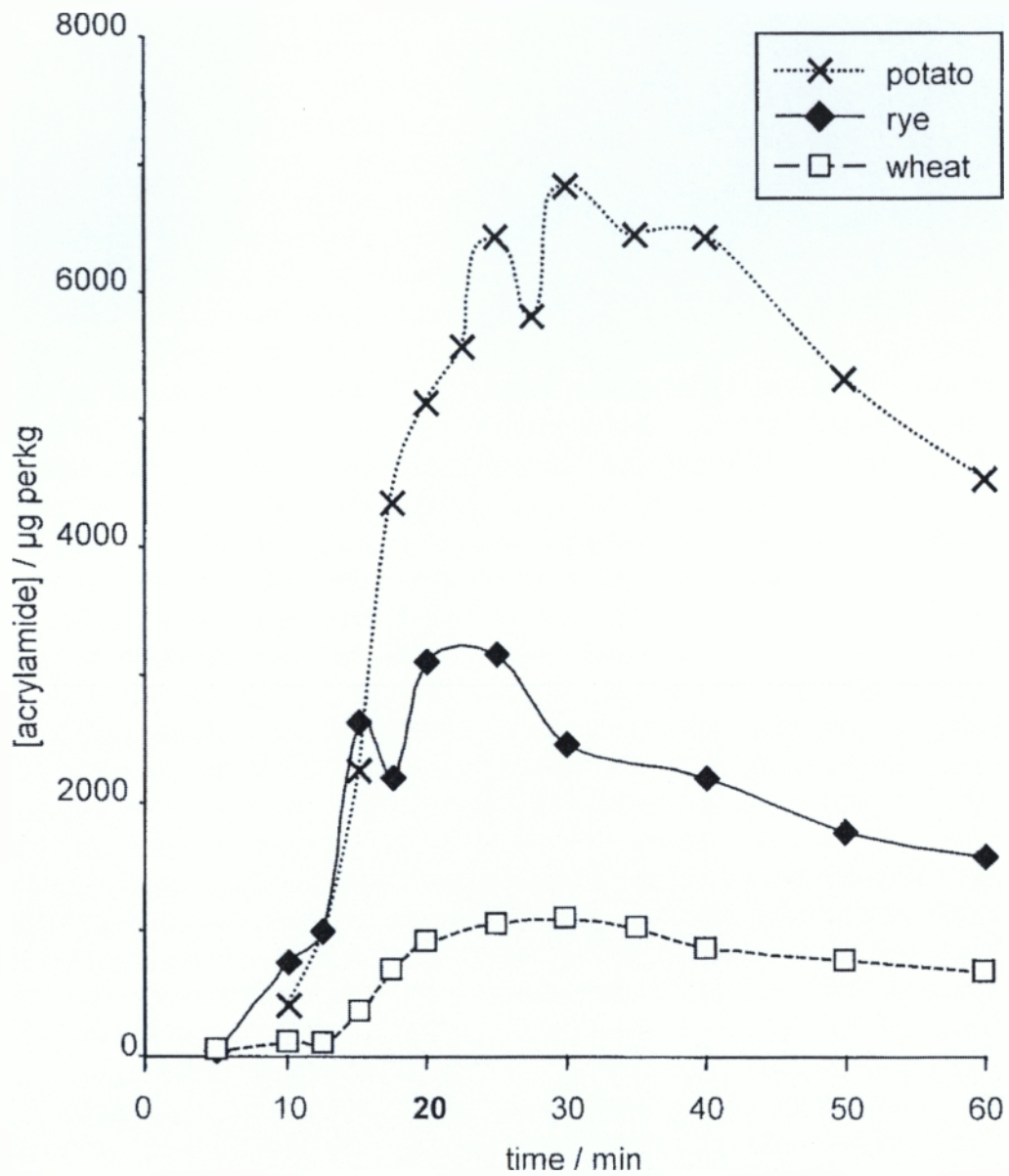
Στις βιομηχανίες μεταποίησης πατάτας χρησιμοποιείται πολύ συχνά η δεξτρόζη (γλυκόζη) με στόχο την ομοιόμορφη κατανομή χρώματος στο τελικό προϊόν. Όμως η ουσία αυτή επηρεάζει το σχηματισμό ακρυλαμιδίου όπως φαίνεται και στο παρακάτω σχήμα .



Σχήμα 12 : Συγκέντρωση ακρυλαμιδίου σε συνάρτηση με τη συγκέντρωση γλυκόζης σε τηγανιτές πατάτες.

Πηγή : Raquel Medeiros Vinci et al ., 2011

- **Σιτηρά** : μέχρι σήμερα έχει αποδειχτεί ότι η μείωση του ακρυλαμιδίου επέρχεται με την αποφυγή του υπερβολικού μαυρίσματος κατά τη διάρκεια του ψησίματος. Δεδομένου ότι ο περιοριστικός παράγοντας για το σχηματισμό ακρυλαμιδίου στα δημητριακά είναι η περιεκτικότητα σε ασπαραγίνη, για αυτό το λόγο χρησιμοποιούνται ποικιλίες με χαμηλή συγκέντρωση ασπαραγίνης.
- **Καφές** : για το προϊόν αυτό δεν έχουν βρεθεί μέθοδοι για τη μείωση του ακρυλαμιδίου. Ο μόνος τρόπος με τον οποίο έχουμε μείωση του ακρυλαμιδίου στο τελικό προϊόν είναι οι αλλαγές στις συνθήκες επεξεργασίας όπως είναι η θερμοκρασία και η διάρκεια του ψησίματος( E. Dybing et al., 2005). Επιπλέον στα προϊόντα καφέ η ασπαραγίνη και η σακχαρόζη είναι σε αφθονία και κατά το καβούρδισμα του καφέ η σακχαρόζη χωρίζεται σε γλυκόζη και φρουκτόζη. Ωστόσο υπό τις ίδιες συνθήκες ψησίματος, οι διαφορετικές ποικιλίες κόκκων καφέ αποδίδουν διαφορετικά επίπεδα ακρυλαμιδίου.( Yi Xua et al., 2014 ).



Σχήμα 13: συγκέντρωση ακρυλαμιδίου σε συνάρτηση με το χρόνο σε δείγματα σίκαλης, πατάτας και σιταριού.

Πηγή : Mendel Friedman Service και Don Mottram., 2005



## 5.4. Συμπεράσματα- Μελλοντικοί στόχοι

Η συνεχώς αυξανόμενη απαίτηση για βελτίωση της ποιότητας των τροφίμων και για την προστασία των καταναλωτών επιτάσσουν την πλήρη κατανόηση της παρουσίας του ακρυλαμιδίου στα τρόφιμα και τον προσδιορισμό όλων των πιθανών βιοχημικών μηχανισμών παρεμπόδισής του. Το ακρυλαμίδιο αποτελεί ένα παραπροϊόν της αντίδρασης Maillard και οι μελέτες δείχνουν ότι η ελεύθερη ασπαραγίνη και τα αναγωγικά ζάχαρα είναι οι κύριες πηγές σχηματισμού ακρυλαμιδίου υπό συγκεκριμένες συνθήκες, όπως είναι η χαμηλή υγρασία και η αυξημένη θερμοκρασία. Μια ομάδα λύσεων επικεντρώνεται, όπως αναφέρθηκε, στον έλεγχο της αντίδρασης Maillard και προσφέρονται λύσεις στη βιομηχανία τροφίμων για βελτίωση των προϊόντων με χημικές παρεμβάσεις. Από την άλλη, η ανάγκη για ολοκληρωμένες μεθόδους που συνδυάζουν μείωση των χημικών παρεμβάσεων και περιβαλλοντική προστασία, βασίζονται στο περιβάλλον ανάπτυξης και στις ποικιλίες που χρησιμοποιούνται για την αποφυγή σχηματισμού ακρυλαμιδίου. Μειωμένη χρήση αζωτούχου λίπανσης και κατάλληλες ποικιλίες κατά την καλλιέργεια, σε συνδυασμό με ήπιες χημικές παρεμβάσεις κατά την επεξεργασία των προϊόντων θα αποτελέσουν την πιθανή μελλοντική λύση στην αποφυγή σχηματισμού του ακρυλαμιδίου στα τρόφιμα.

## 6. Βιβλιογραφία

- Ames J, Bailey, RJ, Mann J.1998. Recent advances in the analysis of coloured Maillard reaction products. In the Maillard reaction in foods and medicine, The Royal Society Chemistry, pp 76-82
- Anese Monica, Cristina Nicoli Maria, Verando Giancarlo, Munari Marina, Mirolo Giorgio, Bortolomezzi Renzo.2013.Effect of vacuum roasting on acrylamide formation and reduction in coffee beans. ScienceDirect. 145,pp: 168-172
- Biedermann M., Biedermann-Brem S., Noti A. and Grob K. Two GC-MS Methods for the Analysis of Acrylamide in Foodstuffs, Official Food Control Authority of the Canton of Zürich, Zurich ., 2002.
- Blank F. Robert T. Goldmann P. Pollien N. Varga S. Devaud F. Saucy, T. Huynh-Ba and R. H. Stadler.2005. MECHANISMS OF ACRYLAMIDE FORMATION Maillard-induced transformation of asparagine. Chemistry and Safety of Acrylamide in Food, edited by Friedman and Mottram, Springer Science+Business.
- Blank I., Robert F., Goldmann T., Pollien P., Varga N., Devaud S., Saucy F., Huynh- Ba T. and Stadler R. H. 2005. Mechanisms Of Acrylamide Formation, Maillard induced transformation of asparagine, Chemistry and Safety of Acrylamide in Food, edited by Friedman and Mottram, Springer Science + Business Media, Inc., 171-189
- Byrne EH, Prosser I, Muttucumaru N, Curtis TY, Winkler A, Powers S, Halford NG. 2012. Manipulation of GCN2 in transgenic wheat has profound effects on free amino acid concentration and gene expression. Plant Biotechnology Journal doi: 10.1111/j.1467- 7652.2011.00665.x.
- Congcong Liu, Feng Luo, Dongmei Chen, Bin Qui, Xinhua Tang, Huixian Ke, Xi Chen.2014.Fluorescence determination of acrylamide in heat-processed foods.ScienceDirect.123, pp: 95-100

- Eichner K. and Karel M. 1972. The influence of water content and water activity on the sugar – amino browning reaction in model systems under various conditions, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 20(2), 218
- Emmanuel S., Jebasingh Joshua, Lakshmikandan M., Rajesh R.P, Raja P..2013. Biodegradation of acrylamide and purification of acrylamidase from newly isolated bacterium *Maraxella osloensis* MSU11. *ScienceDirect*.85.pp 120-125
- Evrim Serife, Tekkeli Kepekci, Önal Cem, Önal Armağan.2011. A Review of Current Methods for the Determination of Acrylamide in Food Products. *Springer Science*. 5, pp 29-39
- Forstova Veromica, Belkovo Beverly, Riddelova Katerina, Vaclavik Lucas, Prihoda Josef, Hajslova Jana.2014. Acrylamide formation in traditional Chez leavened wheat- rye breads and wheat rolls. *ScienceDirect*.38, pp: 221-226
- Franek Milan, Rubio Daniel, Diblikova Iva, Rubio Fernando.2014. Analytical evaluation of a high-throughput enzyme-linked immunosorbent assay for acrylamide determination in fried foods. *ScienceDirect*.pp: 146-150
- Friedman Mendel and Mottram Don.2005. Chemistry and safety of acrylamide in food. 561. United States of America, [springeronline.com](http://springeronline.com)
- Hassan M. Albishria, Deia Abd El-Hady.2013. Eco-friendly ionic liquid based ultrasonic assisted selective extraction coupled with a simple liquid chromatography for the reliable determination of acrylamide in food samples. *ScienceDirect*. pp: 129-136
- Hayase F, Hirashima G, O Kamoto G and Kato. 1989. Scavenging of active oxygens by melamoidines. *Agricultural and Biological Chemistry*. 53, pp 3383-3385.
- Hendriksen H. V., Kombrust B. A., Østergaard P. R. and 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
- Keramat Javad, LeBail Alain, Prost Carole and Soltanizadeh Nafiseh -. 2010. *Acrylamide in Foods: Chemistry and Analysis*.
- Kim and Hyun.2002. Food Standards Agency Report. Food Safety Authority of Ireland Report,
- Lingnert H. 1990. Development of the Maillard reaction during food processing. In the Maillard reaction , *Advances in Life Sciences*, Birkhouser Verlag, Basel,171-184

- Martins S. I. F. S., Jongen W. M. F. and Van Boeckel M. A. J. S. 2001. A review of Maillard reaction in food and implications to kinetic modeling, *Trends in Food Science & Technology* 11, 364-373.
- Mc Murry J., *Οργανική χημεία*. Ηράκλειο. Πανεπιστημιακές εκδόσεις Κρήτης, 5<sup>η</sup>.2005. pp 273-310
- McKibbin RS, Muttucumaru N, Paul MJ, Powers SJ, Burrell MM, Coates S, Purcell PC, Tiessen A, Geigenberger P, Halford NG. 2006. Production of high starch, low glucose potatoes through over expression of the metabolic regulator, SnRK1. *Plant Biotechnology Journal* 4, 409–418.
- Michalak Joanna, Gujska Elzbieta and Klepacka Joanna .2011. The Effect of Domestic Preparation of Some Potato Products on Acrylamide Content. *Heal link*.6. pp 10-957.
- Ötles, Serkan and Ötles, Semih *Acrylamide in Food - Formation of Acrylamide and Its Damages to Health* *Electronic Journal of Polish Agricultural Universities, Food Science and Technology*, Vol. 7, Issue 2, 2004
- Pedrechi, Kaack .F& Granby K.2004. Reduction of acrylamide formation in potato slices during frying. *Lebesm.Wiss.Technol*, 37(6), pp: 679-685
- Qinqin Hu, Xiahong Xu, Zhanming Li, Ying Zhang, Jianping Wang, Ying chun Fu, Yanbin Li. 2014. Detection of acrylamide in potato chips using a fluorescent sensing method based on acrylamide polymerization-induced distance increase between quantum dots. *ScienceDirect*. 54. Pp 64-71
- Raquel Medeiros Vinci, Mestdagh Frédéric, De Meulenaer Bruno .2011. Acrylamide formation in fried potato products – Present and future, a critical review on mitigation strategies. *Food Chemistry*. 133(4), pp: 1138-1154
- Rommens CM, Yan H, Swords K, Richael C, Ye J. 2008. Low acrylamide French fries and potato chips. *Plant Biotechnology Journal* 6, 843–853.
- Stadler R., Robert F., Riediker S., Varga N., Davidek T., Devaud S., Goldmann T., Hau J., & Blank I. (2004). In-depth mechanistic study on the formation of acrylamide and other vinylogous compounds by the Maillard reaction. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52, 5550-5558.
- Taeymans D., Wood J., Ashby P., Blank I., Studer A., Stadler R.H., Gondé P., Eijck V.P., Lallji S., Lingnert H., Lindblom M., Matissek R., Müller D., Tallmadge D.,

O'Brien J., Thompson S., Silvani D. and Whitmore T. 2004. A review of acrylamide: An Industry Perspective on 347

- Taeymans. D, Wood. J, Ashby. P, Blank. I, Studer. A, Stadler. R.H. A review of acrylamide: An industry perspective on research, analysis, formation, and control *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44 (5) (2004), pp. 323–347
- Tayemans D , Wood J , Ashby P , Blank I , Studer A , Stadler R.H, Gonde P , Eijck V.P, Lallji S, Lingnert H, Lindblom M ,Matissek R, Möller D, Tallmadge D, O'Brien, Thompson S, Silvani D and Whitmore T. 2004. A review of acrylamide :An Industry Perspective on Research, Analysis Formation and Control, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 44, pp 323-347
- Yaylayan V, Wnorowski A. and Perez Locas C.2003. Why Asparagine Needs Carbohydrates To Generate Acrylamide, *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51, pp 1753-1757
- Yi Xu, Bo Cui, Ran Ran, Ying Liu, Huaping Chen, Guoyin Kai, Jianxin Shi.2013. Risk assessment, formation, and mitigation of dietary acrylamide: current status and future prospects. *Food and Chemical Toxicology*
- Yi Xua, Bo Cuia, , Ran Rana, Ying Liua, Huaping Chenc, Guoyin Kaib, Jianxin Shia. 2014. Risk assessment, formation, and mitigation of dietary acrylamide: : Current status and future prospects. *Heal link*. 69, pp 1-12
- Yu Zhang, Haoran Fang, Ying Zhang.2008. Study on formation of acrylamide in asparagine–sugar microwave heating systems using UPLC-MS/MS analytical method.108(2). pp 542-550
- Yu Zhanga, Genyi Zhangb, Ying Zhanga.2005. : Occurrence and analytical methods of acrylamide in heat-treated foods: Review and recent developments.1075(1-2), pp: 1-21
- ΕΦΕΤ.2002. Παρουσίαση της τοξικής ουσίας ακρυλαμίδιο στα διάφορα είδη τροφίμων. Διαθέσιμο στη σελίδα: [http://www.efet.gr/portal/page/portal/efetnew/library/consumers\\_info/acrylamide](http://www.efet.gr/portal/page/portal/efetnew/library/consumers_info/acrylamide) . Τελευταία επίσκεψη 26/9/14.