

UNIVERZITET CRNE GORE
METALURŠKO TEHNOLOŠKI FAKULTET
HEMIJSKA TEHNOLOGIJA



Maja Blagojević

**Akrilamid u čipsu i hljebu sa crnogorskog tržišta: sadržaj
i procjena zdravstvenog rizika**

MASTER RAD

Podgorica, septembar 2024.

UNIVERZITET CRNE GORE
METALURŠKO TEHNOLOŠKI FAKULTET
HEMIJSKA TEHNOLOGIJA

**Akrilamid u čipsu i hljebu sa crnogorskog tržišta: sadržaj
i procjena zdravstvenog rizika**

MASTER RAD

Podgorica, septembar 2024.

PODACI I INFORMACIJE O MAGISTRANDU

Ime i prezime: Maja Blagojević

Datum i mjesto rođenja: 07.05.1973. godine; Podgorica

Institucija: Univerzitet Crne Gore - Podgorica

Osnovne studije: 1992. godine

Specijalističke studije:

INFORMACIJE O MAGISTARSKOM RADU

Naziv studija: Hemijska tehnologija

Naslov rada: Akrilamid u čipsu i hljebu sa crnogorskog tržišta: sadržaj i procjena zdravstvenog rizika

Fakultet: Metalurško-tehnološki fakultet

UDK, OCJENA I ODBRANA MASTER RADA

UDK:

Datum prijave rada: 27.02.2024.

Datum prihvatanja teme: 19.04.2024.

Mentori: Prof. dr Miljan Bigović

Komisija za ocjenu teme i podobnosti magistranda:

Prof. dr Biljana Damjanović-Vratnica, redovni profesor MTF-a, predsjednik

Prof. dr Miljan Bigović, vanredni profesor, Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet Crne Gore

Prof. dr Dijana Đurović, vanredni profesor na Univerzitetu Donja Gorica; Institut za javno zdravlje Crne Gore; član

Komisija za ocjenu rada:

Prof. dr Biljana Damjanović-Vratnica, redovni profesor MTF-a, predsjednik

Prof. dr Miljan Bigović, vanredni profesor, Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet Crne Gore

Prof. dr Dijana Đurović, vanredni profesor na Univerzitetu Donja Gorica; član

Komisija za odbranu radu:

Prof. dr Biljana Damjanović-Vratnica, redovni profesor MTF-a, predsjednik

Prof. dr Miljan Bigović, vanredni profesor, Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet Crne Gore

Prof. dr Dijana Đurović, vanredni profesor na Univerzitetu Donja Gorica; član

Lektor: Autolektura

Datum odbrane: septembar, 2024

IZJAVA O AUTORSTVU

Kandidat: Maja Blagojević

Na osnovu člana 22 Zakona o akademskom integritetu, ja, dolje potpisana

IZJAVLJUJEM

pod punom krivičnom i materijalnom odgovornošću da je master rad pod nazivom **„Akrilamid u čipsu i hljebu sa crnogorskog tržišta: sadržaj i procjena zdravstvenog rizika“** rezultat sopstvenog istraživačkog rada, da nisam kršila autorska prava i koristila intelektualnu svojinu drugih lica i da je navedeni rad moje originalno djelo.

Podgorica, 2024.godine

Potpis studenta

Izvod

U ovom radu ispitivan je dnevni unos akrilamida kroz konzumaciju čipsa na bazi krompira i pšeničnog hljeba. Osim toga, izvršena je procjena izloženosti dejstvu akrilamida različitih populacionih grupa (10-14 godina, 15-17 godina, 18-24 godine, 25-44 godine, 45-64 godine i 65-74 godina) usled konzumacije ispitivanih namirnica sa crnogorskog tržišta. Procjena zdravstvenog rizika zbog dejstva akrilamida kroz konzumaciju namirnica je vršena kroz procjenu nekancerogenog i kancerogenog zdravstvenog rizika. Procjena nekancerogenog rizika je vršena na osnovu vrijednosti ciljanog koeficijenta (THQ) i indeksa opasnosti (HI) dok je procjena kancerogenog rizika vršena na osnovu vrijednosti kancerogenog rizika (CR). Sadržaj akrilamida je ispitivan u 51 uzorku čipsa i 20 uzoraka hljeba. Srednji sadržaj akrilamida u čipsu je bio 238.38 µg/kg a u hljebu 39.45 µg/kg. Ustanovljeno je da sadržaj akrilamida u ispitivanim proizvodima zadovoljava kriterijume propisane evropskom direktivom (EU)2017/2158 u 98% ispitivanih uzoraka čipsa i 85% ispitivanih uzoraka hljeba. Na osnovu vrijednosti koeficijenta opasnosti (THQ) i indeksa opasnosti (HI) ustanovljeno je da nema nekancerogenog rizika od izloženosti dejstvu akrilamida za ispitivane populacione grupe. Sa druge strane, potencijalni kancerogeni rizik je detektovan za sve ispitivane populacije. Najmlađa populacija (10-14 godina) je izložena najvećem kancerogenom riziku i od konzumacije čipsa i od konzumacije hljeba. Osim toga rezultati su pokazali da su sve populacije, osim populacije od 18-24 godine, izložene većem kancerogenom riziku od konzumacije hljeba. Populacija 18-24 godine je izložena većem kancerogenom riziku od konzumacije čipsa.

Ključne riječi: Akrilamid, hljeb, čips, dnevni unos, zdravstveni rizik.

Abstract

This study aimed to investigate the daily intake of acrylamide through the consumption of potato chips and wheat-based bread and to evaluate acrylamide exposure of different children and adult population groups (10-14 years and 15-17 years, 18-24 years, 25-44 years, 45-64 years and 65-74 years) resulting from the consumption of investigated food product from Montenegrin market. Health risk assessment of acrylamide exposure was evaluated through non-carcinogenic and carcinogenic health risks due to ingestion of acrylamide through these foods consumption. Non-carcinogenic health risk was assessed through the values of target hazard index (THQ) and hazard index (HI) while carcinogenic health risk was evaluated based on the values of carcinogenic risk (CR).

The content of acrylamide was monitored in 51 samples of potato chips and 20 samples of bread samples. The average acrylamide content in potato chips and bread was calculated to be 238.38 µg/kg and 39.45 µg/kg, respectively. Acrylamide content in a tested sample met the criteria prescribed by EU directive ((EU)2017/2158) in 98 % of tested samples of chips and 85 % of bread samples. Based on the values of the target hazard index (THQ) and hazard index (HI), there is no non-carcinogenic health risk of acrylamide exposure for investigated population groups. On the other hand, the potential carcinogenic risk was detected for all investigated population groups. The youngest population (10-14 years) was exposed to the highest cancer risk through the consumption of booth, chips and bread. Moreover, results have indicated a higher cancer risk of bread consumption for all investigation populations except for the population aged 18-24 years which is faced with a higher cancer risk of chips consumption.

Keywords: akrilamid, bread, chips, daily intake, health risk.

Zahvalnica

Prvenstveno, želim da se zahvalim svom mentoru i članovima komisije na izdvojenom vremenu i stručnim i konstruktivnim savjetima, koji su mi mnogo pomogli pri pisanju rada.

Ogromnu zahvalnost dugujem svim zaposlenima Instituta za javno zdravlje Crne Gore, gdje je rađen eksperimentalni dio ovog rada, koji su svojim angažmanom doprinijeli izradi ove teze.

Posebnu zahvalnost dugujem svojoj porodici i prijateljima na bezrezervnoj podršci.

Maja Blagojević

Sadržaj

1. UVOD	1
2. FAKTORI HEMIJSKOG RIZIKA U HRANI.....	3
2.1. Toksini prirodno prisutni u hrani	3
2.2. Toksini prisutni u hrani usled neadekvatnih uslova proizvodnje ili skladištenja	4
2.3. Toksini koji se formiraju tokom procesiranja hrane	5
3. OSOBINE AKRILAMIDA.....	6
3.1. Fizičko-hemijske karakteristike akrilamida.....	6
3.2. Toksičnost akrilamida.....	8
4. AKRILAMID U PREHRAMBENIM PROIZVODIMA.....	9
4.1. Akrilamid u proizvodima na bazi žitarica.....	11
4.2. Akrilamid u proizvodima na bazi krompira.....	12
4.3. Akrilamid u kafi.....	13
5. FORMIRANJE AKRILAMIDA U HRANI	14
5.1. Faktori koji utiču na formiranje akrilamida u hrani.....	16
5.2. Formiranje akrilamida u čipsu i pomfritu	16
5.3. Formiranje akrilamida u hljebu.....	17
5.4. Formiranje akrilamida u kafi	18
6. SMANJANJE SADRŽAJA AKRILAMIDA U HRANI.....	20
6.1. Smanjenje sadržaja akrilamida u proizvodima na bazi krompira (čips i pomfrit)	20
6.2. Smanjenje sadržaja akrilamida u hlebu	22
6.3. Smanjenje sadržaja akrilamida u kafi	24
7. CILJ RADA	30
8. EKSPERIMENT I METODOLOGIJA ISPITIVANJA.....	31
8.1. Materijal i metode	31
8.2. Procjena zdravstvenog rizika	33
9. REZULTATI I DISKUSIJA	36
9.1. Sadržaj akrilamida u proizvodima u prehrambenim proizvodima.....	36
9.2. Dnevni unos akrilamida kroz konzumaciju čipsa i hljeba	40
9.3. Zdravstveni rizik	43
9.4. Kancerogeni zdravstveni rizik	45
10. ZAKLJUČAK.....	49
LITERATURA	51

1. UVOD

Ispitivanje kvaliteta i bezbjednosti hrane je tokom proteklih nekoliko decenija bilo uglavnom fokusirano na nutritivna svojstva pojedinih namirnica i prisustvo aditiva. Međutim, tokom protekle decenije, u fokusu istraživanja u oblasti bezbjednosti hrane našla su se istraživanja koja se odnose na ispitivanje faktora rizika koji uključuje konzumaciju različitih namirnica sa akcentom na prisustvo različitih zagađivača u hrani.

Toksične materije u hrani mogu biti biološkog, hemijskog ili fizičkog porijekla. Proizvodnja i distribucija hrane je veoma složen sistem pri čemu u svim fazama od "farme do viljuške" postoji rizik od potencijalnog kontaminiranja hrane. Hemijska kontaminacija iz poljoprivrede i akvakulture, pakovanja hrane, dezinfekcija i biološka kontaminacija raznim patogenim mikroorganizmima predstavljaju značajnu prijetnju po bezbjednost javnog zdravlja. Hemijsko zagađenje uključuje prisustvo teških metala, rezidua pesticida, dezinfekcionih sredstva i hemikalija koje se koriste direktno u procesu proizvodnje, pakovanja i transporta hrane. Osim toga, do hemijske kontaminacije hrane može doći i tokom samog procesa pripreme hrane (pečenja, kuvanje i sl.).

Akrilamid je jedan od glavnih zagađivača hrane bogate ugljenim hidratima i asparaginima koji nastaje termičkim postupkom pripreme hrane u uslovima niske vlažnosti. Na prisustvo akrilamida u hrani ukazala je Švedska nacionalna administracija za hranu – SNFA (Swedish National Food Administration) 2002. g. Uslijedili su slični izvještaji od strane istraživača iz Norveške, Švajcarske, UK i SAD (FAO/WHO 2004). Od otkrića prisutva akrilamida u hrani pa do danas, pokrenuta su brojna istraživanja na međunarodnom nivou koja se odnose na pojavu i količinu akrilamida u hrani, na mehanizam njegovog nastanka i na izloženost različitih ljudskih populacionih grupa dejstvu akrilamida, odnosno na procjenu zdravstvenog rizika od štetnog dejstva akrilamida.

Izloženost dejstvu akrilamida nije ograničena na konzumaciju samo jednog ili nekoliko prehrambenih proizvoda već je to postao opšti problem u ishrani ljudske populacije. Štetni efekti izloženosti ljudske populacije dejstvu akrilamida su u direktnoj vezi sa količinom akrilamida u pojedinim prehrambenim proizvodima odnosno količinom hrane koja se konzumira. Iako se neki proizvodi karakterišu niskim sadržajem akrilamida, on može predstavljati ozbiljan rizik po ljudsko zdravlje ako se konzumira često kao što je npr. slučaj sa

konzumacijom kafe.

Nakon spoznaje o prisustvu akrilamida u namirnicama i njegovom štetnom dejstvu na ljudsko zdravlje prepoznala se potreba za praćenjem i prikupljanjem podataka o pojavi i rasprostranjenosti akrilamida u hrani što je rezultiralo uspostavljanjem baza podataka za praćenje akrilamida, posebno u Evropi i SAD (Lineback et al. 2005) u cilju utvrđivanja mjera za smanjenje sadržaja akrilamida u hrani i procjene zdravstvenog rizika izloženosti ljudske populacije dejstvu akrilamida.

Ispitivanje sadržaja akrilamida u pojedinim prehrambenim namirnicama je relativno novo poglavlje u naučnoj oblasti obzirom da je tek 2002. godine ustanovljeno prisustvo akrilamida u hrani čija priprema uključuje termički tretman (prženje). Istraživanja su uglavnom bila usmjerena na ispitivanje sadržaja akrilamida u prehrambenim namirnicama (Mojska et al. 2010; Matthäus i Haase 2014; Mencin et al. 2020; Nematollahi et al. 2020). Dobijeni rezultati su ukazali na značajne varijacije u sadržaju akrilamida obzirom na razlike u uslovima termičke pripreme sirovina, temperature i vremena pripreme proizvoda kao i vrste ulja koje se koristi za njihovu pripremu.

Osim toga, istraživanja u ovom polju su bila usmjerena i na toksičnost akrilamida sa aspekta ljudskog zdravlja (Zamani et al. 2017; Rifai and Saleh 2020) a u poslednjih 10-tak godina poseban akcenat je stavljen i na procjenu zdravstvenog rizika pojedinih populacionih grupa (Hariri et al. 2015; Cieslik et al. 2020; Basaran and Faiz 2022).

Ovaj rad je imao za cilj da utvrdi prisustvo, odnosno sadržaj akrilamida u namirnicama sa crnogorskog tržišta, u čipsu i hljebu koji su uzorkovani u periodu 2021-2023 godine i da se izvrši procjena njegovog uticaja na zdravlje djece, žena i muškaraca starosne dobi od 11 do 74 godine. Ispitivanjima je obuhvaćeno 6 populacionih grupa (11-14 g.; 15-17 g.; 18-24 g.; 25-44 g.; 45-64 g. i 65-74.g.). Izvršen je proračun dnevnog unosa akrilamida za navedene populacione grupe kao i procjena kancerogenog i nekancerogenog zdravstvenog rizika kao posljedice dejstva akrilamida kroz konzumaciju čipsa i hljeba.

2. FAKTORI HEMIJSKOG RIZIKA U HRANI

Faktori rizika u hrani mogu biti hemijske i/ili mikrobiološke prirode a razlikuju se po svojim karakteristikama i štetnom uticaju na ljudsko zdravlje. Hemijski faktori rizika se dovode u vezu sa dugotrajnim izlaganjem ljudske populacije niskim dozama hemijskih supstanci, pri čemu dolazi do njihovog akumuliranja u ljudskom organizmu što u krajnjem može dovesti do ozbiljnih zdravstvenih problema. Faktori hemijskog rizika mogu biti prisutni u samoj hrani i zavise od vrste hrane koja se uzgaja kao i od količine samih kontaminanata. Osim toga izvor toksina u hrani mogu predstavljati neadekvatni uslovi proizvodnje ili skladištenja.

2.1. Toksini prirodno prisutni u hrani

Različiti su izvori mikotoksina koji su prirodno prisutni u hrani. To su uglavnom različite vrste plijesni, pečuraka i morskih plodova. Trenutno je poznato nekoliko stotina mikotoksina iz plijesni, koje često proizvode rodovi *Aspergillus*, *Penicillium* i *Fusarium*. Najistaknutiji toksini su aflatoksini, deoksinivalenol, zearealenon, ohratoksin, fumonizini i patulin.

Amatoksini su prisutni u pečurkama i predstavljaju jedan od najčešćih uzroka trovanja usled konzumiranja pečuraka (Eriksson 2005). Najveći broj smrtnih slučajeva usled konzumiranja pečuraka je uzrokovan prisustvom amatoksina. Toksin orelanin koji se nalazi isključivo u pečurkama iz roda *Cortinarius* dovodi do bubrežne insuficijencije. Toksin giromitrin, formil-metil hidrazin acetaldehid, proizvodi lažni smrčak. U procesu kuvanja, kao i u gastrointestinalnom traktu, girometrin hidrolizuje u formil-metilhidrazin, a zatim u monometilhidrazin, koji je izuzeno toksičan (Faulstich 2004). Morski fiktoksini prisutni u morskim plodovima su takođe važni hemijski faktori rizika. Mogu se podijeliti u dvije grupe zavisno od kliničke slike koju ovi toksini izazivaju. Grupa hidrofilnih neurotoksina, koja uključuje najmanje 20 derivata saksitoksina, izaziva paralizu i nazivaju se paralitičkim otrovima. Drugu grupu čine otrovi koji izazivaju smetnje u varenju i nazivaju se dijaretska grupa toksina u koje spada okadainska kiselina i šest derivata dinofizistoksina, pektenotoksini i jesotoksini (Backer et al. 2004).

2.2. Toksini prisutni u hrani usled neadekvatnih uslova proizvodnje ili skladištenja

Teški metali su jedan od najčešćih kontaminanata prisutnih u hrani koji nastaju kao rezultat neadekvatnih uslova proizvodnje ili skladištenja hrane. Neki teški metali spadaju u grupu esencijalnih mikronutrijenti sa blagotvornim uticajem na rast i razvoj, sve dok njihove koncentracije ostaju niske, ali pri visokim koncentracijama teški metali su toksični za biljke, životinje i ljude. Teški metali su perzistentni, a njihov sadržaj u hrani se povećava tokom termičkog tretmana usled smanjenja sadržaja prisutnih organskih materija (Kupper et al. 2014). Ljudska populacija unosi teške metale konzumiranjem hrane koja je kontaminirana teškim metalima dok životinje teške metale unose konzumiranjem biljne hrane u kojoj se akumuliraju teški metali iz okoline (voda, vazduh, zemljište).

U vodenim sistemima, teški metali se redistribuiraju kroz vodeni stub i sediment, i mogu se akumulirati u ribama i drugim jestivim vodenim biotama (Makedonski et al. 2017). Isto tako, u kopnenim sistemima, zagađivači se mogu apsorbovati i akumulirati u jestivim i nejestivim biljnim tkivima tokom rasta. Kadmijum (Cd) je veoma pokretljiv, slabo se adsorbuje u zemljištu i fitodostupan je, pa se stoga često detektuje u nadzemnim dijelovima biljaka (Hajeb et al. 2014). Vrsta biljaka takođe ima veliki uticaj na akumulaciju teških metala u njima. Veći stepen bioakumulacije je uočen kod lisnatog povrća u odnosu na druge vrste biljaka u mnogim studijama, što ukazuje na snažnu sposobnost ovih biljaka da akumuliraju metale iz zemljišta (Lian et al. 2019).

Izvori teških metala u fazi proizvodnje uključuju blizinu industrijskog područja i aerotaloženje, navodnjavanje sa kontaminiranom vodom i hranu proizvedenu upotrebom velike količine fosfornog đubriva (Zuliani et al. 2019; Thakali i MacRae 2021).

Meso i mesni proizvodi takođe mogu sadržati teške metale a osnovne izvore teških metala u mesu predstavljaju hrana za životinje, voda za piće i mineralni suplementi, posebno kada se koriste u većim količinama od preporučenih (Abbas et al. 2019).

Materijali koji se koriste za pakovanje hrane takođe mogu biti izvor teških metala u hrani jer metali mogu da migriraju u hranu iz materijala za pakovanje. Konzervirana hrana je posebno sklona migraciji kalaja, u zavisnosti od pH vrijednosti hrane, vremena skladištenja, temperature, izlaganja vazduhu otvorene konzervirane hrane, korozije konzerve i lošeg kvaliteta zaštitnog premaza konzerve. Materijali koji dolaze u kontakt sa hranom proizvedeni od recikliranih materijala, kao što su reciklirani polietilen tereftalat, takođe mogu doprinijeti

kontaminaciji i migraciji teških metala u hranu (Filippini et al. 2019; Thakali i MacRae 2021). Način pripreme hrane ima veliki uticaj na sadržaj teških metala u njoj. Sadržaj teških metala u hrani se smanjuje kuvanjem obzirom da su teški metali rastvorljivi u vodi (Lee et al. 2019).

Organohalogeni jedinjenja takođe predstavljaju zagađivače hrane a to su su obično sintetičke organske hemikalije sa jednim ili više halogena (hlor, brom, jod i fluor) u molekulu. Mnoga organohalogeni jedinjenja su klasifikovana kao trajni organski zagađivači ili perzistentni organski zagađivači (POPs) kao što su organohlorni pesticidi, industrijske hemikalije (npr. polibromovani difenil etri, heksabromociklododekan) i razni industrijski nusproizvodi kao što su dioksini i furani (Thakali i MacRae 2021). Prisustvo ovih toksina u hrani se dovodi u vezu sa raznim endokrinim poremećajima i kancerogenim obolijevanjem (Jones i De Voogt 1999). Izvor perzistentnih organskih zagađivača u hrani uključuje korišćenje otpadnih voda za navodnjavanje, prekomjerna upotreba pesticida i đubriva, blizina industrijskih postrojenja i toksičnih otpadnih materija kao i atmosfersko taloženje (Thakali i MacRae 2021).

Kada se prehrambeni proizvodi ili sirovine za proizvodnju hrane skladište na neodgovarajući način može doći do formiranja jedinjenja poput biogenih amina koji mogu uzrokovati razne gastrointestinalne simptome (Eriksson 2005).

2.3. Toksini koji se formiraju tokom procesiranja hrane

Posebnu vrstu toksina predstavljaju komponente koje se formiraju tokom prerade i obrade prehrambenih proizvoda, bilo u industrijskom obimu ili kod kuće. Tu spadaju 3-monohloropropan-1,2-diol koji se može formirati u širokom spektru industrijskih i domaćih namirnica i sastojaka hrane.

Zagrijavanje hrane takođe može da proizvede toksične materije kao što su policiklični aromatični ugljovodonici (PAH-ovi), za koje je poznato da nastaju prilikom pečenja na roštilju, pirolizom i piro sintezom. Na visokim temperaturama, u uslovima nepotpunog sagorijevanja (400-1000 °C), organska jedinjenja se lako mogu fragmentirati u slobodne radikale, koji se zatim mogu rekombinovati i formirati niz relativno stabilnih PAH-ova (Jägerstad i Skog 2005).

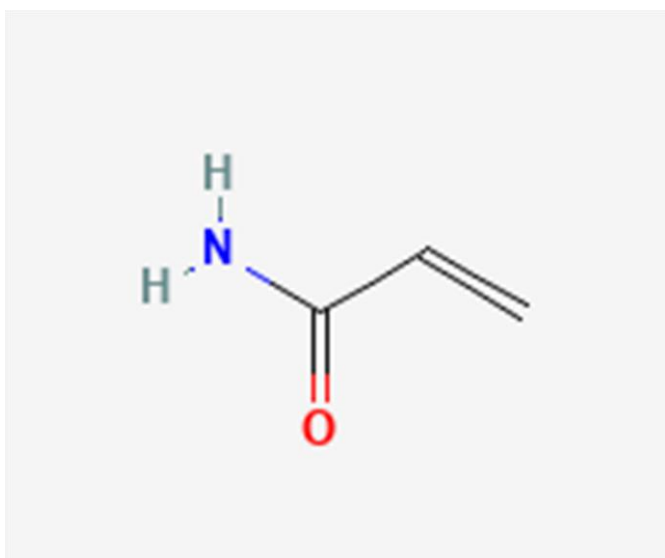
U zagrijanom/kuvanom mesu se mogu naći heterociklični amini: piridoimidazoli/indoli, hinolini, hinoksalini i piridini. Ova grupa jedinjenja nastaje pirolizovanjem aminokiselina kao što su triptofan, glutaminska kiselina, lizin, fenilalanin, kreatinin i ornitin. Dodavanje malih količina ugljenih hidrata može biti jednostavan i efikasan način za smanjenje količine

heterocikličnih amina u hrani. Osim toga, kao rezultat Millardove- reakcije, u hrani mogu biti prisutni i furani, hidroksimetilfurfural kao i akrilamid.

3. OSOBINE AKRILAMIDA

3.1.Fizičko-hemijske karakteristike akrilamida

Akrilamid (2-propanamid) je čvrsto organsko jedinjenje čija molekulska masa iznosi 71.1 g/mol, molekulske formule C_3H_5ON i strukturne formule $CH_2 = CH - CO - NH_2$ (Slika 1) Radi se o vrlo reaktivnom jedinjenju koje se dobro rastvara u vodi i organskim rastvaračima kao što su etil acetat, metanol, aceton, etanol i hloroform. S druge strane, nerastvorljiv je u heptanu i benzenu. Tačka topljenja mu je 84.5 °C a tačka ključanja 192.6 °C, rastvorljivost u vodi 371 g/L na 20 °C (Tepe i Čebi 2019). Koristi se u hemijskoj industriji za sintezu poliakrilmida koji ima veliku primjenu u tekstilnoj industriji, industriji papira, u kozmetičkoj industriji, tretmanu otpadnih voda i građevinarstvu (Shipp et al. 2006). Prisustvo akrilamida u hrani (čips, hljeb, žitarice, kafa, pomfrit) koja je bila podvrgnuta termičkom tretmanu na temperaturama iznad 120 °C je otkriveno tek 2002. g. (Tareke et al. 2002).

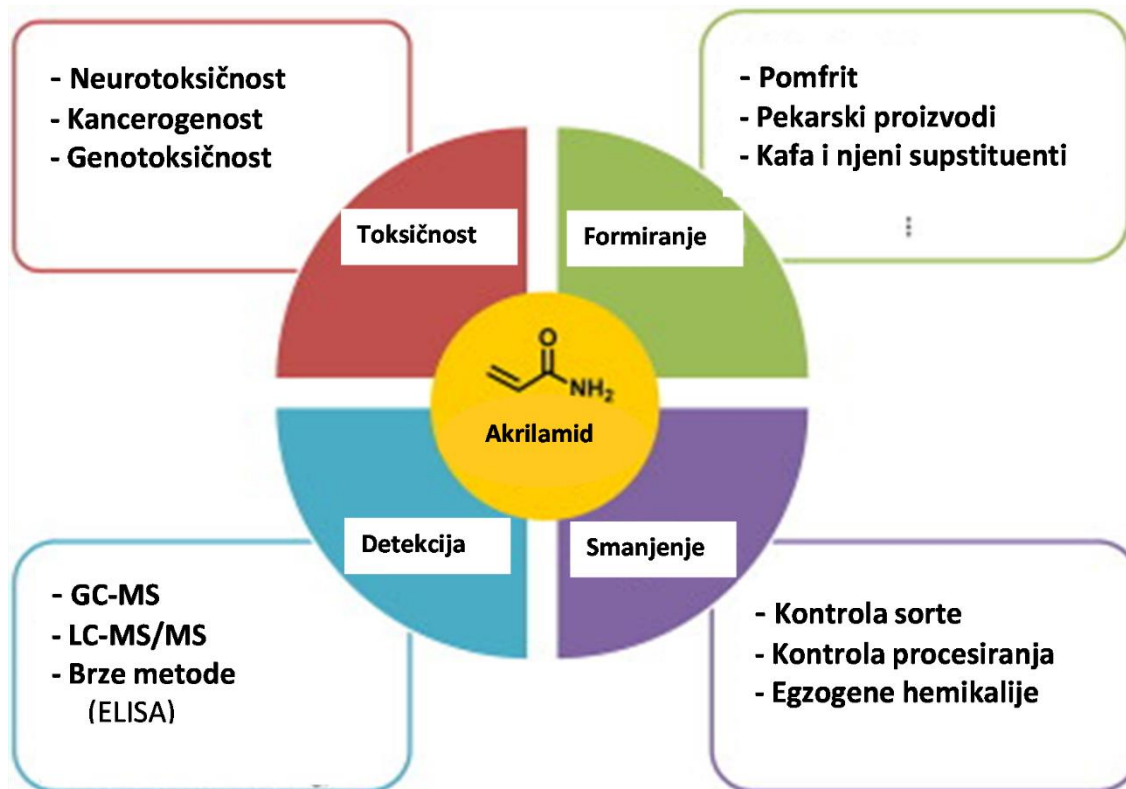


Slika 1. Hemijska struktura akrilamida (PubChem)

Prisustvo akrilamida u hrani je istraživano u poslednjih 30-tak godina a sva istraživanja se mogu sublimirati u četiri grupe (Hu et al. 2015):

- uslovi formiranja akrilamida u hrani,
- metode njegove detekcije,
- ispitivanje njegove toksičnosti
- predlozi mjera za smanjenje sadržaja akrilamida u hrani.

Istraživanja o nastanku akrilamida u hrani se mogu podijeliti u tri grupe koje se odnose na formiranje akrilamida u pomfritu, pekarskim proizvodima i kafi, odnosno njenim supstituentima. Za detekciju akrilamida u hrani koriste se GC-MS (*Gasna hromatografija sa Masenom detekcijom*), LC-MS/MS (*Tečna hromatografija sa Masenom detekcijom*) i brze metode kao što je ELISA (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay-Enzimski vezan imunosorbenti test*). Ispitivanja njegove toksičnosti se uglavnom odnose na neurotoksično, kancerogeno i genotoksično dejstvo a mjere smanjenja sadržaja akrilamida u hrani su se uglavnom odnosila na odabir sorte, kontrolu procesiranja hrane i smanjenje sadržaja egzogenih hemikalija (Slika 2) (Hu et al. 2015).



Slika 2. Pravci istraživanja prisustva akrilamida u hrani (prilagođeno iz (Hu et al. 2015))

3.2. Toksičnost akrilamida

Iako akrilamid može biti prisutan u životnoj sredini, njegove koncentracije su prilično niske tako da ne predstavljaju značajan rizik po ljudsko zdravlje. Glavni putevi izloženosti ljudske populacije dejstvu akrilamida su oralno kroz konzumaciju hrane, inhalacijom preko duvanskog dima i dermalno korišćenjem kozmetičkih preparata i tokom različitih industrijskih djelatnosti u kojima se akrilamid koristi. Nakon konzumacije, akrilamid se brzo apsorbuje iz gastrointestinalnog trakta i široko rasprostranjuje u krvi, urinu i tkivima.

Studije sprovedene na glodarima su pokazale da akrilamid ispoljava neurotoksično i genotoksično dejstvo (Hagmar et al. 2001) na centralni i periferni nervni sistem, dovodi do mutacije gena i oštećenja DNA (FAO/WHO 2002). Neurotoksičnost je jedino toksično dejstvo akrilamida koje je dokazano i na ljudima i na životinjama dok je genotoksičnost i kancerogenost dokazana na životinjama (Zamani et al. 2017).

Istraživanja koja su sprovedena na nekoliko vrsta laboratorijskih životinja kao što su mačke, pacovi, miševi, zamorci, zečevi i majmuni su otkrila da svakodnevno izlaganje dejstvu akrilamida dovodi do trostrukih neurotoksičnih efekata: ataksija, raširenost stopala na zadnjim udovima i slabost skeletnih mišića (Exon 2006; Zamani et al. 2017). Neurotoksični efekat akrilamida na ljude je dokazan tokom izgradnje željezničkog tunela u Švedskoj, kada su radnici počeli da pokazuju znakove oštećenja nervnih funkcija usled korišćenja specijalnog vodonepropusnog gela (Rhoca-Gel) koji je sadržao akrilamid (Hagmar et al. 2001; Zamani et al. 2017). Kancerogeno dejstvo akrilamida je dokazano na miševima i pacovima koji su konzumirali vodu za piće koja je sadržala akrilamid. Kod miševa, akrilamid povećava učestalost tumora pluća, inicira tumor kože nakon dermalnog izlaganja, tumor štitne žlijezde, tumor mliječnih žlijezda kao i tumor mozga (Rice 2005). Eksperimenti na glodarima su pokazali da se akrilamid veoma brzo apsorbuje putem gastrointestinalnog trakta dok absorpcija kroz kožu nije potpuna i samo 50% od primjenjene doze akrilamida se apsorbira kroz kožu (Dearfield et al. 1988). Obzirom da su eksperimenti na životinjama pokazali da akrilamid ima kancerogeno dejstvo, shodno Međunarodnoj agenciji za istraživanje kancera (*International Agency for Research on Cancer - IARC*) svrstan je kao vjerovatno kancerogeno jedinjenje klase 2A (IARC 1994).

4. AKRILAMID U PREHRAMBENIM PROIZVODIMA

Akrilamid se uglavnom formira u hrani bogatoj ugljenim hidratima i asparaginima sa niskim sadržajem proteina i u uslovima niske vlažnosti na temperaturama iznad 120 °C (Ahn et al. 2002; EFSA 2015). To su uglavnom proizvodi na bazi žitarica, krompira i kafe. Najveće koncentracije akrilamida su pronađene u proizvodima od prženog krompira i u kafi (EFSA 2015). Prema literaturnim podacima, oko 50% izloženosti ljudske populacije dejstvu akrilamida potiče od konzumacije čipsa a 20% od konzumacije pekarskih proizvoda i hljeba (Zamani et al. 2017). Najveći sadržaj akrilamida je otkriven u kori hljeba, dok ga središnji dio hljeba skoro i ne sadrži (Eriksson 2005).

Sadržaj akrilamida u prehrambenim proizvodima zavisi od tipa proizvoda, tehnološkog postupka, tačnije od temperature i vremena termičkog tretmana (Romani et al. 2008; Bušová et al. 2020). Sadržaj akrilamida u hrani je veći što je veća temperatura i vrijeme termičkog tretmana (Romani et al. 2008). Prisustvo akrilamida u namirnicama koje se kuvaju na temperaturi od 100 °C nije zapaženo.

Izloženost ljudske populacije dejstvu akrilamida je u direktnoj vezi sa prehrambenim navikama pojedinih populacionih grupa (Arisseto et al. 2009). Za njemačku populaciju uzrasta 7-19 godina ustanovljen je dnevni unos akrilamida od 0.3 µg po kg tjelesne mase (TM), u Holandiji za populaciju uzrasta 7-18 godina taj unos iznosi 0.71 µg /kg TM. Za brazilsku populaciju uzrasta 11-17 godina dnevni unos akrilamida iznosi 0.12 µg/kg TM, dok je taj unos za zemlje u razvoju 0.3-0.8 µg/kg TM (Zamani et al. 2017). Prema podacima Svjetske Zdravstvene Organizacije (SZO), procjena dnevnog unosa akrilamida iznosi 0.3-2.0 µg akrilamida po kilogramu tjelesne mase (Badanjak Sabolović i Rimac Brnčić 2016).

Obzirom da konzumacija hrane predstavlja glavni put izloženosti ljudske populacije dejstvu akrilamida i uzimajući u obzir štetno dejstvo akrilamida po ljudsko zdravlje Evropska Komisija je donijela preporuke koje se odnose na referentne vrijednosti akrilamida prisutnog u pojedinim prehrambenim proizvodima (tabela 1). Poslednje preporuke usvojene od strane Evropske Komisije su iz 2017. god i definisane su Uredbom komisije (EU) 2017/2158 o uspostavljanju mjera za ublažavanje učinaka i nivoa referentnih vrijednosti radi smanjenja prisustva akrilamida u hrani (EC 2017).

Dozvoljeni sadržaj akrilamida u pojedinim prehrambenim namirnicama je dat u Tabeli 2.

Tabela 1. Referentne vrijednosti akrilamida u hrani (EC 2017)

Hrana	Nivo referentne vrijednosti (µg/kg)
Pomfrit (gotovi)	500
Čips od svježeg krompira i krompirovog tijesta	
Krekleri na bazi krompira	750
Ostali proizvodi od krompirovog tijesta	
Meki hljeb	
(a) na bazi pšenice	50
(b) koji nije na bazi pšenice	100
Žitarice za doručak (osim kaše od zobenih pahuljica)	
• Proizvodi od mekinja i žitarice od cjelovitog zrna, ekspandirane žitarice	300
• Proizvodi na bazi pšenice i raži ¹	300
• Proizvodi na bazi kukuruza, ovsa, pira, ječma i pirinča ¹	150
Kaks i vafli	350
Krekleri osim krekeri na bazi krompira	400
Hrskavi hljeb	350
Medenjaci	800
Proizvodi slični drugim proizvodima iz ove kategorije	300
Pržena kafa	400
Instant (rastvorljiva) kafa	850
Zamjene za kafu	
(a) Zamjene za kafu isključivo na bazi žitarica	500
(b) Zamjena za kafu na bazi mješavine žitarica i cikorijske	(²)
(c) Zamjena za kafu isključivo na bazi cikorijske	4000
Dječija hrana, prerađena hrana na bazi žitarica za odojčad i malu djecu, osim keksa i dvopeka ³	40
Keksi i dvopek za odojčad i malu djecu ³	150

¹ Žitarice koje nisu od cijelog zrna i/ili bez mekinja. Žitarice prisutne u najvećoj količini određuju kategoriju.

² Za nivo referentne vrijednosti koja se primjenjuje na zamjene za kafu na bazi mješavine žitarica i cikorijske u obzir se uzima relativni odnos tih sastojaka u konačnom proizvodu.

³ Kako je definisano u Uredbi (EU) br. 609/2013.

Tabela 2. Sadržaj akrilamida u različitim namirnicima (Monika et al. 2021)

Namirnica	Sadržaj akrilamida, (µg/kg)
Pekarski proizvodi i biskviti	18-3324
Hleb	< 10-3200
Tost hleb	25-1430
Doručak na bazi žitarica	< 10-1649
Čokoladni proizvodi	< 2-826
Supstituenti za kafu	80-5399
Mlječni proizvodi	<10-130
Pomfrit/čips	59-5200
Meso	<10-<116
Sirovi krompir	<10-<50
Čips/krisp na bazi krompira	117-4215
Pržena kafa	45-9359

4.1. Akrilamid u proizvodima na bazi žitarica

Žitarice čine namirnicu koja se često koristi u ishrani. Najčešće korišćene žitarice su pšenica, riža, kukuruz, zob, ječem i heljda što čini više od 60% svjetske proizvodnje hrane (Galani et al. 2017).

Proizvodi na bazi žitarica tzv. pekarski proizvodi se u većem dijelu svijeta smatraju osnovnom hranom jer sadrže neophodne makronutrijente kao što su proteini, ugljeni hidrati i vlakna. Zbog prisustva proteina i ugljenih hidrata pekarski proizvodi su osjetljivi na stvaranje akrilamida tokom obrade na visokim temperaturama. Na stvaranje akrilamida u pekarskim proizvodima utiču mnogi faktori kao što su sastav hrane, pH, aktivitet vode, temperatura i trajanje termičkog postupka.

Kombinacijom visokih temperatura pečenja sa niskim sadržajem vlage dolazi do niza hemijskih reakcija između sastojaka hrane što na kraju procesa dovodi do promjene u sastavu gotovog pekarskog proizvoda. Pojedine reakcije su i poželjne jer dovode do poboljšanja organoleptičkih osobina hrane kao i do stvaranja željene teksture. Sa druge strane, pojedine reakcije dovode do stvaranja nepoželjnih sastojaka kao što je akrilamid. Brašno kao osnov za proizvodnju pekarskih proizvoda je bogato aminokiselinama, uključujući i asparagin, a količina asparagina je direktno povezana sa količinom nastalog akrilamida u gotovom proizvodu (Andaćić et al. 2020) .

4.2.Akrilamid u proizvodima na bazi krompira

Uz žitarice krompir čini osnovnu namirnicu većeg dijela ljudske populacije prije svega zbog nutritivnih vrijednosti, ukusa i lakog uzgoja. Krompir se kao namirnica bogata škrobom prije konzumacije mora termički obraditi da bi bio prihvatljiv za ljudski organizam. Zbog načina termičke obrade, bilo prženja ili pečenja, krompir je izvor akrilamida zbog visokog sadržaja asparagina i redukujućih šećera u gomolju. Količina nastalog akrilamida zavisi od sorte krompira, od temperature i dužine trajanja termičkog tretmana, te od količine asparagina i redukujućeg šećera, od vlažnosti namirnice, od vrste ulja koje se koristi i od načina skladištenja (temperatura, period skladištenja i vlažnost).

Različite sorte krompira imaju i različit sadržaj prekursora koji su odgovorni za stvaranje akrilamida. Naučna istraživanja pokazuju da je sorta krompira primaran faktor za stvaranje akrilamida te da različite sorte krompira Kennebec, Red Pontiac i Agria, imaju različit sadržaj prekursora za formiranje akrilamida (Yang et al. 2016). Sorta Red Pontiac je izuzetno bogata šećerom, dok se Agria odlikuje visokim sadržajem asparagina i niskim sadržajem redukujućih šećera što dovodi do hidrolize tokom termičke obrade i povećanja sadržaja akrilamida (Yang et al. 2016). Eksperimentalno je potvrđeno da se sve tri sorte krompira Kennebec, Red Pontiac i Agria razlikuju po nastanku akrilamida tokom termičkog tretmana (Yang et al. 2016). Kod Kenebek sorte primjećen je proporcionalni rast količine akrilamida sa porastom temperature, kod Red Pontiac sorte najveća količina akrilamida je nađena u pomfritu tretiranom na temperaturi od 170-190 °C, dok je kod sorte Agria utvrđeno da se sa povećanjem temperature ne stvara značajna količina akrilamida. Pored sorte krompira, bitan faktor u stvaranju akrilamida je i temperatura ulja tokom prženja. Pravilo je da se sa porastom temperature prženja i pečenja krompira povećava i količina nastalog akrilamida.

4.3. Akrilamid u kafi

Kafa je zbog senzornih karakteristika, primamljivog i stimulativnog ukusa kao i zbog prisustva bioaktivnih komponenti najpopularniji napitak u svijetu (Anese et al. 2014). Zdravstvene prednosti konzumacije kafe su impresivne. Dokazano je da utiče na rad mozga (Ruxton 2008), ubrzava metabolizam, smanjuje rizik od demencije, Alchajmerove (Maia i De Mendonça 2002) i Parkinsonove bolesti i dijabetesa tipa 2 (Huxley et al. 2009).

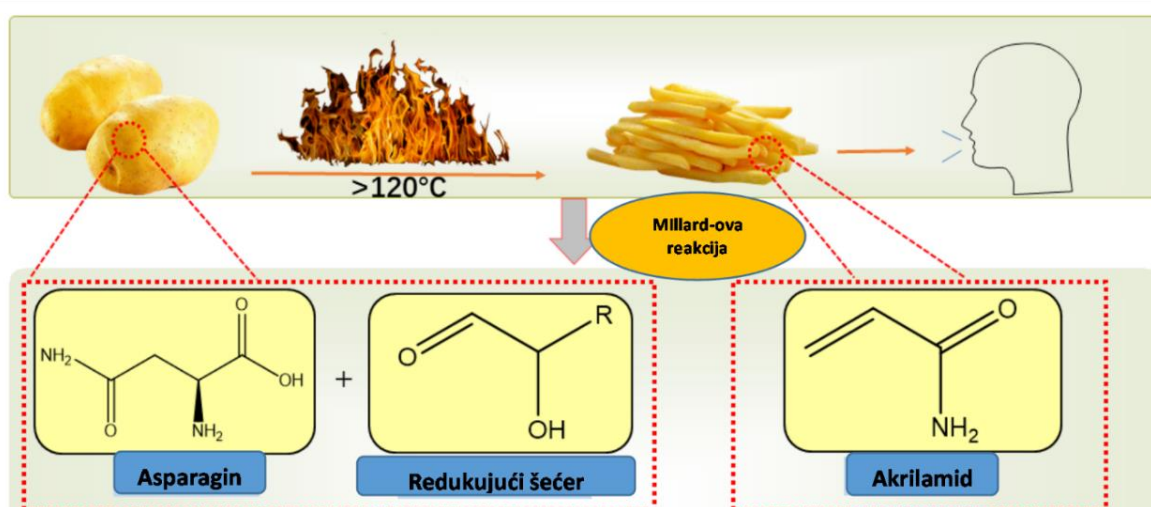
Kvalitet kafe zavisi od sorte, uslova skladištenja, termičke obrade i od metode ekstrakcije koja je svojstvena određenim regionima. Termička obrada zrna kafe je dominantan faktor koji utiče na stvaranje akrilamida. Kafa se peče na znatno višim temperaturama za razliku od druge hrane i to je proces koji ima najznačajniju ulogu za postizanje specifičnog mirisa i ukusa kafe i za stvaranje bioaktivnih komponenti.

Poznato je oko 25 vrsta kafe a najčešće korišćene su Arabika kafa (*Coffea arabica*) i Robusta kafa (*Coffea canephora robusta*). Istraživanja su pokazala da se prženjem Arabica i Robusta kafe na visokim temperaturama od 240-300 °C u prvim minutima stvara velika količina akrilamida (Bagdonaite et al. 2008) te je osim temperature prženja značajan faktor i vrijeme prženja. Eksperimentalno je dokazano da se najveća količina akrilamida stvara u prvih 5 minuta na temperaturi prženja od 220 °C u trajanju od 5 minuta, dok se prženjem kafe u trajanju od 15 minuta stvara manja količina akrilamida zbog njegove termičke razgradnje.

Prženje kafe je najznačajniji proces u proizvodnji kafe, ali se ne mogu zanemariti ni druge faze koje imaju značajnu ulogu na količinu akrilamida u kafi, a to su skladištenje i kuvanje kafe.

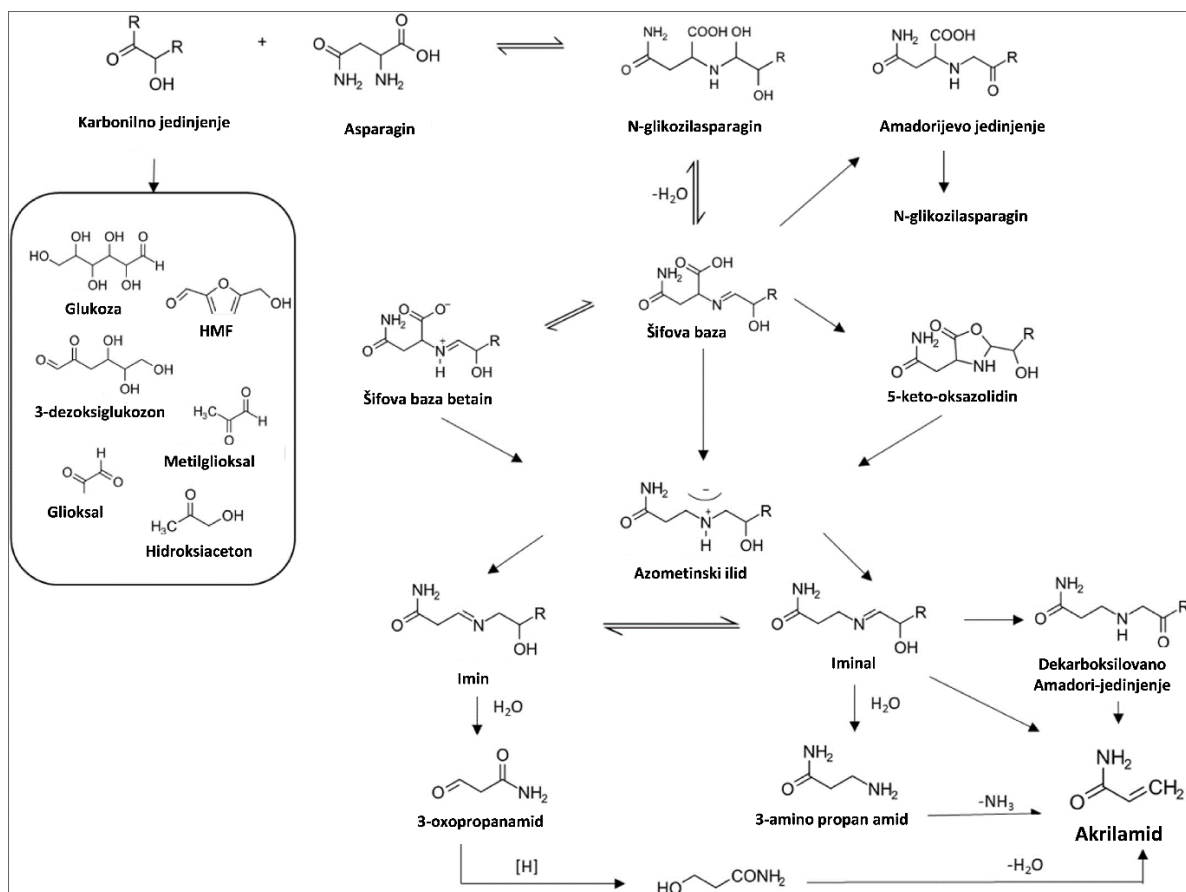
5. FORMIRANJE AKRILAMIDA U HRANI

Prisustvo akrilamida u pojedinim prehrambenim proizvodima je rezultat Maillard-ove reakcije između aminokiselina (asparagina) i redukujućih šećera (glukoze, fruktoze) na temperaturi iznad 120 °C u uslovima niske vlažnosti pri čemu se iz 1 mola asparagina dobija 368 μmol akrilamida (Bušová et al. 2020). Uprošćeni prikaz formiranja akrilamida u hrani dat je na Sl.3. a šematski prikaz nastajanja akrilamida Maillard-ovom reakcijom je dat na Slika.4.



Slika 3. Uprošćeni prikaz formiranja akrilamida u hrani (prilagođeno iz (Huang et al. 2021))

Shodno prikazanoj šemi (Sl.4) reakcija formiranja akrilamida se sastoji iz nekoliko stadijuma (Aktaž et al. 2022). α -amino grupa asparagina reaguje sa karbonilnom grupom iz karbonilnog jedinjenja (redukujući šećer) pri čemu nastaje Šifova baza. Većina Šifovih baza se preuređuje u Amadorijeva jedinjenja, koja nisu direktni intermedijati formiranja akrilamida, međutim oni učestvuju u formiranju akrilamida u kasnijim fazama kroz njihovu degradaciju do α -dikarbonil jedinjenja. Dalje, u procesu dobijanja akrilamida, dekarboksilacijom Šifove baze dobija se azometinski ilid koji se potom razgrađuje u imin ili iminal. Akrilamid se iz imina dobija hidrolizom do 3-oksopropanamida koji može biti prekursor formiranja akrilamida ali u tragovima. Sa druge strane, akrilamid se iz iminala može dobiti na dva načina; (a) β -eliminacijom iminala i direktnim formiranjem akrilamida, (b) hidrolizom iminala do 3-amino propan amida čijom deaminacijom nastaje akrilamid.



Slika 4. Šematski prikaz formiranja akrilamida Millard-ovom reakcijom. (prilagodjeno iz (Aktaž et al. 2022))

U formiranju akrilamida osim glukoze mogu učestvovati i hidroksimetilfurfural (HMF). Istraživanja su pokazala da je na povišenim temperaturama u procesu formiranja akrilamida HMF efikasniji od glukoze (Gökmen et al. 2012) i da je glavni uzrok formiranja akrilamida pri prženju kafe (Hamzahoğlu i Gökmen 2020). U posljednje vrijeme poseban akcenat se stavlja i na metilglioksal, glioksal i 3-dezoksiglukozon koji takođe promovišu stvaranje akrilamida (Amrein et al. 2006; Hamzahoğlu i Gökmen 2020).

Vrsta šećera i aminokiselina, temperatura, vrijeme i aktivnost vode, prisustvo soli metala (proooksidansi) i inhibitora, kao što su antioksidansi, može imati veliki uticaj na odvijanje Millard-ove reakcije i u krajnjem na sadržaj nastalog akrilamida u hrani (Lingnert et al. 2002).

5.1. Faktori koji utiču na formiranje akrilamida u hrani

Za nastanak akrilamida u hrani odgovorni su prirodni sastojci hrane, odnosno prekursori akrilamida kao što su aminokiseline (asparagin, alanin, arginin, cistein, glutamin i metionin) i mono ili disaharidi (redukujući šećeri - glukoza i fruktoza, i neredukujući šećeri kao što je saharoza (Xu et al. 2014). Nastanak akrilamida je vezan za termički tretman hrane pri čemu dolazi do izražaja Maillard-ova reakcija posebno u prisustvu aminokiseline asparagina. Stoga je neophodno sprovesti procese kojim bi se inhibirala ova reakcija, redukcijom prekursora akrilamida, kao i mijenjanje parametara procesa obrade hrane. Glavni izazov je u sprovođenju procesa kojim bi se smanjio sadržaj akrilamida a zadržale organoleptičke osobine hrane i dobio krajnji proizvod poželjnih senzornih osobina.

Pored temperature, vrijeme termičkog tretmana, pH vrijednost i uticaj aktiviteta vode su značajni parametri za nastanak akrilamida u hrani.

Istraživanja su pokazala da su temperatura i vrijeme trajanja termičkog tretmana dva bitna faktora za stvaranje akrilamida. Najveća količina akrilamida nastaje na temperaturama iznad 120 °C u dužem vremenskom periodu, dok sa porastom temperature iznad 160 °C značajna količina akrilamida nastaje za par minuta (Blank 2005).

Vrijednost pH je vrlo značajan faktor kada je u pitanju stvaranje akrilamida Maillard-ovom reakcijom jer se pokazalo da je ona zavisi od pH vrijednosti (Rydberg et al. 2003). Pri pH vrijednostima od 8 stvara se maksimalna količina akrilamida, dok se na nižim pH vrijednostima usporava stvaranje akrilamida. Stoga je sniženje pH vrijednosti poželjno u određenim granicama jer previše nizak pH može negativno uticati na organoleptičke osobine hrane (Mestdagh et al. 2008).

Sadržaj vlage je veoma važan za odvijanje Maillard-ove reakcije kojom iz prekursora nastaje akrilamid. Voda utiče na hemijske reakcije i na molekularnu pokretljivost hemijskih sastojaka što doprinosi stvaranju akrilamida (Ciesarová et al. 2006). Kombinacijom određene temperature i sadržaja vlage može se postići sniženje sadržaja akrilamida u hrani i do 50%.

5.2. Formiranje akrilamida u čipsu i pomfritu

Količina akrilamida u čipsu i pomfritu je zavisna od sadržaja redukujućih šećera ukoliko isti dominiraju u odnosu na količinu asparagina u krompiru (Halford et al. 2012). Na količinu prekursora u krompiru, značajan uticaj ima i odabir sorte, primjena agrotehničkih mjera i uslovi skladištenja.

U industrijskoj proizvodnji pomfrita se dominantno koriste sorte sa manjim sadržajem redukujućih šećera i sa dužim ovalnim gomoljima, dok se za proizvodnju čipsa koriste sorte sa još nižim sadržajem redukujućih šećera i ovalnim gomoljima srednje veličine (Lineback et al. 2012). Kao što je već navedeno, izbor sorte krompira je primarni faktor za stvaranje akrilamida. Različite sorte krompira Kennebec, Red Pontiac i Agria, imaju različit sadržaj prekursora za formiranje akrilamida (Yang et al. 2016). Sorta Red Pontiac izuzetno bogata šećerom, dok se Agria odlikuje visokim sadržajem asparagina i niskim sadržajem redukujućih šećera.

Agrotehničke mjere koje se koriste pri uzgoju raznih sorti krompira igraju značajnu ulogu u nastanku akrilamida. Upotrebom đubriva sa povećanim sadržajem azota povećava se i sadržaj asparagina u krompiru a smanjuje sadržaj redukujućih šećera, dok se upotrebom đubriva sa niskim sadržajem sumpora smanjuje količina redukujućih šećera a povećava količina asparagina u krompiru (Matthäus and Haase 2014).

Uslovi skladištenja imaju značajnu ulogu u nastanku akrilamida jer se skladištenjem sorti krompira sa niskim sadržajem redukujućih šećera u neadekvatnim uslovima skladištenja može desiti da dođe do klijanja krompira što izaziva porast sadržaja redukujućih šećera koji su glavni prekursori za nastanak akrilamida. Skladištenje krompira na temperature ispod 8 °C je pokazalo da je stvaranje redukujućih šećera u značajnoj mjeri usporeno jer se usporava klijanje. Preporuka je da se skladištenje krompira na temperaturama ispod 6 °C izbjegava (Krishnakumar i VisvanatHan 2014).

Značajan uticaj na stvaranje akrilamida prilikom prženja krompira ima i vrsta ulja koja se koristi.

Studija je pokazala da postoji odnos između stvaranja akrilamida i koeficijenta provodljivosti toplote ulja na način da se prženjem pomfrita u ulju sa visokim koeficijentom stvara deblja kora pomfrita u kojoj nastaje veća količina akrilamida (Zhang et al. 2015). Stoga se preporučuje korišćenje ulja sa nižim koeficijentom provodljivosti.

5.3. Formiranje akrilamida u hljebu

Količina nastalog akrilamida u hljebu zavisi od nivoa prisutnih prekursora, odnosno od vrste i sorte usjeva, sezone žetve i nivoa agrotehničkih mjera (Curtis i Halford 2016). Dominantan uticaj na stvaranje akrilamida u hljebu, kao u većini proizvoda, ima sadržaj asparagina koji varira u različitim sortama. U zavisnosti od veličine zrna žitarice, da li je upotrijebljeno cijelo

zrno ili se radi o fino mljevenom brašnu, zavisi i sadržaj nastalog akrilamida. U proizvodima od cijelog zrna žitarica veći je sadržaj akrilamida (Bråthen i Knutsen 2005) (Bråthen et al. 2005).

Agrotehničke mjere kojim je povećan unos azotnih đubriva u zavisnosti od količine svjetlosti i temperature mogu dovesti do povećanja sadržaja akrilamida u hljebu. Smanjena upotreba đubriva na bazi sumpora dovodi do povećanja sadržaja asparagina u žitaricama koji je inače odgovoran za pojavu akrilamida (Wilson et al. 2020).

Osim prisutnog asparagina, količina nastalog akrilamida zavisi i od uslova obrade tijesta koje se priprema za termički tretman. Da bi se poboljšale organoleptičke osobine hljeba, proizvođači koriste veliku paletu aditiva, kao što su sredstva za dizanje tijesta, enzimi i drugi sastojci koji inhibiraju nastajanje akrilamida (proteini, soli, aminokiseline, antioksidansi itd.).

5.4. Formiranje akrilamida u kafi

Kafa, kao jedan od najpopularnijih napitaka u svijetu, je veliki izvor akrilamida pa konzumacija kafe može imati negativne posledice za ljudski organizam. Sadržaj akrilamida prvenstveno zavisi od termičkog tretmana obzirom da se zelena zrna kafe termički obrađuju na višim temperaturama od 220-250 °C (Zhang i Zhang 2007). Prekursori stvaranja akrilamida su asparagin koji je u zrnu zelene kafe prisutan u gotovo najvećoj koncentraciji i dominantan je faktor i neredukujući šećeri, i to saharoza u koncentraciji od 9% u odnosu na suvu materiju. Istraživanja su pokazala da je asparagin prisutan u većoj količini u zrnima sorte Robusta u poređenju sa sortom Arabica što pokazuje da je odabir sorte kafe značajan u stvaranju akrilamida tokom termičkog tretmana zelenih zrna kafe (Bagdonaite et al. 2008).

Pored odabira sorte kafe, važan faktor u stvaranju akrilamida imaju i uslovi skladištenja kafe kao i krajnji proces pripreme gotovog napitka.

Temperature skladištenja pržene kafe je važan faktor u stvaranju akrilamida. Dokazano je da se pri sobnoj temperaturi skladištenja udio akrilamida smanjuje od 40-66% u prženoj kafi za period od godinu dana (Andrzejewski et al. 2004), dok se u instant kafi taj procenat kreće i do 67% (Bagdonaite et al. 2008).

Priprema gotovog napitka je važan korak u stvaranju akrilamida. Obzirom da je akrilamid rastvorljiv u vodi, a da se kafa priprema sa vodom primjenom raznih tehnika, očekivano je da

se akrilamid nalazi u gotovom napitku. U zavisnosti od načina pripreme kafe, zavisi sadržaj akrilamida u gotovom napitku. Najprihvatljiviji način pripreme kafe je „espresso“ tehnika jer je dokazano da se na ovaj način i do 75% akrilamida manje nalazi (ekstrahuje) u gotovom napitku u odnosu na druge tehnike pripreme kafe. Pretpostavlja se da je uzrok ovoj činjenici odnos količine kafe i vode uz kratak vremenski interval pripreme kafe (Lantz et al. 2006).

6. SMANJANJE SADRŽAJA AKRILAMIDA U HRANI

Od otkrivanja štetnog dejstva akrilamida na ljudsko zdravlje, uloženi su značajni naponi na globalnom nivou da se osmisle strategije smanjenja sadržaja akrilamida u namirnicama koje predstavljaju rizik obzirom na sadržaj akrilamida - hljeb i pekarski proizvodi, proizvodi na bazi krompira (čips i pomfrit) i kafa.

Osnovne mjere za smanjene sadržaja akrilamida u prehrambenim proizvodima se mogu svrstati u četiri grupe koje utiču na odvijanje Millard-ove reakcije (Matthäus i Haase 2014).

1. Mjere koje se odnose na smanjenje sadržaja prekursora formiranja akrilamida u hrani;
2. Temperatura procesiranja hrane;
3. Aktivitet vode koja se koristi za pripremu hrane i
4. pH vrijednost hrane.

Mogućnosti korišćenja usjeva sa niskim sadržajem prekursora formiranja akrilamida u hrani su prilično ograničene jer su i slobodni asparagin i redukujući šećeri esencijalna jedinjenja u biohemijskim procesima koji uključuju proizvodnju pojedinih prehrambenih proizvoda pa se akcenat stavlja na tehnologije pripreme pojedinih prehrambenih proizvoda (Matthäus and Haase 2014).

6.1. Smanjenje sadržaja akrilamida u proizvodima na bazi krompira (čips i pomfrit)

Hrana na bazi krompira, posebno pomfrit i čips, karakteriše se visokim sadržajem akrilamida. Krompir sadrži velike koncentracije asparagina i redukujućih šećera (Mousavi Khaneghah et al. 2020) koji predstavljaju osnovni izvor za formiranje akrilamida tokom pripreme hrane na bazi krompira. Stoga je presudni faktor koji utiče na smanjenje sadržaja akrilamida u proizvodima na bazi krompira odabir sorti koje sadrže niske koncentracije redukujućeg šećera. U cilju smanjenja sadržaja akrilamida u proizvodima na bazi krompira preduzimaju se razne agrotehničke mjere kao i mjere koje se odnose na pripremu prehrambenih proizvoda. Kada je u pitanju krompirov čips i pomfrit, sadržaj akrilamida u ovim proizvodima se može smanjiti kroz pogodan odabir sorti krompira, i razne tehnološke mjere pripreme čipsa kao što su rezanje krompira, dodatak enzima asparaginaze, blanširanje,

snižavanjem pH vrijednosti, dodatak antioksidansa i aminokiselina kao i pravim odabirom temperature i vremena termičkog tretmana. Ustanovljeno je da korišćenjem sorti krompira sa niskim sadržajem redukujućih šećera (maksimalno 0.7 g/kg), skladištenjem krompira na temperaturi iznad 6 °C i relativnoj vlažnosti 85-90% dovodi do smanjenja sadržaja akrilamida u krompirovom čipsu (Badanjak Sabolović i Rimac Brnčić 2016).

Uslovi skladištenja krompira (temperatura, period skladištenja i vlažnost) imaju veliki uticaj na sadržaj akrilamida u proizvodima na bazi krompira. Treba izbjegavati skladištenje krompira na temperaturama ispod 8-10 °C jer to dovodi do povećanja sadržaja redukujućih šećera a samim tim i do povećanja sadržaja akrilamida u proizvodima od krompira dobijenih prženjem (De Wilde et al. 2005).

Uslovi proizvodnje krompira (klimatski uslovi, fertilizacija zemljišta i tip zemljišta) takođe imaju uticaj na sadržaj akrilamida u proizvodima na bazi krompira, prvenstveno u čipsu. Klimatski uslovi tokom vegetacije krompira mogu imati značajan uticaj na količinu akumuliranih redukujućih šećera. Nedostatak vode u periodu postavljanja gomolja može značajno da pogorša hemijski sastav sirovine, te je stoga važno pravilno navodnjavanje. Međutim, u završnom periodu vegetacije krompira, velika količina padavina i niska temperatura vazduha su posebno nepovoljni, jer tada dolazi do povećane akumulacije redukujućih šećera u krtoli (Tajner-Czopek et al. 2021).

Metode pripreme hrane, rezanje i blanširanje su takođe značajan faktor od kojeg zavisi sadržaj akrilamida u njima. Rezanjem krompira na deblje komade smanjuje se odnos zapremine i površine pomfita pa se unutrašnjost debljih komada zagrijava sporije a akrilamid se formira uglavnom na površini pomfrita. Blanširanje krompirovih štapića u vodi prije prženja i umakanje blanširanih krompirovih štapića u rastvor asparinogaze na 40 °C u periodu od 20 min su neke od mjera koje dovode do smanjenja sadržaja akrilamida u pomfritu (Badanjak Sabolović i Rimac Brnčić 2016).

Obzirom da su temperatura i vrijeme termičkog tretmana najznačajniji faktori koji utiču na sadržaj akrilamida u čipsu, predlaže se da temperatura prženja bude ispod 175 °C, a vrijeme prženja ne treba da bude duže nego što je potrebno da bi se dobili pravi parametri kvaliteta prženih proizvoda (Kita et al. 2004). Međutim, niža temperatura prženja utiče na sadržaj masti i vlažnost čipsa. Vлага je jedan od kritičnih faktora kvaliteta čipsa od krompira jer utiče na teksturu, koja treba da bude hrskava ne samo nakon prženja već i tokom višemjesečnog

skladištenja. Generalno, vlažnost čipsa treba da bude veoma niska, manja od 2%. Ovo je lako dobiti kada se čips prži u vrelom ulju (obično na 185-190 °C). Agronomske mjere takođe utiču na sadržaj prekursora za formiranje akrilamida. Đubrenje krompira azotom u manjim dozama povećava sadržaj redukujućih šećera kako nakon žetve tako i tokom njegovog skladištenja. Sa druge strane, primjena većih doza azota izaziva povećanje količine asparagina u krtolima krompira. Veća količina fosfora i niža količina kalijuma mogu povećati slobodni asparagin i redukujuće šećere u krompiru, dok umjereni nivo đubrenja azotom zajedno sa dobrim snabdijevanjem kalijumom smanjuje količinu oba (Amrein et al. 2003). Primjena sumpora kao jedne od agronomskih mjera smanjuje sadržaj redukujućih šećera (glukoze) u krompiru utičući na taj način na smanjenje sadržaja akrilamida u proizvodima na bazi krompira (Muttucumaru et al. 2013). Zbog toga đubrenje krompira treba da bude povezano sa primjenom odgovarajuće količine i vrste đubriva kako bi, koliko je to moguće, količina reaktanata koji utiču na nivo formiranja akrilamida bila što manja (Tajner-Czopek et al. 2021).

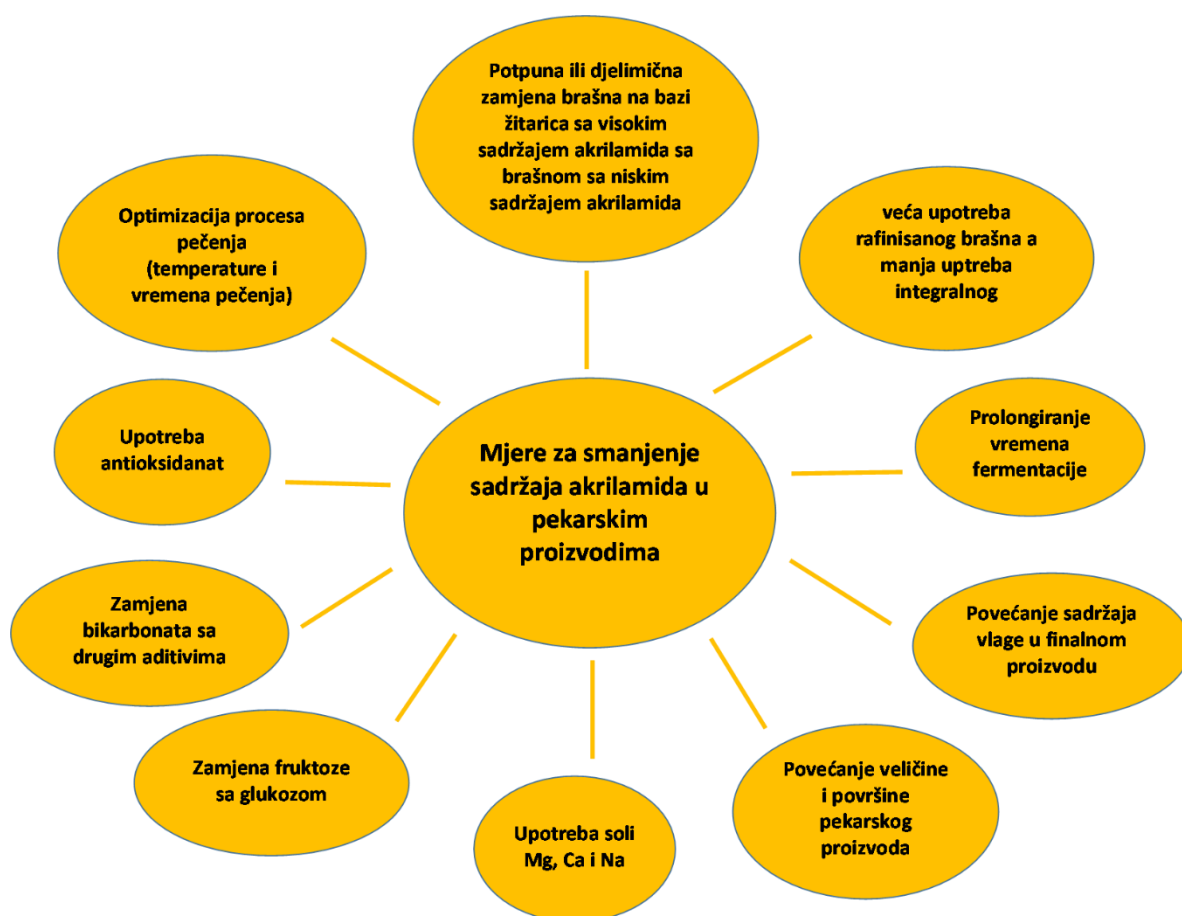
Količina akrilamida formiranog u gotovim proizvodima zavisi i od pH rastvora za blanširanje, pa opada sa smanjenjem pH rastvora. U kiselim sredinama, reakcija formiranja akrilamida je blokirana kao rezultat konverzije slobodnih amino grupa (-NH₂) u amonijum grupe (-NH₃), koje inhibiraju formiranje Šifove baze i u krajnjem inhibiraju formiranje toksičnog jedinjenja u gotovom proizvodu (Tajner-Czopek et al. 2021).

Primjena različitih aditiva tokom procesa blanširanja krompira ima veliki uticaj na sadržaj asparagina i redukujućih šećera a samim tim i na sadržaj akrilamida u proizvodima na bazi krompira (čips). Dodatak 1% vitamina C, B2 i B5 dovodi do smanjenja sadržaja toksičnih komponenti za 60%, 20% i 30%, redom (Wang i Xu 2014). Dodatak CaCl₂ i NaCl utiče na smanjenje sadržaja akrilamida u čipsi za oko 85% (Pedreschi et al. 2008).

6.2.Smanjenje sadržaja akrilamida u hljebu

Šematski prikaz mjera za smanjenje sadržaja akrilamida u pekarskim proizvodima je dat na Slika 5. Kao što je već istaknuto, glavni prekursori za formiranje akrilamida su slobodni asparagin i redukujući šećeri na koje utiče vrsta usjeva, sorta i način uzgajanja kao i uslovi proizvodnje (pečenja) hljeba (Nematollahi et al. 2019). Istraživanja su pokazala da se raž, pšenica i spelta karakterišu većim sadržajem slobodnog asparagina u odnosu na ostale sorte žitarica. Kako je sadržaj akrilamida u gotovim proizvodima u direktnoj vezi sa sadržajem

asparagina i redukujućih šećera u sirovinama, to faktori koji utiču na smanjenje sadržaja asparagina i redukujućih šećera u sirovinama utiču i na smanjenje sadržaja akrilamida u finalnom proizvodu. Uslovi uzgajanja pojedinih kultura u velikoj mjeri utiču na sadržaj akrilamida u finalnim proizvodima. Ustanovljeno je da korišćenje azotnih đubriva u proizvodnji pšenice kao i uslovi uzgajanja sa smanjenim sadržajem sumpora u zemljištu utiče na povećanje sadržaja asparagina u pšenici i u krajnjem na povećanje sadržaja akrilamida u hljebu (Curtis i Halford 2016).



Slika 5 . *Mjere za smanjenje sadržaja akrilamida u pekarskim proizvodima (prilagođeno iz (Sarion et al. 2021))*

Uslovi velike vlažnosti uoči berbe pšenice i čuvanje u neodgovarajućim uslovima (visoka vlažnost i temperatura) utiču na povećanje sadržaja akrilamida u hljebu. Dalje, vrsta brašna u velikoj mjeri utiče na sadržaja akrilamida u hljebu. Hleb pripremljen korišćenjem brašna sa visokom nutritivnom vrijednošću i većim sadržajem fruktoze se karakteriše većim sadržajem akrilamida (Namir et al. 2018; Shen et al. 2019).

Strategije za smanjenje sadržaja akrilamida u hljebu su različite i uglavnom su fokusirane na tehnološki postupak proizvodnje (pečenja) hljeba. Aktivitet vode, fermentacija i uslovi pečenja (vrijeme i temperatura) su osnovni parametri koji utiču na sadržaj akrilamida u hljebu. Nizak aktivitet vode koja se koristi za pripremu hljeba i visoka temperatura pečenja su glavni parametri koji povećavaju sadržaj akrilamida u hljebu. Stoga sniženje temperature pečenja hljeba i produžavanje vremena pečenja dovode do smanjenja sadržaja akrilamida u hljebu.

Istraživanja su pokazala da je sadržaj akrilamida u hljebu ($\leq 100 \mu\text{g/kg}$) koji se peče na temperaturi od 200-220 °C (temperatura površine hljeba 165-185 °C) bio znatno manji od sadržaja akrilamida (690.7 $\mu\text{g/kg}$) u hljebu pečenom na temperaturi od 260 °C (temperatura površine hljeba ~230 °C) (Claus et al. 2008).

Kako se akrilamid uglavnom formira u kori hljeba to mjere kao što su prskanje površine tijesta rastvorom glicina, vodenim rastvorom cisteina za tijesto prije pečenja, kombinovanje dodavanja glicina i kukuruznog skroba, ili premaza od kukuruznog skroba mogu biti djelotvorni kada je u pitanju smanjenje sadržaja akrilamida u hljebu (Mollakhalili-Meybodi et al. 2021).

Uslovi fermentacije tijesta takođe imaju značajan uticaj na sadržaj akrilamida u hljebu. Produžavanje vremena fermentacije i korišćenje kiselog tijesta su prilično efikasni u smanjenju sadržaja akrilamida u hljebu. Korišćenje kiselog tijesta je prilično efikasno u cilju smanjenja sadržaja akrilamida u hljebu jer se fermentacija odvija u kiselim uslovima (pH = 4,4– 4,8) pri čemu dolazi do degradacije glavnih prekursora formiranja akrilamida (Bartkiene et al. 2017).

6.3.Smanjenje sadržaja akrilamida u kafi

Kafa je jedno od najpopularnijih pića na svijetu zbog stimulativnog dejstva kofeina i blagotvornog dejstva na zdravlje ljudi usled prisustva bioaktivnih komponenti. Kvalitet naizgled jednostavnog pića "šoljice kafe" zavisi od mnoštva faktora kao što su vrsta sirovine, pečenje, uslovi skladištenja i metode ekstrakcije, koji varira u različitim geografskim područjima. Glavne hemijske, fizičke i organoleptičke karakteristike finalnog proizvoda od kafe, kao i razvoja bioaktivnih i antioksidativnih jedinjenja zavise od procesa pečenja sirove kafe. Međutim, termički tretman kafe koji se odvija na visokim temperaturama ima za

posledicu stvaranje akrilamida kao rezultat Millard-ove reakcije između asparagina i redukujućih šećera, kao što su glukoza i fruktoza (Schouten et al. 2020). Stoga je 2017. g. EU komisija uredbom (EU) 2017/2158 propisala maksimalno dozvoljene koncentracije akrilamida u kafi (Tabela 1) i proizvodima na bazi kafe (EC 2017).

Kada je u pitanju strategija smanjenja sadržaja akrilamida u kafi, osnovne mjere koje se razmatraju u tom cilju su izbor sirovina, pečenje, skladištenje i ekstrakcija i način kuvanja kafe. Šematski prikaz pripreme napitka kafe, od berbe do kuvanja, sa stadijumima u kojima je moguće intervenirati u cilju smanjenja sadržaja akrilamida u finalnom napitku kafe, je dat na Sl 6.

Pravilnim izborom sirovina (vrste kafe) može se u velikoj mjeri uticati na sadržaj akrilamida u napitku kafe. Industrija proizvodnje kafe uglavnom razmatra dvije komercijalne vrste kafe Arabika kafu (*Coffea arabica*) i Robusta kafu (*Coffea canephora robusta*) koje obuhvataju oko 65% i 35% svetske proizvodnje kafe, respektivno. Ove dvije kafe se razlikuju po sadržaju prekursora formiranja akrilamida (slobodne amino kiseline i redukujući šećeri). Ugljeni hidrati su prisutni u obje vrste zelene kafe, Arabika kafa sadrži veće količine saharoze od Robusta kafe, dok je sadržaj glukoze i saharoze veći u Robusta nego u Arabika kafi. Što se tiče sadržaja slobodnih aminokiselina, asparagin i alanin su pronađeni u većim koncentracijama u Robusti u poređenju sa sortom Arabika kafe (Schouten et al. 2020). Generalno, istraživanja su potvrdila veći sadržaj akrilamida nakon pečenja u Robusta kafi nego u Arabika sorti (Alves et al. 2007; Summa et al. 2007; Bagdonaitė et al. 2008; Lachenmeier et al. 2019; Bertuzzi et al. 2020) (Tabela 3).



Slika 6. Šematski prikaz procesiranja kafe od berbe do napitka kafe. Stadijumi koji su bitni sa aspekta smanjenja sadržaja akarilamida u kafi su označeni crvenom bojom (prilagođeno iz (Schouten et al. 2020)).

Tabela 3. Uticaj izbora vrste kafe na sadržaj akrilamida u pečenoj kafi (prilagodjeno iz (Schouten et al. 2020))

Vrsta kafe	Uslovi pečenja	Maksimalni nivo akrilamida nakon pečenja (ng/g)
Arabika	T = 250 °C; t = 7.5 min	<500
Robusta		>3500
Arabika	T = n.d*; t = 2.5 min	251 ± 45
Robusta		378 ± 32
Arabika	T = 236 °C; t = 370 s	>200
Robusta	T = 236 °C; t = 430 s	>250
Arabika	T = 240 °C; t = 7.5 min	374 ± 86
Robusta		708 ± 77
Arabika	T = 210 °C t = 10 min	178
Robusta		355
Arabika	T = 136-138 °C; t = 10 min	1045 ± 56
Robusta		795 45

- n.d, nije dostupno

Ključni faktor kada je u pitanju izbor sorte kafe je sadržaj prekursora formiranja akrilamida ugljenih hidrata (saharoza) i aminokiselina (asparagin ili asparaginska kiselina). Ustanovljeno je da sadržaj asparagina ima ključni uticaj na sadržaj akrilamida u kafi. Povećanje sadržaja asparagina dovodi do porasta sadržaja akrilamida u kafi dok povećanje sadržaja saharoze ima za posledicu smanjenje sadržaja akrilamida u kafi. Robusta kafa se karakteriše većim sadržajem asparagina i nižim sadržaje saharoze pa je stoga i pronađen veći sadržaj akrilamida u ovoj vrsti kafe u poređenju sa Arabika kafom (Bagdonaite et al. 2008).

Ustanovljeno je da vrijeme i temperatura prženja takođe imaju veliki uticaj na formiranje akrilamida. Sadržaj akrilamida u pečenoj kafi zavisi od stepena pečenja (*light*- svijetlo pečena kafa, *medium*-srednje pečena kafa, *dark*-tamno pečena kafa) koji se razlikuje zavisno od preferenci korisnika u različitim zemljama svijeta. Ustanovljeno je da je sadržaj akrilamida veći u svijetlo i srednje pečenoj kafi u odnosu na tamno pečenu kafu (Lantz et al. 2006; Wawrzyniak and Jasiewicz 2019). Formiranje akrilamida počinje rapidno u prvom stadijumu pečenja kafe pa je stoga stepen pečenja jedna od mjera na koju se može uticati u cilju smanjenja sadržaja akrilamida u finalnom proizvodu na bazi kafe. Najveće količine akrilamida se formiraju tokom prvih nekoliko minuta prženja kafe (3800 ng/g u Robusta kafi i

500 ng/g u Arabika kafi a prolongiranje vremena pečenja kafe dovodi do smanjenja sadržaja akrilamida (Bagdonaite et al. 2008).

Brojna istraživanja su pokazala da akrilamid nije stabilan i da se smanjuje tokom skladištenja kafe u zavisnosti od uslova skladištenja (vrijeme, temperatura). Rezultati različitih studija koje su se odnosile na uticaj uslova skladištenja na sadržaj akrilamida u kafi su pokazali da do gubitka akrilamida dolazi tokom dužeg skladištenja na sobnoj temperaturi nakon otvaranja ambalaže. Ustanovljeno je da se se sadržaj akrilamida u prženoj mljevenoj kafi smanjuje za 45-65% nakon 6 mjeseci u originalnom otvorenom pakovanju na sobnoj temperaturi (Andrzejewski et al. 2004). Dalje, čuvanjem pržene mljevene kafe u zatvorenom pakovanju na sobnoj temperaturi u periodu od 7 mjeseci gubi se 28% akrilamida dok se u periodu od 12 mjeseci gubi 66% akrilamida. Skladištenje kafe u mljevenom stanju ili u obliku zrna takođe ima uticaja na sadržaj akrilamida u njoj. Prisustvo aditiva u kafi takođe ima uticaj na smanjenje sadržaja akrilamida u kafi tokom skladištenja. Zapaženo je smanjenje sadržaja akrilamida od 33% u instant kafi i 28% u zamjeni za kafu (kafa sa različitim udjelima šećera, cikoriје, raži, ječma ili slada) tokom skladištenja na 25 °C tokom 12 mjeseci u komercijalno zatvorenom pakovanju, čime se potvrđuje nestabilnost akrilamida u kafi tokom skladištenja (Delatour et al. 2004).

Način pripreme je sledeći faktor koji u velikoj mjeri utiče na sadržaj akrilamida u finalnom napitku od kafe. Pržena kafa se nakon mljevenja koristi za pripremu napitka od kafe raznim metodama kuvanja (zagrijavanja vode). Akrilamid je rastvoran u vodi i vrlo lako se ekstrahuje iz zrna kafe u vodenu fazu tokom kuvanja kafe (Andrzejewski et al. 2004). Primjenjuju se različite metode kuvanja kafe u skladu sa geografskim odnosno lokalnim tradicijama. Razlike se odnose na stepen mljevenja, odnos kafe i vode, pritisak, temperaturu i vrijeme ekstrakcije a sve to u velikoj mjeri utiče na sadržaj akrilamida u finalnom napitku od kafe (Soares et al. 2015; Cordoba et al. 2019).

Espreso kafa je jedna od često konzumiranih tipova kafe. Specijalni način pripreme ove vrste kafe pri kojem se 20-50 mL vrele vode pod visokim pritiskom od 9 ± 2 atm na temperaturi od 90 ± 5 °C perkolira za vrlo kratko vrijeme (30 ± 5 s) kroz kafu ($6,5 \pm 1.5$ g). Zahvaljujući vrlo kratkom kontaktu vode i kafe, ekstrahuju se znatno manje količine akrilamida u poređenju sa ostalim načinima pripreme kafe (Lantz et al. 2006). Međutim, druga istraživanja su pokazala da je espreso kafa u poređenju sa ostalim vrstama napitaka od kafe veoma koncentrisan napitak ali je sadržaj akrilamida po šolji mnogo manji, zbog male zapremine napitka (Alves et

al. 2010). Osim toga, istraživanja su pokazala da učestalost konzumacije espresso kafe, koja se razlikuje u različitim geografskim područjima, predstavlja ključni faktor od kojeg zavisi dnevni unos akrilamida kroz konzumaciju espresso kafe. Ustanovljeno je da se pri učestalosti konzumacije espresso kafe od 3-5 doza (30 ml) dnevno unosi 4-6 µg akrilamida (Alves et al. 2010).

U cilju što nižeg unosa akrilamida putem konzumacije kafe potrebno je:

- pri selekciji odabrati kvalitetnu zelenu kafu, uklanjajući neispravna zrna,
- koristiti Arabiku umjesto Robusta kafe, ili ako se radi o mješavini koristiti kafu sa većim sadržajem Arabika kafe,
- konzumirati tamno (*dark*) pečenu kafu
- konzumirati "kraću" umjesto "duže" kafe.

7. CILJ RADA

Cilj ovog rada je bio određivanje sadržaja akrilamida u namirnicama sa crnogorskog tržišta (snek proizvod - čips i prehrambeni proizvod - hljeb na bazi pšenice) i procjena zdravstvenog rizika koji akrilamid, prisutan u ispitivanim namirnicama, može imati na ljudsko zdravlje. Procjenom zdravstvenog rizika obuhvatiće se šest populacionih grupa, djeca uzrasta 10-14 godina i 15-17 godina kao i odrasli uzrasta 18-24 godina, 25-44 godina, 45-64 godina i 65-74 godine.

Detaljno, ciljevi ovog rada su sledeći:

1. Određivanje sadržaja akrilamida u uzorcima čipsa i hljeba na bazi pšenice;
2. Procjena dnevnog unosa ispitivanih namirnica za šest populacionih grupa;
3. Uporedna analiza dobijenih rezultata o sadržaju akrilamida u ispitivanim namirnicama sa literaturnim podacima;
4. Određivanje dnevnog unosu akrilamida kroz konzumaciju ispitivanih vrsta namirnica;
5. Procjena zdravstvenog rizika (nekancerogenog i kancerogenog) usled dejstva akrilamida kroz konzumaciju ispitivanih namirnica.

8. EKSPERIMENT I METODOLOGIJA ISPITIVANJA

8.1. Materijal i metode

U okviru ove studije ispitivani su 51 uzorak čipsa i 20 uzoraka hljeba na bazi pšenice koji su uzorkovani sa crnogorskog tržišta od strane Uprave za bezbjednost hrane, veterinu i fitosanitarne poslove u periodu od 2021 do 2023. godine u okviru programa monitoringa bezbjednosti hrane. Priprema uzoraka i analiza sadržaja akrilamida urađena je u laboratoriji za tečnu hromatografiju Centra za higijenu i zdravstvenu ekologiju u Institutu za javno zdravlje.

Uzorci su pripremani za analizu na sledeći način. Homogenizacija uzorka je vršena tako što je 1-2 g prašnog uzorka stavljano u kivetu zapremine 50 ml i na vorteksu miješano 1 min. Za potrebe ekstrakcije u kivetu je dodato 10 ml destilovane vode a nakon miješanja uzorka dodato je još 10 ml acetonitrila i takav uzorak je ultrazvučno tretiran 10 min. Zatim je u uzorak dodata smješa soli i pufera ($\text{MgSO}_4 + \text{NaCl} + \text{TSCD}$ (trinatrijum citrat dihidrat) + DHS (dinatrijum hidrogen citrat)) u cilju prečišćavanja uzorka po QuEChERS EN method (EN15662). Zapremina prečišćenog supernatanta od 0.7 ml je filtrirana u vialu od 0.2 μm i zakiseljena sa 7 μl 5% mravlje kiseline. Tako pripremljeni uzorci su se koristili za određivanje sadržaja akrilamida.

8.1.1. Određivanje sadržaja akrilamida u ispitivanim uzorcima

Sadržaj akrilamida u uzorcima čipsa i hljeba je određivan tehnikom tečne hromatografije sa masenom spektrometrijom, LCMS (Slika 7.) (Liquid chromatography–mass spectrometry, 1260 Infinity LC system sa 6465B triple quadrupole) od proizvođača Agilent. LCMS system). Obrada podataka je urađena na Agilent MassHunter softveru. Uslovi instrumenta koji su primijenjeni za određivanje sadržaja akrilamida na pomenutom instrumentu bili su: kolona - Agilent Extend-C18, 3.0×150 mm, 3.5 μm ; protok - 0.2 mL/min; konstantna temperatura od 25 °C; mobilna faza: voda sa 0.1% mravlje kiseline (A) i acetonitril sa 0.1% mravlje kiseline (B); program rada (gradijent) –(0–5 min, 90–10% B; 6–6 min, 10-90% B; 6–7 min, održavanje na 90% B); injekciona zapremina 5 μL .

Maseni spektrometar za određivanje akrilamida je radio u pozitivnom elektron sprej (ESI) modu. Optimizacioni uslovi za MS bili su: temperatura gasa za sušenje (N_2) na 300 °C sa protokom 11 L/min,; pritisak nebulajzera od 15 psi,; kapilarni napon od 4,5 kV; napon

fragmenta za akrilamid od 85 V. Detektor je radio u multi reakcionom modu praćenja (MRM). Praćena su dva karakteristična jona za akrilamid (m/z 72>55 and 72>44) i kolizione energije od 5 i 8 V za svaku od tranzicija, respektivno. Vrijeme zadržavanja je bilo do 100 ms.



Slika 7. Tečni hromatograf sa Masenim spektrometrom (Agilent 1260 Infinity sa Agilent 6465B masenim detektorom)

8.2.Procjena zdravstvenog rizika

Procjena zdravstvenog rizika akrilamida usled konzumacije ispitivanih proizvoda je sprovedena kroz procjenu sledećih parametara: dnevni unos akrilamida (CDI), ciljani koeficijent (THQ), indeks opasnosti (HI), kancerogeni zdravstveni rizik (CR) i ukupni kancerogeni rizik (TCR). Procjenjivan je zdravstveni rizik za dvije populacije: djeca uzrasta 10-14 godina i 15-17 godina i populacije odrasli uzrasta 18-24 godina, 25-44 godine, 45-64 godina i 65-74 godine. Dnevni unos (*eng: daily intake*) ispitivanih proizvoda je određivan pomoću jednačine (1):

$$CDI = \frac{C_i \cdot IR_i \cdot ED_i \cdot EF_i}{BW \cdot AT} \quad (1)$$

gdje je: CDI dnevni unos i -tog proizvoda (čipsa ili hljeba) (mg/kg/dan), IR_i unos i -tog proizvoda (g/dan), ED_i je trajanje izloženosti (godina), EF_i frekvencija izloženosti (godina/dan), BW prosječna tjelesna težina (kg), AT je srednje vrijeme dejstva akrilamida ($AT = EF_i \cdot ED_i$).

Nekancerogeni zdravstveni rizik usled dejstva akrilamida zbog konzumacije ipitivanih proizvoda je razmatran preko koeficijenta opasnosti (THQ) i indeksa opasnosti (HI) koji su određivani korišćenjem formula (2) i (3) (USEPA 1989a):

$$THQ_i = \frac{DE_i}{RfD_i} \quad (2)$$

$$HI = \sum THQ_i \quad (3)$$

gdje RfD predstavlja oralnu referentnu dozu za akrilamid za koju se smatra da ne dovodi do značajnog rizika od štetnih efekata akrilamida na osjetljive osobe tokom životnog vijeka. Ako je $HI < 1$, smatra se da ne postoji značajan nekancerogeni rizik, Ako je $HI > 1$ smatra se da je velika velika vjerovatnoća štetnog efekta akrilamida po zdravlje ljudi.

Rizik od kancerogenog obolijevanja je razmatran preko kancerogenog rizika (CR) i ukupnog kancerogenog rizika (TCR) koji su određivani korišćenjem jednačina (4) i (5) (USEPA 1989a):

$$CR = CDI_i \cdot CSF \quad (4)$$

$$TCR = \sum CR_i \quad (5)$$

gdje je CSF koeficijent kancerogenosti za akrilamid.

Vrijednosti kancerogenog rizika $CR \leq 10^{-6}$ ukazuju na prihvatljivi ili neznajčajni rizik od obolijevanja, vrijednosti kancerogenog rizika $CR \geq 10^{-4}$ ukazuju na postojanje ozbiljnog kancerogenog zdravstvenog rizika dok vrijednosti CR između 10^{-6} i 10^{-4} ukazuju na potencijalni rizik od obolijevanja (USEPA 1989a). Vrijednosti parametara korišćenih za procjenu zdravstvenog rizika za populaciju djece i odraslih su prikazani u Tabeli 4.

Tabela 4. Parametri korišćeni za procjenu zdravstvenog rizika za populaciju djece i odraslih

Parametar	Populacija						Izvor
	Djeca (10-14 g.)	Djeca (15-17 g.)	Odrasli (18-24 g.)	Odrasli (25-44 g.)	Odrasli (45-64 g.)	Odrasli (65-74 g.)	
IR_i (g/dan)	5.28 (za čips) 88.63 (za hljeb)	4.59 (za čips) 74.89 (za hljeb)	5.96 (za čips) 81.07 (za hljeb)	2.51 (za čips) 89.95 (za hljeb)	1.03 (za čips) 102.3 (za hljeb)	0.78 (za čips) 97.08 (za hljeb)	(Martinovic et al. 2022)
ED_i (godina)	6	6	70	70	70	70	(Eslamizad et al. 2019)
EF_i (godina/dan)	365	365	365	365	365	365	(Eslamizad et al. 2019)
BW (kg)	51.74	69.34	75.52	78.96	82.42	81.22	(Martinovic et al. 2022)
AT (dan)	2190	2190	25550	25550	25550	25550	(Eslamizad et al. 2019)
RfD (mg/kg/dan)	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002	(USEPA 2010)
CSF (mg/kg/dan) ⁻¹	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	(USEPA 2010)

9. REZULTATI I DISKUSIJA

9.1. Sadržaj akrilamida u prehrambenim proizvodima

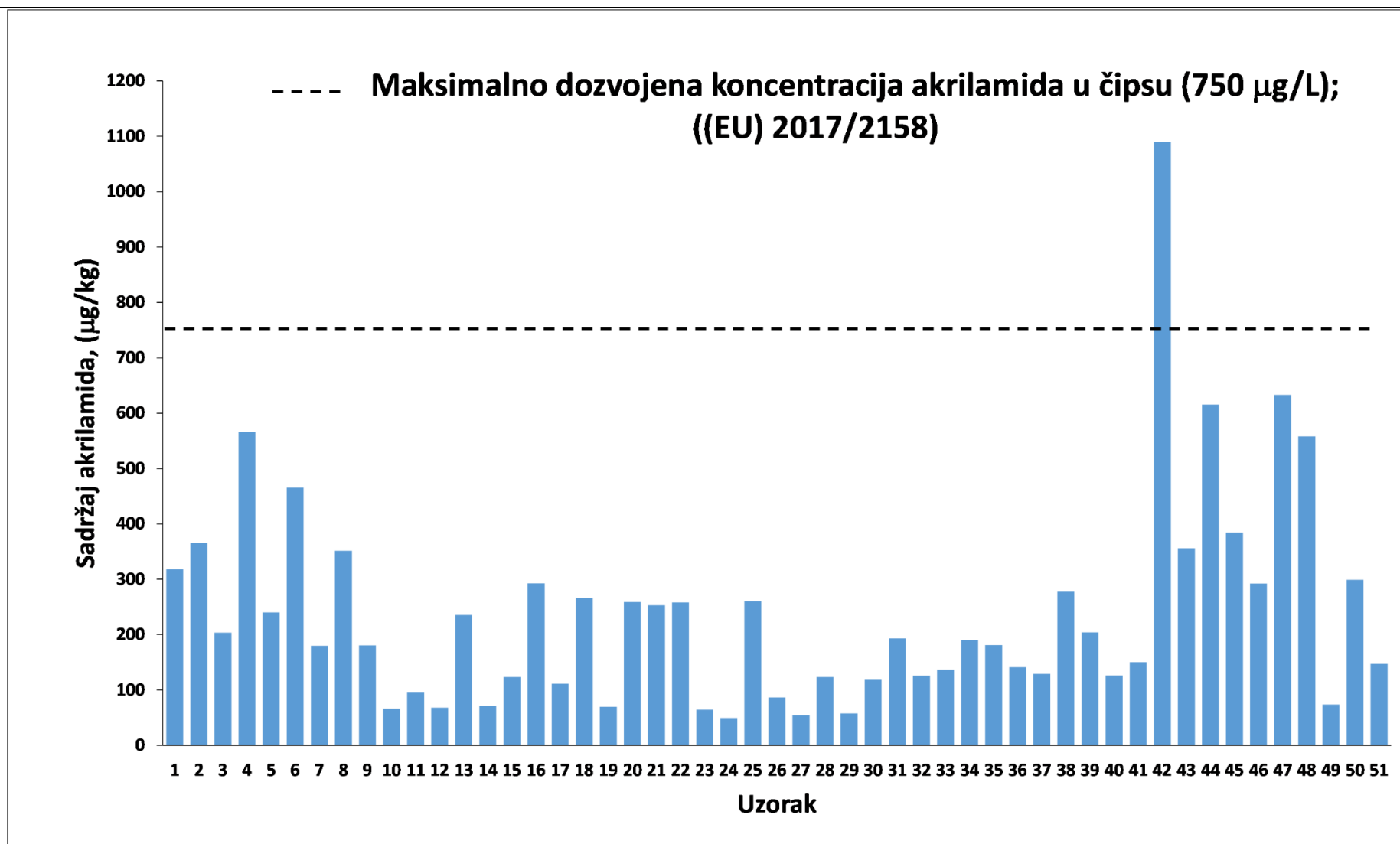
Sadržaj akrilamida u ispitivanim uzorcima čipsa i hljeba je prikazan na slikama 8 i 9 a deskriptivna statistička analiza dobijenih rezultata je data u Tabeli 5.

Tabela 5: Deskriptivna statistička analiza sadržaja akrilamida ($\mu\text{g/kg}$) u prehrambenim proizvodima

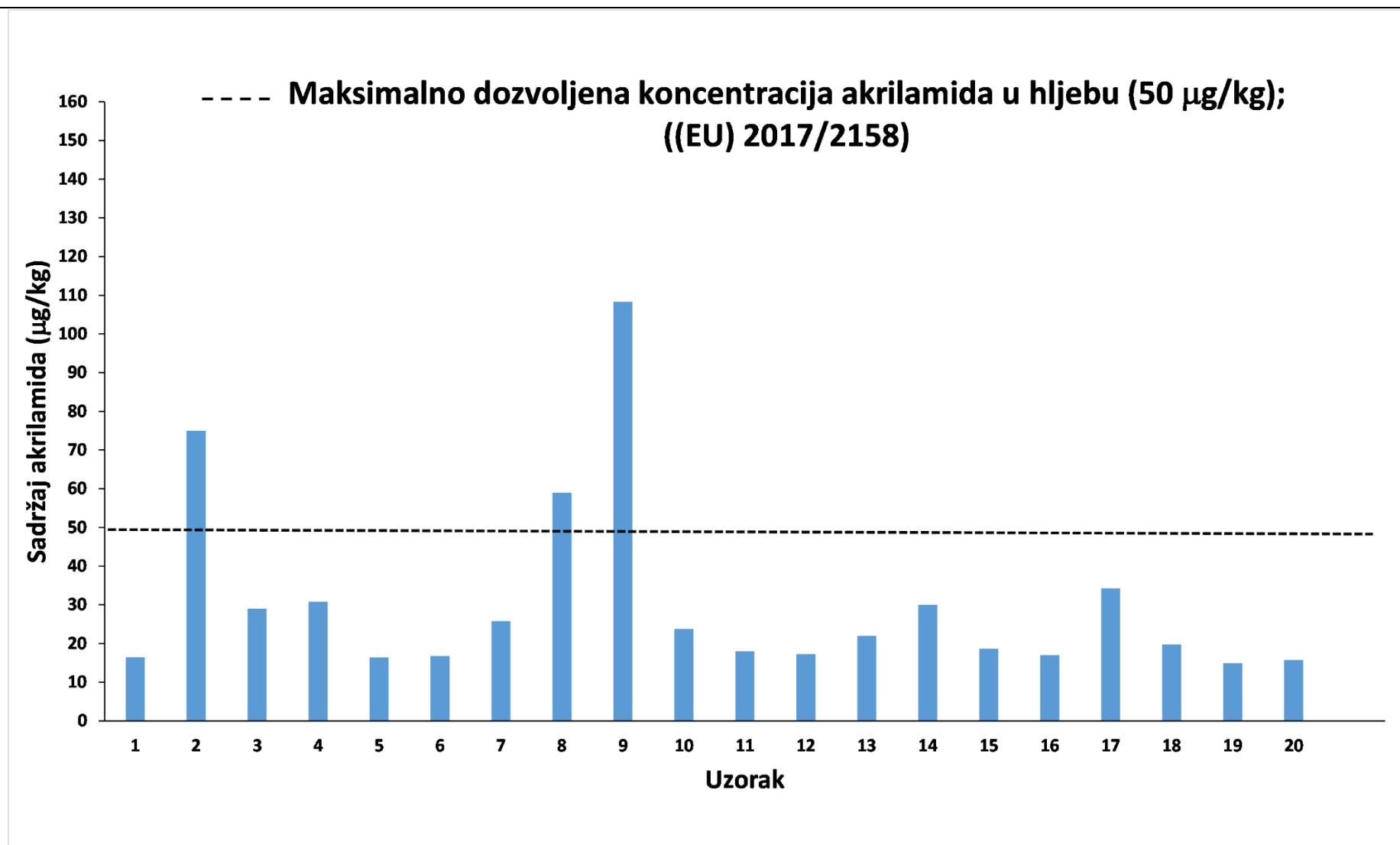
Patrameta	Čips (n=51)	Hljeb (n=20)
Srednja vrijednost	238.38	30.45
Minimum	49.30	14.94
Maksimum	1089.30	108.30
Medijana	190.30	22.00
SD^a	51.36	23.86

^a - standardna devijacija

Sadržaj akrilamida u uzorcima čipsa se kretao u granicama od 49.30 $\mu\text{g/kg}$ do 1089.30 $\mu\text{g/kg}$ odnosno od 14.94 $\mu\text{g/kg}$ do 108.30 $\mu\text{g/kg}$ u uzorcima hljeba dok su prosječne vrijednosti bile 238.38 $\mu\text{g/kg}$ u čipsu i 30.45 $\mu\text{g/kg}$ u hljebu (Tabela 5). Na osnovu prikazanih rezultata evidentno je da srednje vrijednosti sadržaja akrilamida u čipsu i hljebu ne prelaze maksimalno dozvoljene granice propisane direktivom Evropske Unije ((EU) 2017/2158): 750 $\mu\text{g/kg}$ za čips i 50 $\mu\text{g/kg}$ za hljeb (EC 2017). Što se tiče uzoraka čipsa (Slika 8), od 51 ispitivanog uzoraka u samo jenom uzorku (2% ispitivanih uzoraka) je sadržaj akrilamida bio iznad propisane vrijednosti (750 $\mu\text{g/kg}$), dok je kod 20 ispitivanih uzoraka hljeba (Slika 9) kod 3 uzorka (15% ispitivanih uzoraka) detektovana povećana vrijednost akrilamida koja je prelazila maksimalno dozvoljenu granicu od 50 $\mu\text{g/kg}$.



Slika. 8. Sadržaj akrilamida u uzorcima čipsa



Slika 9. Sadržaj akrilamida u uzorcima hljeba

Dobijene vrijednosti akrilamida u ispitivanim proizvodima su poređene sa literaturnim podacima (Tabela 6).

Tabela 6. Poređenje sadržaja akrilamida u čipsu i hljebu dobijene u ovoj studiji sa literaturnim podacima

Proizvod	Lokacija	Sadržaj akrilamida, ($\mu\text{g/kg}$)	Referenca
Čips	Crna Gora	238.38	Ova studija
Čips	Španija	1484	(Rufián-Henares and Morales 2006)
Čips	Brazil	591	(Arisseto et al. 2009)
Čips	Indija	1533.9	(Shamla and Nisha 2014)
Čips	Kanada	2453	(Becalski et al. 2010)
Čips	EFSA (2011)	758	(EFSA 2011)
Čips	Poljska	699	(Mojska et al. 2010)
Čips	Austrija	169	(Murkovic 2004)
Čips	Rumunija	134	(Pogurschi et al. 2021)
Hljeb	Crna Gora	30.45	Ova studija
Hljeb	Poljska	59	(Mojska et al. 2010)
Hljeb	Turska	30	(Alpözen et al. 2015)
Hljeb	Njemačka	916	(Hilbig et al. 2004)
Hljeb	Belgija	118	(Govaert et al. 2006)
Hljeb	Slovenija	135	(Mencin et al. 2020)

Srednja vrijednost sadržaja akrilamida u čipsu dobijena u ovoj studiji (238.38 $\mu\text{g/kg}$) je znatno niža od vrijednosti sadržaja akrilamida u čipsu koje su dobijene u studijama sprovedenim u Španiji 1484 $\mu\text{g/kg}$ (Rufián-Henares and Morales 2006), Brazilu 591 $\mu\text{g/kg}$ (Arisseto et al. 2009), Indiji 1533.9 $\mu\text{g/kg}$ (Shamla and Nisha 2014), Kanadi 2453 $\mu\text{g/kg}$ (Becalski et al. 2010) i studiji koju je sprovedla Evropska agencija za bezbjednost hrane (European Agency for Food Safety (EFSA)) od 758 $\mu\text{g/kg}$, (EFSA 2011). Međutim, sadržaj

akrilamida u čipsu sa austrijskog tržišta (169 µg/kg) (Murkovic 2004) i sa rumunskog tržišta (134 µg/kg) (Pogurschi et al. 2021) je bio niži u odnosu na rezultate prezentovane u ovoj studiji. Sa druge strane srednja vrijednost sadržaja akrilamida u hljebu sa crnogorskog tržišta (30.45 µg/kg) je bila na nivou sadržaja akrilamida u uzorcima hljeba sa turskog tržišta (30 µg/kg) (Alpözen et al. 2015), niža u odnosu na sadržaj akrilamida u hljebu iz Poljske (59 µg/kg) (Mojska et al. 2010), Njemačke (916 µg/kg) (Hilbig et al. 2004), Belgije (118 µg/kg) (Govaert et al. 2006) i Slovenije (135 µg/kg) (Mencin et al. 2020).

Evidentno je da rezultati dobijeni u ovoj studiji variraju u odnosu na literaturne podatke obzirom na razlike u vrsti sirovine, uslovima pripreme sirovina, temperature i vremena pripreme proizvoda, aktiviteta vode i vrste ulja koje se koristi za njihovu pripremu (Özkaynak and Ova 2009).

9.2.Dnevni unos akrilamida kroz konzumaciju čipsa i hljeba

Dnevni unosi akrilamida kroz konzumaciju čipsa i hljeba za ispitivane populacije, djeca (10-14 godina i 15-17 godina) i odrasli (18-24 godine, 25-44 godine, 45-64 godine i 65-74 godine) su prikazani u tabeli 7. Generalno, dobijene vrijednosti dnevnog unosa akrilamida usled konzumacije čipsa su niže nego usled konzumacije hljeba, što je posledica navika u ishrani. Dobijene vrijednosti dnevnog unosa akrilamida kroz konzumaciju čipsa za ispitivane populacije se po opadajućem redosledu mogu poredjati kao $CDI_{djeca(10-14g.)} > CDI_{odrsali(18-24g.)} > CDI_{djeca(15-17g.)} > CDI_{odrsali(25-44g.)} > CDI_{odrsali(45-64g.)} > CDI_{odrsali(65-74g.)}$. Dakle, najviše akrilamida kroz konzumaciju čipsa unosi populacija uzrasta 10-14 godina a najmanje populacija odraslih od 65-74 godine. Dnevni unos akrilamida kroz konzumaciju čipsa dobijen u ovoj studiji za djecu uzrasta 10-14 godina kretao se u granicama od 0.005 µg/kg/dan do 0.111 µg/kg/dan sa srednjom vrijednošću od 0.024 µg/kg/dan a za populaciju uzrasta 15-17 godina se kretao u rasponu od 0.003 µg/kg/dan do 0.072 µg/kg/dan sa srednjom vrijednošću od 0.016 µg/kg/

Srednja vrijednost dnevnog unosa akrilamida kroz konzumaciju čipsa za odrasle uzrasta 18-24 godine je bila 0.019 µg/kg sa minimalnom i maksimalnom vrijednošću od 0.004 µg/kg/dan do 0.086 µg/kg/dan, za populaciju od 25-44 godina je srednja vrijednost dnevnog unosa je bila 0.008 µg/kg/dan a minimalne i maksimalne vrijednosti bile 0.002 µg/kg/dan i 0.035 µg/kg/dan. Za populacije od 45-64 godina i 65-74 godine srednje vrijednosti dnevnog unosa

su bile redom 0.003 µg/kg/dan i 0.002 µg/kg/dan a odgovarajuće minimalne i maksimalne vrijednosti su bile u rasponu od 0.001 µg/kg/dan do 0.014 µg/kg/dan za populaciju od 45-64 godina i od 65-74 godine srednja vrijednosti dnevnog unosa je bila 0.01 µg/kg/dan..

Što se tiče unosa akrilamida kroz konzumaciju hljeba (Tabela 7), dobijene vrijednosti dnevnog unosa za ispitivane populacije se mogu poređati po opadajućem redosledu na sledeći način: $CDI_{djeca(10-14g.)} > CDI_{odrsali(45-64g.)} > CDI_{odrsali(65-74g.)} > CDI_{odrsali(25-44g.)} > CDI_{djeca(15-17g.)} > CDI_{odrsali(18-24g.)}$. I u ovom slučaju najviše akrilamida kroz konzumaciju hljeba dnevno unosi najmlađa populacija uzrasta od 10-14 godina a najmanje populacija odraslih od 18-24 godina. Vrijednosti dnevnog unosa hljeba za populaciju od 15-17 godina i populacije u rasponu od 25-74 godine su vrlo bliske i bile su u rasponu od 0.032 µg/kg/dan do 0.037 µg/kg/dan. Dnevni unos akrilamida kroz konzumaciju hljeba kod ispitivane grupe djece uzrasta 10-14 godina kretao u rasponu od 0.026 µg/kg/dan do 0.186 µg/kg/dan sa srednjom vrijednošću od 0.051 µg/kg/dan, za populaciju uzrasta 18-24 godina u rasponu od 0.001 µg/kg/dan do 0.008 µg/kg/dan sa srednjom vrijednošću od 0.002 µg/kg/dan.

Tabela 7. Dnevni unosi akrilamida ($\mu\text{g/kg/dan}$) kroz konzumaciju čipsa i hljeba za djecu i odrasle

Proizvod	Parametar	Populacija					
		Djeca, (10-14 godina)	Djeca, (15-17 godina)	Odrasli, (18-24 godina)	Odrasli, (25-44 godina)	Odrasli, (45-64 godina)	Odrasli, (65-74 godina)
Čips	Srednja vrijednost	0.024	0.016	0.019	0.008	0.003	0.002
	Minimum	0.005	0.003	0.004	0.002	0.001	0.001
	Maksimum	0.111	0.072	0.086	0.035	0.014	0.010
	SD ^a	0.019	0.013	0.015	0.006	0.002	0.002
Hljeb	Srednja vrijednost	0.051	0.032	0.002	0.034	0.037	0.036
	Minimum	0.026	0.016	0.001	0.017	0.019	0.018
	Maksimum	0.186	0.117	0.008	0.123	0.134	0.129
	SD ^a	0.041	0.026	0.002	0.027	0.029	0.028

^a - standardna devijacija

9.3. Zdravstveni rizik

9.3.1. Nekancerogeni zdravstveni rizik

Rezultati dobijeni analizom nekancerogenog rizika od prisustva akrilamida u čipsu i hljebu za sve ispitivane starosne grupe su prikazani u Tabeli 8. Evidentno je da su vrijednosti koeficijenta opasnosti THQ za sve populacione grupe za obje vrste proizvoda znatno ispod vrijednosti 1 što znači da nema nekancerogenog rizika ni od konzumacije čipsa ni od konzumacije hljeba. Dobijene vrijednosti koeficijenata opasnosti za ispitivane starosne se mogu poređati po sledećem redosledu: $THQ_{djeca(10-14g.)} > THQ_{odrsali(18-24g.)} > THQ_{djeca(15-17g.)} > THQ_{odrsali(25-44g.)} > THQ_{odrsali(45-64g.)} > THQ_{odrsali(65-74g.)}$. Najveća vrijednost koeficijenta opasnosti od konzumacije čipsa je dobijena za djecu uzrasta od 10-14 godina. Vrijednosti THQ za ovu populaciju su se kretale u opsegu od 2.50E-03 do 5.53E-02 sa srednjom vrijednošću od 1.21E-02. Zatim slijede vrijednost koeficijenta opasnosti za populaciju odraslih uzrasta od 18-24 godina sa srednjom vrijednošću od 9.41E-03, zatim za djecu uzrasta od 15-17 godina sa srednjom vrijednošću od 7.89E-03, za populaciju odraslih sa srednjom vrijednošću od 3.79E-03, potom za populaciju od 45-64 godina sa srednjom vrijednošću od 1.49E-03 i za populaciju od 65-74 godina sa srednjom vrijednošću koeficijenta opasnosti od 1.14E-03.

Što se tiče nekancerogenog rizika od konzumacije hljeba, dobijene vrijednosti koeficijenta opasnosti za najmlađu ispitivanu populaciju uzrasta 10-14 godina su se kretale od 1.28E-02 do 9.28E-02 sa srednjom vrijednošću od 2.57E-02. Kao i u slučaju konzumacije čipsa, najvećem nekancerogenom riziku od konzumacije hljeba je izložena najmlađa ispitivana populacija uzrasta 10-14 godina. Zatim slijede populacije uzrasta 25-44 godina i 15-17 godina sa vrlo bliskim srednjim vrijednostima koeficijenata opasnosti od 1.71E-02 i 1.62E-02, redom. Srednje vrijednosti koeficijenata opasnosti za populacije uzrasta 45-64 godine, 18-24 godina i 65-74 godine su bile reda veličine E-03 i iznosile su redom, 1.49E-03, 1.18E-03 i 1.14E-03.

Razmatranje nekancerogenog rizika od konzumacije ispitivanih proizvoda kroz indeks opasnosti (HI), (jednačina 3), takodje pokazuje da nema opasnosti od kancerogenog rizika od konzumacije čipsa i hljeba za sve populacije jer su sve dobijene vrijednosti HI bile manje od jedan. Naime, dobijene vrijednosti indeksa opasnosti od 3.78E-02 za djecu uzrasta 10-14 godina, 2.41E-02 za uzrast od 15-17 godina, 2.09E-02 za odrasle uzrasta 25-44 godina, 2.01E-02 za uzrast 45-64 godina, 1.91E-02 za uzrast 65-74 godine i 1.06E-02 za uzrast od 18-24 godine.

Tabela 8. Vrijednosti koeficijenata opasnosti (THQ) i indeksa opasnosti (HI) usled konzumiranja čipsa i hljeba za ispitivane populacije

Proizvod	Parametar	THQ					
		Populacija					
		Djeca (10-14 godina)	Djeca (15-17 godina)	Odrasli (18-24 godina)	Odrasli (25-44 godina)	Odrasli (45-64 godina)	Odrasli (65-74 godina)
Čips	Srednja vrijednost	1.21E-02	7.89E-03	9.41E-03	3.79E-03	1.49E-03	1.14E-03
	Minimum	2.50E-03	1.63E-03	1.95E-03	7.83E-04	3.08E-04	2.37E-04
	Maksimum	5.53E-02	3.61E-02	4.30E-02	1.73E-02	6.81E-03	5.23E-03
	SD	9.72E-03	6.33E-03	7.55E-03	3.04E-03	1.20E-03	9.19E-04
Hljeb	Srednja vrijednost	2.57E-02	1.62E-02	1.18E-03	1.71E-02	1.49E-03	1.14E-03
	Minimum	1.28E-02	8.07E-03	5.86E-04	8.51E-03	3.08E-04	2.37E-04
	Maksimum	9.28E-02	5.85E-02	4.24E-03	6.17E-02	6.81E-03	5.23E-03
	SD ^a	2.04E-02	1.28E-02	9.31E-04	1.35E-02	1.20E-03	9.19E-04
HI							
Populacija							
		Djeca (10-14 godina)	Djeca (15-17 godina)	Odrasli (18-24 godina)	Odrasli (25-44 godina)	Odrasli (45-64 godina)	Odrasli (65-74 godina)
		3.78E-02	2.41E-02	1.06E-02	2.09E-02	2.01E-02	1.91E-02

9.4. Kancerogeni zdravstveni rizik

Rezultati procjene kancerogenog zdravstvenog rizika usled dejstva akrilamida kroz konzumaciju čipsa i hljeba za ispitivane starosne grupe prikazane su u Tabeli 9. Srednje vrijednosti kancerogenog rizika (CR) usled konzumacije čipsa kretale su se u rasponu od $1.49E-06$ do $1.21E-05$. Kao i u slučaju nekancerogenog rizika, vrijednosti CR od konzumacije čipsa za ispitivane populacije se mogu poređati redom $CR_{djeca(10-14g.)} > CR_{odrasli(18-24g.)} > CR_{djeca(15-17g.)} > CR_{odrasli(25-44g.)} > CR_{odrasli(45-64g.)} > CR_{odrasli(65-74g.)}$. Najveći kancerogeni rizik od konzumacije čipsa ($1.21E-05$) je dobijen za najmlađu populaciju uzrasta 10-14 godina. Vrijednosti kancerogenog rizika za ostale populacije su bile reda veličine $E-06$, i iznosile su redom $9.41E-06$, $7.89E-06$, $3.71E-06$, $1.49E-06$ i $1.14E-06$ za populacije redom, 18-24 godina, 15-47 godina, 25-44 godina, 45-64 godina i 65-74 godine.

Što se tiče opasnosti od konzumacije hljeba, vrijednosti kancerogenog rizika slijede opadajući redosled: $CR_{djeca(10-14g.)} > CR_{odrasli(45-64g.)} > CR_{odrasli(65-74gr.)} > CR_{odrasli(25-44g.)} > CR_{djeca(15-17g.)} > CR_{odrasli(18-24g.)}$ i su se kretale u rasponu od $1.18E-06$ do $2.57E-05$. Najvećem kancerogenom riziku od konzumacije hljeba je bila izložena populacija djece uzrasta od 10-14 godina ($CR = 2.57E-05$), zatim sljede populacije uzrasta 45-64 godine ($CR = 1.86E-05$), 65-74 godina ($CR = 1.79E-05$), 25-44 godina ($CR = 1.71E-05$), 15-17 godina ($CR = 1.62E-05$). Najniži kancerogeni rizik ($CR = 1.18E-06$) je dobijen za populaciju 18-24 godina.

Vrijednosti kancerogenog rizika od konzumacije čipsa i od konzumacije hljeba su opsegu $CR \leq 10^{-6}$ što ukazuje na prihvatljiv ili neznajčajni rizik od obolijevanja, vrijednosti kancerogenog rizika $CR \geq 10^{-4}$ ukazuju na postojanje ozbiljnog kancerogenog zdravstvenog rizika dok vrijednosti CR između $1 \cdot 10^{-6}$ do $1 \cdot 10^{-4}$ ukazuju na potencijalni rizik od obolijevanja (USEPA 1989b). Srednja vrijednost kancerogenog rizika od konzumacije čipsa i od konzumacije hljeba kod djece i kod odraslih spadaju u opseg od $1 \cdot 10^{-6}$ do $1 \cdot 10^{-4}$ što ukazuje na potencijalnu opasnost od obolijevanja.

Vrijednost ukupnog kancerogenog rizika TCR usled konzumacije oba proizvoda je bila najveća kod djece uzrasta 10-14 godina a najmanja kod odraslih uzrasta 18-24 godina. Ove vrijednosti se mogu poredjati sledećim redosledom: $TCR_{djeca(10-14g.)} > TCR_{djeca(15-17g.)} > TCR_{odrasli(25-44g.)} > TCR_{odrasli(25-44g.)} > TCR_{odrasli(45-64g.)} > TCR_{odrasli(65-74g.)} > TCR_{odrasli(18-24g.)}$

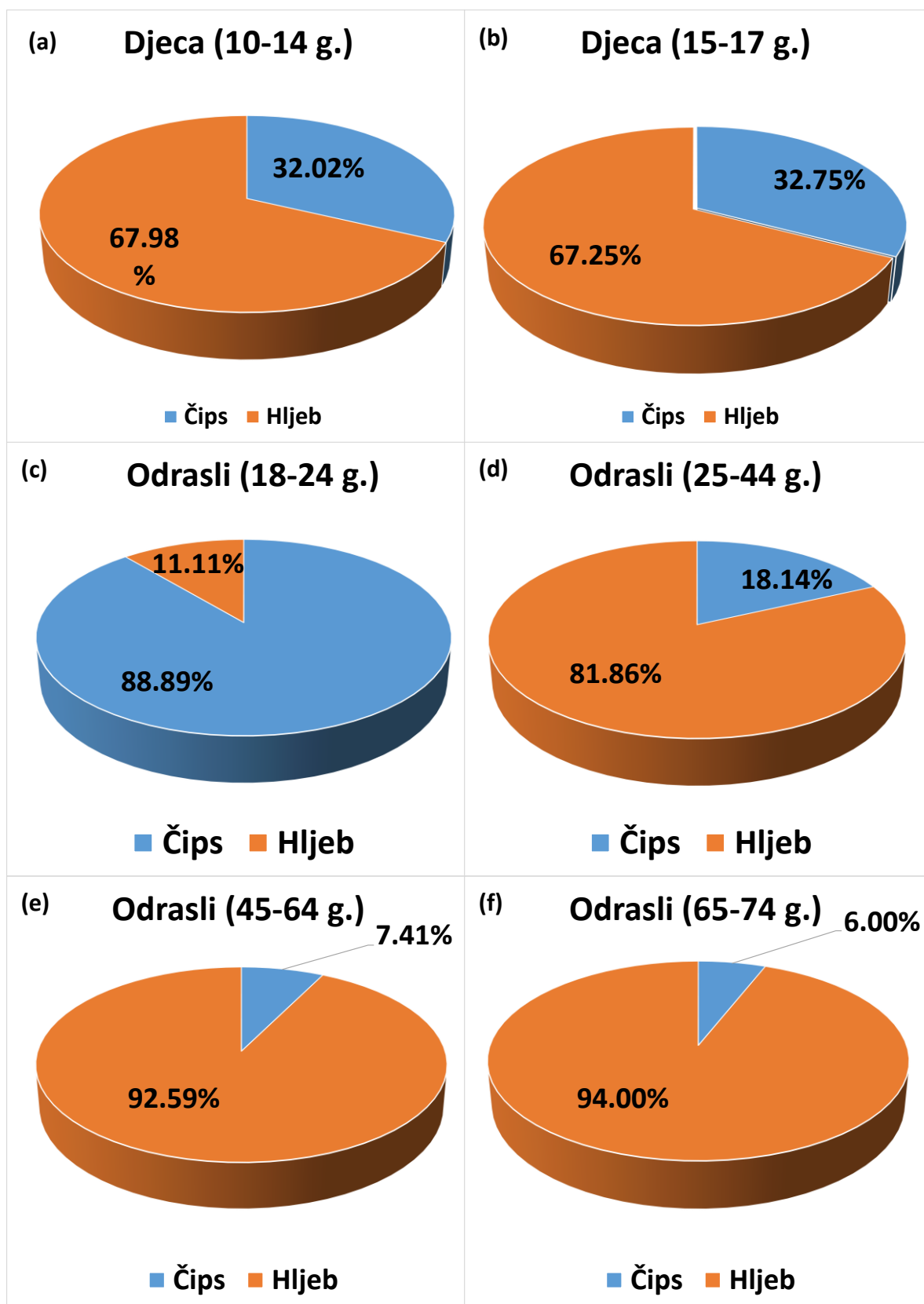
Vrijednosti TCR za sve ispitivane populacije su bile reda veličine 10^{-5} što ukazuje na potencijalni kancerogeni rizik usled konzumacije čipsa i hljeba.

Doprinos konzumacije ispitivanih proizvoda ukupnom kancerogenom riziku (TCR) za ispitivane populacije je prikazan na slici 10. Samo je u slučaju populacije uzrasta 18-24 godina uočen veći udio kancerogenog rizika od konzumacije čipsa u ukupnom kancerogenom riziku u odnosu na rizik od konzumacije hljeba dok je za sve ostale populacije dobijen veći doprinos ukupnom kancerogenom riziku od konzumacije hljeba u odnosu na konzumaciju čipsa.

Doprinos konzumacije hljeba ukupnom kancerogenom riziku kod obje populacije djece (10-14 godina i 15-17 godina) je bio oko 67% a doprinos konzumacije čipsa je bio oko 32%. Kod populacije uzrasta 18-24 godina, doprinos konzumacije čipsa ukupnom kancerogenom riziku je bio oko 89% a doprinos konzumacije hljeba oko 11%. Kod populacije 25-44 godina doprinosi konzumacije hljeba i čipsa su bili redom oko 82% i 18%, a za populacije uzrasta 45-64 godina i 65-74 godine dobijene su bliske vrijednosti doprinosa konzumacije hljeba i čipsa ukupnom kancerogenom riziku: doprinosi rizika od konzumacije hljeba su bile 93% i 94% za populacije 45-64 godina i 65-74 godina dok su doprinosi hljeba za navedene populacije bile redom 7% i 6%.

Tabela 9. Vrijednosti kancerogenog rizika (CR) usled dejstva akrilamida kroz konzumaciju čipsa i hljeba

Proizvod	Parametar	CR					
		Populacija					
		Djeca (10-14 godina)	Djeca (15-17 godina)	Odrasli (18-24 godina)	Odrasli (25-44 godina)	Odrasli (45-64 godina)	Odrasli (65-74 godina)
Čips	Srednja vrijednost	1.21E-05	7.89E-06	9.41E-06	3.79E-06	1.49E-06	1.14E-06
	Minimum	2.50E-06	1.63E-06	1.95E-06	7.83E-07	3.08E-07	2.37E-07
	Maximum	5.53E-05	3.61E-05	4.30E-05	1.73E-05	6.81E-06	5.23E-06
	SD	9.72E-06	6.33E-06	7.55E-06	3.04E-06	1.20E-06	9.19E-07
Hljeb	Srednja vrijednost	2.57E-05	1.62E-05	1.18E-06	1.71E-05	1.86E-05	1.79E-05
	Minimum	1.28E-05	8.07E-06	5.86E-07	8.51E-06	9.27E-06	8.93E-06
	Maximum	9.28E-05	5.85E-05	4.24E-06	6.17E-05	6.72E-05	6.47E-05
	SD ^a	2.04E-05	1.28E-05	9.31E-07	1.35E-05	1.47E-05	1.42E-05
TCR							
Populacija							
		Djeca (10-14 godina)	Djeca (15-17 godina)	Odrasli (18-24 godina)	Odrasli (25-44 godina)	Odrasli (45-64 godina)	Odrasli (65-74 godina)
		3.78E-05	2.41E-05	1.06E-05	2.09E-05	2.01E-05	1.91E-05



Slika 10: Doprinos konzumacije ispitivanih proizvoda ukupnom kancerogenom riziku (TCR) za ispitivane populacione grupe

10.ZAKLJUČAK

Rezultati ispitivanja sadržaja akrilamida u uzorcima čipsa i hljeba sa crnogorskog tržišta su pokazali:

- da je u 98% ispitivanih uzoraka čipsa i 85% ispitivanih uzoraka hljeba zadovoljavalo kriterijume propisane direktivom Evropske Unije ((EU) 2017/2158) tj. maksimalno 750 µg/kg za čips i 50 µg/kg za hljeb.
- da je za obje populacije djece uzrasta 10-14 godina i 15-17 godina, i za populacije odraslih (25-44, godina. 45-64 godina i 65-74 godine) dnevni unos akrilamida kroz konzumaciju hljeba bio veći u odnosu na unos kroz konzumaciju čipsa. Jedino je za populaciju 18-24 godine dobijen deset puta veći dnevni unos akrilamida kroz konzumaciju čipsa u odnosu na unos putem konzumacije hljeba. Ovaj podatak se može objasniti navikama u ishrani, karakterističnim za naše stanovništvo.Tradicionalna ishrna stanovništva u Crnoj Gori podrazumijeva konzumaciju velike količine hljebao glavi stanovnika, što je i posledica loših socio-ekonomskih uslova života.
- da ne postoji nekancerogeni rizik od unosa akrilamida bilo putem konzumacije čipsa bilo kroz konzumaciju hljeba ni za jednu ispitivanu populacionu grupu. Ne postoji ni ukupni kancerogeni rizik od konzumacije čipsa i hljeba.
- da postoji potencijalni kancerogeni rizik od dejstva akrilamida za sve ispitivane starosne grupe kroz konzumaciju ispitivanih proizvoda. Najveći kancerogeni rizik i od konzumiranja čipsa i od konzumacije hljeba evidentiran je za populaciju od 10-14 godina. Najmanji rizik od konzumacije čipsa je dobijen za najstariju populaciju 65-74 godine a što se tiče konzumacije hljeba najmanji kancerogeni rizik je dobijen za populaciju 18-24 godine.
- da jedino za populaciju uzrasta 18-24 godine konzumacija čipsa ima veći doprinos ukupnom kancerogenom riziku u odnosu na konzumaciju hljeba dok za sve ostale ispitivane populacije konzumacija hljeba ima veći doprinos ukupnom kancerogenom riziku u odnosu na konzumaciju čipsa.

- S obzirom na postojanje potencijalnog kancerogenog rizika od uticaja akrilamida putem konzumacije čipsa i hljeba neophodno je kontinuirano praćenje sadržaja akrilamida u ovim ispitivanim proizvodima. Osim toga neophodno je donijeti preporuke o izbalansiranoj zastupljenosti ovih namirnica u ishrani stanovništva Crne Gore.
- da budućim istraživanjima u ovoj oblasti treba obuhvatiti i ostale prehrambene proizvode (kafu, žitarice i ostale snek proizvode) kako bi se dobio uvid u kvalitet namirnica na crnogorskom tržištu sa stanovišta sadržaja akrilamida. Istraživanja treba usmjeriti i u pravcu ispitivanja uticaja skladištenja i načina pripreme namirnica kako bi se dobila potpuna slika kvaliteta namirnica sa aspekta sadržaja akrilamida sa crnogorskog tržišta i njihovog uticaja na ljudsko zdravlje. Na osnovu ovih istraživanja nadležne institucije mogu dati preporuke o ishrani stanovništva Crne Gore i na taj način doprinijeti smanjenju zdravstvenog rizika od konzumacije proizvoda koji sadrže akrilamid.

LITERATURA

- Abbas M, Chand N, Khan RU, et al (2019) Public health risk of heavy metal residues in meat and edible organs of broiler in an intensive production system of a region in Pakistan. *Environmental Science and Pollution Research* 26:23002–23009. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-05639-4>
- Ahn JS, Castle L, Clarke DB, et al (2002) Verification of the findings of acrylamide in heated foods. *Food Additives and Contaminants* 19:1116–1124. <https://doi.org/10.1080/0265203021000048214>
- Aktağ IG, Hamzalıoğlu A, Kocadağlı T, Gökmen V (2022) Dietary exposure to acrylamide: A critical appraisal on the conversion of disregarded intermediates into acrylamide and possible reactions during digestion. *Current Research in Food Science* 5:1118–1126
- Alpözen E, Güven G, Özdestan, Üren A (2015) Determination of acrylamide in three different bread types by an in-house validated LC-MS/MS method. *Acta Alimentaria* 44:211–220. <https://doi.org/10.1556/AAlim.2013.3333>
- Alves RC, Casal S, Oliveira BPP (2007) Factors influencing the norharman and harman contents in espresso coffee. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 55:929–934. <https://doi.org/10.1021/jf063128u>
- Alves RC, Soares C, Casal S, et al (2010) Acrylamide in espresso coffee: Influence of species, roast degree and brew length. *Food Chemistry* 119:1832–1838. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.07.051>
- Amrein TM, Andres L, Manzardo GGG, Amadò R (2006) Investigations on the promoting effect of ammonium hydrogencarbonate on the formation of acrylamide in model systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 54:10253–10261. <https://doi.org/10.1021/jf0625860>
- Amrein TM, Bachmann S, Noti A, et al (2003) Potential of acrylamide formation, sugars, and free asparagine in potatoes: A comparison of cultivars and farming systems. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51:5556–5560. <https://doi.org/10.1021/jf034344v>
- Andačić IM, Tot A, Ivešić M, et al (2020) Exposure of the Croatian adult population to acrylamide through bread and bakery products. *Food Chemistry* 322:322.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126771>

Andrzejewski D, Roach JAG, Gay ML, Musser SM (2004) Analysis of Coffee for the Presence of Acrylamide by LC-MS/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52:1996–2002. <https://doi.org/10.1021/jf0349634>

Anese M, Nicoli MC, Verardo G, et al (2014) Effect of vacuum roasting on acrylamide formation and reduction in coffee beans. *Food Chemistry* 145:168–172. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.08.047>

Arisseto A, de Figueiredo Toledo M, Govaert Y, et al (2009) Contribution of selected foods to acrylamide intake by a population of Brazilian adolescents. *LWT - Food Science and Technology* 42:207–211

Backer LC, Schurz-Rogers H, Fleming LE, et al (2004) Marine phycotoxins in seafood. In: *Toxins in Food*. pp 155–189

Badanjak Sabolović M, Rimac Brnčić S (2016) Utjecaj procesa pripreme na udio akrilamida u prerađenoj hrani. *Hrvatski časopis za prehrambenu tehnologiju, biotehnologiju i nutricionizam* 11:79–84

Bagdonaite K, Derler K, Murkovic M (2008) Determination of acrylamide during roasting of coffee. In: *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. pp 6081–6086

Bartkiene E, Bartkevics V, IPugajeva I, et al (2017) Parameters of rye, wheat, barley, and oat sourdoughs fermented with *Lactobacillus plantarum* LUHS 135 that influence the quality of mixed rye–wheat bread, including acrylamide formation. *International Journal of Food Science & Technology* 52:

Basaran B, Faiz O (2022) Determining the Levels of Acrylamide in Some Traditional Foods Unique to Turkey and Risk Assessment. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* 21:e123948. <https://doi.org/10.5812/ijpr.123948>

Becalski A, Stadler R, Hayward S, et al (2010) Antioxidant capacity of potato chips and snapshot trends in acrylamide content in potato chips and cereals on the canadian market. *Food Additives and Contaminants - Part A* 27:1193–1198. <https://doi.org/10.1080/19440049.2010.483692>

Bertuzzi T, Martinelli E, Mulazzi A, Rastelli S (2020) Acrylamide determination during an industrial roasting process of coffee and the influence of asparagine and low molecular weight sugars. *Food Chemistry* 303:25372.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125372>

- Blank I (2005) Current status of acrylamide research in food: Measurement, safety assessment, and formation. In: *Annals of the New York Academy of Sciences*. pp 30–40
- Bråthen E, Kita A, Knutsen SH, Wicklund T (2005) Addition of glycine reduces the content of acrylamide in cereal and potato products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53:693–700. <https://doi.org/10.1021/jf048082o>
- Bråthen E, Knutsen SH (2005) Effect of temperature and time on the formation of acrylamide in starch-based and cereal model systems, flat breads and bread. *Food Chemistry* 92:. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.08.030>
- Bušová M, Bencko V, Kromerová K, et al (2020) Occurrence of acrylamide in selected food products. *Central European Journal of Public Health* 28:320–324. <https://doi.org/10.21101/cejph.a6430>
- Ciesarová Z, Kiss E, Kolek E (2006) Study of factors affecting acrylamide levels in model systems. *Czech Journal of Food Sciences* 24:133–137. <https://doi.org/10.17221/3308-cjfs>
- Cieslik I, Cieslik E, Topolska K, Surma M (2020) Dietary acrylamide exposure from traditional food products in lesser Poland and associated risk assessment. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 27:225–230. <https://doi.org/10.26444/aaem/109063>
- Claus A, Mongili M, Weisz G, et al (2008) Impact of formulation and technological factors on the acrylamide content of wheat bread and bread rolls. *Journal of Cereal Science* 47:546–554. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2007.06.011>
- Cordoba N, Pataquiva L, Osorio C, et al (2019) Effect of grinding, extraction time and type of coffee on the physicochemical and flavour characteristics of cold brew coffee. *Scientific Reports* 9:1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44886-w>
- Curtis TY, Halford NG (2016) Reducing the acrylamide-forming potential of wheat. *Food and Energy Security* 5:153–164
- De Wilde T, De Meulenaer B, Mestdagh F, et al (2005) Influence of storage practices on acrylamide formation during potato frying. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53:6550–6557. <https://doi.org/10.1021/jf050650s>

- Dearfield KL, Abernathy CO, Ottley MS, et al (1988) Acrylamide: its metabolism, developmental and reproductive effects, genotoxicity, and carcinogenicity. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology* 195:45–77
- Delatour T, Périsset A, Goldmann T, et al (2004) Improved sample preparation to determine acrylamide in difficult matrixes such as chocolate powder, cocoa, and coffee by liquid chromatography tandem mass spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52:4625–4631. <https://doi.org/10.1021/jf0498362>
- EC (2017) Commission Regulation (EU) 2017/2158 of 20 November 2017 establishing mitigation measures and benchmark levels for the reduction of the presence of acrylamide in food
- EFSA (2015) Scientific Opinion on acrylamide in food. *EFSA Journal* 13:4104. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2015.4104>
- EFSA (2011) Results on acrylamide levels in food from monitoring years 2007-2009 and exposure assessmentScientific report of EFSA. *EFSA Journal* 4:2133
- Eriksson S (2005) Acrylamide in food products: Identification, formation and analytical methodology. PhD Thesis. Stockholm University, Stockholm, Sweden.
- Eslamizad S, Kobarfard F, Tsitsimpikou C, et al (2019) Health risk assessment of acrylamide in bread in Iran using LC-MS/MS. *Food and Chemical Toxicology* 126:162-168. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.02.019>
- Exon JH (2006) A review of the toxicology of acrylamide. *Journal of Toxicology and Environmental Health - Part B: Critical Reviews* 9:397–412. <https://doi.org/10.1080/10937400600681430>
- FAO/WHO (2004) Discussion paper on acrylamide. Thirty-sixth Session Rotterdam, The Netherlands, 22–26 March
- FAO/WHO (2002) Health implications of acrylamide in food.In: Report of a Joint FAO/WHO Consultation. 25–27 June 2002. Geneva, Switzerland.
- Faulstich H (2004) Mushroom toxins. In: *Toxins in Food*. pp 65–83
- Filippini T, Tancredi S, Malagoli C, et al (2019) Aluminum and tin: Food contamination and dietary intake in an Italian population. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 52:293–301. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2019.01.012>

- Galani JHY, Patel NJ, Talati JG (2017) Acrylamide-forming potential of cereals, legumes and roots and tubers analyzed by UPLC-UV. *Food and Chemical Toxicology* 108:244–248. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.08.011>
- Gökmen V, Kocadağlı T, Göncüoğlu N, Mogol BA (2012) Model studies on the role of 5-hydroxymethyl-2-furfural in acrylamide formation from asparagine. *Food Chemistry* 132:168–174. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.10.048>
- Govaert Y, Ariseto A, Van Loco J, et al (2006) Optimisation of a liquid chromatography-tandem mass spectrometric method for the determination of acrylamide in foods. *Analytica Chimica Acta* 556:275–280. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2005.09.045>
- Hagmar L, Törnqvist M, Nordander C, et al (2001) Health effects of occupational exposure to acrylamide using hemoglobin adducts as biomarkers of internal dose. *Scandinavian Journal of Work, Environment and Health* 27:219–226. <https://doi.org/10.5271/sjweh.608>
- Hajeb P, Sloth JJ, Shakibazadeh S, et al (2014) Toxic elements in food: Occurrence, binding, and reduction approaches. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 13:457–472
- Halford NG, Muttucumaru N, Powers SJ, et al (2012) Concentrations of free amino acids and sugars in nine potato varieties: Effects of storage and relationship with acrylamide formation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60:12044–12055. <https://doi.org/10.1021/jf3037566>
- Hamzahoğlu A, Gökmen V (2020) 5-Hydroxymethylfurfural accumulation plays a critical role on acrylamide formation in coffee during roasting as confirmed by multiresponse kinetic modelling. *Food Chemistry* 318:126467. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126467>
- Hariri E, Abboud MI, Demirdjian S, et al (2015) Carcinogenic and neurotoxic risks of acrylamide and heavy metals from potato and corn chips consumed by the Lebanese population. *Journal of Food Composition and Analysis* 42:91–97. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2015.03.009>
- Hilbig A, Freidank N, Kersting M, et al (2004) Estimation of the dietary intake of acrylamide by German infants, children and adolescents as calculated from dietary records and available data on acrylamide levels in food groups. *International Journal of Hygiene and*

Environmental Health 207:463–471. <https://doi.org/10.1078/1438-4639-00317>

- Hu Q, Xu X, Fu Y, Li Y (2015) Rapid methods for detecting acrylamide in thermally processed foods: A review. *Food Control* 135–146
- Huang C, Jiang S, Yang Y, et al (2021) Contaminant acrylamide in food: toxicity, detection methods, mitigation measures and risk assessment for humans. *Natural Resources for Human Health* 1:98–109
- Huxley R, Lee CMY, Barzi F, et al (2009) Coffee, decaffeinated coffee, and tea consumption in relation to incident type 2 diabetes mellitus: A systematic review with meta-analysis. *Archives of Internal Medicine* 169:2053–2063
- IARC (1994) Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Acrylamide, Summary of Data Reported and Evaluation IARC, Lyon, France. 389
- Jägerstad M, Skog K (2005) Genotoxicity of heat-processed foods. In: *Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*. pp 156–172
- Jones KC, De Voogt P (1999) Persistent organic pollutants (POPs): State of the science. In: *Environmental Pollution*. pp 209–221
- Kita A, Bråthen E, Knutsen SH, Wicklund T (2004) Effective ways of decreasing acrylamide content in potato crisps during processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 52:7011–7016. <https://doi.org/10.1021/jf049269i>
- Krishnakumar T, Visvanathan R (2014) Acrylamide in food products: A review. *Food Processing and Technology* 5:344
- Kupper T, Bürge D, Bachmann HJ, et al (2014) Heavy metals in source-separated compost and digestates. *Waste Management* 34:867–874. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2014.02.007>
- Lachenmeier DW, Schwarz S, Teipel J, et al (2019) Potential Antagonistic effects of acrylamide mitigation during coffee roasting on furfuryl alcohol, furan and 5-hydroxymethylfurfural. 71:1
- Lantz I, Ternité R, Wilkens J, et al (2006) Studies on acrylamide levels in roasting, storage and brewing of coffee. *Molecular Nutrition and Food Research* 50:1039–1046. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200600069>
- Lee JG, Hwang JY, Lee HE, et al (2019) Effects of food processing methods on migration of

- heavy metals to food. *Applied Biological Chemistry* 62:1–10.
<https://doi.org/10.1186/s13765-019-0470-0>
- Lian M, Wang J, Sun L, et al (2019) Profiles and potential health risks of heavy metals in soil and crops from the watershed of Xi River in Northeast China. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 169:442–448. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.11.046>
- Lineback DR, Coughlin JR, Stadler RH (2012) Acrylamide in foods: A review of the science and future considerations. *Annual Review of Food Science and Technology* 3:15–35
- Lingnert H, Grivas S, Jägerstad M, et al (2002) Acrylamide in food: Mechanisms of formation and influencing factors during heating of foods. *Scandinavian Journal of Nutrition/Naringsforskning* 46:159–172
- Linebacker D, Wenzl T, Ostermann OP, et al (2005) Overview of acrylamide monitoring databases. *Journal of AOAC International* 88:246–252
- Maia L, De Mendonça A (2002) Does caffeine intake protect from Alzheimer's disease? *European Journal of Neurology* 9:377–382. <https://doi.org/10.1046/j.1468-1331.2002.00421.x>
- Makedonski L, Peycheva K, Stancheva M (2017) Determination of heavy metals in selected black sea fish species. *Food Control* 72:313–318.
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.08.024>
- Martinovic A, Barjaktarovic Labovic S, Orahovac A, Dakovic V (2022) National Dietary Survey on Adolescents, Adults, Elderly and Pregnant Women in Montenegro. *EFSA Supporting Publications* 19:7196E. <https://doi.org/10.2903/sp.efsa.2022.en-7196>
- Matthäus B, Haase NU (2014) Acrylamide - Still a matter of concern for fried potato food? *European Journal of Lipid Science and Technology* 116:675–687.
<https://doi.org/10.1002/ejlt.201300281>
- Mencin M, Abramovič H, Vidrih R, Schreiner M (2020) Acrylamide levels in food products on the Slovenian market. *Food Control* 114:107267.
<https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107267>
- Mestdagh F, Maertens J, Cucu T, et al (2008) Impact of additives to lower the formation of acrylamide in a potato model system through pH reduction and other mechanisms. *Food Chemistry* 107:26–31. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.07.013>

- Mojska H, Gielecińska I, Szponar L, Ołtarzewski M (2010) Estimation of the dietary acrylamide exposure of the Polish population. *Food and Chemical Toxicology* 48:2090–2096. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.05.009>
- Mollakhalili-Meybodi N, Khorshidian N, Nematollahi A, Arab M (2021) Acrylamide in bread: a review on formation, health risk assessment, and determination by analytical techniques. *Environmental Science and Pollution Research* 28:15627–15645
- Monika, Rani R, Gehlot R, et al (2021) Acrylamide in food products. *International Journal of Chemical Studies* 9:76–84. <https://doi.org/10.22271/chemi.2021.v9.i2b.11970>
- Mousavi Khaneghah A, Fakhri Y, Nematollahi A, et al (2020) The Concentration of Acrylamide in Different Food Products: A Global Systematic Review, Meta-Analysis, and Meta-Regression. *Food Reviews International* 1286–1304
- Murkovic M (2004) Acrylamide in Austrian foods. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods* 61:161–167. <https://doi.org/10.1016/j.jbbm.2004.02.006>
- Muttucumaru N, Powers SJ, Elmore JS, et al (2013) Effects of nitrogen and sulfur fertilization on free amino acids, sugars, and acrylamide-forming potential in potato. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61:6734–6742. <https://doi.org/10.1021/jf401570x>
- Namir M, Rabie MA, Rabie NA, Ramadan MF (2018) Optimizing the addition of functional plant extracts and baking conditions to develop acrylamide-free pita bread. *Journal of Food Protection* 81:1696–1706. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-18-150>
- Nematollahi A, Kamankesh M, Hosseini H, et al (2020) Investigation and determination of acrylamide in 24 types of roasted nuts and seeds using microextraction method coupled with gas chromatography–mass spectrometry: central composite design. *Journal of Food Measurement and Characterization* 14:1249–1260. <https://doi.org/10.1007/s11694-020-00373-9>
- Nematollahi A, Kamankesh M, Hosseini H, et al (2019) Investigation and determination of acrylamide in the main group of cereal products using advanced microextraction method coupled with gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Cereal Science* 87:157–164. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2019.03.019>
- Özkaynak E, Ova G (2009) Effects of various cooking conditions on acrylamide formation in rolled patty. *Food Additives and Contaminants - Part A* 26:793–799.

<https://doi.org/10.1080/02652030902780257>

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

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.12.057>

Pogurschi EN, Zugravu CA, Ranga IN, et al (2021) Determination of acrylamide in selected foods from the Romanian market. *Foods* 10:2110.

<https://doi.org/10.3390/foods10092110>

PubChem PubChem National Center for Biotechnology Information U.S. National Library of medicine. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Acrylamide>. Accessed 25 May 2024

Rice JM (2005) The carcinogenicity of acrylamide. *Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 580:3–20

Rifai L, Saleh FA (2020) A Review on Acrylamide in Food: Occurrence, Toxicity, and Mitigation Strategies. *International Journal of Toxicology* 93–102

Romani S, Bacchiocca M, Rocculi P, Dalla Rosa M (2008) Effect of frying time on acrylamide content and quality aspects of French fries. *European Food Research and Technology* 226:555–560. <https://doi.org/10.1007/s00217-007-0570-7>

Rufián-Henares JA, Morales FJ (2006) Determination of acrylamide in potato chips by a reversed-phase LC-MS method based on a stable isotope dilution assay. *Food Chemistry* 97:555–562. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.06.007>

Ruxton CHS (2008) The impact of caffeine on mood, cognitive function, performance and hydration: A review of benefits and risks. *Nutrition Bulletin* 33:15–25

Rydberg P, Eriksson S, Tareke E, et al (2003) Investigations of Factors That Influence the Acrylamide Content of Heated Foodstuffs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51:7012–7018. <https://doi.org/10.1021/jf034649+>

Sarion C, Codină GG, Dabija A (2021) Acrylamide in bakery products: A review on health risks, legal regulations and strategies to reduce its formation. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 18:4332

Schouten MA, Tappi S, Romani S (2020) Acrylamide in coffee: formation and possible mitigation strategies—a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 60:3807–

- Shamla L, Nisha P (2014) Acrylamide in deep-fried snacks of India. Food Additives and Contaminants: Part B Surveillance 7:220–225
- Shen Y, Chen G, Li Y (2019) Effect of added sugars and amino acids on acrylamide formation in white pan bread. Cereal Chemistry 96:545– 553.
<https://doi.org/10.1002/cche.10154>
- Shipp A, Lawrence G, Gentry R, et al (2006) Acrylamide: Review of toxicity data and dose-response analyses for cancer and noncancer effects. Critical Reviews in Toxicology 481–608.
- Soares CMD, Alves RC, Oliveira MBPP (2015) Factors Affecting Acrylamide Levels in Coffee Beverages. In: Coffee in Health and Disease Prevention. pp 217–224
- Summa CA, de la Calle B, Brohee M, et al (2007) Impact of the roasting degree of coffee on the in vitro radical scavenging capacity and content of acrylamide. LWT 40:1849–1854.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2006.11.016>
- Tajner-Czopek A, Kita A, Rytel E (2021) Characteristics of french fries and potato chips in aspect of acrylamide content—methods of reducing the toxic compound content in ready potato snacks. Applied Sciences (Switzerland) 11:3943
- Tareke E, Rydberg P, Karlsson P, et al (2002) Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated foodstuffs. Journal of Agricultural and Food Chemistry 50:4998–5006.
<https://doi.org/10.1021/jf020302f>
- Tepe Y, Çebi A (2019) Acrylamide in Environmental Water: A Review on Sources, Exposure, and Public Health Risks. Exposure and Health 11:3–12
- Thakali A, MacRae JD (2021) A review of chemical and microbial contamination in food: What are the threats to a circular food system? Environmental Research 194:110635
- USEPA (1989a) Risk Assessment Guidance for Superfund. Human Health Evaluation Manual Part A, Interim Final,. United States Environmental Protection Agency
- USEPA (2010) Toxicological review of acrylamide (CAS no. 79-06-1) in support of summary Information on the Integrated Risk Information System (IRIS). EPA/635/R-07/009F, US EPA Washington, DC
- USEPA (1989b) Risk Assessment Guidance for Superfund Volume I Human Health

Evaluation Manual (Part A) EPA/540/1-89/002. Office of Emergency and Remedial Response, U.S. Environmental Protection Agency Washington, D.C.

Wang X, Xu L (2014) Influence Factors on the Formation of Acrylamide in the Amino Acid/Sugar Chemical Model System. *Journal of Food and Nutrition Research* 2:344–348. <https://doi.org/10.12691/jfnr-2-7-3>

Wawrzyniak R, Jasiewicz B (2019) Straightforward and rapid determination of acrylamide in coffee beans by means of HS-SPME/GC-MS. *Food Chemistry* 301:125264. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125264>

Wilson TL, Guttieri MJ, Nelson NO, et al (2020) Nitrogen and sulfur effects on hard winter wheat quality and asparagine concentration. *Journal of Cereal Science* 93:102969. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2020.102969>

Xu Y, Cui B, Ran R, et al (2014) Risk assessment, formation, and mitigation of dietary acrylamide: Current status and future prospects. *Food and Chemical Toxicology* 69:1–12

Yang Y, Achaerandio I, Pujolà M (2016) Influence of the frying process and potato cultivar on acrylamide formation in French fries. *Food Control* 62:216–223. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.10.028>

Zamani E, Shokrzadeh M, Fallah M, Shaki F (2017) A review of acrylamide toxicity and its mechanism. *Pharmaceutical and Biomedical Research* 3:1–7. <https://doi.org/10.18869/acadpub.pbr.3.1.1>

Zhang H, Zhang H, Cheng L, et al (2015) Influence of deep-frying using various commercial oils on acrylamide formation in French fries. *Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment* 32:1083–1088. <https://doi.org/10.1080/19440049.2015.1045559>

Zhang Y, Zhang Y (2007) Formation and reduction of acrylamide in maillard reaction: A review based on the current state of knowledge. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 47:. <https://doi.org/10.1080/10408390600920070>

Zuliani T, Vidmar J, Drinčić A, et al (2019) Potentially toxic elements in muscle tissue of different fish species from the Sava River and risk assessment for consumers. *Science of the Total Environment* 650:958–969. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.083>