

## DETERMINATION OF ACRYLAMIDE IN FOOD BY GAS AND LIQUID CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRY

*Miriam Vlčáková, Michaela Vieriková***ABSTRACT**

Acrylamide in food was determined by gas chromatography – mass spectrometry (GC-MS) after bromination of acrylamide and underivatized acrylamide was quantified by ultra performance liquid chromatography–mass spectrometry (UPLC-MS). Two different sample preparation methods were used and optimised. The GC-MS method was used for various food matrices like breads, potato crisps, potato crackers, french fries. The UPLC-MS method was used for analysis of coffee. The limit of detection and limit of quantification for acrylamide were  $7 \mu\text{g.kg}^{-1}$  and  $20 \mu\text{g.kg}^{-1}$  by GC-MS,  $9 \mu\text{g.kg}^{-1}$  and  $30 \mu\text{g.kg}^{-1}$  by UPLC-MS. For both methods the reproducibility, given as relative standard deviation was  $< 5\%$ , and the recovery was close to 100 %

**Keywords:** acrylamide, food, LC-MS

**ÚVOD**

Akrylamid ( $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CONH}_2$ , 2-propénamid) je tuhá biela kryštalická látka bez vône s relatívnou molekulovou hmotnosťou 71,08. Teplota topenia akrylamidu:  $84,5 \pm 0,3 \text{ }^\circ\text{C}$ , teplota varu:  $136 \text{ }^\circ\text{C}$  pri 3,3 kPa/25 mm Hg. Je rozpustný vo vode, acetóne a etanole, má vysokú mobilitu v pôde a podzemných vodách. Akrylamid je difunkčný monomér – obsahuje reaktívnu elektrofilnú dvojitú väzbu a amidovú skupinu. Je silný chromofór pre UV detekciu, má vlastnosti slabšej kyseliny aj zásady.

Akrylamid môže byť prítomný v životnom prostredí ako dôsledok antropogénnych ale aj prirodzených procesov. Má široké použitie vo vedeckom výskume, kde sa využíva jeho schopnosť selektívne modifikovať SH-skupiny v štruktúrnych a funkčných proteínoch (Eriksson, 2005). Na priemyselne účely sa akrylamid syntetizuje hydratáciou akrylonitrilu a používa sa na výrobu polyakrylamidu (EPA, 1996).

Akrylamid sa nepridáva do potravín v žiadnej forme. Jeho prítomnosť v potravinách môže byť zapríčinená kontamináciou z vonkajšieho prostredia alebo vzniká počas tepelnej úpravy potravín. Stopové množstvá akrylamidu v potravinách je možné zistiť po použití akrylamidových polymérov alebo kopolymérov počas technologického spracovania potravín alebo ako dôsledok ich použitia v obaloch na potraviny.

Obsah zvyškového akrylamidu je limitovaný v aditívnych látkach, vo vode na oplachovanie ovocia a zeleniny, v papierových obaloch na potraviny aj v modifikovanom škrobe. Tieto zdroje vysvetľujú prítomnosť akrylamidu vo väčšine potravín v koncentráciách zhruba  $15\text{--}350 \mu\text{g.kg}^{-1}$ . Vysoké koncentrácie akrylamidu (až do  $12\,000 \mu\text{g.kg}^{-1}$ ) boli zistené najmä v tepelne spracovaných potravinách. Ide o potraviny upravované pri teplotách vyšších ako  $120 \text{ }^\circ\text{C}$ , pečením, smažením, grilovaním alebo mikrovlným ohrevom, obsahujúce zároveň proteíny a sacharidy.

K vzniku akrylamidu v potravinách dochádza počas tepelného spracovania potravín. Za hlavný mechanizmus jeho vzniku je všeobecne považovaná reakcia medzi voľnou geneticky kódovanou neesenciálnou aminokyselinou asparagínom a karbonylovými zlúčeninami (Mottram et al., 2002; Becalski et al., 2003; Stadler et al., 2003; JIFSAN, 2004) ako súčasť

Maillardovej reakcie, ktorá patrí medzi najvýznamnejšie a najrozšírenejšie chemické reakcie počas skladovania a spracovania potravín.

Akrylamid je podľa Medzinárodnej agentúry pre výskum rakoviny IARC klasifikovaný v skupine 2A ako pravdepodobne karcinogénny pre ľudí. U ľudí bol potvrdený neurotoxický účinok.

Prehľady používaných stanovení akrylamidu boli viackrát publikované vo forme review (Wenzl et al., 2004; Castle et Eriksson, 2005; Zhang et al., 2005). Najpoužívanejšími technikami stanovenia sú plynová a kvapalinová chromatografia.

Akrylamid možno bromáciou na dvojitú väzbu skonvertovať na 2,3-dibromopropionamide a ten následne stanoviť pomocou plynovej chromatografie s detektorom elektrónového záchytu (GC ECD) alebo plameňovo ionizačného detektora (GC FID) (Tekel et al., 1989). Debromináciou 2,3-dibromopropionamidu možno získať stabilnejší 2-bromopropénamid a ten následne stanoviť pomocou GC ECD a GC FID (Andrawes et al., 1987; Martin et al., 1990). Akrylamid je možné stanoviť po bromácii alebo na priamo technikou plynovej chromatografie v spojení s hmotnostnou spektrometriou (GC MS) (Biedermann et al., 2002; Tateo et Bononi, 2003; Matthäus et al., 2004; Ciesarová et al., 2004).

Vzhľadom na to, že akrylamid neposkytuje špecifické absorpčné maximá pri stanovení pomocou DAD detekcie, spravidla sa analyzuje v oblasti pod  $200 \text{ nm}$ , kde je značné množstvo interferentov, je možné jeho stanovenie bez bromácie len pri vyšších koncentráciách (Skelly et al., Husser, 1978; Shanker et al., 1990; Ver Vers, 1999) Po bromácii je možné stanovenie aj nižších koncentrácií (Brown and Rhead, 1979; Brown et al., 1982). Najpoužívanejšou technikou je kvapalinová chromatografia s hmotnostnou spektrometriou. Na analýzu nie je príliš vhodná reverzno-fázová chromatografia, nakoľko akrylamid sa na tomto type fáz nezadržiava. Zo stacionárnych fáz sa využívajú: C18 – hydrophylic end capping – Aquasil C18, (Becalski et al., 2003; Becalski et al., 2004), 100 % porous graphitic carbon - Hypercarb® (Ahn et al., 2002; Rosém et al., 2002; Becalski et al., 2003; Leung et al., 2003), C18 with polar end capping – Synergi™ Hydro-RP (Roach et al., 2003, Andrzejewski et al., 2004). Po separácii sa eluát analyzuje hmotnostným

spektrometrom ionizacia elektrospray positive (Ahn et al., 2002; Gutsche et al., 2002; Rosém et al., 2002, Becalski et al., 2003; Hartig et al., 2003; Leung et al., 2003; Ono

et al., 2003; Riediker & Stadler, 2003; Roach et al., 2003; Andrzejewski et al., 2004; Granby & Faght, 2004; Hoenicke, et al. 2004b; Shis et al., 2004).

## MATERIÁL A METÓDY

### GC-MS/MS

Do odmerného valca sa naváži zhomogenizovaná vzorka. Pridá sa vnútorný štandard D<sub>3</sub> akrylamid a redistilovaná voda a 10 minút sa mixuje na Ultraturaxe. Obsah sa preniesie do polypropylénovej centrifugačnej skúmavky a 10 min sa centrifuguje pri 23 000 x g. Supernatant sa prefiltruje cez filter Whatman GF/A. Pridá sa KBr, ktorý miešaním rozpustí. Upraví sa pH na 1-3 koncentrovaným HBr, potom sa pridá nasýtená brómová voda a zamieša sa. Vzorka sa vloží do ľadového kúpeľa v tme a nechá sa reagovať 1 hodinu. Prebytok brómu sa odstráni pridaním 1M Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> .H<sub>2</sub>O opatrne po kvapkách až do odfarbenia. Pridá sa vyžíhaný Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> krúživým pohybom sa opatrne zamieša tak, aby vzniknutá zrazenina ostala neporušená. Roztok sa prevedie do 250ml deliaceho lievika a extrahuje sa 2x octanom etylnatým. Organická fáza sa presuší cez vrstvu bezvodého Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> a filter sa premyje octanom etylnatým. Spojené organické fázy sa odparia na RVO a do sucha sa dofúkajú dusíkom. Rezíduá sa rozpustia v octane etylnatom. Takto pripravené rezíduá vzoriek sú injektované „on column“ do GC/MS/MS systému. Teplotný program kolóny CP Sil 24 CB LOW BLEED/MS izotermicky 2min. pri 55 °C, potom 17,5 °C /min. do 220 °C, držať pri 220 °C 2min., 30 °C/min. do 270 °C a izotermicky 3 min. Teplotný program injektora 0,2min. pri 65 °C, potom 150 °C/min. do 220 °C, izotermicky 10min. 220 °C a schladiť na 65 °C. Nástrek je 1µl. Analýza je prevedená použitím elektrónovej ionizácie 70 eV a selektívneho iónového monitoringu. Pri identifikácii analytov sa sledujú parent ióny a pri kvantifikácii analytov produkt ióny podľa tabuľky 1.

**Tabuľka 1 Parametre nastavenia iónov akrylamidu a vnútorného štandardu akrylamidu D<sub>3</sub>**

Analyt	Rodičovský ión (m/z)	RT (min.)	Segment	Dcérsky ión (m/z)	CID RF (m/z)	CID Volt (V)
Akrylamid	152	11,08	2	135, 109	48	20
Akrylamid D <sub>3</sub>	155	11,08	2	137	48	20

m/z – molekulová hmotnosť, RT – retenčný čas, CID – separácia indukovaná kolíziou, RF – rezonančná frekvencia

### UPLC-MS/MS

Do odmernej banky sa naváži zhomogenizovaná vzorka. Pridá sa deionizovaná voda. Pretrepe sa a umiestni na ultrazvuk na 10 min. Počas trepania sa pridá 2ml Carez I.

a 2 ml Carez II. Umiestni sa na vodný kúpeľ s teplotou 60°C na 10 min. Nechá sa ochladiť. Pridá sa acetonitril a hexán. Zatvorí sa, pretrepe a umiestni na 10 min. na ultrazvuk. Prefiltruje sa cez filtračný papier Watman 5 do odmerného valca.

Príprava sklenenej kolóny: Do spodnej časti kolóny sa umiestni vata. Kolóna sa naplní hydromatrixom. Na kolónu sa nanesie výluh. Nechá sa postáť 15 min. Eluuje sa octanom etylnatým. Odparí na RVO. Dofúka sa dosucha pod prúdom dusíka. Rezíduá sa rozpustia v 1 ml vody. Cez sklenený lievik, v ktorom je umiestnená sklená vata, sa preleje do vialiek. Takto pripravené rezíduá vzoriek sú injektované do UPLC/MS/MS systému. Na analýzu akrylamidu a vnútorného štandardu D<sub>3</sub> akrylamid sa použije chromatografická kolóna : Waters Acquity UPLC BEH C18 1,7 µm, 2,1 x 100 mm teplota: 30 °C, prietok: 0,3 ml/min., eluent: A- 0,1 % kyselina mravčia, B- 0,1 % kyselina mravčia v acetonitrile.

Na kvantifikáciu akrylamidu bola použitá metóda UPLC/MS/MS s elektrospray ionizáciou v pozitívnom móde. Akrylamid je identifikovaný selektívnym reakčným monitoringom (SRM). Monitorované tranzície sú v tabuľke 2.

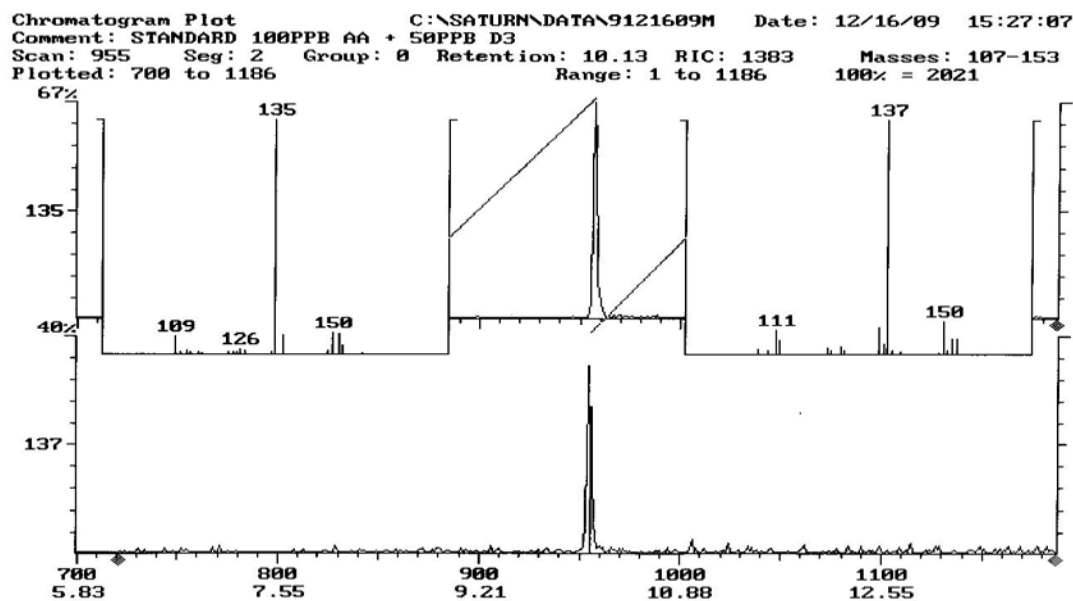
**Tabuľka 2 Tranzície štandardu akrylamidu a vnútorného štandardu akrylamidu D<sub>3</sub>**

Analyt	RT (min.)	Rodičovský ión (m/z)	Dcérsky ión (m/z)	Napätie na kapiláre (V)	Kolízna energia (eV)
Akrylamid	1,18	71,8	54,8	18	9
Akrylamid D <sub>3</sub>	1,17	74,7	57,7	22	11

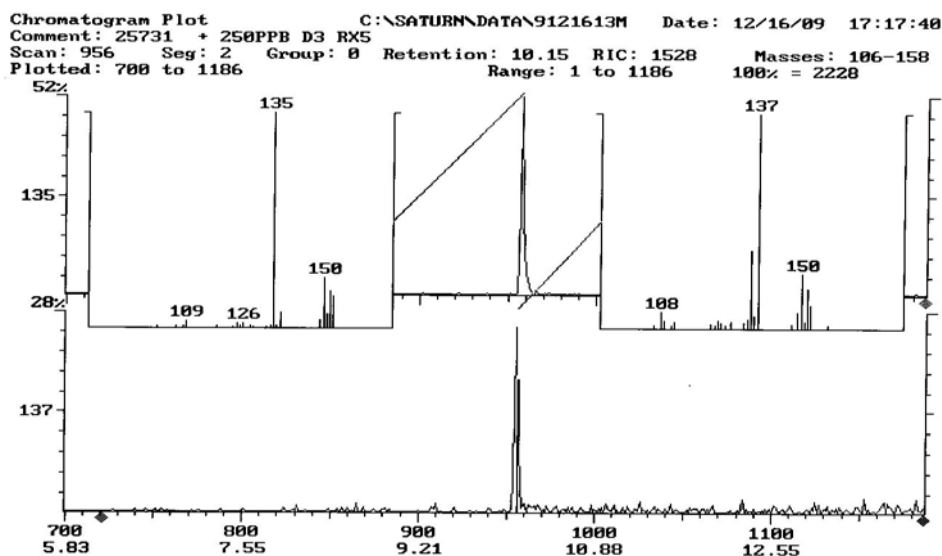
m/z – molekulová hmotnosť, RT – retenčný čas, CID – separácia indukovaná kolíziou, RF – rezonančná frekvencia

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

Akrylamid v potravinách bol stanovený plynovou chromatografiou s hmotnostnou detekciou (GC-MS) po bromácií akrylamidu a nederivatizovaný kvapalinovou chromatografiou s hmotnostnou detekciou (UPLC-MS). GC-MS metóda bola použitá pre rôzne potravinové matrice ako sú chlieb, zemiakové lupienky, zemiakové hranolky, zemiakové kreky. Chromatografický záznam štandardu akrylamidu (koncentrácia 100 µg.l<sup>-1</sup>) a vnútorného štandardu akrylamidu D<sub>3</sub> (koncentrácia 50 µg.l<sup>-1</sup>) je na obrázku 1 a vzorky – sušienky – s obsahom akrylamidu 405 µg.kg<sup>-1</sup> na obrázku 2. Bromácia akrylamidu má výhodu v tom, že vzniká viac prchavá zlúčenina, ktorá zvyšuje selektivitu stanovenia.



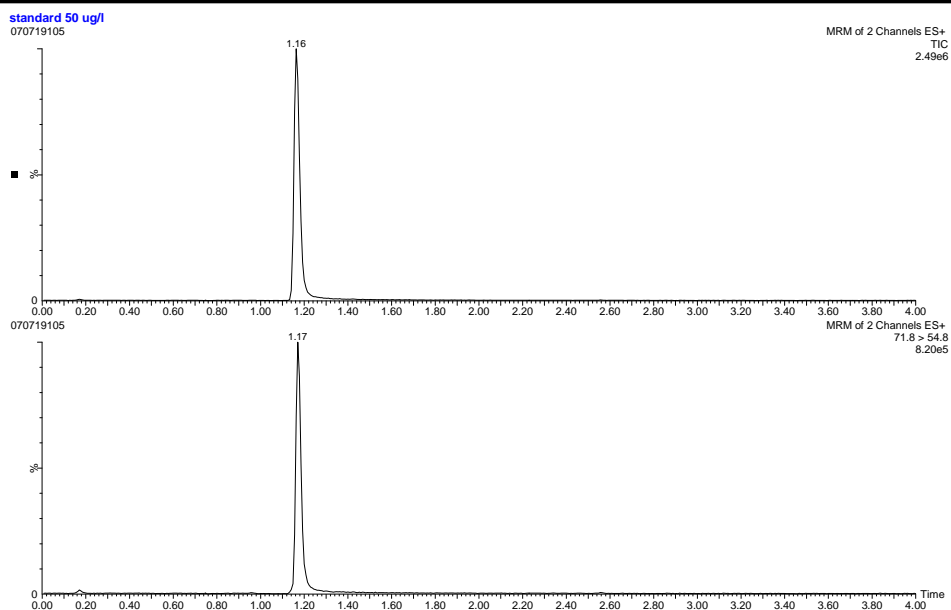
Obrázok 1 Chromatografický záznam štandardu akrylamidu (koncentrácia  $100 \mu\text{g.l}^{-1}$ ) + vnútorného štandardu akrylamidu  $\text{D}_3$  (koncentrácia  $50 \mu\text{g.l}^{-1}$ ) na kolóne Sil 24 CB LOW BLEED/MS,  $30 \text{ m} \times 0,25 \text{ mm}$ , GC-MS-MS metóda, positive EI mode, MRM



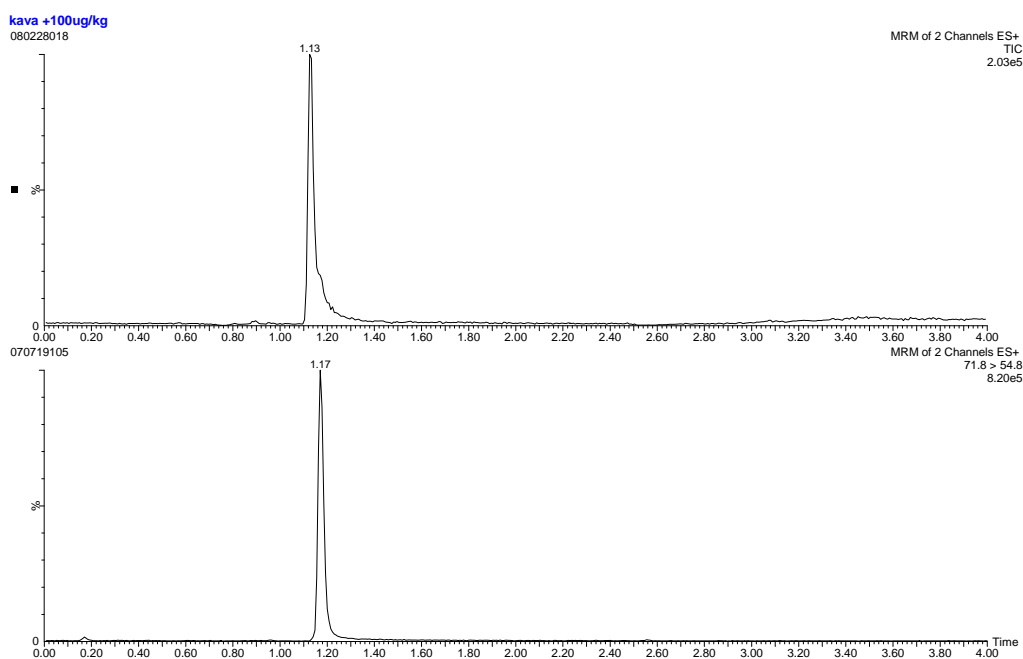
Obrázok 2 Chromatografický záznam vzorky - sušienky s obsahom akrylamidu  $405 \mu\text{g.kg}^{-1}$ , na kolóne Sil 24 CB LOW BLEED/MS,  $30 \text{ m} \times 0,25 \text{ mm}$ , GC-MS-MS metóda, positive EI mode, MRM

Metóda UPLC-MS bola použitá na stanovenie akrylamidu v káve z dôvodu problematickeho stanovenia metódou GC-MS, kde bola pozorovaná značná iónová supresia v retenčnom čase akrylamidu. Metóda UPLC-MS bola použitá pre stanovenie akrylamidu nielen v káve, ale aj

v iných potravinových maticiach. Chromatografický záznam štandardu akrylamidu (koncentrácia  $50 \mu\text{g.l}^{-1}$ ) a vnútorného štandardu akrylamidu  $\text{D}_3$  (koncentrácia  $50 \mu\text{g.l}^{-1}$ ) je na obrázku 3 a vzorky – káva – s obsahom akrylamidu  $405 \mu\text{g.kg}^{-1}$  na obrázku 4.



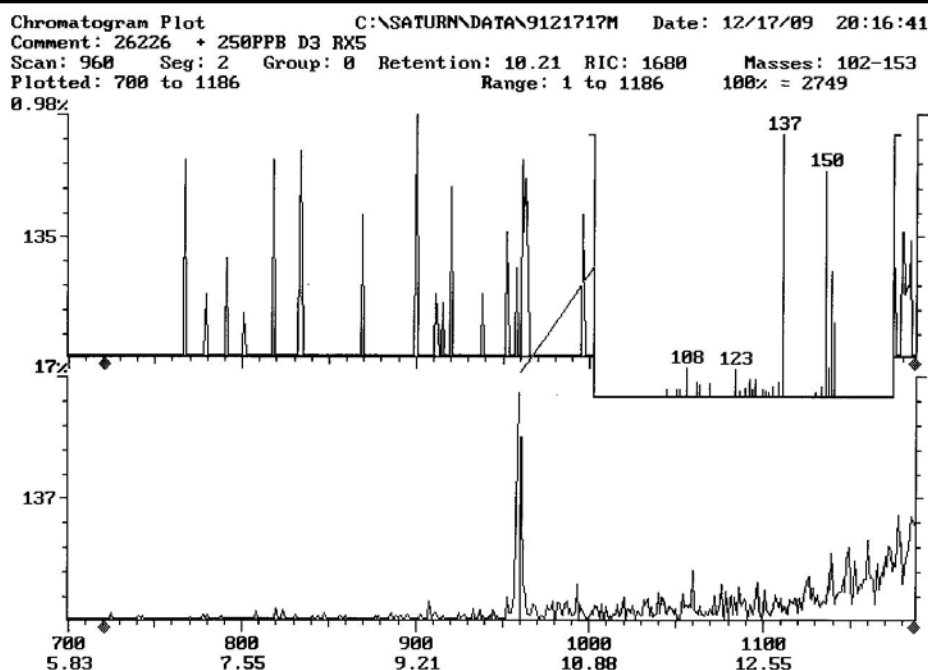
**Obrázok 3** Chromatografický záznam štandardu akrylamidu (koncentrácia  $50 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ) + vnútorného štandardu akrylamidu  $\text{D}_3$  (koncentrácia  $50 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ ) na Acquity UPLC BEH  $\text{C}_{18}$  kolóne použitím gradientovej UPLC-MS-MS metódy, flow-rate  $0,3\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$ , positive ESI mode, MRM.



**Obrázok 4** Chromatografický záznam kávy fortifikovanej akrylamidom ( $100 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), na Acquity UPLC BEH  $\text{C}_{18}$  kolóne použitím gradientovej UPLC-MS-MS metódy, flow-rate  $0,3\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$ , positive ESI

Vďaka selektivite, ktorú ponúka MS-MS, môžeme pozorovať minimum interferencií. Dvadsať negatívnych vzoriek bolo analyzovaných pre overenie interferujúcich

píkov v oblasti, v ktorej sme očakávali elúciu akrylamidu. Chromatografický záznam negatívnej vzorky je na obrázku 5.



Obrázok 5 Chromatografický záznam negatívnej vzorky, na kolóne Sil 24 CB LOW BLEED/MS, 30 m x 0,25 mm, GC-MS-MS metóda, positive EI mode, MRM

Metóda GC-MS ako aj UPLC-MS bola validovaná podľa Rozhodnutia Komisie 2002/657/ES s implementáciou Smernice Rady 96/23/ES pre výkon analytických metód.

Počas troch rokov monitoringu bolo analyzovaných 293 vzoriek pochádzajúcich zo slovenskej obchodnej siete a

výroby. Najvyšší obsah akrylamidu bol zistený v zemiakových lupienkoch  $4180 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Naopak najnižšie obsahy boli zaznamenané vo vzorkách chleba  $12 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  a vo vzorke detské piškóty  $14 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Výsledky analýz sú uvedené v tabuľke 3.

Tabuľka 3 Výsledky monitoringu akrylamidu

komodita	Počet vzoriek	Priemerná hodnota akrylamidu ( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )	Maximálna hodnota akrylamidu ( $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )
Zemiakové lupienky	71	470	4108
Zemiakové hranolky	25	234	1406
Chlieb	42	12	61
Detské piškóty	22	14	43
Sušienky	28	559	2650
Raňajkové cereálie	19	50	270
Zrnková káva	19	246	361
Instantná káva	14	386	761
Kávovinové náhradky	13	1949	3976
Iné výrobky	40	30	494

## ZÁVER

Na stanovenie akrylamidu v potravinách sa využívajú dve analytické techniky GC-MS a UPLC-MS. Metóda GC-MS zahŕňa extrakciu vodou, bromáciu na dvojitú väzbu akrylamidu a extrakciu octanom etylnatým. Metóda

UPLC-MS extrakciu vodou, prečistenie metódou SPE, a HPLC kolóne s reverznou fázou. Metódy boli použité na stanovenie akrylamidu vo vzorkách potravín pochádzajúcich zo slovenskej obchodnej siete a výroby.

## LITERATÚRA

AHN, J. S., CASTLE, L., CLARKE, D. B., LLOYD, A. S., PHILO, M. R., SPECK, D. R. 2002. Verifications of the findings of acrylamide in heated foods. In *Food Additives and Contaminants*, vol. 19, 2002, no. 12, p. 1116-1124.

ANDRAWES, F., GREENHOUSE, S., DRANEY, D. 1987. Chemistry of acrylamide bromination for trace analysis by gas

chromatography – mass spectrometry. In *J. Chromatogr.* 1987, no 399, p. 269-275.

ANDRZEJEWSKI, D., ROACH, J.A. G., GAY, M. L., MUSSER, S. M. 2004. Analysis of coffee for the presence of acrylamide by LC-MS/MS. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 52, 2004, no. 7, p.1996-2002.

BIEDERMANN, N., BIEDERMANN-BREM, S., NOTI, A.- GROB, K., EGLI, P., MÄNDLI H. 2002 Two GC-MS

- methods for the analysis of acrylamide in foods. In *Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchung und Hygiene*, vol. 93, 2002, no 6, p. 638-652.
- BECALSKI, A., LAU, B. P. Y., LEWIS, D., SEAMAN, S. W. 2003. Acrylamide in foods: Occurrence, sources, and modelling. In *J. Agr. Food Chem.*, vol. 51, 2003, no 3, p. 802-808.
- BECALSKI, A., LAU, B. P. Y., LEWIS, D., SEAMAN, S. W., HAYWARD, S., SAHAGIAN, M., RAMESH, M., LECLERC, Y. 2004. Acrylamide in French fries: Influence of free amino acids and sugars. In *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 52, 2004, p. 3801-3806.
- BROWN, L., RHEAD, M. 1979. Liquid chromatographic determination of acrylamide monomer in natural and polluted aqueous environments. In *The Analyst*, vol. 1979, p. 391-399.
- BROWN, L., RHEAD, M., HILL, D., BANCROFT, K. C. C. 1982. Qualitative and quantitative studies on the in situ adsorption, degradation and toxicity of acrylamide by the spiking of the waters of two sewage works and a river. In *Water Research*, vol. 16, 1982, p. 579-591.
- CASTLE, L., ERIKSSON, S. 2005. Analytical methods used to measure acrylamide concentrations in foods. In *Journal of AOAC International*, vol. 88, 2005, no 1, p. 274-284.
- CIESAROVÁ, Z., BALASOVÁ, V., KISS, E., KOLEK, E., ŠIMKO, P., KOVÁČ, M. 2004. Comparison of two methods of acrylamide determination and dietary intake of acrylamide from potatoes crisps. In *Czech J. Food Sci.* issue 22 (special issue), 2004, p. 251-254.
- ERIKSSON, S. 2005. Acrylamide in food products: Identification, formation and analytical methodology, Akademytryck: Stockholm, Sweden, 2005; 1-58.
- EUROPEAN LEGISLATION: Commission Decision 2002/657/EC.
- EPA – Method 8032A, Acrylamide by Gas Chromatography, December 1996.
- GUTSCHE, B., WEIBHAAR, R., BUHLERT J. 2002. Acrylamid in Lebensmitteln-Ergebnisse aus der amtlichen Lebensmittelüberwachung Baden-Württembergs. In *Deut. Lebensm-Rundsch.*, vol. 98, 2002, p. 437-443.
- GRANBY, K., FAGHT, S. 2004. *Analysis of acrylamide in coffee and dietary exposure to acrylamide from coffee*. In *Analytica Chimica Acta*, 2004. vol. 520, p.177-182.
- HARTIG, L., HUMMERT, C., BUHLERT, J., VON CZAPIEWSKI, K., SCHREIBER, A. Detection of acrylamide in starch – enriched food with HPLC/MS/MS. Applied Biosystems Application Note No 02.
- HOENICKE, K., GATERMANN, R., HARDER, W., HARTIG, L. 2004. Analysis of acrylamide in different foodstuffs using liquid chromatography-tandem mass spectrometry and gas chromatography – tandem mass spectrometry. In *Analytica Chimica Acta*, vol. 520, 2004, p. 207-215.
- JIFSAN: 2004 Acrylamide in food Workshop, Chicago, April 2004.
- LEUNG, K. S., LIN, A., TSANG, C. K., YEUNG S. T. K. 2003. Acrylamide in Asian foods in Hong Kong. In *Food Addit. Contam.* vol. 20, 2003, no. 12, 1105-1113.
- MARTIN, E., SAMEC, J., VOGEL, J. 1990. Détermination de l'acrylamide dans l'eau par chromatographie en phase gazeuse (GC). In *Travaux de Chimie Alimentaire et d'Hygiène*, vol. 81, 1990, p. 327-330.
- MATTHÄUS, B., HAASE, N. U., VOSMANN, K. 2004. Factors affecting concentration of acrylamide during deep-fat frying of potatoes. In *Eur. J. Lipid Sci. Tech.* vol. 106, 2004, p. 793-801.
- MOTTRAM, D. S., WEDZICHA, B. L., DODSON, A. T. 2002. Acrylamide is formed in the Maillard reaction. In *Nature*, vol. 419, 2002, p. 448-449.
- ONO, H., CHUDA, Y., OHNISHI-KAMEYAMA, M., YADA, H., ISHIZAKA, M., KOBAYASHI, H., YOSHIDA, M. 2003. Analysis of acrylamide by LC-MS/MS and GC/MS in processed Japanese Foods. In *Food Addit. Contam.*, vol. 20, 2003, no. 3, p. 215-220.
- RIEDIKER, S., STADLER, R. H. 2003: Analysis of acrylamide in food by isotope-dilution liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry. In *Journal of Chromatography A*, vol. 1020, 2003, issue 1, p.121-130.
- ROSEN, J., HELLENÄS, K. E. 2002. Analysis of acrylamide in cooked foods by liquid chromatography tandem mass spectrometry. In *Analyst*, vol. 127, 2002, no 7, p. 880-882.
- ROACH, J. A. G – ANDRZEJEWSKI, D., GAY, M. L., NORTRUP, D., MUSSER, S. M., RUGGED. 2003 LC-MS/MS survey analysis for acrylamide in foods. In *J. Agr. Food Chem.*, vol. 51, 2003, no 26, p. 7547-7554.
- SHANKER, R., RAMAKRISHNA, C., SETH, P. K. 1990. Microbial degradation of acrylamide monomer. In *Arch. Microbiol.*, vol. 154, 1990, p. 192-198.
- SHIS, F. F., BOUÉ, S. M., DAIGLE, K. W., SHIS, B. Y. 2004. Effect of flour sources on acrylamide formation and oil uptake in fried batters. In *Journal of the American oil Chemists Society*, vol. 81, 2004, no 3, p. 265-268.
- STADLER, R. H., VERYEGNASSI, L., VARGA, N., GRIGOROV, M., STUDER, A., RIEDIKER, S., SCHILTER, B. 2003. Formation of vinylogous compounds in model Maillard reaction systems. In *Chemical Research and Toxicology*, vol. 16, 2003, p.1242.
- TATEO, F., BONONI, M. 2003. Preliminary study on acrylamide in baby foods on the Italian market. In *Ital. J. Food Sci.* vol. 15, 2003, no. 4, p. 593-599.
- TEKEL, L., FARKAŠ, P., KOVÁČ, M. 1989. Determination of acrylamide in sugar by capillary GLC with alkali flame – ionization detection. In *Food Addit. Contam.*, vol. 6, 1989, p. 377-381.
- WENZL, T., MUSSER, S., ULBERTH, F., ANKLAM, E. 2004. Detailed report on the second European inter-laboratory comparison study on the determination of acrylamide in food – Acrylamide in crispbread samples. In EUR 21272 EN, 2004, 49 pp.
- VER VERS, L. M. 1999. Determination of acrylamide monomer in polyacrylamide degradation studies by high-performance liquid chromatography. In *J. Chromatogr. Sci.*, vol. 37, 1999, p. 486-494.
- ZHANG, Y., ZHANG, G., ZHANG, Y. 2005. Occurrence and analytical methods of acrylamide in heat-treated foods Review and recent developments. In *Journal of Chromatography A*, vol. 1075, 2005, p. 1-21.

**Kontaktná adresa:**

Ing. Miriam Vlčáková, State Veterinary and Food Institution, Janoškova 1611/58, 026 01 Dolný Kubín, Slovakia, E-mail: vlcakova@svpu.sk

RNDr. Michaela Vieriková, State Veterinary and Food Institution, Janoškova 1611/58, 026 01 Dolný Kubín, Slovakia, E-mail: vierikova@svpu.sk