

ELFLA projekta „No Latvijas lauksaimniecības produktiem ražotās pārtikas pievienotās  
vērtības paaugstināšana un pārtikas produktu konkurētspējas veicināšana”  
apakšpētījuma „Pētījums par akrilamīda samazināšanas iespējām  
rudzu maizē” atskaite

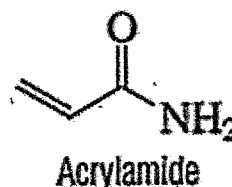
Izpildītājs: LLU Pārtikas tehnoloģijas fakultātes Pārtikas tehnoloģijas katedras vadošie  
pētnieki D.Kunkulberga, I.Gedrovica, V.Ozoliņa, atbildīgā par apakšprojekta izpildi  
I.Ciproviča

### Pētījuma aktualitāte

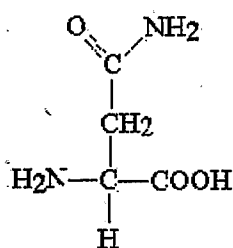
Zviedru zinātnieki 2002. gadā atklāja akrilamīdu (*acrylamide*) pārtikā. Šobrīd pasaulē ir veikti daudzi pētījumi, lai izprastu tā veidošanās mehānismu un samazinātu akrilamīda saturu pārtikas produktos (Yuan, 2011; Claus *et al.*, 2008a). Pētījumi, ko veikusi Māstrihtas Universitāte (Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention, 2007), norāda uz ciešu saistību starp akrilamīda daudzumu uzturā un atsevišķu kancerogēno slimību izraisīšanu. Starptautiskā Vēža izpētes aģentūra akrilamīdu klasificējusi kā varbūtēji kancerogēnu (2A grupa) vielu cilvēkiem (IARC, 1994), tomēr vēl aizvien pastāv neskaidrības šajā jautājumā, jo daži pētījumi to noliedz (Laroque *et al.*, 2008).

Akrilamīds ir viela, kura var veidoties cieti saturošos produktos, tos apstrādājot augstā temperatūrā (virs 120 °C) – cepot, fritējot un grauздējot. Maizē vislielākā akrilamīda koncentrācija ir garozā. Vairāki zinātnieki ir secinājuši, ka akrilamīds veidojas Mažāra (*Maillard*) reakcijas laikā (Zyzak *et al.* 2003; Stadler *et al.*, 2002; Becalski *et al.*, 2003). Pētījumos noteikts, ka vārītos cieti saturošos produktos akrilamīds neveidojas. Ilgstoši cepot produktu augstā temperatūrā (200 °C), iespējama akrilamīda sadalīšanās (Rydberg *et al.*, 2003).

Akrilamīds (2-propenamīds) ir bezkrāsaina, kristāliska viela, kuru iegūst hidratācijas procesā no akrilnitrila.



Faktori, kas veicina akrilamīda veidošanos pārtikas produktos, ir dažādi un viens otru pastiprinoši. Svarīgākie no tiem ir aminoskābes asparagīna klātbūtne, reducējošais cukurs fruktoze, kā arī temperatūra, apstrādes laiks, ūdens aktivitāte. Asparagīns (Asn) ir neitrāla aminoskābe un zinātnisko pētījumu rezultāti rāda, ka tā ir viena no galvenajiem akrilamīda izraisītājiem maizē un maizes izstrādājumos (Zhang *et al.*, 2009).

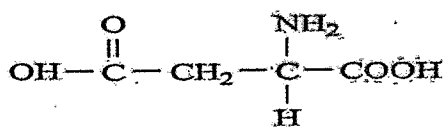


asparagine.

### Asparagīns (Asn)

Asparagīns šķīst sārmos un skābēs, ar ūdeni veido baltus monohidrāta kristālus. Asparagīna molekulā N:C attiecība ir 2:4, kas nodrošina slāpekļa rezerves un tā transportēšanu augos (Lea, 2006).

Asparagīns augos uzkrājas stresa apstākļos. Sēra nepietiekamības apstākļos novērots šķīstošā asparagīna pieaugums kviešos par 50%. Šajā jomā graudaugi ir maz pētīti, bet esošie pētījumi rāda, ka asparagīnu graudos dramatiski ietekmē gan ģenētiskie, gan apkārtējās vides faktori (Zhang et al., 2009). Latvijā nav datu par asparagīna saturu graudu produktos, līdz šim nosakot aminoskābju saturu, analizēta ir skābā aminoskābe-asparagīnskābe (Asp).



### Asparagīnskābe (Asp)/ Aspartic acid

Zviedru pētnieki secinājuši, ka, pievienojot asparagīnu mīklai, maizē konstatēts ievērojams akrilamīda pieaugums no 80 līdz 6000 ppm, savukārt 99% šī savienojuma bija maizes garozā. Amonija hidroģenkarbonāta, kalcija karbonāta vai sulfāta klātbūtne ir akrilamīda veidošanas veicinoši faktori (Yaylayan *et al.*, 2003; Mottram *et al.*, 2002).

Vairāku valstu zinātnieki apstiprina, ka akrilamīda veidošanos maizē un maizes izstrādājumos nosaka brīvi pieejamais asparagīns izejvielās, un, miltiem pievienojot fermentu asparagināzi, akrilamīda veidošanos var būtiski samazināt (Capuano *et al.*, 2009; Zyzak *et al.*, 2003). Eiropas Pārtikas nekaitīguma iestādes zinātnes ekspertu grupa 2005. gada 19. aprīlī pieņēma nostādni par pārtikā esošo akrilamīdu, apstiprinot nepieciešamību pēc tā riska novērtējuma.

To 2005. gada februārī veica Apvienotā FAO/PVO pārtikas piedevu ekspertu komiteja (JECFA), kas pēc datu izvērtēšanas secināja, ka jāturpina īstenot pasākumi, lai samazinātu akrilamīda koncentrāciju pārtikā (1.tabula).

1.tabula

**Akrilamīda saturs pārtikas produktos (www.bvl.de)**

Pārtikas produkts	Akrilamīda saturs, $\mu\text{g kg}^{-1}$			
	Vidēji	Min	Max	Rekomendēts (2010/307/ES)
Kartupeļu čipsi / <i>Potato chips</i>	522	70	2233	1000
Frī kartupeļi / <i>French fries</i>	291	5	1846	600
Maize / <i>Bread</i>	50	5	1987	150
Cepumi / <i>Cookies</i>	117	20	1556	500

Eiropas Pārtikas un dzērienu industrijas asociācija (CIAA) veica testēšanu zinātnisko rekomendāciju pārbaudei, kas vērsti uz akrilamīda satura samazināšanu pārtikā.

ES nav noteikusi akrilamīda satura ierobežojumus pārtikā, bet ir izstrādājusi ieteikumus tā samazināšanai, kā arī EFSA apkopo ražotāju datus par tā saturu pārtikā. EFSA indikatīvajos akrilamīda rādītājos minēts, ka svaiga maize nedrīkst pārsniegt  $150 \mu\text{g kg}^{-1}$ , sausmaizītes –  $500 \mu\text{g kg}^{-1}$  akrilamīda (EFSA, 2009).

Zinātniskajā literatūrā (Claus *et al.*, 2008a) sniegtie dati par akrilamīda saturu maizē un tās izstrādājumos ir plašās robežās, jo ļoti atšķirīgas ir ne tikai maizes receptūras un mīklas gatavošanas tehnoloģija, bet arī izmantotās krāsni un cepšanas veids. Piemēram, tiek ziņots, ka maize satur no 5 līdz  $1985 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  akrilamīdu, Kanādā ražota pilngraudu rudzu maize satur  $30 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , bet viegla rudzu maize –  $17 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  akrilamīdu (Becalski *et al.*, 2003). Spānijā ražotajā maizē noteikts, ka akrilamīda saturs ir  $157 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  (Delgado-Andrade *et al.*, 2010).

Akrilamīda satura samazināšanai maizē, iesaka veikt agronomiska rakstura pasākumus, kā arī veikt izmaiņas receptūrā un tehnoloģijā. Agronomisko pasākumu klāstā zinātnieki piedāvā kontrolēt sēra līmeni augsnē graudaugu audzēšanas laikā. Tas atspoguļots pētījumā, kur sulfātu nepietiekamība graudaugu audzēšanas periodā izsauca dramatisku asparagīna koncentrāciju graudos un negaidīti lielu akrilamīda saturu maizē (Muttucumaru *et al.*, 2006;

Claus *et al.*, 2008b). Vācu zinātnieki, pētot brīvo asparagīnu rudzos, konstatējuši, ka tas ir 319-791 mg kg<sup>-1</sup> (Springer *et al.*, 2003). Latvijā asparagīna saturs rudzos un maizē nav pētīts, bet ir dati par asparagīnskābes saturu piecos rudzu šķirņu graudu paraugos uzrāda, ka tas ir 0,55-0,70 g 100 g<sup>-1</sup> (Straumīte, 2006).

Sekojošā CIAA vadlīnijām, būtu mērķtiecīgi veidot sadarbību starp lauksaimniekiem, ražotājiem un zinātniekiem sēra saturoša mēslojuma izmantošanai graudaugu audzēšanā, kā arī selekcijas darba veicināšanai jaunu graudu šķirņu izveidošanā, kas satur pēc iespējas zemāku asparagīna daudzumu.

Ferments asparagināze katalizē asparagīna hidrolīzi. Asparagināze ir aktīva gaismā, bet tumsā notiek tās proteolītiska sadalīšanās (Lea, 2006). Asparagināzes izmantošana maizes ražošanā ir potenciāls akrilamīda samazinājumam, it sevišķi augsta mitruma, neitrālās pH sistēmās un paaugstinātas temperatūras apstākļos (Kaiser *et al.*, 2008). Novērots, ka izmantojot asparagināzi kviešu krekeru ražošanā panākts akrilamīda samazinājums vismaz par 70% (Vass *et al.*, 2004). Tomēr ir uzskats, ka galvenā loma akrilamīda samazinājumam pieder augsnes mēslošanas līdzekļu lietošanā (Claus *et al.*, 2008) graudu ieguvei.

Aminoskābes glicīna pievienošana mīklai 1,5% un 3,0% daudzumā no miltu svara samazina akrilamīda saturu līdz pat 80% (Brathen *et al.*, 2005). Vairāk par 50% akrilamīda satura samazinājumu var panākt ar 0,04% allicīna vai 0,7% askorbīnskābes pievienošanu (Yuan *et al.*, 2011).

Tehnoloģiskajās vadlīnijās ietvertajā informācijā CIAA iesaka kontrolēt cepšanas temperatūras un cepšanas laika režīmu, nepieļaujot garozas brūnēšanu. Šajā sakarā zinātnieki iesaka samazināt cepšanas temperatūru, pagarinot cepšanas laiku (Claus *et al.*, 2008a). Akrilamīda koncentrācijas samazināšanai labāk lietot klona krāsnis, kā arī priekšroku dot ilgākam mīklas fermentācijas laikam un tvaika pielietojumam cepšanas procesā (Ahrne *et al.*, 2007). Akrilamīda samazināšanai arī iesaka izmantot jaunas iekārtas cepšanas procesa nodrošināšanai ar bagātīgu tvaika daudzuma izmantošanu (Heatox, 2007, Kaiser *et al.*, 2008).

### **Pētījuma mērķis un uzdevumi**

**Pētījuma mērķis** - akrilamīda satura izmaiņu izpēte rudzu maizes ražošanas procesā un tā samazināšanas iespējas.

#### **Uzdevumi:**

- iekārtot lauka izmēģinājumus divām rudzu šķirnēm ar dažādu sēra mēslojuma devu;

- analizēt augsnes nodrošinājumu ar sēra savienojumiem rudzu audzēšanas izmēģinājumu laukos;
- noteikt aminoskābju saturu rudzu graudos, mīklā un maizē;
- veikt rudzu maizes kontrolcepienus un analizēt fermenta aspargināzes, rozmarīna ekstrakta un citronskābes ietekmi uz akrilamīda satura izmaiņām maizē;
- veikt rudzu maizes kontrolcepienus ražošanas apstākļos;
- noteikt aminoskābju saturu rudzu mīklā un maizes paraugos un izvērtēt asparagīnskābes saistību ar akrilamīdu veidošanos.

### Materiāli un metodes

Graudu audzēšana īstenota Valsts Priekuļu laukaugu selekcijas institūtā un Valsts Stendes graudaugu selekcijas institūtā. Pētījuma ietvaros Priekuļu laukaugu selekcijas institūtā ierīkoti lauka izmēģinājumi divām rudzu šķirnēm ar dažādu sēra mēslojuma devu (2.tabula). Tiek veikti lauka novērojumi, ražas uzskaitē un analīžu paraugu sagatavošana.

2. tabula

#### Izmēģinājuma metodika un apstākļi

Izmēģinājuma vieta	APP Valsts Priekuļu laukaugu selekcijas institūts
Pasūtītājs	LLU, 4.10.2013. līgums Nr. 04.1-25/38
Nosaukums	Izmēģinājums rudzu šķirņu novērtēšanai dažādos sēra mēslojuma fonos
Gads	2013.
Atrašanās vieta	Selekcijas augsekas 9.lauks
Augsnes tips	Velēnu podzolaugsne, smilšmāls
Augsnes raksturojums	$P_2O_5$ 257 mg kg <sup>-1</sup> , $K_2O$ 149 mg kg <sup>-1</sup> pH 5.0 trūdvielas 2.2 %, S-SO <sub>4</sub> 1M KCl ekstraktā 1.45 mg kg <sup>-1</sup>
Augsnes apstrāde	Lauks rudenī uzarts, pavasarī pirms sējas šļūkts un 2 kārtās kultivēts
Priekšaugi	Baltais āboliņš sēklai
Pamatmēslojums	Kompleksais minerālmēslojums NPK 6:26:30 300 kg/ha iestrādāts pirms sējas
Papildmēslojums	Amonija nitrāts deva N 90, iestrādāts 30.04.2013.
Sēkla	Kodināta

Sēja	2012.gada 29.septembrī
Izsējas norma	Populāciju rudzi Kaupo 400 dīgstoši graudi uz m <sup>2</sup> , Hibrīdie rudzi Agronom F1 250 dīgstoši graudi uz m <sup>2</sup>
Uzskaites lauciņa. platība	12.60 m <sup>2</sup>
Atkārtojumi	4
Veiktās sējuma apstrādes	Herbicīds Sekators (0.15 l ha <sup>-1</sup> )+ Estets (0.5 l ha <sup>-1</sup> ) smidzināts 22.05 Augu augšanas regulators Medax Top AS 30-39, 1.5 l ha <sup>-1</sup>
Varianti	Šķirnes: Kaupo, Agronom F1 Standarta fons: mēslojums NPK + herbicīds + augšanas regulators Mēslojums NPK + Herbicīds + augšanas regulators+fungicīds Tango Super 1.5 l ha <sup>-1</sup>
Ražas novākšana	30.07.2013., pilngatavības fāzē, nosakot katra lauciņa ražu pie 14% graudu mitruma.
Sēklu pirmapstrāde	Vidējā parauga žāvēšana un tīrīšana. Paraugu sagatavošana laboratorijai sēklu analīzēm.
Datu apstrāde	Microsoft Exscel, izmantojot vienfaktora dispersijas analīzi ar atkārtojumiem.

### Meteoroloģisko apstākļu raksturojums

Ziemas rudzi tika sēti septembra beigās, ziemājiem labvēlīgos laika apstākļos. Oktobra pēdējā dekādē uz vairākām dienām izveidojās sniega sega, tomēr tā būtisku kaitējumu ziemājiem nenodarīja un ziemāju veģetācija turpinājās līdz novembra otrajai dekādei. Aktīvās veģetācijas beigās ziemājiem bija sākusies cerošanas fāze. Ziemas mēneši bija kopumā vēsāki, salīdzinot ar ilggadīgiem vidējiem datiem un nokrišņiem bagātāki.

Tomēr, tā kā zeme zem sniega segas praktiski nebija sasalusi, tas aizkavēja augu pārkaršanu zem biežās sniega segas, nodrošinot to pārziemošanu. 2013.gada pavasarī ziema atkāpās lēnu, aprīļa pirmajā dekādē vidējā gaisa temperatūra vēl bija negatīva, bet ziemāju veģetācija atsākās aprīļa otrā dekādē, kas ir par apmēram nedēļu vēlāk nekā parasti, tomēr rudzi bija pārziemojuši labi. Aprīlis bija samērā vēss, silts laiks iestājās maija pirmajā dekādē, maija otrā un trešā dekāde bija nokrišņiem bagāta. 2013.gada vasara bija sausāka nekā parasti un siltāka. Līdz ar to ziemāju attīstība notika straujāk un, ja pavasarī to attīstība bija iekavējusies,

vasaras laikā tā kompensējās un ziemāji nogatavojās pat agrāk nekā parasti, jūlija beigās. Straujās attīstības dēļ ražas bija zemākas nekā 2012.gadā.

### ***Maizes kontrolcepienos izmantotie materiāli un metodes***

Pētījumā izmantoti hibrīdās rudzu šķirnes 'Agronom' un populāciju rudzu šķirnes 'Kaupo' graudi, kas audzēti Valsts Priekuļu laukaugu selekcijas institūta un Valsts Stendes graudaugu selekcijas institūta izmēģinājumu laukos. Attīrīti un pārstrādei sagatavoti graudu paraugi samalti LLU PTF Maizes ražošanas tehnoloģijas laboratorijā *Hawos Queen 2* dzirnavās un iegūti rupjie rudzu milti maizes cepšanai. Miltu mitrums bija robežās no 11.2 līdz 12.0%.

Rudzu maizes kontrolcepienos izmantots ferments asparagināze (*Megazyme*) ar aktivitāti: 15 U/mg (25 °C, pH 8.0), rozmarīna ekstrakts „Oleoresin Rosemary 41-19-25” (rekomendējamais pievienošanas daudzums 0.08% mīklas masai), citronskābe (E330).

### **Rudzu pilngraudu maizes kontrolcepienu nodrošināšana**

Maizes kontrolcepieni veikti, lai pārbaudītu fermenta asparagināzes, rozmarīna ekstrakta un citronskābes ietekmi uz akrilamīdu veidošanās intensitāti rudzu maizes paraugos, kas gatavoti moduļu sistēmā un ražošanas apstākļos.

Mīklas gatavošanai izmantoti hibrīdās šķirnes 'Agronom' un populāciju rudzu šķirnes 'Kaupo' rudzu pilngraudu milti, cukurs, sāls un ūdens. Mīklas receptūra dota 3.tabulā. Mīkla gatavota atbilstoši rudzu maizes gatavošanas tehnoloģijai, kas ietver ierauga gatavošanu, mīklas mīcīšanu, mīklas raudzēšanu, mīklas dalīšanu, klaipu veidošanu un cepšanu. Ieraugs gatavots izmantojot vācu firmas *Böcker* rudzu maizes ieraugu. Ieraugs katram miltu paraugam gatavots atsevišķi, nodrošinot nepieciešamo temperatūru (28-30 °C) un fermentācijas laiku (2 x 24 stundas). Ieraugā izmantoti 50% no kopējā rudzu miltu daudzuma mīklā. Ierauga skābums bija robežās pH 4,0 līdz 3,9, tas atbilst nepieciešamā ierauga skābumam rudzu maizē.

Mīkla mīcīta 10 minūtes, līdz visas sastāvdaļas vienmērīgi izmaisītas un iegūta viendabīga masa. Četriem paraugiem ferments asparagināze (500 U) tika pievienots mīklas mīcīšanas laika beigās. Mīklu raudzē 30 minūtes, tad to daļa pa 400 gramiem, veido klaipus, liek formiņā un raudzē 60 minūtes pēcraudzēšanas kamerā 35 °C temperatūrā, relatīvais gaisa mitrums - 70%. Uzraudzētas mīklas sagataves cep *Sweba Dahlen* konvekcijas tipa krāsnī 200 °C temperatūrā 40 minūtes. Pēc cepšanas maizes paraugi tika atdzesēti un novērtēti organoleptiski.

**Pilngraudu rudzu maizes pamatreceptūra**

<b>Pusfabrikāts</b>	<b>Izejvielas</b>	<b>Daudzums, g</b>
Ieraugs	Rudzu pilngraudu milti	250
	Ūdens	250
Mīkla	Ieraugs	500
	Rudzu pilngraudu milti	250
	Sāls	10
	Cukurs	30
	Ūdens	150

Pētījumā ar rozmarīna ekstrakta un citronskābes ietekmi uz akriamīda veidošanos, maizes paraugi cepti 50 minūtes krāsnī uz klona krītošā temperatūrās režīmā, sākuma temperatūra 260 °C, cepšanas beigu temperatūra 210 °C. Pievienots rozmarīna ekstrakts (Oleoresin Rosemary 41-19-25) attiecībā pret mīklas masu 0.1 un 0.5%, citronskābe – 1%.

Ceptuvē ražošanas apstākļos veikts rudzu maizes ar augļiem kontrolcepiens ar un bez rozmarīna ekstrakta piedevu (0,1%).

**Aminoskābes miltos, mīklā un rudzu maizes paraugos** noteiktas saskaņā ar AOAC standartmetodi Nr.994.12, izmantojot jonu apmaiņu pēc parauga olbaltumvielu hidrolīzes ar 6M HCl inertā atmosfērā. Aminoskābju saturs noteikts ar aminoskābju automātisko Analizatoru (Microtechna Praha), kā standartu izmantojot „Amino acid Standard solution for protein hydrolysates 0.5 μmoles per ml” (Sigma). Analīzes veiktas ZI „Sigra”.

**Akrilamīda** izdalīšanai no maizes paraugiem izmantota cietās fāzes ekstrakcija, bet akrilamīda noteikšana veikta ar šķidrums hromatogrāfijas-tandēma masspektrometriju. Analīzei iesver 2±0.0001 g izzāvēta, homogenizēta parauga, ievieto 50 mL polipropilēna stobriņā un pievieno darba iekšējos standartšķīdumus (akrilamīds, akrilamīds d3) ar koncentrāciju 100 μg·kg<sup>-1</sup>. Parauga attaukošanai pievieno 5 mL heksāna un strauji sajauc. Pievieno 10 mL ūdens, 10 mL acetonitrila, 4,0 g MgSO<sub>4</sub> un 0,5 g NaCl, un enerģiski ar rokām krata 1 min. Centrifugē 10 min pie 4000 rpm. Noņem heksāna slāni un pārvieto 1 ml acetonitrila ekstrakta 50 mL stobriņā, kas satur 150 mg MgSO<sub>4</sub> un 50 mg primāro un sekundāro amīnu maisījumu (PSA). Pēc 30 sek enerģiskas kratīšanas ar rokām, centrifugē 10



min pie 4000 apgr·min<sup>-1</sup>. Ekstraktu pārnēs AEŠH paraugu pudelītē analīzes veikšanai ar masu selektīvo detektoru (Quattro Premier XE), kas savienots ar Waters 2695 šķidrums hromatogrāfu. Akrilamīda noteikšana veikta Pārtikas drošības, dzīvnieku veselības un vides zinātniskajā institūtā „BIOR”.

## Rezultāti un diskusija

### Lauka izmēģinājumu iekārtošana un rudzu graudu audzēšana

Lauku izmēģinājumos audzēti hibrīdās rudzu šķirnes ‘Agronom’ un populāciju rudzu šķirnes ‘Kaupo’ graudi. Biežāk hibrīdo rudzu šķirņu ražas potenciāls ir augstāks nekā populāciju šķirnēm, konkrētajā izmēģinājumā šāda atšķirība 2013.gadā netika konstatēta. Iespējams, ka to ietekmēja salīdzinoši straujais attīstības temps 2013.gada vasarā, kā rezultātā hibrīdie rudzi nespēja realizēt savu ražas potenciālu.

2013.gadā rudzu ražu būtiski ietekmēja fungicīda pielietošana sējumā – abām šķirnēm variantā ar fungicīda pielietošanu raža bija būtiski augstāka – vairāk par vienu tonnu no hektāra (4.tabula).

4.tabula

Hibrīdo un populāciju rudzu šķirņu raža, t/h

Šķirne	NPK+R+H	NPK+R+H+F	vidēji
Agronom F1 (hibrīdi)	5.62	6.65	6.13
Kaupo (populāciju)	5.73	6.48	6.11

2013.gadā netika konstatēta būtiska atšķirība starp izmēģināto hibrīdo un populāciju rudzu šķirņu ražām. Rudzu šķirņu ražu ietekmēja fungicīda pielietošana, variantā ar fungicīda pielietojumu abām šķirnēm būtiski paaugstinājās raža. Novāktajām šķirnēm izveidots apvienotais paraugs, kas nodots tālākām analīzēm. 2013.gada rudenī iekārtots lauka izmēģinājums divām rudzu šķirnēm hibrīdo rudzu šķirnei Picasso F1 un populāciju šķirnei Matador, kurā paredzēts pielietot dažādas sēra mēslojuma devas (4 varianti katrai šķirnei), un iegūtos datus plānots analizēt un salīdzināt ar 2014. gada ražas datiem.

Abās pētījuma vietās - Valsts Stendes graudaugu selekcijas institūtā (turpmāk - Stende) un Valsts Priekuļu laukaugu selekcijas institūtā (turpmāk – Priekuļi) – pētījums veikts attiecīgi velēnu vāji podzolētā un velēnu podzolētā smilšmāla (sM) augsnē. Pētījuma augšņu

agroķīmisko īpašību rādītāji un to novērtējums saskaņā ar Zemkopības ministrijas 2007.gada 15.marta kārtību Nr.12 „Metodiskie norādījumi augšņu agroķīmiskajai izpētei un izpētes rezultātu novērtēšanai” sniegti 5.tabulā.

5.tabula

**Pētījuma augšņu agroķīmiskie rādītāji**

Augsnes paraugs	Reakcija		Organiskā viela		P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>		K <sub>2</sub> O		S-SO <sub>4</sub> *	
	pH KCl	Novērtējuma grupa	%	Novērtējuma grupa	mg kg <sup>-1</sup>	Novērtējuma grupa	mg kg <sup>-1</sup>	Novērtējuma grupa	mg kg <sup>-1</sup>	Novērtējuma grupa
Stende 1	5,4	vidēji skāba	1,7	Nepietiekams	63	zems	121	vidējs	4,0	zems
Stende 2	4,0	stipri skāba	4,0	Paaugstināts	271	ļoti augsts	145	vidējs	1,2	zems
Stende 3	4,0	stipri skāba	2,1	Nepietiekams	256	ļoti augsts	140	vidējs	1,2	zems
Priekuļi 1	4,8	stipri skāba	1,9	Nepietiekams	95	vidējs	106	vidējs	0,6	zems
Priekuļi 2	6,0	normāla	2,5	optimāls	101	vidējs	88	zems	0,6	zems
Priekuļi 3	4,9	stipri skāba	2,1	nepietiekams	100	vidējs	127	vidējs	0,6	zems

\* A.Kārklīšs „Lekciju konspekts”, I daļa, Ražība, Rīga, 1996

Stendes augsnes raksturojas ar vidēji skābu līdz stipri skābu reakciju, nepietiekamu līdz paaugstinātu organiskās vielas saturu, zemu līdz ļoti augstu fosfora saturu un vidēju kālija saturu. Priekuļu augsnes raksturojas ar stipri skābu līdz normālu augsnes reakciju, nepietiekamu līdz optimālu organiskās vielas saturu, zemu līdz vidēju kālija saturu.

Ja abās pētījuma vietās augsnes agroķīmisko īpašību rādītājiem bija vērojama zināma nodrošinājuma amplitūda, tad **visos augsnes paraugos** gan Stendē, gan Priekuļos konstatēts **zems sēra nodrošinājums**. Saskaņā ar pētījumu rezultātiem optimālajam sulfātu sēra daudzumam augsnē jābūt no 10 līdz 60 mg kg<sup>-1</sup> atkarībā no augsnes organiskās vielas satura,

bet ar organiskajām vielām nabadzīgās augsnēs par nepietiekošu uzskatāms sēra saturs mazāk par 5 mg kg<sup>-1</sup>.\* Zemo sēra nodrošinājumu pētījuma augsnēs var skaidrot ar pēdējo gadu tendenci augsnes mēslošanā praktiski neizmantojot kūtsmēslus un aprītē vienkāršo superfosfātu ir aizstājuši citi fosforu saturoši minerālmēsli, kā arī ar Eiropas Savienībā un citās valstīs realizētajiem pasākumiem, kas vērsti uz sēra emisijas samazināšanu rūpnieciskās ražošanas procesos. Jāņem vērā, ka sulfātu sērs no augsnes izskalojas.

Augšņu analīžu rezultāti liecina, ka ir nepieciešami turpmāki pētījumi par asparagīna un asparagīnskābes satura izmaiņām rudzos saistībā ar graudaugu audzēšanā izmantotajām tehnoloģijām, ņemot vērā gan mēslošanas sistēmu, gan arī Lauksaimniecībā izmantojamās zemes agroķīmiskās īpašības.

### Aminoskābju saturs rudzu miltos

Asparagīnskābes struktūrā ir viena aminogrupa, bet reakcijā ar brīvo NH<sub>3</sub>, veidojas asparagīnskābes amīds jeb asparagīns. Pētījumā noteiktais 16 aminoskābju saturs rudzu miltos dots 6. tabulā. To kopējais saturs 'Kaupo' šķirnes rudzu pilngraudu miltos bija 11.65 un 12.05 g 100 g<sup>-1</sup>, bet hibrīdās rudzu šķirnes 'Agranom' pilngraudu miltos – 13.97 g 100 g<sup>-1</sup>. No tām asparagīnskābes saturs analizēto rudzu pilngraudu miltos ir robežās no 0,65 līdz 0,9 g 100 g<sup>-1</sup>.

6.tabula

Aminoskābes pilngraudu miltos, g 100 g<sup>-1</sup>

Aminoskābes	Kaupo 1	Kaupo 2	Agranom2
Valīns	0.41	0.50	0.58
Leicīns	0.66	0.75	0.82
Izoleicīns	0.37	0.41	0.46
Fenilalanīns	0.98	1.08	1.22
Lizīns	2.92	2.53	2.68
Arginīns	0.49	-	0.52
Asparagīnskābe	0.65	0.79	0.90
Serīns	0.43	0.46	0.53
Glutamīnskābe	2.29	2.65	3.02
Glicīns	0.49	0.54	0.58
Treonīns	0.31	0.35	0.39
Alanīns	0.36	0.54	0.62

Prolīns	1.00	1.13	1.31
Tirozīns	0.19	0.22	0.26
Metionīns	0.11	0.10	0.10
Summa kopā:	11.65	12.05	13.97

Straumītes (2007) veiktajā pētījumā, kurā analizēti Latvijā audzēti piecu rudzu šķirņu graudu paraugi, noteikts, ka asparagīnskābes saturs tajos ir 0,55-0,70 g 100 g<sup>-1</sup> (Straumīte, 2007). Pētījumā netika noteikts asparagīna saturs pilngraudu rudzu miltos, jo šādas analīzes Latvijā neveic. Balstoties uz Upsalas pētījumu, kur pilngraudu rudzu miltos ir 503±20 µg·g<sup>-1</sup> asparagīna, un veicot pārrēķinu, šajā pētījuma lietotie milti varētu saturēt 0,80-0,90 g 100 g<sup>-1</sup> asparagīna. Literatūrā minētajos datos asparagīna saturs rudzu miltos ir no 0,06 līdz 0,11g 100g<sup>-1</sup> (Fredriksson *et al.*, 2004; Granby *et al.*, 2008; Mustafa *et al.*, 2007), tas norāda, ka pētījumā izmantotajiem miltiem ir augstāks asparagīna saturs.

#### **Rudzu maizes kontrolcepieni, izvērtējot fermenta asparagināzes, rozmarīna ekstrakta un citronskābes ietekmi uz akrilamīda satura izmaiņām maizē**

Lai izvērtētu maizes cepšanas tehnoloģijas un receptūru ietekmi uz akrilamīda veidošanos, tika noteikts aminoskābju saturs mīklā un maizē, kā arī akrilamīda saturs maizes paraugos. Iegūtie rezultāti doti 7. tabulā.

Analizējot aminoskābju saturu rudzu mīklā un maizē, lielāka uzmanība tika pievērta asparagīnskābes saturam un tās izmaiņām maizes ražošanas laikā. Rudzu mīklas paraugos asparagīnskābe bija robežās no 0,38 līdz 0,48 g 100<sup>-1</sup>. Ir jāatzīmē, ka netika novērotas būtiskas atšķirības starp dažādiem paraugiem un paraugiem ar vai bez asparagināzes piedevas. Maizes paraugos asparagīnskābes saturs svārstījās plašākās robežās - no 0,32 līdz 0,84 g 100<sup>-1</sup>. Šajā rādītājā netika konstatētas sakarības starp dažādiem paraugiem.

Maizes paraugiem asparagināze pievienota 500 U kg<sup>-1</sup>, aprēķinot uz miltu daudzumu. Zinātniskajā literatūrā minēts, ka fermenta pievienošanas daudzums var būt no 200 līdz 2000 U kg<sup>-1</sup> vienībām un pie lielākām devām samazina akrilamīda saturu līdz 70%. Maizes paraugiem, kas cepti formās (1.attēls) garoza nav tumša un bieza, līdz ar to akrilamīda saturs ir 10,9 līdz 18.2 µg·kg<sup>-1</sup>. Šāds akrilamīda saturs ir nenozīmīgs, jo pēc Apvienotā pārtikas piedevu ekspertu komitejas (JECFA) rekomendācijām, maizē akrilamīda saturam nevajadzētu pārsniegt 150 µg·kg<sup>-1</sup>. Līdz ar to netika novērota fermenta darbības ietekme uz akrilamīda

satura izmaiņām. Jāatzīmē, ka ferments asparagināze ir dārgs, tā plašāka izmantošana ražošanā nav ekonomiski izdevīga. Vienam kilogramam maizes nepieciešamā daudzuma asparagināzes (Megazyme, 2000 U kg<sup>-1</sup>) cena ir apmēram 100 latu. Izvērtējot maizes kvalitāti un fizikāli ķīmiskos rādītājus, no dažādām rudzu graudu šķirnēm un graudu audzēšanas vietas netika novērotas būtiskas atšķirības. Mīklas paraugu mitrums visiem paraugiem bija robežās no 48.5 līdz 50%, attiecīgi maizes paraugu mitrums no 40.2 līdz 41.6%.

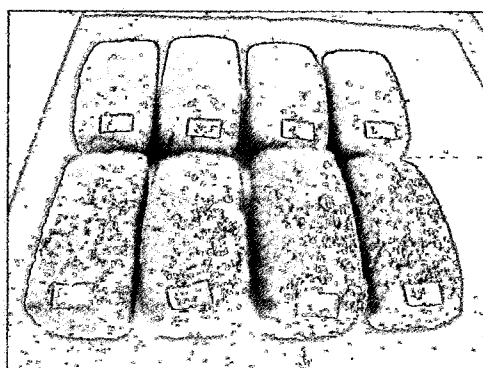
7. tabula

**Akrilamīda saturs dažāda veida maizes paraugos**

Nr.p.k.	Maizes raksturojums (rudzu graudu šķirne)	Akrilamīda saturs, $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$
1.	Rudzu maize formā (Kaupo, Priekuļi)	10.9
2.	Rudzu maize formā (Kaupo, Priekuļi) ar fermentu	14.9
3.	Rudzu maize formā (Agranom, Priekuļi)	17.4
4.	Rudzu maize formā (Agranom, Priekuļi) ar fermentu	16.4
5.	Rudzu maize formā (Kaupo, Stende)	12.5
6.	Rudzu maize formā (Kaupo, Stende) ar fermentu	15.6
7.	Rudzu maize formā (Agranom, Stende)	16.8
8.	Rudzu maize formā (Agranom, Stende) ar fermentu	18.2
9.	Rudzu maize klona (Kaupo, Priekuļi) kontrole	98.6
10.	Rudzu maize klona (Kaupo, Priekuļi) ar rozmarīna ekstraktu 0.1%	100.7
11.	Rudzu maize klona (Kaupo, Priekuļi) ar citronskābi 1%	34.3
12.	Rudzu maize klona (Kaupo, Priekuļi) rozmarīna ekstraktu 0.5%	106.6
13.	Rudzu maize klona ar augļiem (ražošanas uzņēmumā) kontrole	177.1
14.	Rudzu maize klona ar augļiem (ražošanas uzņēmumā) ar rozmarīna ekstraktu 0.1%	238.6

Pētījumā tika izvērtēta rozmarīna ekstrakta un citronskābes ietekme uz akrilamīda saturu un rudzu maizes kvalitāti. Maizes paraugi tika cepti uz klona, to garozas krāsa bija tumšāka un garoza biezāka, salīdzinot ar formās ceptiem paraugiem. Analizējot asparagīna saturu uz

klona ceptos maizes paraugos (7. tabula), redzam, ka tā saturs ir ievērojami palielinājies un kontroles paraugā sasniedz  $98,6 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , savukārt paraugos ar rozmarīna ekstraktu -  $100,7$  un  $106,6 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Varam secināt, ka rozmarīna ekstrakts pievienots  $0,1$  un  $0,5\%$  daudzumā, akrilamīda saturu būtiski neietekmē. Ražošanas apstākļos ceptajā rudzu maizē ar augļiem akrilamīda saturs ir  $177,1 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ , tas jau pārsniedz rekomendēto maksimālo daudzumu. Iegūtie dati rāda, ka rudzu maizē rozmarīna ekstrakts veicina akrilamīda veidošanos. Pievienojot to mīklā  $0,1\%$  daudzumā, akrilamīda saturs palielinās līdz  $238,6 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ .



1.attēls. Formās ceptie rudzu maizes paraugi.

Ozoliņas (2011) veiktajā pētījumā tika secināts, ka maizes veids, cepšanas krāsns un cukura saturs mīklā būtiski neietekmē akrilamīda saturu, savukārt žāvētu augļu piedeva akrilamīda saturu maizē ietekmē būtiski ( $p$ -vērtība= $0,025 < 0,005$ ) (Ozoliņa, 2011). Līdzīgs pētījums apstiprina, ka cukura saturs nav galvenais cēlonis akrilamīda klātbūtnei maizē (Hamlet *et al.*, 2008). Zinātniskajā literatūrā nav informācijas par žāvētu augļu iespējamo ietekmi uz akrilamīda saturu maizē un citos produktos, tādēļ nepieciešami plašāki pētījumi šajā jomā.

Maizes paraugos ar citronskābi ( $1\%$ ) vērojams akrilamīda satura samazinājums par  $66\%$ , līdz  $34,3 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ . Jāatzīmē, ka maizes sensorās īpašības bija zemākas nekā kontroles paraugam, izteikti skābās garšas dēļ. Šie rezultāti ļauj secināt, ka citronskābes klātbūtne spēj samazināt akrilamīda saturu maizē, tikai pareizi jāizvēlas tās pievienotais daudzums, lai neietekmētu produkta sensorās īpašības.

Atbilstoši akrilamīda saturam pārtikas produktā var aprēķināt uzņemtā piesārņojuma līmeni organismā. Dienā apēdot  $200 \text{ g}$  pilngraudu rudzu maizi tiek uzņemti  $9$  līdz  $10 \mu\text{g}$  akrilamīda. Pēc aprēķina cilvēkam, kura svars ir  $70 \text{ kg}$ , ir apmēram  $0,13 \mu\text{g}$  akrilamīda uz  $\text{kg}$  ķermeņa svara. Pēc Pasaules Veselības organizācijas apkopotās informācijas, šāds uzņemtais akrilamīda līmenis ir vidējs. Zviedru zinātnieki ir aprēķinājuši, ka ar maizi un maizes

izstrādājumiem iedzīvotāju uzņemtais akrilamīda daudzums dienā vidēji 11%, savukārt Vācijā – 25% (Claus, 2008; Granby, 2008).

### **Secinājumi un ieteikumi**

1. Analizēto augšņu sastāva rezultāti norādīja uz nepietiekamu sēra saturošo savienojumu saturu tajās, kuriem ir būtiska ietekme uz asparagīnskābi un asparagīnu graudos, arī ražotās maizes kvalitāti.
2. Augšņu analīžu rezultāti liecina, ka ir nepieciešami turpmāki pētījumi par asparagīna un asparagīnskābes satura izmaiņām rudzos saistībā ar graudaugu audzēšanā izmantotajām tehnoloģijām Latvijā, ievērtējot gan mēslošanas sistēmu, gan arī lauksaimniecībā izmantojamās zemes agroķīmiskās īpašības.
3. Cepšanas laiks būtiski ietekmē akrilamīda veidošanos, tāpēc jācenšas nepārsniegt konkrētai maizei optimālo cepšanas laiku. Iegūtie rezultāti apstiprina literatūrā minētās atziņas, ka palielinot maizes cepšanas laiku un temperatūru, būtiski pieaug akrilamīda saturs maizē.
4. Fermenta asparagināzes izmantošana rudzu maizes ražošanā akrilamīda saturu maizē būtiski nesamazināja. Analizējot asparagināzes izmantošanās ekonomiskos aspektus, jāsecina, ka tā pielietojums ražošanā nav izdevīgs tā izmaksu dēļ.
5. Rozmarīna ekstrakta pievienošana rudzu mīklā līdz 0,5%, nesamazināja akrilamīda saturu maizē.
6. Citronskābes pievienošana (1%) rudzu mīklai, samazināja akrilamīda saturu maizē par 66%. Ir jāizvērtē tā pieļaujamais pievienošanas daudzums, lai neizmainītu maizes sensorās īpašības: skābumu un aromātu.
7. Akrilamīda saturu rudzu maizē būtiski palielina žāvētu augļu piedeva.
8. Akrilamīda satura samazināšana maizē ir kompleksi risināma augsne-graudi-ražošanas tehnoloģiskie procesi un režīmi-maize.

### Izmantotās literatūras saraksts

1. Ahrne L., Andersson C-G., Floberg P., Rosen J., Lingnert H. (2007) Effect of crust temperature and water content on acrylamide formation during baking of white bread: Steam and falling temperature baking. *LWT-Food Science and Technology*, Vol.40, p. 1708-1715.
2. Becalski A., Benjamin P.-Lau Y., Lewis D., Seaman S. W. (2003) Acrylamide in Foods: Occurrence, Sources, and Modeling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol.51, p. 802-808.
3. Brathen E., Kita A., Knutsen S. H., Wicklund T. (2005). Addition of glycine reduces the content of acrylamide in cereal and potato products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol.53, p. 3259-3264.
4. Capuano E., Ferrigno A., Acampa I., Serpen A., Acar O. C., Gokmen V., Fogliano V. (2009) Effect of flour type on Maillard reaction and acrylamide formation during toasting of bread crisp model systems and mitigation strategies. *Food Research International*, Vol.42, p. 1295-1302.
5. Claus A., Mongili M., Weisz G., Schieber A., Care R. (2008a) Impact of formulation and technological factors on the acrylamide content of wheat bread and bread rolls. *Journal of Cereal Science*, Vol.47, p. 546-554.
6. Claus A., Carle R., Schieber A. (2008b). Acrylamide in cereal products: A review. *Journal of Cereal Science*, Vol.47, p. 118-133.
7. Delgado-Andrade C., Morales F. J., Seiquer I., Navarro M. P. (2010) Maillard reaction products profile and intake from Spanish typical dishes. *Food Research International*, Vol.43, p. 1304-1311.
8. Fredriksson H., Tallving J., Rosen J. and Aman P. (2004) Fermentation reduces free asparagine in dough and acrylamide content in bread. *Cereal Chemistry*, Vol.5, No.81, p. 650-653.
9. Granby K., Nielsen N. J., Hedegaard R. V., Christensen T., Kann M., Skibsted L. H. (2008) Acrylamide-asparagine relationship in baked/toasted wheat and rye breads. *Food Additives and Contaminants*, Vol.25, No.8, p. 921-929.
10. Halford N. G., Muttucumaru N., Curtis T. Y. and Parry M. A. (2007) Genetic and agronomic approaches to decreasing acrylamide precursors in crop plants *Food Additives and Contaminants*, Vol.24, p. 26-36.



23. Yaylayan V. A., Wnorowski A., and Locas Perez C. (2003) Why asparagine needs carbohydrates to generate acrylamide. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol.51, p. 1753-1757.
24. Yuan Y., Shu C., Zhou B., Qi X., Xiang J. (2011). Impact of selected additives on acrylamide formation in asparagine/sugar Maillard model systems. *Food research International*, Vol.44, p.449-455.
25. Zhang Y., Ren Y., Zhang Y. (2009) New Research on Acrylamide: Analytical Chemistry, formation mechanism, and mitigation recipes. **In:** *Chemical Reviews*, Vol.109, 4375-4397.
26. Zyzak D. V., Sanders R. A., Stojanovic M. (2003) Acrylamide formation mechanism in heated foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol.51, p. 4782-4787.

11. Heatox. (2007) Heat- generated food toxicants: identification, characterisation and risk minimisation. Project 506820. Final report. Available at: [http://www.slv.se/upload/heatox/documents/Heatox\\_Final%20\\_report.pdf](http://www.slv.se/upload/heatox/documents/Heatox_Final%20_report.pdf)
12. Kaiser, H., Lehrack, A., Eigner, M., Voss, A. (2008), "Development of new procedures for heated potato and cereal products with reduced acrylamide contents. In: BLL/FEI Report Bonn, pp 38 – 59.
13. Laroque D., Inisan C., Berger C., Vouland E., Dufosse L., Guerard F. (2008) Kinetic study on the Maillard reaction. Consideration of sugar reactivity. *Food Chemistry*, Vol.111, p. 1032-1042.
14. Lea P.J., Sodek L., Parry M. A. J., Shewry P. R., Halford N.G. (2007) Asparagine in plants. *Annals of Applied Biology*, 150, p. 1-26.
15. Mottram D. S., Wedzicha B. L., Dodson A. T. (2002) Acrylamide is formed in the Maillard reaction. *Nature*, Vol.419, p. 448-449.
16. Muttucumaru N., Halford N. G., Elmore S. L., Dodson A. T., Parry M., Shewry P. P., Mottram D. S. (2006). Formation of high levels of acrylamide during the processing of flour derived from sulphate-deprived wheat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol.54, p. 8951-8955.
17. Mustafa A., Aman P., Andersson R., Kamal-Eldin A. (2007) Analysis of free amino acids in cereal products. *Food Chemistry*, Vol.105, p. 317-324.
18. Rydberg P., Eriksson S., Tareke E., Karlsson P., Ehrenberg L., and Tornqvist M. (2003) Investigations of factors that influence the acrylamide content of heated foodstuffs. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, Vol.51, p. 7012-7018.
19. Springer M., Fischer T., Lehrack A., Freund W. (2003) Acrylamidbildung in Backwaren. *Getreide, Mehl und Brot*, Vol.57, S. 274-278.
20. Stadler R. H., Blank I., Varga N., Robert F., Hau J., Guy P. A., Robert M. C. and Riediker S. (2002) Acrylamide from Maillard reaction products. *Nature*, Vol.419, p. 449-450.
21. Straumīte Ē. (2006) *Rudzu miltu cepamīpašību izpēte*. Promocijas darbs inženierzinātņu doktora zinātniskā grāda iegūšanai pārtikas zinātnē. LLU, Jelgava. 97 lpp.
22. Vass M., Amrein T. M., Schonbachler B., Escher F., Amado R. (2004). Ways to reduce acrylamide formation in cracker products. *Czech Journal of Food Science*, Vol.22, p. 19-21.