

**ΔΙΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΑΚΡΥΛΑΜΙΔΙΟΥ ΣΕ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΣΥΣΚΕΥΑΣΜΕΝΩΝ
ΕΛΑΙΩΝ, ΜΕ ΣΚΟΠΟ ΤΟΝ ΕΛΕΓΧΟ ΤΗΣ ΕΚΘΕΣΗΣ ΤΩΝ ΚΑΤΑΝΑΛΩΤΩΝ ΣΕ
ΤΟΞΙΚΟΥΣ ΚΑΙ ΚΑΡΚΙΝΟΓΟΝΟΥΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΚΑΙ ΤΗΝ ΠΡΟΣΤΑΣΙΑ ΤΟΥ
ΕΘΝΙΚΟΥ ΠΡΟΪΟΝΤΟΣ**

**ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ ΧΡΥΣΑΦΙΔΗΣ
ΓΕΝΙΚΟ ΧΗΜΕΙΟ ΤΟΥ ΚΡΑΤΟΥΣ
Α΄ ΧΗΜΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΑΘΗΝΩΝ
ΤΜΗΜΑ Β΄ - ΧΗΜΙΚΩΝ ΚΙΝΔΥΝΩΝ ΤΡΟΦΙΜΩΝ & ΕΙΔΙΚΩΝ ΑΝΑΛΥΣΕΩΝ
ΕΘΝΙΚΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΑΝΑΦΟΡΑΣ ΓΙΑ ΤΟΥΣ ΡΥΠΑΝΤΕΣ ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑΣ ΤΡΟΦΙΜΩΝ (NRL PC)**



Κωδικός έργου: 20Ε.2.20

Αρμόδια Υπηρεσία: Γενική Διεύθυνση Γενικού Χημείου του Κράτους

Εμπλεκόμενη Υπηρεσία: Διεύθυνση Αλκοόλης και Τροφίμων

Υλοποίηση: Α΄ Χ.Υ. Αθηνών (Προϊσταμένη Δ/νσης: Δ. Τσίπη)

Κύριος έργου: Σ. Ζήση – Προϊσταμένη Γ.Δ. – Γ.Χ.Κ.

Συντονιστής έργου: Β. Τζαμτζής (έως 14/6/2020), Σ. Κυριακίδης (από 15/6/2020)

Σχεδιασμός / Υλοποίηση: Δ. Χρυσάφιδης, Σ. Αντωνίου

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το ακρυλαμίδιο αποτελεί καρκινογόνο ουσία η οποία σχηματίζεται κατά την παραγωγική διαδικασία ορισμένων τροφίμων. Βασική προϋπόθεση σχηματισμού του θεωρείται γενικά η επίδραση θερμότητας σε υπόστρωμα που περιέχει αμινοξέα (κυρίως ασπαραγίνη) με την παρουσία αναγόντων σακχάρων (π.χ. γλυκόζη). Ευρήματα ακρυλαμιδίου έχουν εντοπισθεί κυρίως σε τρόφιμα πλούσια σε άμυλο όπως οι τηγανητές πατάτες, τα παξιμάδια, ενώ σημαντικά ευρήματα καταγράφηκαν και σε ελιές, ειδικά στις μαύρες που παρασκευάζονται με τη μέθοδο της Καλιφόρνιας που προβλέπει εμβάπτιση σε αλκαλικό διάλυμα, οξείδωση με παροχή ρεύματος αέρα και στο τελικό στάδιο αποστείρωση στους 170°C. Σημειώνεται ότι η μέθοδος αυτή της Καλιφόρνιας δεν σχετίζεται με την παραδοσιακή Ελληνική μεθοδολογία για τις ελιές Καλαμών, αλλά ωστόσο υπάρχουν και στην Ελλάδα μονάδες παραγωγής επιτραπέζιας ελιάς με την μέθοδο Καλιφόρνιας. Η Ευρωπαϊκή Ένωση παρακολουθεί εδώ και χρόνια τα επίπεδα ακρυλαμιδίου σε διάφορα τρόφιμα και έχει θεσπίσει κατάλογο προτεινόμενων μέτρων προς τη βιομηχανία για τον περιορισμό σχηματισμού του, ενώ πρόκειται σύντομα να θεσπίσει ανώτατα όρια για τις βρεφικές τροφές. Ασκούνται σήμερα πιέσεις από κάποια κράτη-μέλη να θεσπιστούν ανώτατα επιτρεπόμενα επίπεδα σε συγκεκριμένα τρόφιμα συμπεριλαμβανομένης και της επιτραπέζιας ελιάς. Στα πλαίσια αυτά, και προκειμένου να αποφευχθεί πιθανό πρόβλημα διακίνησης της Ελληνικής επιτραπέζιας ελιάς τόσο στην Ε.Ε. όσο και σε τρίτες χώρες, πραγματοποιήθηκε η μελέτη αυτή με στόχο: τον εντοπισμό του σταδίου εκείνου, κατά την παραγωγή, όπου σχηματίζεται το ακρυλαμίδιο και τον έλεγχο των επιπέδων ακρυλαμιδίου στις επιτραπέζιες ελιές που κυκλοφορούν στην Ελληνική αγορά. Ελήφθησαν δείγματα από τα διάφορα στάδια της παραγωγικής διαδικασίας από τις εγκαταστάσεις συνεργαζόμενης εταιρίας που εφαρμόζει τη μέθοδο της Καλιφόρνιας καθώς και δείγματα συσκευασμένης επιτραπέζιας ελιάς που διατίθενται 5 αλυσίδες σουπερμάρκετ των Αθηνών. Τα δείγματα αναλύθηκαν με χρήση της τεχνικής LC/MS-MS. Το συμπέρασμα της μελέτης αυτής ήταν ότι, το ακρυλαμίδιο σχηματίζεται ήδη κατά την εμβάπτιση σε αλκαλικό διάλυμα και την οξείδωση δηλαδή σε στάδιο πριν την εφαρμογή της θερμικής επεξεργασίας, γεγονός που οδηγεί στο συμπέρασμα ότι, ειδικά στις ελιές ο μηχανισμός σχηματισμού του δεν φαίνεται να είναι ο ίδιος με εκείνον σε άλλα τρόφιμα. Συνεπώς απαιτούνται ειδικές μελέτες προκειμένου να προταθούν μέτρα αποφυγής

σχηματισμού του. Τέλος, τα επίπεδα ακρυλαμιδίου στα δείγματα επιτραπέζιας ελιάς της Ελληνικής αγοράς είναι ιδιαίτερα χαμηλά, ενδεικτικό και της μη ευρείας εφαρμογής της μεθόδου της Καλιφόρνιας για τις ελιές που καταναλώνονται στην Ελλάδα.

ΣΥΝΤΜΗΣΕΙΣ

LB: Lower Bound = χαμηλότερο όριο διακύμανσης

UB: Upper Bound = ανώτερο όριο της διακύμανσης

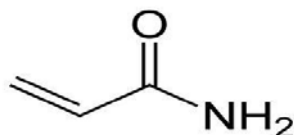
MoE: Margin of Exposure=Περιθώριο έκθεσης του πληθυσμού

BMDL10: δόση που προκαλεί νεοπλασίες στο 10% των πειραματοζώων

LC-MS/MS: Μέθοδος ανάλυσης με Υγρή Χρωματογραφία (LC) συζευγμένη με διαδοχική Χρωματογραφία Μάζας (MS/MS).

1. ΓΕΝΙΚΑ – ΠΑΡΟΥΣΙΑ ΣΤΑ ΤΡΟΦΙΜΑ & ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΚΑ ΔΕΔΟΜΕΝΑ

Το ακρυλαμίδιο είναι γνωστό ως ρυπαντής επεξεργασίας τροφίμων που δημιουργείται συνήθως με θέρμανση σε τρόφιμα πλούσια σε άμυλο. Υψηλές συγκεντρώσεις μετρήθηκαν σε τηγανητές πατάτες, στα τσιπς, σε σνακς ειδικά σε εκείνα με βάση την πατάτα, σε μπισκότα, σε φρυγανιές και παρόμοια προϊόντα αρτοποιίας, στα δημητριακά προγεύματος, αλλά και στον καφέ, στις επιτραπέζιες ελιές, μέχρι και τις βρεφικές τροφές.



Χημικός τύπος ακρυλαμιδίου

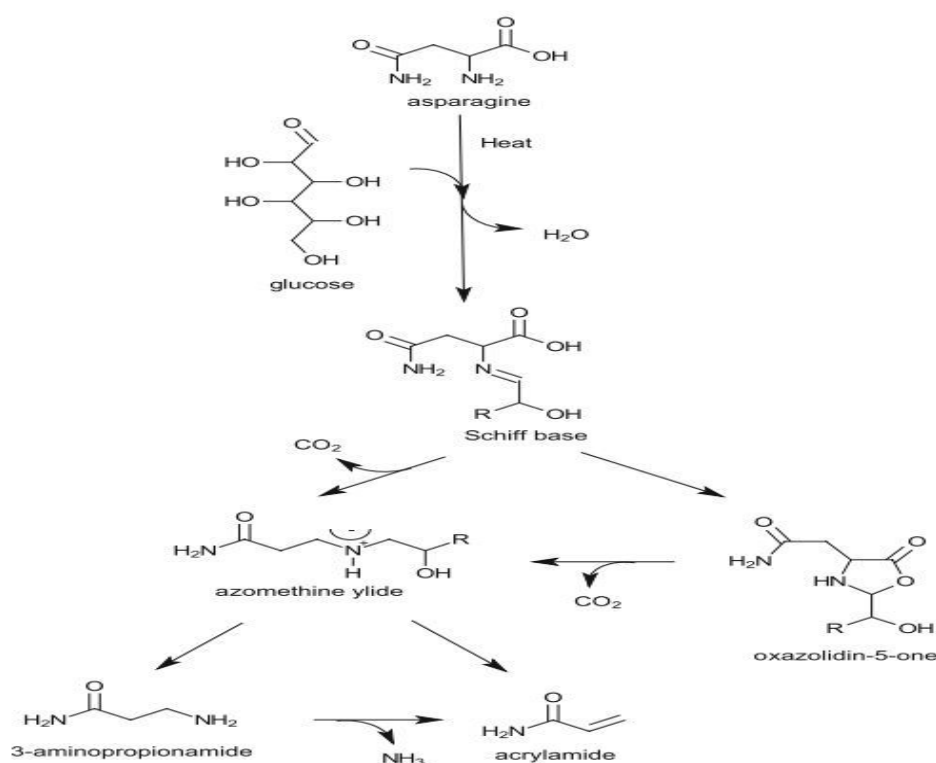
Το ακρυλαμίδιο θεωρείται ως πιθανό καρκινογόνο για τον άνθρωπο από τον Διεθνή Οργανισμό για την Έρευνα για τον καρκίνο και είναι γνωστό ότι μεταβολίζεται in vivo τόσο σε πειραματόζωα όσο και σε ανθρώπους στη γονιδιατοξική και καρκινογόνο ένωση γλυκιδαμίδιο (EFSA, 2015). Τα συμπεράσματα της Ευρωπαϊκής Αρχής για την Ασφάλεια των Τροφίμων (EFSA) για την τοξικότητα του ακρυλαμιδίου είναι:

Νευροτοξικότητα: Το Panel της EFSA CONTAM εκτίμησε το περιθώριο έκθεσης του πληθυσμού (MoE) για τις νευροτοξικές επιπτώσεις του ακρυλαμιδίου (που κυμαίνεται από 1 075 (ελάχιστο κατώτερο όριο διακύμανσης της έκθεσης (LB)) έως 226 (μέγιστο ανώτερο όριο διακύμανσης της έκθεσης (UB)) για τη μέση έκθεση του πληθυσμού και από 717 (LB) έως 126 (UB) για την έκθεση του πληθυσμού στο 95^ο εκατοστημόριο (κάλυψη 95% του πληθυσμού δηλαδή και των ακραίων καταναλωτών εκτός των πολύ ακραίων καταναλωτών (5% των καταναλωτών)). Λαμβάνοντας υπόψη τις διαφορές μεταξύ των ειδών που χρησιμοποιήθηκαν στα πειραματόζωα και τις διαφοροποιήσεις εντός του ανθρώπινου πληθυσμού, το Panel κατέληξε στο συμπέρασμα ότι τα MoE σε όλες τις έρευνες και τις ηλικιακές ομάδες δεν προκαλούν ανησυχία για νευροτοξικότητα. Ωστόσο, η ομάδα σημείωσε ότι οι εκτιμήσεις MoE για το 95^ο εκατοστημόριο έκθεσης (ακραίοι καταναλωτές από το 95% των καταναλωτών) με την εκτίμηση του ανώτατου ορίου διακύμανσης (UB) για νήπια και άλλα παιδιά είναι κοντά στην τιμή που μπορεί να προκαλεί ανησυχία για νευροτοξικότητα.

Καρκινογένεση : Η σύγκριση του σημείου αναφοράς για τον χαρακτηρισμό κινδύνου των νεοπλασιών που προκαλεί το ακρυλαμίδιο με τα επίπεδα έκθεσης των καταναλωτών τροφίμων σε ακρυλαμίδιο οδήγησε σε MoE που κυμαίνεται από 425 (ελάχιστο όριο της διακύμανσης της έκθεσης LB) έως 89 (μέγιστο όριο της διακύμανσης της έκθεσης UB) για τις εκτιμήσεις μέσης έκθεσης του πληθυσμού, και από 283 (ελάχιστο LB) σε 50 (μέγιστο UB) για τις εκτιμήσεις έκθεσης για το 95^ο εκατοστημόριο, δηλαδή για ακραίους καταναλωτές. Η Επιστημονική Επιτροπή της EFSA κατέληξε στο συμπέρασμα ότι, επειδή για ουσίες που είναι τόσο γονιδοτοξικές όσο και καρκινογόνες, είναι αποδεκτό ένα MoE από 10 000 ή υψηλότερο, στο ακρυλαμίδιο με βάση το BMDL10 (δόση που προκαλεί νεοπλασίες στο 10% των πειραματόζωων) και λαμβάνοντας υπόψη τις γενικές αβεβαιότητες, η τρέχουσα έκθεση του Ευρωπαϊκού πληθυσμού στο ακρυλαμίδιο προκαλεί ανησυχία. Δεδομένου ότι τα MoE είναι όλα σημαντικά χαμηλότερα από 10 000, το Panel CONTAM κατέληξε στο συμπέρασμα ότι παρόλο που οι διαθέσιμες μελέτες σε ανθρώπους δεν έχουν αποδείξει ότι το ακρυλαμίδιο είναι καρκινογόνο για τον άνθρωπο, τα MoE που βασίζονται στα επίπεδα της τρέχουσας έκθεσης του πληθυσμού οδηγούν σε ανησυχία σχετικά με πιθανές νεοπλασίες.

Τέλος το Panel CONTAM τονίζει ότι το ακρυλαμίδιο είναι ουσία γονιδοτοξική για τα γεννητικά κύτταρα, αν και προς το παρόν δεν υπάρχουν καθιερωμένες διαδικασίες για την αξιολόγηση κινδύνου χρησιμοποιώντας αυτήν την πληροφόρηση.

2. ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ ΑΚΡΥΛΑΜΙΔΙΟΥ ΣΤΑ ΤΡΟΦΙΜΑ



Σχηματισμός ακρυλαμιδίου κατά Gökmen, V. (2015).

Όπως προκύπτει και από το παραπάνω σχεδιάγραμμα, το ακρυλαμίδιο σχηματίζεται σαν προϊόν αντίδρασης Maillard από πρώτη ύλη ένα αμινοξύ (κυρίως ασπαραγίνη) με παρουσία αναγόντων σακχάρων σε θερμοκρασία άνω των 120°C, με τον σχηματισμό αρχικά μιας βάσης του Schiff. Σημειώνεται ότι στην περίπτωση της επιτραπέζιας ελιάς ο μηχανισμός σχηματισμού δεν είναι γνωστός με ακρίβεια και υπάρχουν μόνον υποθέσεις για το στάδιο σχηματισμού του.

3. ΕΥΡΩΠΑΪΚΗ ΝΟΜΟΘΕΣΙΑ

Σύμφωνα με τη Σύσταση (ΕΕ) 2019/1888 της Επιτροπής, οι αρμόδιες αρχές των κρατών μελών θα πρέπει να παρακολουθούν τακτικά την παρουσία ακρυλαμιδίου και τα επίπεδά του στα τρόφιμα, ιδίως στα τρόφιμα που αναφέρονται στο παράρτημα του κανονισμού αυτού. Οι επιτραπέζιες ελιές περιλαμβάνονται στο παράρτημα αυτό.

Ο κανονισμός (ΕΕ) 2158/2017 περιλαμβάνει επίπεδα αναφοράς ακρυλαμιδίου σε διάφορες κατηγορίες τροφίμων (παράρτημα II) μαζί με μέτρα αποφυγής σχηματισμού (παράρτημα IV), αλλά δεν αναφέρεται ακόμη στις επιτραπέζιες ελιές. Αυτός ο κανονισμός πρόκειται να τροποποιηθεί προκειμένου να συμπεριλάβει συγκεκριμένα μέτρα αποφυγής σχηματισμού και επίπεδα αναφοράς και για τις επιτραπέζιες ελιές. Σύμφωνα με πληροφορίες που ανακοινώθηκαν από τον κ. Verstraete εκπρόσωπο της Ευρωπαϊκής Επιτροπής στην ετήσια σύσκεψη των Εθνικών Εργαστηρίων Αναφοράς της ΕΕ (Annual Workshop Copenhagen, 2021) τα προτεινόμενα επίπεδα αναφοράς για τις επιτραπέζιες ελιές που έχουν υποστεί οξείδωση ανέρχονται στα 850 µg/kg.

Αυτή τη στιγμή δεν ισχύουν ανώτατα επιτρεπόμενα επίπεδα (όρια) για το ακρυλαμίδιο στην Ευρωπαϊκή Ένωση, αλλά υπάρχουν προτάσεις θέσπισης τέτοιων ανώτατων επιτρεπόμενων ορίων

για κάποιες κατηγορίες τροφίμων συμπεριλαμβανομένης της επιτραπέζιας ελιάς. Ωστόσο τα νέα όρια θα συμπεριλάβουν πρώτα τις βρεφικές τροφές, ενώ τα υπόλοιπα τρόφιμα φαίνεται ότι θα ακολουθήσουν σε επόμενο στάδιο. Προκειμένου να προταθούν μέτρα αποφυγής σχηματισμού στις επιτραπέζιες ελιές που θα ενταχθούν στον παραπάνω κανονισμό, πρέπει να διαπιστωθεί πρώτα ο μηχανισμός σχηματισμού του ακρυλαμιδίου, γιατί, σε αντίθεση με τα άλλα τρόφιμα, οι ελιές δεν είναι πλούσιες σε άμυλο, και διαφοροποιούνται σημαντικά ως προς την σύστασή τους.

4. ΤΡΟΠΟΙ ΠΑΡΑΣΚΕΥΗΣ ΤΗΣ ΕΠΙΤΡΑΠΕΖΙΑΣ ΕΛΙΑΣ- ΠΙΘΑΝΟ ΣΤΑΔΙΟ ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ ΑΚΡΥΛΑΜΙΔΙΟΥ

Στο παρακάτω σχήμα παρατίθενται οι βασικές μέθοδοι παραγωγής για τις επιτραπέζιες ελιές, όπως παρουσιάστηκαν από την κα Lene Duedahl-Olesen (Workshop των Ευρωπαϊκών Εθνικών Εργαστηρίων Αναφοράς για τους ρυπαντές επεξεργασίας τροφίμων που διεξάχθηκε στην Κοπεγχάγη, *Annual Workshop, Copenhagen, 2019*).



Τρόποι παρασκευής της επιτραπέζιας ελιάς-πιθανό στάδιο σχηματισμού του ακρυλαμιδίου

Από όλους αυτούς τους τρόπους παρασκευής μόνο η μέθοδος της Καλιφόρνιας (3^η περίπτωση) έχει συσχετισθεί με τον σχηματισμό ακρυλαμιδίου, παραμένει ωστόσο άγνωστο σε ποιο ακριβώς στάδιο της παραγωγικής διαδικασίας αυτό σχηματίζεται.

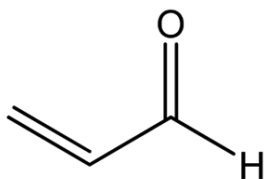
Σύμφωνα με τους Gandul-Rojas και Gallardo-Guerrero L. (2012) οι διάφορες μέθοδοι παρασκευής επιτραπέζιας ελιάς έχουν σαν κοινό χαρακτηριστικό την απομάκρυνση του γλυκοζίτη ελαιοευρωπαϊίνη που ευθύνεται για τη φυσική πικράδα του καρπού της ελιάς. Η επεξεργασία των καρπών με αραιό αλκαλικό διάλυμα είναι μία από τις κύριες διαδικασίες που χρησιμοποιούνται παγκοσμίως. Αυτό το βήμα αφορά την παραγωγή επιτραπέζιας ελιάς σύμφωνα με την Ισπανική μέθοδο και τη μέθοδο Καλιφόρνιας. Οι παρασκευή επιτραπέζιας ελιάς όμως με την παραδοσιακή Ελληνική μέθοδο (τύπου Καλαμάτας) φαίνεται να αποτελεί παρέκκλιση από αυτήν την παγκόσμια χρήση αλκαλικού διαλύματος, και η εφαρμογή της παραδοσιακής Ελληνικής μεθόδου δεν φαίνεται να συντελεί στον σχηματισμό ακρυλαμιδίου. **Σημειώνεται ακόμη ότι το ψήσιμο στον φούρνο ή στο τηγάνι όλων των τύπων ελιών (π.χ. ελιές σε πίτσα) έχει επίσης βρεθεί ότι αυξάνει τα επίπεδα ακρυλαμιδίου** L. Duedahl -Olesen (2021).

Ποιο είναι το αποφασιστικό βήμα για τον σχηματισμό ακρυλαμιδίου;

Οι Charoenprasert et al. (2014) απέδειξαν ότι όταν πραγματοποιείται οξείδωση και χρήση αλκαλικού διαλύματος κατά την επεξεργασία της, αυξάνονται τα επίπεδα ακρυλαμιδίου στην ελιά.

Αλλά σε ποιο ακριβώς βήμα της παραγωγικής διαδικασίας συμβαίνει αυτό;

Θεωρήθηκε ότι η γλυκερόλη που απελευθερώνεται μετά την επεξεργασία με αλκαλικό διάλυμα μπορεί να σχηματίσει ακρολεΐνη η οποία, η οποία στη συνέχεια αντιδρά με την αμμωνία που σχηματίζεται κατά την αποικοδόμηση Strecker από αμινοξέα, για να σχηματίσει τελικά ακρυλαμίδιο (το τελευταίο βήμα λαμβάνει χώρα σε θερμοκρασία 170°C της αποστείρωσης).



Χημικός τύπος ακρολεΐνης

Οι υποθέσεις αυτές προέκυψαν και από ευρήματα των Casado F. J. and Montaño A., 2008, σύμφωνα με τα οποία τα επίπεδα ακρυλαμιδίου πριν από την αποστείρωση ήταν πολύ χαμηλά (σύμφωνα με τους Charoenprasert S. and Mitchell A. (2014)) και αυξήθηκαν σημαντικά μετά την αποστείρωση στους 170°C. Σημειώνεται εδώ ότι οι αναλυτές αυτοί εφάρμοσαν ανάλυση με GC-MS και όριο αναφοράς ή ποσοτικού προσδιορισμού (LOQ) τα 71 μg/kg, σε αντίθεση με τη μέθοδο που εφαρμόστηκε στην παρούσα μελέτη που ήταν 10 μg/kg. Οι αναλυτές μέτρησαν επίπεδα ακρυλαμιδίου πριν την αποστείρωση έως 134 μg/kg, ενώ μετά την αποστείρωση 234 έως 1350 μg/kg. Σημειώνουμε εδώ ότι τα επίπεδα 134 μg/kg δεν θα έπρεπε να θεωρηθούν αμελητέα και αποτελούν ένδειξη σχηματισμού του ακρυλαμιδίου ήδη πριν την αποστείρωση, γεγονός που μας απομακρύνει από την υπόθεση του σχηματισμού προϊόντος αντίδρασης Mallard. Τέλος σημειώνουμε ότι ένα ακόμη σημαντικό συμπέρασμα των Casado and Montaño, 2008 ήταν ότι ο σχηματισμός του ακρυλαμιδίου σχετίζεται και με την ποικιλία της ελιάς.

5. Η ΠΑΡΟΥΣΑ ΜΕΛΕΤΗ

Η μελέτη αυτή είχε αρχικά δύο στόχους.

A. Να εντοπιστούν εκείνοι οι παράγοντες που μπορούν να συσχετιστούν με τον σχηματισμό του ακρυλαμιδίου στις επιτραπέζιες ελιές. Ο εντοπισμός αυτός των παραγόντων θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για να δοθούν οδηγίες αποφυγής σχηματισμού του για τους παραγωγούς, και αυτές οι οδηγίες να ενταχθούν στον κανονισμό (ΕΕ) 2158/2017.

Β. Να διερευνηθούν τα επίπεδα του ακρυλαμιδίου στις συσκευασμένες επιτραπέζιες ελιές που κυκλοφορούν στην Ελληνική αγορά για να διαπιστωθεί εάν βρίσκονται σε σημαντικά επίπεδα που θα χρειαστεί η λήψη μέτρων ώστε να προστατευθεί η δημόσια υγεία και ώστε να μην αντιμετωπίσουν οι Έλληνες παραγωγοί προβλήματα (επιστροφές ή αποσύρσεις προϊόντων) εάν μετρηθούν υψηλά επίπεδα ακρυλαμιδίου από άλλες Ευρωπαϊκές αρμόδιες αρχές.

6. Η ΜΕΘΟΔΟΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ – ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΑΝΑΛΥΤΙΚΗΣ ΠΟΡΕΙΑΣ

Η ανάλυση ακρυλαμιδίου πραγματοποιήθηκε σύμφωνα με τη μέθοδο που παρουσιάστηκε από τον κ. Phillippe Szternfeld εκπρόσωπο του Βελγικού Εθνικού Εργαστηρίου Αναφοράς (Annual Workshop, Copenhagen 2019) χρησιμοποιώντας άλατα «QuETChERS» (τροποποιημένη).

Ζυγίζονται 5 gr ομογενοποιημένου υποστρώματος (ελιά πράσινη ή μαύρη) όπου έχει προστεθεί δευτεριωμένο εσωτερικό πρότυπο 100 μl συγκέντρωσης 10 μg/L. Ακολουθεί προσθήκη. 5 ml εξανίου 5 ml νερού (υπερκάθαρου) και 10 ml ακετονιτρίλιου. Το δείγμα ανακινείται σε τάρακτρο για 30 λεπτά. Ακολουθεί προσθήκη αλάτων QuEChERS: 0,5 gr NaCl (χλωριούχο νάτριο)+ 4 gr MgSO₄ (θειικό μαγνήσιο) και ανακινείται το όλο ώστε να μην συσσωματωθούν τα άλατα. Στη συνέχεια φυγοκεντρείται (5 min 3900 rpm) και απορρίπτεται η άνω στιβάδα του εξανίου. Συλλέγεται 1 ml της στιβάδας ακετονιτρίλιου/νερού για καθαρισμό μέσω στήλης SPE (Bond Elut, 2 ml fruits and vegetables) η οποία ανακινείται καλά για να αποφευχθεί στερεοποίηση του άλατος της στήλης μετά την προσθήκη του διαλύματος και στη συνέχεια φυγοκεντρείται. Μεταφέρεται το υγρό μέρος σε ένα φιαλίδιο και γίνεται έγχυση στο σύστημα LC/MS-MS.

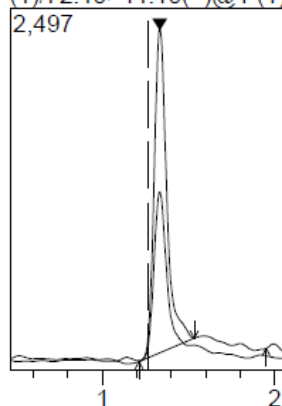
Για τον προσδιορισμό του ακρυλαμιδίου στο LC/MS-MS ελήφθησαν υπόψη οι εξής μεταπτώσεις m/z 72,1> 55,1 και m/z 72,1>44, για το Εσωτερικό Πρότυπο (IS) Acrylamide- D3, ελήφθη υπόψη η μετάπτωση m/z 75.1 >58

Στήλη PFP, 10 cm.

Κινητή Φάση A: Ακετονιτρίλιο, B: 0,1 % μυρμηκικό οξύ σε νερό. Ροή 0,2 ml/min,

Πρόγραμμα βαθμωτής έκλουσης: A 97: B 3 (0 min), A 97: B 3 (1,50 min), B 100 (2 min), B 100 (5,00 min), A 97: B 3 (5,01 min), A 97: B3 (8,5 λεπτά)

(1)/72.10>44.10(+)@1 (1) ID#:1 m/z: 72.10>55.10



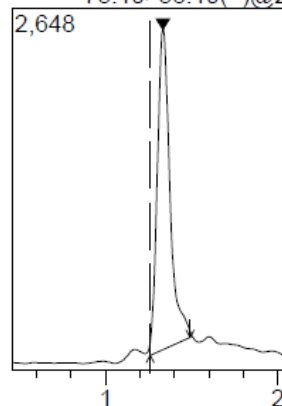
Type:Target
Name:Acrylamide

Ret.Time:1.334
Area:11708
Conc.:172.657ng/L

#	m/z	Area
1	72.10>44.10	1811

a ⁺ θ%
48.06

75.10>58.10(+)@2 ID#:2 m/z: 75.10>58.10



Type:Istd
Name:Acrylamide-D3

Ret.Time:1.334
Area:12277
Conc.:1.000ng/L

Χαρακτηριστικά Χρωματογραφήματα (LC-MS/MS). Αριστερά η καταγραφή των μεταπτώσεων του ακρυλαμιδίου (μετάπτωση ποσοτικοποίησης και ταυτοποίησης), δεξιά η καταγραφή της μετάπτωσης του εσωτερικού προτύπου Acrylamide- D3 .

7. ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ, ΠΟΡΕΙΑ ΚΑΙ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

7.1. ΜΕΡΟΣ 1

ΕΝΤΟΠΙΣΜΟΣ ΤΟΥ ΠΑΡΑΓΩΓΙΚΟΥ ΣΤΑΔΙΟΥ ΣΧΗΜΑΤΙΣΜΟΥ ΑΚΡΥΛΑΜΙΔΙΟΥ ΣΤΗΝ ΕΛΙΑ;

Προσπαθήσαμε να συνεργαστούμε με τις Ενώσεις παραγωγών επιτραπέζιας ελιάς στην Ελλάδα και στείλαμε μια πρόταση συνεργασίας μαζί με ένα ερωτηματολόγιο προς συμπλήρωση προκειμένου να συλλέξουμε πληροφορίες για τις μεθόδους επεξεργασίας που εφαρμόζονται για να τις συσχετίσουμε με τα ευρήματα ακρυλαμιδίου των τελικών προϊόντων τους. Ο στόχος ήταν να ανακαλυφθούν περιπτώσεις με αυξημένα επίπεδα ακρυλαμιδίου και να βοηθηθούν οι κατασκευαστές να λάβουν έγκαιρα μέτρα για τη μείωση αυτών των επιπέδων τροποποιώντας τις διαδικασίες παραγωγής, ώστε να μην αποσυρθούν τα Ελληνικά προϊόντα από την Ευρωπαϊκή αγορά.

Συγκεκριμένα στείλαμε την πρόταση συνεργασίας στους ακόλουθους φορείς:

1. Την Πανελλήνια Ένωση Μεταποιητών – Τυποποιητών- Εξαγωγέων Επιτραπέζιων Ελιών

και

2. Την Διεπαγγελματική Οργάνωση Επιτραπέζιας Ελιάς

Το ερωτηματολόγιο για συμπλήρωση που επισυνάψαμε ήταν το εξής:

Στοιχεία παραγωγικής διαδικασίας

1. Ποικιλία Ελιάς
2. Πρόκειται για μαύρες ή πράσινες ελιές ; μαύρες ☐ πράσινες ☐
3. Προηγείται πλύσιμο της ελιάς πριν από την επεξεργασία;
ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ ☐

Εάν ΝΑΙ το νερό που χρησιμοποιείται είναι πόσιμο ;

ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ ☐

Εάν ΝΑΙ να καταγραφεί αν είναι νερό δικτύου και ποιου.....

Χρησιμοποιείται διάλυμα σόδας ή άλλο αλκαλικό διάλυμα πριν ή με το πλύσιμο ;

ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ ☐

Εάν ΝΑΙ να Να περιγραφεί

4. Τι προστίθεται μετά;

4.1 Αλάτι ; ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ ☐

Εάν ΝΑΙ Σε τι ποσοστό περίπου επί του βάρους των ελιών

4.2 Ξύδι; ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ ☐

Εάν ΝΑΙ Σε τι ποσοστό περίπου επί του βάρους των ελιών

4.3 Νερό με χυμό λεμονιού; ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ ☐

Εάν ΝΑΙ Σε τι ποσοστό περίπου επί του βάρους των ελιών

4.4 Άλλο μέσο για οξύνιση ή για αλκαλικότητα; ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ ☐

Εάν ΝΑΙ Σε τι ποσοστό περίπου επί του βάρους των ελιών

4.5 Άλλο πρόσθετο ή τεχνολογικό βοήθημα ή επιταχυντής ζύμωσης ; ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ ☐

Εάν ΝΑΙ περιγράψατε και σε τι ποσοστό περίπου επί του βάρους των ελιών..

1.....

2.....

3.....

4.6 Άλλο τρόφιμο, συστατικό τροφίμων; ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ ☐

Εάν ΝΑΙ περιγράψατε και σε τι ποσοστό περίπου επί του βάρους των ελιών

.....

4.7 Γίνεται αερισμός σε αυτό το στάδιο; ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ ☐

Εάν ΝΑΙ περιγράψατε τη διαδικασία

.....

5. Ενδιάμεση επεξεργασία – διαχείριση

5.1 Πόσο χρόνο παραμένει στην ανωτέρω κατάσταση και σε τι συνθήκες αποθηκεύεται προσωρινά;

Σε μέρες..... Σε εβδομάδες

- 5.2 Ακολουθεί θερμική επεξεργασία (εκτός από παστερίωση ή αποστείρωση);
ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ ☐

Εάν ΝΑΙ περιγράψτε τη διαδικασία.....

- 5.3 Τι διαδικασία ακολουθείται μετά;

5.3.1 Καμία διαδικασία ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ ☐

5.3.2 Ξέπλυμα ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ ☐

Αν ΝΑΙ πόσες φορές και με τι; Ξέπλυμα και νέα προσθήκη άλλης ύλης;..

ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ ☐

Αν ΝΑΙ τί προστίθεται ;.....

- 5.4 Γίνεται αερισμός;

ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ ☐

Αν ΝΑΙ περιγράψτε τη

διαδικασία.....

6. Σε τι είδους περιέκτες αποθηκεύεται το προϊόν;

6.1. Δοχεία / Δεξαμενή πλαστική είδος πλαστικού

ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ ☐

6.2. Δοχεία / Δεξαμενή μεταλλική και από τι μέταλλο;.....

ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ ☐

6.3. Δοχεία γυάλινα; ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ ☐

7. Ποιο είναι το υγρό πλήρωσης στο τελικό προϊόν ;

7.1. Νερό με αλάτι σε τι ποσοστό στο υγρό

7.2. Νερό με αλάτι και ξύδι και σε τι ποσοστά στο υγρό

7.3. Νερό με αλάτι και άλλο μέσο οξίνισης (αναφέρετε) και σε τι ποσοστό στο υγρό
.....

7.4. Ελαιόλαδο (κατηγορία)

7.5. Ελαιόλαδο (κατηγορία) με λεμόνι ή χυμό του

7.6. Ελαιόλαδο (κατηγορία) με ξύδι.....

7.7. Ελαιόλαδο (κατηγορία) με λεμόνι ή χυμό του.....

7.8. Ελαιόλαδο (κατηγορία) με αλάτι.....

7.9. Μόνο σε αλάτι

7.10. Χρησιμοποιούνται άλλα πρόσθετα ή τεχνολογικά βοηθήματα

ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ ☐

Αν ΝΑΙ ποια και σε τι ποσοστά στο υγρό ;.....

8. Παστερίωση ή Αποστείρωση

8.1. Γίνεται παστερίωση και σε ποιο στάδιο ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ ☐

Συνθήκες παστερίωσης

8.2. Γίνεται αποστείρωση και σε ποιο στάδιο ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ ☐

Συνθήκες αποστείρωσης

9. Πως θα χαρακτηρίζατε τη μέθοδο επεξεργασίας που εφαρμόζετε;

9.1. Ελληνική; ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ ☐

9.2. Ισπανική ; ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ ☐

9.3. Καλιφόρνιας/Αμερικάνικη ; ΝΑΙ ☐ ΟΧΙ ☐

Άλλη;

Σε σχετική επιστολή μας ενημερώσαμε ότι ο στόχος του προγράμματος δεν ήταν ο έλεγχος της ποιότητας των προϊόντων με στόχο την επιβολή κυρώσεων, αλλά καθαρά διερευνητικός, όπου η αρχή (το Γενικό Χημείο του Κράτους) δεν θα έπρεπε απαραίτητα να γνωρίζει την προέλευση (παραγωγική μονάδα) των δειγμάτων αλλά οι ενώσεις παραγωγών θα μπορούσαν να προσδώσουν συγκεκριμένη αρίθμηση, η συσχέτιση της οποίας με τη λίστα των παραγωγών θα παρέμενε άγνωστη για την αρχή.

Παρόλα αυτά οι φορείς δεν ανταποκρίθηκαν, εκτός από έναν παραγωγό επιτραπέζιας ελιάς που τελικά συνεργάστηκε.

Παρασκευαστής επιτραπέζιας ελιάς που εφαρμόζει τη μέθοδο Καλιφόρνιας, απέστειλε δείγματα επιτραπέζιας ελιάς από τα 3 ενδιάμεσα στάδια της διαδικασίας επεξεργασίας. Τα αποτελέσματα των αναλύσεων του ακρυλαμιδίου στα δείγματα ήταν τα εξής:

Αριθμός σταδίου	Ακρυλαμίδιο, τελικό αποτέλεσμα σε $\mu\text{g}/\text{kg}^*$	Χαρακτηρισμός σταδίου επεξεργασίας
ο1	14.8	Ζύμωση σε βαρέλια των 220 L
ο2	345.4	Εμβάπτιση σε αραιό διάλυμα καυστικής σόδας και οξείδωση με διοχέτευση αέρα
ο3	54	Θερμική επεξεργασία και αποστείρωση.

**Όριο ποσοτικού προσδιορισμού 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$*

Όπως προκύπτει από τα παραπάνω αποτελέσματα, σημαντική περιεκτικότητα ακρυλαμιδίου καταγράφεται ήδη από το στάδιο προ της χρήσης θερμότητας, γεγονός που μας οδηγεί στο συμπέρασμα ότι στην περίπτωση αυτή δεν πρόκειται πιθανά για προϊόν αντίδρασης Malliard όπως στα άλλα τρόφιμα, γιατί η αντίδραση αυτή προϋποθέτει την εφαρμογή θερμότητας τουλάχιστον 120°C.

Σημειώνεται ότι η συντήρηση των δειγμάτων μέχρι την ανάλυση πραγματοποιήθηκε σε θερμοκρασία ψυγείου (0-4°C). Στο τρίτο στάδιο καταγράφεται μείωση της τιμής του ακρυλαμιδίου αλλά είναι άγνωστο αν η μείωση αυτή εμφανίστηκε κατά την συντήρηση των δειγμάτων ή ήδη κατά την παραγωγική διαδικασία. Πάντως είναι καταχωρημένη και στη βιβλιογραφία πτώση της τιμής του ακρυλαμιδίου κατά την αποθήκευση. Δυστυχώς δεν απεστάλη δείγμα τελικού συσκευασμένου προϊόντος για να μετρηθεί η τελική τιμή. Το συμπέρασμα είναι ωστόσο σαφές ότι προφανώς στις επιτραπέζιες ελιές δεν πρόκειται για ουσία που προκύπτει μετά από θερμική επεξεργασία, άρα ο μηχανισμός σχηματισμού του στις ελιές είναι άγνωστος.

Απαιτείται συνεπώς επανεξέταση του μηχανισμού σχηματισμού ακρυλαμιδίου στις επιτραπέζιες ελιές πριν να προταθούν όρια αναφοράς και ανώτατα επιτρεπόμενα επίπεδα, καθώς και μέτρα αποφυγής σχηματισμού σε Ευρωπαϊκό επίπεδο

Βιβλιογραφική ανασκόπηση

Ως πρόδρομες ουσίες για τον σχηματισμό του ακρυλαμιδίου θεωρούνται τα αμινοξέα και μάλιστα η **ασπαραγίνη** μαζί με ανάνγοντα σάκχαρα και την επίδραση θερμότητας, γιατί ασπαραγίνη αλλά και ανάνγοντα σάκχαρα υπάρχουν στην ελιά (A. López-López et al., 2010).

Άλλοι ερευνητές, προκειμένου να εξηγήσουν τον σχηματισμό ακρυλαμιδίου στις βρώσιμες ελιές, θεωρούσαν υπεύθυνο το τελικό στάδιο της παραγωγής ελιάς που παράγεται σύμφωνα με την μέθοδο της Καλιφόρνιας, δηλαδή το στάδιο της αποστείρωσης. Συγκεκριμένα ότι η γλυκερόλη που

απελευθερώνεται μετά την επεξεργασία με αλκαλικό διάλυμα μπορεί να σχηματίσει ακρολεΐνη η οποία, η οποία στη συνέχεια αντιδρά με την αμμωνία που σχηματίζεται κατά την αποικοδόμηση Strecker από τα αμινοξέα, για να σχηματίσει τελικά ακρυλαμίδιο (το τελευταίο βήμα λαμβάνει χώρα στη θερμοκρασία 170°C της αποστείρωσης) Charoenprasert and Mitchell (2014). Οι υποθέσεις αυτές προέκυψαν και από ευρήματα των Casado and Montaño, 2008, σύμφωνα με τα οποία τα επίπεδα ακρυλαμιδίου πριν από την αποστείρωση ήταν πολύ χαμηλά και αυξήθηκαν σημαντικά μετά την αποστείρωση στους 170°C. Σημειώνεται εδώ ότι οι αναλυτές αυτοί εφάρμοσαν ανάλυση με GC-MS και όριο αναφοράς ή ποσοτικού προσδιορισμού τα 71 μg/kg, σε αντίθεση με τη μέθοδο που εφαρμόστηκε στην παρούσα μελέτη που ήταν 10 μg/kg. Έτσι οι αναλυτές μέτρησαν επίπεδα ακρυλαμιδίου πριν την αποστείρωση έως 134 μg/kg, ενώ μετά την αποστείρωση 234 έως 1350 μg/kg. Σημειώνουμε εδώ ότι τα επίπεδα 134 μg/kg δεν θα έπρεπε να θεωρηθούν αμελητέα και αποτελούν ένδειξη σχηματισμού του ακρυλαμιδίου ήδη πριν την αποστείρωση, γεγονός που μας απομακρύνει από την υπόθεση του σχηματισμού προϊόντος αντίδρασης Mallard. Τον όρο «αμελητέα» τον αναφέρουν οι αναλυτές Charoenprasert and Mitchell (2014) ερμηνεύοντας την μελέτη των Casado and Montaño, 2008. Τέλος σημειώνουμε ότι ένα ακόμη σημαντικό συμπέρασμα των Casado and Montaño, 2008 ήταν ότι ο σχηματισμός του ακρυλαμιδίου σχετίζεται και με την ποικιλία της ελιάς.

Ο γνωστός μηχανισμός σχηματισμού του ακρυλαμιδίου, που ερμηνεύει τον σχηματισμό του σε τρόφιμα πλούσια σε άμυλο, φαίνεται να μην ισχύει για τις επιτραπέζιες ελιές μετά την μελέτη μας και απαιτούνται περαιτέρω έρευνες (αυτό το συμπέρασμα είναι σύμφωνο με παρόμοιες τοποθετήσεις άλλων ερευνητών στη βιβλιογραφία S. Charoenprasert et al., (2017), T.M. Amrein et al., (2007), A.H. Sánchez et al. (2014)).

7.2. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΑΚΡΥΛΑΜΙΔΙΟΥ ΣΕ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΤΗΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΑΓΟΡΑΣ

Έγινε δειγματοληψία συσκευασμένων προϊόντων που περιείχαν επιτραπέζιες ελιές που διατίθενται σε πέντε διαφορετικές αλυσίδες σούπερ μάρκετ των Αθηνών. Από την επισήμανση δεν είναι πάντα δυνατό να εξαχθεί συμπέρασμα για την προέλευση ή τον τρόπο παραγωγής της επιτραπέζιας ελιάς.

Συνολικά συλλέχθηκαν και αναλύθηκαν 39 δείγματα (βρώσιμο μέρος, μόνο σάρκα ελιάς).

Στην προσπάθεια να εντοπισθεί πιθανή συσχέτιση ανάμεσα στην περιεκτικότητα σε ασπαραγίνη και ανάγοντα σάκχαρα με την παρουσία ακρυλαμιδίου καταγράφηκε η διατροφική δήλωση που ήταν επί της συσκευασίας (περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες, περιεκτικότητα σε σάκχαρα και αλάτι).

Σύμφωνα με την βιβλιογραφία έχουν μετρηθεί ποσότητες ασπαραγίνης στις βρώσιμες ελιές και φαίνεται ότι η ασπαραγίνη μαζί με το γλουταμινικό οξύ είναι τα κυρίαρχα αμινοξέα στις βρώσιμες ελιές (Lazovic B. et al., 1999), αντίθετα στην μορφή ελεύθερου αμινοξέος φαίνεται να είναι η ασπαραγίνη το έκτο σημαντικότερο αμινοξύ (Casado F. J. and Montaño A, 2008). Στην παρούσα μελέτη θεωρήθηκε ότι η δηλούμενη στην διατροφική δήλωση περιεκτικότητα σε πρωτεΐνες αποτελεί μια ένδειξη της περιεκτικότητας σε ασπαραγίνη. Αναφορικά με την περιεκτικότητα σε ανάγοντα σάκχαρα, στην μελέτη των Casado F. J. and Montaño A., 2008 μετρήθηκε μόνο γλυκόζη που είναι ένα άναγον σάκχαρο. Οπότε η ένδειξη της παρουσίας σακχάρων στην διατροφική δήλωση θεωρήθηκε ενδεικτική της παρουσίας αναγόντων σακχάρων.

Στην επισήμανση δεν υπήρχε σε καμία συσκευασία η ένδειξη ότι οι ελιές παρασκευάστηκαν με τη μέθοδο της Καλιφόρνιας. Πολλοί παρασκευαστές επιτραπέζιας ελιάς δεν διευκρινίζουν στην ετικέτα την ακριβή διαδικασία παρασκευής που εφαρμόζουν, ή πάλι ισχυρίζονται ότι ακολουθούν

μια «παραδοσιακή μέθοδο», αλλά μπορεί στην πραγματικότητα να εφαρμόζουν κάποια τροποποιημένη μέθοδο ή ακόμη και εκείνη της Καλιφόρνιας.

ΑΡΙΘΜΟΣ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ	Περιεκτικότητα σε ακρυλαμιδιο μg/kg	ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΔΕΙΓΜΑΤΟΣ ΣΤΗΝ ΣΥΣΚΕΥΑΣΙΑ	Σάκχαρα σε g ανά 100 g	Πρωτεΐνες σε g ανά 100 g	Αλάτι σε g ανά 100 g	ΛΟΓΟΣ ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ ΠΡΟΣ ΣΑΚΧΑΡΑ
s1	< LOQ	πράσινες ελιές σε άλμη	0	0.7	2.5	
s2	< LOQ	πράσινες ελιές σε άλμη	0.1	1.5	4.1	15
s3	< LOQ	πράσινες ελιές σε άλμη βιολογικές	0	1.4	4.2	
s4	< LOQ	ελιές Καλαμών σε άλμη, με λιγότερο αλάτι	< 0.5	1.6	2.5	3.2
s5	< LOQ	πράσινες ελιές σε άλμη βιολογικές	0	1.4	4.2	
s6	< LOQ	ελιές Καλαμών φυσικές και ωριμασμένες από τον ήλιο	0	1.6	2.8	
s7	< LOQ	φυσικές και ωριμασμένες από τον ήλιο ελιές θρούμπα, Θάσος	2.5	2.6	4.85	1.04
s8	13	πράσινες ελιές	< 0.5	1.2	4	2.4
s9	< LOQ	Ελιές Καλαμών	< 0.5	1.7	4.25	3.4
s10	< LOQ	μαύρες και πράσινες ελιές				
s11	< LOQ	φυσικές μαύρες ελιές	< 0.1	1.6	3.6	16
s12	19.2	ξανθές ελιές σύμφωνα με παραδοσιακή συνταγή	< 0.1	1.4	3.8	14
s13	16	πράσινες ελιές	< 0.1	1.4	3.6	14
s14	< LOQ	μαύρες και πράσινες ελιές	< 0.1	1.51	3.6	15.1
s15	173.0	Ελληνικές πράσινες ελιές	0.5	2.5	4.1	5
s16	21.4	Ελληνικές μαύρες ελιές	0.1	1.4	3.6	14
s17	31.6	μαύρες ελιές φουρνιστές	0.1	1.8	3.9	18
s18	11.8	Ελιές Καλαμών	0	1.6	3.4	
s19	17.6	Ελληνικές ελιές με παραδοσιακή συνταγή	< 0.1	1.6	3.7	16
s20	< LOQ	μαύρες ελιές	0.07	1.4	3.6	20
s21	< LOQ	πράσινες ελιές σε άλμη	0.5	2.9	4.9	5.8
s22	35.6	Ελληνικές πράσινες ελιές βιολογικές	<0.5	1.2	3.4	2.4
s23	< LOQ	Ελληνικές ελιές Καλαμών σε άλμη, βιολογικές	<0.5	1.3	3.4	2.6
s24	< LOQ	Ελληνικές ελιές Καλαμών	<0.5	1.7	2.7	3.4
s25	< LOQ	πράσινες ελιές	0.1	0.5	3.5	5
s26	< LOQ	πράσινες ελιές	0.1	3	3.5	30
s27	< LOQ	πράσινες ελιές σε άλμη	0.1	1.2	4.3	12
s28	< LOQ	πράσινες ελιές αποστειρωμένες	0.1	1.1	4.3	11
s29	40.2	αποστειρωμένο προϊόν	0.1	1	4.3	10
s30	< LOQ	Ελιές Καλαμών	0.1	1.3	4.3	13
s31	< LOQ	πράσινες ελιές σε άλμη, αποστειρωμένες	0.1	1.2	4.1	12

s32	< LOQ	Ελιές Καλαμών σε όξινη άλμη	0.1	1.8	4.1	18
s33	24	Ελληνικές ελιές Καλαμών σε άλμη	0.1	1.8	4.1	18
s34	< LOQ	πράσινες ελιές σε άλμη	0.1	1.2	4.5	12
s35	< LOQ	πράσινες ελιές	0.1	1.1	4.5	11
s36	29.4	πράσινες ελιές σε άλμη	0.1	1.3	4.5	13
s37	14.6	Ελιές Καλαμών αποστειρωμένες	0	1.3	2.5	
s38	< LOQ	πράσινες ελιές	< 0.5	3	5.3	6
s39	< LOQ	πράσινες ελιές	0.3	1.3	4.25	4.3

***LOQ**= όριο ποσοτικού προσδιορισμού, 10 µg/kg

Από τον πίνακα παρατηρούμε ότι τα μετρηθέντα επίπεδα ακρυλαμιδίου βρίσκονται πολύ χαμηλότερα από το προτεινόμενο όριο αναφοράς των 850 µg/kg. Τα υψηλότερα επίπεδα καταγράφηκαν σε Ελληνικές πράσινες ελιές (δείγμα s15).

Οι λεγόμενες φουρνιστές ελιές (δείγμα s17) δεν περιέχουν σημαντική περιεκτικότητα σε ακρυλαμίδιο.

Τόσο σε πράσινες όσο και σε μαύρες ελιές καταγράφονται μετρήσιμες περιεκτικότητες σε ακρυλαμίδιο, αν και αυτό αφορά μόνο ένα ποσοστό (το ένα τρίτο των δειγμάτων περιείχε μετρήσιμες περιεκτικότητες σε ακρυλαμίδιο).

Δεν είναι δυνατή η συσχέτιση ούτε της περιεκτικότητας σε πρωτεΐνες, αλάτι ή σάκχαρα ούτε του λόγου πρωτεϊνών προς σάκχαρα με την περιεκτικότητα σε ακρυλαμίδιο. Αυτό συμφωνεί με τις παρατηρήσεις άλλων ερευνητών (Casado F.J. and Montañó A., 2008).

Από την επισήμανση των προϊόντων δεν μπορεί να γίνει αντιληπτό πότε οι ελιές έχουν υποστεί οξείδωση και πότε όχι, οπότε η πρόταση της Ευρωπαϊκής Επιτροπής για εφαρμογή ορίου αναφοράς στις μαύρες ελιές που έχουν υποστεί οξείδωση φαίνεται δύσκολα να εφαρμόζεται. Σημειώνεται επιπλέον ότι μετρήσιμες περιεκτικότητες ακρυλαμιδίου καταγράφηκαν και σε πράσινες ελιές.

8. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

1. Δεν υπάρχει προφανώς καμία συσχέτιση μεταξύ της περιεκτικότητας σε σάκχαρα και πρωτεΐνες και του σχηματισμού ακρυλαμιδίου (συμπέρασμα σύμφωνο και με την βιβλιογραφία).
2. Το ακρυλαμίδιο σχηματίζεται ήδη μετά την εμβάπτιση σε αλκαλικό διάλυμα και την οξείδωση (Μέθοδος Καλιφόρνιας για τις μαύρες ελιές) Πρόκειται για εύρημα αντίθετο με υποθέσεις που διατυπώθηκαν μέχρι στιγμής, που θεωρούν την τελική φάση της παστερίωσης με θερμοκρασίες μέχρι 170°C ως τη φάση σχηματισμού του ακρυλαμιδίου, από πρόδρομες ουσίες που σχηματίζονται κατά τη εμβάπτιση σε αλκαλικό διάλυμα, (Montañó A. et al., 2016).
3. Οι πράσινες ελιές (που παρασκευάζονται πιθανά με τη μέθοδο της Καλιφόρνιας) μπορούν επίσης να καταδείξουν μετρήσιμα επίπεδα ακρυλαμιδίου.
4. Οι φουρνιστές ελιές δεν περιέχουν απαραίτητα υψηλές ποσότητες ακρυλαμιδίου, σε αντίθεση με ευρήματα της βιβλιογραφίας.

5. Η αποστείρωση δεν είναι αναγκαστικά το καθοριστικό στάδιο όπου σχηματίζεται ακρυλαμίδιο στις επιτραπέζιες ελιές, γιατί, όπως έδειξε η παρούσα μελέτη, σημαντικές περιεκτικότητες είναι μετρήσιμες και πριν από το στάδιο αυτό.
6. Όταν το ακρυλαμίδιο σχηματίζεται σε ένα στάδιο μπορεί επίσης να αποικοδομηθεί σε επόμενο στάδιο (σύμφωνα και με τους Casado F. J. and Montaño A., 2008).
7. Δεν είναι εύκολο να ενταχθούν οι επιτραπέζιες ελιές στα παραρτήματα του κανονισμού (ΕΕ) 2158/2017 για προτεινόμενα επίπεδα αναφοράς και μέτρα αποφυγής σχηματισμού του, γιατί ο τρόπος σχηματισμού στις ελιές φαίνεται να μην είναι ο ίδιος με εκείνον στα τρόφιμα πλούσια σε άμυλο και παραμένει προς το παρόν άγνωστος. Επιπλέον δεν είναι εύκολο από την επισήμανση να διαπιστωθεί πότε οι μαύρες ελιές έχουν υποστεί οξείδωση και πότε όχι, καθιστώντας την εφαρμογή του προταθέντος μέτρου από την Ευρωπαϊκή Επιτροπή για όριο αναφοράς για τις επιτραπέζιες ελιές (επίπεδο αναφοράς για τις μαύρες ελιές που παρασκευάζονται με οξείδωση) δύσκολα εφαρμόσιμο.
8. Τα επίπεδα ακρυλαμιδίου για τις επιτραπέζιες συσκευασμένες ελιές της Ελληνικής αγοράς φαίνεται είτε να είναι μη ποσοτικοποιήσιμα, είτε να βρίσκονται σε επίπεδα πολύ χαμηλότερα από τα συζητούμενα επίπεδα αναφοράς (850 $\mu\text{g/kg}$) που μπορεί να ενταχθούν στο παράρτημα IV του κανονισμού (ΕΕ) 2158/2017.

9. ΠΡΟΤΑΣΕΙΣ ΣΤΟΥΣ ΠΑΡΑΓΩΓΟΥΣ

Οι παραγωγοί που εφαρμόζουν την μέθοδο Καλιφόρνιας θα πρέπει να ελέγχουν συστηματικά τα επίπεδα ακρυλαμιδίου στο τελικό τους προϊόν, ειδικά τις διακυμάνσεις από ποικιλία σε ποικιλία. Η παραγωγή φρουρνιστών ελιών θα πρέπει επίσης να ελέγχουν τις συνθήκες παραγωγής σε σχέση με τα επίπεδα ακρυλαμιδίου.

Για πληρέστερη αποτύπωση της κατάστασης της παραγόμενης επιτραπέζιας ελιάς θα πρέπει οι παραγωγοί να συνεργαστούν με τις αρχές για τον έγκαιρο εντοπισμό προβληματικών προϊόντων ώστε να προταθούν εποικοδομητικές λύσεις αποφυγής της δημιουργίας ακρυλαμιδίου.

Γενικά οι νέοι παραγωγοί θα πρέπει να λάβουν υπ όψιν τους τα αποτελέσματα της εργασίας αυτής και να διερευνήσουν ή και να αποφύγουν τη χρήση της προβληματικής παραγωγικής διαδικασίας της μεθόδου της Καλιφόρνιας.

ΕΥΧΑΡΙΣΤΕΙΣ

Ευχαριστούμε την εταιρία ΚΑΛΟΓΗΡΟΣ Α.Ε. με έδρα το Βελεστίνο Μαγνησίας για τη συνεργασία

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ – ΑΝΑΦΟΡΕΣ

1. Amrein, T.M., Andres L., Escher F. and Amadò R., Occurrence of acrylamide in selected foods and mitigation options, Food Additives and Contaminants, Supplement 1, 24(S1): 13–25 (2007);
2. Annual Workshop of the European National Reference Laboratories on Processing Contaminants, Copenhagen, 2019.
3. Annual Workshop of the European National Reference Laboratories on Processing Contaminants, Copenhagen, 2021.
4. Casado F. J. and Montañó A., Influence of Processing Conditions on Acrylamide Content in Black Ripe Olives, J. Agric. Food Chem. 2008, 56, 2021–2027.
5. Charoenprasert S. and A. Mitchell A., Influence of California-Style Black Ripe Olive Processing on the Formation of Acrylamide J. Agric. Food Chem., 62, 8716–8721 (2014)
6. Charoenprasert S., Zweigenbaum V., Zhang G. and Mitchell A. E., The Influence of pH and Sodium Hydroxide Exposure Time on Glucosamine and Acrylamide Levels in California-Style Black Ripe Olives, Journal of Food Science Vol. 82, Nr. 7, (2017).
7. Duedahl-Olesen L., Wilde A.S., Dagnæs-Hansen M.P., Mikkelsen A., Olesen P.T. and Granby K., Acrylamide in commercial table olives and the effect of domestic cooking, Food Control 132 (2022) 108515 (Elsevier, 2021).
8. Food Composition Tables (συνεχώς ενημερωνόμενη ιστοσελίδα) <https://www.food.dtu.dk/english/service/about-the-institute/facilities-and-infrastructure/database-of-food-nutrient-contents>
9. Gazovic P., Miranovic K., Gasic O. and Popovic M., Proc. Jrd Int. ISHS Eds. I.T. Metzidakis and D.G. Voyiatzis, Acta Hort. 474, ISHS 1999.
10. Gandul-Rojas B. and Gallardo-Guerrero L., Pigment changes during processing of green table olive specialities treated with alkali and without fermentation, Elsevier (2012).
11. Gökmen V. Acrylamide Formation in Foods: Role of Composition and Processing. Emerging and Traditional Technologies for Safe, Healthy and Quality Food, 67–80 (2015).
12. ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ (ΕΕ) 2017/2158 ΤΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ της 20ής Νοεμβρίου 2017 για τη θέσπιση μέτρων άμβλυνσης του κινδύνου και επιπέδων αναφοράς για τον περιορισμό της παρουσίας ακρυλαμιδίου στα τρόφιμα.
13. López-López A., Montañó A. and Garrido-Fernández A., Nutrient Profiles of Commercial Table Olives: Proteins and Vitamins Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention, Elsevier, (2010).

14. Lodolinia E.M., Cabrera-Banegil M., Fernandez A., Delgado-Adamez J., Ramirez R. and Martin-Vertedor D., Monitoring of acrylamide and phenolic compounds in table olive after highhydrostatic pressure and cooking treatments, Food Science, Elsevier(2019).
15. Montañó A., Casado F.J.and Carle R., Acrylamide in Table Olives (chapter 12 in Acrylamide in Food, Elsevier, 2016).
16. Sánchez A. H., Beato V. M., López-López A. and Montañó A., Comparative study of the use of sarcosine, proline and glycine as acrylamide inhibitors in ripe olive processing, Food Additives & Contaminants: Part A, Vol. 31, No. 2, 242–249 (2014).
17. Scientific Opinion on acrylamide in food. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM), 2015. Scientific Opinion on acrylamide in food. EFSA Journal 2015;13(6):4104, 321 pp.
18. ΣΥΣΤΑΣΗ (ΕΕ) 2019/1888 ΤΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗΣ της 7ης Νοεμβρίου 2019 σχετικά με την παρακολούθηση της παρουσίας ακρυλαμιδίου σε ορισμένα τρόφιμα