

CENTRO UNIVERSITÁRIO FACVEST - UNIFACVEST ALESSANDRO WERLANG POGGERE

ESTRATÉGIAS DE MITIGAÇÃO E/OU REDUÇÃO DA FORMAÇÃO DA ACRILAMIDA EM ALIMENTOS PROCESSADOS

ALESSANDRO WERLANG POGGERE

ESTRATÉGIAS DE MITIGAÇÃO E/OU REDUÇÃO DA FORMAÇÃO DA ACRILAMIDA EM ALIMENTOS PROCESSADOS

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de Graduação em Engenharia de Alimentos do Centro Universitário Facvest - Unifacvest, como requisito parcial para obtenção do título de Engenheiro de Alimentos.

Centro Universitário Facvest - Unifacvest

Orientadora: Profa. Dra. Nilva Regina Uliana

Coorientadora: Profa. Dra. Sabrina de Bona Sartor

Supervisora: Profa. Dra. Priscila Missio da Silva

ALESSANDRO WERLANG POGGERE

ESTRATÉGIAS DE MITIGAÇÃO/REDUÇÃO DA FORMAÇÃO DA ACRILAMIDA EM ALIMENTOS PROCESSADOS

Este trabalho de conclusão de curso foi julgado adequado como requisito parcial para obtenção do título de Engenharia de Alimentos e aprovado em sua forma final pelo Supervisor pedagógico do Curso de Engenharia de Alimentos, do Centro Universitário Facvest – Unifacvest.

Lages, 16 de dezembro de 2019.

Professora e Orientadora: Dra Nilva Regina Uliana Centro Universitário Facvest - Unifacvest

Professora e Coorientadora: Dra Sabrina de Bona Sartor

Centro Universitário Facvest – Unifacvest

RESUMO

A acrilamida é uma substância tóxica, formada especialmente em produtos à base de batata, cereais, café e seus derivados, está presente em alimentos que fazem parte dos hábitos alimentares da população e são ingeridos diariamente. principais mecanismos de formação da acrilamida envolvem a presença de aminoácidos, especialmente a asparagina, de açúcares redutores, em temperaturas acima de 120 °C, pela Reação de Maillard e, ainda, via lipídica. Os primeiros relatos da formação da acrilamida em alimentos foi realizada por pesquisadores suecos, em 2002, iniciando uma série de estudos que comprovaram a presenca da substância em diferentes alimentos processados termicamente. O objetivo deste trabalho foi apresentar e discutir as estratégias de mitigação e/ou métodos que evitem a formação da acrilamida em alimentos processados. Para isto, foi elaborado uma revisão bibliográfica com base em materiais científicos, que apresentaram e/ou estudaram os diferentes métodos para mitigação da acrilamida. Os principais métodos de redução envolvem o uso de enzimas (asparaginase) e de aditivos (conservantes e antioxidantes). Os resultados obtidos apontaram que os procedimentos que modificam a Reação de Maillard podem afetar características sensoriais finais do produto, como cor e sabor, porém o uso da enzima asparaginase, transformando a asparagina em ácido aspártico, é um método eficaz que mantém as características sensoriais do produto final, assim como o uso de aditivos antes ou depois da cocção, que promovem o decréscimo da concentração de acrilamida, sem modificar suas características sensoriais. Desta maneira, podese concluir que os métodos estudados são eficazes, porém o fato de modificarem as características sensoriais do produto alimentício é fator determinante para seu uso. Assim, o emprego da asparaginase é uma ferramenta eficaz e poderosa para a indústria de alimentos e seu uso para a mitigação da formação de acrilamida em alimentos processados vem crescendo continuamente.

Palavras-chave: Acrilamida; Mitigação; Asparaginase.

ABSTRACT

Acrylamide is a toxic substance, formed especially in products made from potatoes, cereals, coffee and their derivatives, is present in foods that are part of the eating habits of the population and are ingested daily. The major mechanisms of acrylamide formation involve the presence of amino acids, especially asparagine, in reducing sugars, at temperatures above 120 °C, by Maillard reaction and also via the lipid pathway. The first reports of acrylamide formation in foods were carried out by Swedish researchers in 2002, starting a series of studies that proved the presence of the substance in different thermally processed foods. The aim of this paper was to present and discuss mitigation strategies and/or methods that prevent the formation of acrylamide in processed foods. For this, a bibliographic review based on scientific materials was presented, which presented and / or studied the different methods for mitigating acrylamide. The main reduction methods involve the use of enzymes (asparaginase) and additives (preservatives and antioxidants). The results showed that the procedures that modify the Maillard reaction may affect the final sensory characteristics of the product, such as color and taste, but the use of asparaginase enzyme, transforming asparagine into aspartic acid, is an effective method that maintains the sensory characteristics of the product, final product, as well as the use of additives before or after cooking, which promote the decrease concentration of acrylamide without modifying its sensory characteristics. Thus, it can be concluded that the methods studied are effective, but the fact that they modify the sensory characteristics of the food product is a determining factor for its use. Thus, the use of asparaginase is an effective and powerful tool for the food industry and its use for training mitigation, of acrylamide in processed foods has been steadily growing.

Keywords: Acrylamide; Mitigation; Asparaginase.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus, por ter me dado força e coragem para superar qualquer tipo de dificuldade.

Aos meus pais, Sueli e Esoli, vocês são meu suporte, o motivo pelo qual agradeço a Deus todos dias. Sem vocês nada disso poderia ter dado certo.

À Prof^a. Sabrina, por todos ensinamentos e oportunidades, pela orientação, apoio e confiança. Você é minha inspiração.

À Profa. Priscila, pela paciência e auxílio nas correções.

À Coordenadora do Curso, Prof^a Nilva, que faz o possível para trazer o melhor para o curso, além de permanecer ao lado dos alunos.

A todos meus amigos, em especial, ao Gabriel, Leonora, Gustavo, Gabrielly e Ana Lúcia irmãos que a vida meu deu e que fazem meus dias mais divertidos.

A todos que direta ou indiretamente estiveram presentes em toda essa caminhada.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

3-APA – 3-aminopropionamida;

ASNU – Unidade de Atividade da Asparaginase;

BHT - Hidroxitolueno butilado;

CaO - Óxido de cálcio:

CCFAC – Comitê do Codex de Aditivos e Contaminantes Alimentares;

CG/MS-MS – Cromatografia Gasosa acoplada à espectrometria de massas;

FAO - Food and Agriculture Organization;

FDA – Food and Drug Administration;

HPLC/MS-MS – Cromatografia Liquida acoplada à espectrometria de massas;

IARC – Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer;

JECFA – Comitê de Especialistas em Aditivos Alimentares;

JRC – Centro de Pesquisa Conjunto da União Europeia;

OMS - Organização Mundial da Saúde;

pKa - Constante de acidez;

SAPP – Pirofosfato ácido dissódico;

U.kg⁻¹ – Unidade de Massa Atômica por quilograma;

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 OBJETIVOS	11
2.1 OBJETIVO GERAL	11
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
3 METODOLOGIA	12
4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	13
4.1 ACRILAMIDA	13
4.2 MECANISMOS DE FORMAÇÃO	14
4.3 ACRILAMIDA EM ALIMENTOS	19
4.3.1 Ocorrência	19
4.4 ASPECTOS TOXICOLÓGICOS	20
4.4.1 Carcinogenicidade, genotoxicidade e neurotoxicidade	20
4.5 MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETERMINAÇÃO DE	
ALIMENTOS	21
4.5.1 Preparo	
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	24
5.1 ESTRATÉGIAS DE REDUÇÃO OU DIMINUIÇÃO	24
5.1.1 Produtos à base de batata	25
5.1.2 Produtos à base de cereais	26
5.1.3 Produtos à base de café	26
5.1.4 Mitigação baseada em processos	27
5.1.5 Uso de aditivos	27
5.1.6 Uso de reações enzimáticas	29
5.1.7 Uso da asparaginase	29
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	34
REFERÊNCIAS	35

1 INTRODUÇÃO

A acrilamida é um sólido cristalino incolor, inodoro e de baixo peso molecular formado através da hidratação da acrilonitrila e com ponto de fusão a 84,5 °C. Tratase de um composto biodegradável, solúvel em água, acetona e etanol, com alta mobilidade no solo e em lençóis freáticos (SMITH et al., 1996).

Em 1997, durante a construção de um túnel na Suécia, foi utilizado material selante contendo altos níveis de acrilamida, resultando na morte de peixes e paralisia de vacas nos arredores da construção. Altos níveis de adutos de acrilamida, com hemoglobina, foram encontrados no sangue das vacas que apresentaram paralisia, comprovando a origem da contaminação. Adutos são substâncias formadas a partir de duas ou mais moléculas, onde o produto final deve conter todos os átomos iniciais da formação. Ainda, trabalhadores envolvidos, relataram o aparecimento de sintomas como paralisia e formigamento nas mãos e nos pés (TAREKE et al., 2002).

Os níveis de adutos de acrilamida encontrados no sangue de indivíduos não expostos se tornou uma questão preocupante, visto que as fontes de exposição conhecidas, como a água, cosméticos e a fumaça de cigarro, não foram consideradas significativas para explicá-los, sugerindo a existência de uma nova fonte de exposição. A formação de acrilamida, durante o aquecimento, foi posteriormente, confirmada, em estudos experimentais, por meio da identificação de adutos de acrilamida com a hemoglobina em animais alimentados com ração frita a 200 °C, uma vez que a presença deste aduto não era observada no sangue de animais alimentados com ração não frita (BERGMARK, 1993; TAREKE et al., 2002).

Desde então, a presença e formação da acrilamida em alimentos, tanto em humanos quanto em animais, vêm sendo amplamente estudada. A acrilamida é formada em alimentos como o café, biscoito, pão, batata frita, e alimentos infantis durante o processamento térmico. Sua formação é favorecida com alta temperatura e baixo teor de água. Sobretudo, grandes quantidades de acrilamida são encontradas em alimentos ricos em carboidratos. Ela se encontra principalmente nas superfícies dos alimentos, pois a temperatura é mais alta neste local do que no interior do alimento (GUERRA-HERMÁNDEZ et al., 1999; GRAF et al., 2006;

MESTDAGH et al., 2008; OU et al., 2008; KERAMAT et al., 2011; MOJSKA et al., 2012; BANCHERO et al., 2013; GOKMEN, 2015).

Por ser formada, principalmente, através da reação da asparagina e açúcares redutores, um dos métodos para mitigação da acrilamida é a redução do tempo da Reação de Maillard. Portanto, essa reação afeta características sensoriais do produto, especialmente odor, cor e sabor. Uma alternativa seria o uso da enzima asparaginase, convertendo a asparagina em ácido aspártico, reduzindo a formação da acrilamida e mantendo as características sensoriais do alimento.

Deste modo, este trabalho tem como objetivo descrever os processos de formação da acrilamida em diferentes alimentos processados, bem como as estratégias utilizadas pela indústria de alimentos para diminuição ou evitar a formação durante a aplicação das técnicas de processamento.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Apresentar as estratégias empregadas para diminuir ou evitar a formação da acrilamida em alimentos processados.

2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estudar as rotas de formação da acrilamida durante o processamento de alimentos;
- Apresentar os principais alimentos fonte de acrilamida da dieta humana;
- Discutir aspectos toxicológicos da acrilamida e seus efeitos sobre a saúde humana;
- Revisar os principais métodos analíticos para determinação da acrilamida em alimentos;
- Discutir as estratégias de mitigação da formação de acrilamida durante o processamento de alimentos.

3 METODOLOGIA

O presente trabalho foi desenvolvido através de uma revisão bibliográfica, baseada em materiais científicos. Utilizou-se artigos, livros, bases de dados, revistas impressas e eletrônicas, e entre outras fontes, nas quais seus conteúdos fossem relevantes à formação da acrilamida em alimentos processados, assim como estratégias da mitigação da formação da mesma. Para tanto, o estudo seguiu a lógica das etapas apresentadas por Gil (2002):

- Escolha do tema: baseando-se em uma área de interesse, refletir sobre diferentes temas, então quais são os mais instigantes e interessantes ou que já se tem um bom conhecimento para se aprofundar e pesquisar, e por fim delimitar mais o assunto.
- Levantamento bibliográfico preliminar: realizar um estudo exploratório nos materiais bibliográficos para possibilitar maior delimitação do assunto desejado e finalmente definir o problema.
- Formulação do problema: expor de forma clara, concisa e objetiva qual é a ideia na qual se pretende realizar o estudo sobre.
- Busca das fontes: identificar as fontes capazes de fornecer as respostas adequadas à solução do problema proposto, sendo fundamental obter informações e a apreciação crítica do orientador e se possível de especialistas do tema. Localizá-las e obtê-las.
- Leitura do material: identificar e analisar a consistência das informações e dos dados fornecidos pelos autores, estabelecer relações entre os mesmos com o problema proposto.
- Construção lógica do trabalho: estruturar logicamente as ideias com vista em atender aos objetivos ou testar as hipóteses formuladas no início da pesquisa.

4 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 ACRILAMIDA

É uma substância formada a partir da hidratação da acrilonitrila. Tem grande uso na síntese da poliacrilamida e sua fórmula química é C₃H₅NO (Figura 1). Foi revelada por pesquisadores suecos, em 2002, em vários alimentos que passaram por processamento à altas temperaturas (SNFA, 2002; TAREKE *et al.*, 2002).

Figura 1 - Fórmula molecular da acrilamida.

Fonte: LINGNERT et al., 2014.

De acordo com a IARC (1994), a acrilamida apresenta propriedades genotóxicas e carcinogênicas comprovadas em testes experimentais com animais, além de poder provocar danos ao sistema nervoso humano.

É um sólido branco cristalino, estável à temperatura ambiente, solúvel em água, etanol, metanol, dimetil, éter e acetona, e insolúvel em benzeno. Fazem parte de sua estrutura química uma função amida polar, que confere a propriedade de alta solubilidade em água e uma função vinil, que permite a polimerização (US EPA, 1994).

Sabe-se que a acrilamida é formada, em alimentos, a partir da Reação de Maillard, entre açúcares redutores e aminoácidos, em temperaturas acima de 120 °C. Verificou-se, também, que a presença de asparagina aumenta significativamente os níveis de acrilamida formados, através de experimentos realizados com átomos de nitrogênio e carbono, sendo que estes átomos eram provenientes da molécula de asparagina. Logo, foi apontada como principal precursor da acrilamida, apesar de não saber propriamente o mecanismo exato da reação (MOTTRAM *et al.*, 2002; STADLER *et al.*, 2002; BECALSKI *et al.*, 2003).

As primeiras referências sobre a ocorrência de acrilamida em alimentos indicaram que produtos à base de batata (batata frita e *chips*), e produtos à base de

cereais (pães, torradas, biscoitos e cereais matinais) apontaram os maiores teores de acrilamida, podendo chegar até 3500 μg.kg⁻¹, dependendo do produto (FDA, 2002; NFCA, 2002; SOPH, 2002; UK FSA, 2002). Níveis entre 5-50 μg.kg⁻¹ de acrilamida foram encontrados em produtos à base de proteínas processadas termicamente, ao mesmo tempo em que alimentos crus ou cozidos em água não foi detectada a presença da substância, níveis <5 μg.kg⁻¹ (TAREKE *et al.*, 2002).

4.2 MECANISMOS DE FORMAÇÃO

Após a descoberta da substância, pesquisadores iniciaram estudos sobre como a acrilamida era formada em alimentos, e foi observado que a mesma estava presente em alimentos processados em alta temperatura, e que seus níveis variavam de acordo com o tempo e modo de aquecimento, obtendo-se uma correlação com o escurecimento do produto final (AHN *et al.*, 2002).

Muitos autores verificaram que o principal caminho para a formação de acrilamida nos alimentos é a partir da Reação de Maillard entre aminoácidos e açúcares redutores (MOTTRAM et al., 2002; STADLER et al., 2002; BECALSKI et al., 2003; ZYZAK et al., 2003; ROBERT et al., 2004; STADLER et al., 2004; YAYLAYAN, STADLER, 2005).

Há também a reação que ocorre por via lipídica, sendo também durante o processamento implicando na qualidade final dos produtos. Lipídeos como o glicerol e triglicerídeo ao serem submetidos ao aquecimento dão origem à acroleína, que ao ser oxidada gera uma molécula de ácido acrílico ou um radical acrílico intermediário. Ambos na presença da amônia formam a acrilamida (KERAMAT *et al.*, 2011) como mostra a Figura 2.



Figura 2: Mecanismo de formação da acrilamida via lipídica e carsinosina.

Fonte: Adaptado de KERAMAT et al., 2011.

A Reação de Maillard baseia-se na reação entre dois precursores, a asparagina e os açúcares redutores, formando a base de Schiff, que ao ser descarboxilada, origina a 5-1-oxazolidina. Em seguida, o produto descarboxilado pode se decompor, por eliminação de uma amina, e formar a acrilamida, ou hidrolisar e formar a 3-APA, que na presença de açúcar, igualmente forma a acrilamida (LIU *et al.*, 2015), como descrito na Figura 3.

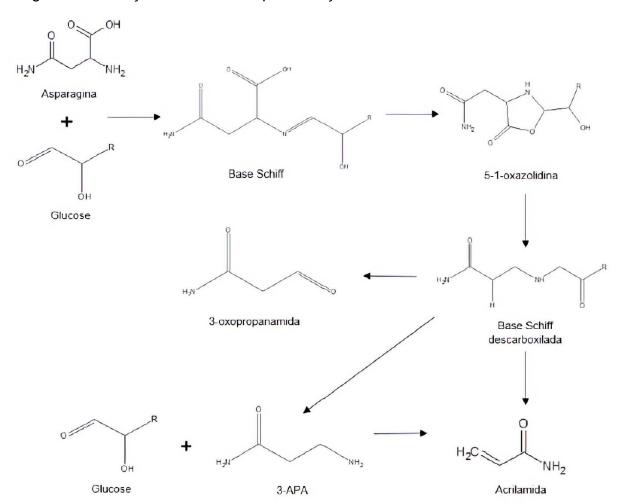


Figura 3: Formação da acrilamida pela Reação de Maillard.

Fonte: Adaptado de YAYLAYAN, STADLER, 2005.

O teor de acrilamida final em um alimento depende, diretamente de fatores como a temperatura empregada durante o processamento, assim como a quantidade de água contida no mesmo. São considerados precursores que variam, proporcionalmente, com o contaminante. Na Reação de Maillard, por exemplo, o aumento da temperatura e duração gera um aumento de acrilamida. Assim, um alimento com atividade de água menor, será sempre o alimento com maior teor de acrilamida, pois a acrilamida e a atividade de água são inversamente proporcionais, nesse caso. Outro fator considerável é o pH, quanto maior, menor a quantidade de acrilamida formada (PARIZA et al., 2006).

Se a quantidade de açúcares redutores estiver maior do que a quantidade de asparagina, em um alimento, a redução da asparagina vai apresentar maior efeito sobre a formação da acrilamida, do que a diminuição de açúcares. Diversos estudos afirmaram que a quantidade de acrilamida é proporcional à redução na concentração de açúcares redutores da batata (OHARA-TAKADA *et al.*, 2005; VINCI *et al.*, 2012; ELMORE *et al.*, 2015). Em contrapartida em cereais, como o centeio e o trigo, a formação da acrilamida é proporcional ao conteúdo de asparagina (CURTIS *et al.*, 2010; HALFORD *et al.*, 2012). Devido à isso, batatas com menor teor de açúcares redutores, e cereais com menores teores de asparagina são mais procurados. O armazenamento, sobretudo em condições de baixa temperatura, pode aumentar o teor de açúcares redutores nas batatas (RAK *et al.*, 2013), enquanto os níveis de fertilização, como enxofre e nitrogênio diminuem essas quantidades em batatas e cereais (MUTTUCUMARU *et al.*, 2006; ELMORE *et al.*, 2007; MUTTUCUMARU *et al.*, 2013).

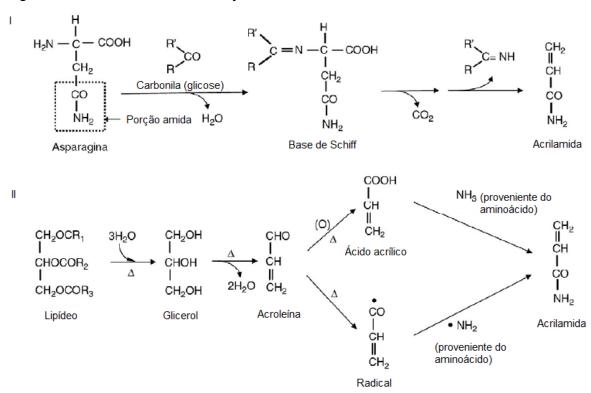
Estudos iniciais, incluindo aminoácidos e açúcares redutores submetidos à alta temperatura, indicaram que a asparagina aumentava expressivamente o nível de acrilabmida formada, sobretudo acima de 120 °C. Através de experimentos com ¹⁵N e ¹³C marcados, confirmou-se que os átomos de carbono e nitrogênio na molécula de acrilamida eram provenientes da molécula de asparagina (STADLER *et al.*, 2002; BECALSKI *et al.*, 2003). Portanto, a formação de acrilamida por meio de asparagina, seria capaz de explicar as altas concentrações deparadas em produtos à base de batatas e cereais, que por sua vez são ricos nesse aminoácido (MOTTRAM *et al.*, 2002).

Quanto aos açúcares redutores, não houve formação de acrilamida quando os mesmos eram elevados à alta temperatura na ausência de aminoácidos (STADLER *et al.*, 2002). Outros autores verificaram a diferença na formação de acrilamida a partir da glicose e frutose, sendo que na segunda foi mais eficiente associando à liberação de água de cristalização e aumento da mobilidade molecular dos precursores, visto que o ponto de fusão da frutose é inferior que o da glicose (ROBERT *et al.*, 2004; STADLER *et al.*, 2004).

Portanto, há duas rotas para a formação da acrilamida, como mostrado na Figura 4. A principal, por meio da asparagina, que contém uma porção amida. Um

composto com um grupo carbonila, como a glicose, acelera a formação da acrilamida mediante formação de uma Base Schiff, como no esquema I. Na segunda rota, a acrilamida é formada por meio da acroleína, que é gerada pelo tratamento de um glicerídeo por altas temperaturas. Assim que se forma, a acroleína sofre oxidação, dando origem ao ácido acrílico, que ao reagir com uma amônia, procedente de um aminoácido forma a acrilamida sob altas temperaturas (Esquema II). A amônia forma-se a partir de um aminoácido que passou pela degradação de Strecker, na presença de um composto carbonílico. O radical da acroleína pode-se formar por meio de tratamento à altas temperaturas. Esse radical, então, reage com um radical amino, que também tem origem em um aminoácido em altas temperaturas, formando por fim, a acrilamida (SHIBAMOTO; BJELDANES, 2014).

Figura 4: Mecanismos de formação da acrilamida em alimentos.



Fonte: Adaptado de Shibamoto e Bjeldanes, 2014.

4.3 ACRILAMIDA EM ALIMENTOS

4.3.1 Ocorrência

Inicialmente, pesquisadores da Universidade de Estocolmo relataram a formação de acrilamida em alimentos, logo a Agência Nacional de Alimentos da Suécia, foi o primeiro órgão que deu início a um estudo sobre a presença da substância em alimentos disponíveis no mercado comprovando sua presença em níveis diferentes em alimentos processados termicamente (SNFA, 2002). A partir disto, os Estados Unidos, Noruega, Suíça e Reino Unido deram início a pesquisas e, também, provaram a presença de acrilamida em vários alimentos (FDA, 2002; NFCA, 2002; SOPH, 2002; UK FSA, 2002).

Estes primeiros dados obtidos, inicialmente, foram agrupados e discutidos em um encontro da FAO/OMS sobre as implicações sanitárias da presença de acrilamida em alimentos. Em 240 amostras analisadas, foram encontrados níveis de acrilamida entre menos de 30 μg.kg⁻¹ até 3500 μg.kg⁻¹, dependendo do tipo do produto. Verificou-se, ainda, que estes níveis variaram dentro de uma mesma categoria de alimentos, indicando que o tipo de processamento poderia acometer no teor de acrilamida formada (FAO/WHO, 2002).

Enquanto muitos países reportaram ao JECFA os níveis de acrilamida em seus produtos de mercado, nenhum dado sobre a ocorrência, em países da África e América Latina, foi submetido. Para alimentos brasileiros, um estudo entre os anos de 2002 e 2006 foi realizado, por meio de 111 amostras analisadas, contemplando 19 categorias de alimentos. Os níveis encontrados foram entre valores ≤ 20 μg.kg⁻¹ e 2528 μg.kg⁻¹, dependendo do tipo de produto. Os resultados apontaram que os maiores níveis foram em produtos à base de batata (batata frita, *chips* e palhas), variando entre 144 e 2528 μg.kg⁻¹, além destes, outros alimentos que apresentaram altos valores foram café, bolacha água e sal, biscoito cream cracker e torrada (ARISSETO *et al.*, 2007).

A Tabela 1 mostra os níveis medianos e máximos de acrilamida determinada nas amostras:

Tabela 1: Níveis medianos e máximos determinado em amostras de determinados alimentos

Alimento	N (número de amostras)	Níveis de acrilamida (μg.kg ⁻¹)	
		Mediana	Máximo
Batata frita	7	264	2528
Batata chips	12	591	1999
Mandioca frita	3	<20	<20
arinha de mandioca	3	30	81
Pão de queijo	3	<20	<20
Cereal matinal	8	30	49
Polenta frita	3	<20	33
Biscoito salgado	7	116	361
Torrada	7	71	231
Farinha de rosca	3	<20	67
Pão francês	3	<20	<20
Pão integral	3	<20	<20
Café moído	3	174	202
Café solúvel	3	582	683
Cerveja	14	<20	<20

Fonte: Adaptado de ARISSETO, 2008.

4.4 ASPECTOS TOXICOLÓGICOS

4.4.1 Carcinogenicidade, genotoxicidade e neurotoxicidade

Foram realizados experimentos, de longa duração, para obter resultados para possíveis efeitos carcinogênicos em ratos Fischer (344) a partir da administração de doses de até 3 mg de acrilamida/kg peso corpóreo/dia na água, durante dois anos de estudo. Constatou-se um aumento significativo na incidência de vários tipos de tumores em ambos os sexos dos animais experimentais quando conferido com o grupo controle (JOHNSON *et al.*, 1986; FRIEDMAN *et al.*, 1995). Em outro estudo, foi ministrado de 0 a 60 mg.kg⁻¹ peso corporal de acrilamida na água, durante oito semanas o que resultou no aumento significativo do número de adenomas no pulmão (BULL *et al.*, 1984).

Estudos sobre toxicidade reprodutiva em roedores evidenciaram diminuição da fertilidade, efeitos letais dominantes e implicações adversas na morfologia e no número de esperma em machos, para doses de acrilamida maiores que 7 mg.kg⁻¹

peso corporal/dia. Em fêmeas, não se encontrou efeitos na fertilidade. Acrilamida mostrou-se não teratogênica em ratos ou camundongos (FAO/WHO, 2005).

Ainda que, estudos feitos em animais experimentais tenham apontado a acrilamida como carcinogênica e genotóxica, a neurotoxicidade é o único efeito constatado em estudos epidemiológicos abrangendo população humana exposta (LO PACHIN, 2005). No início da década de 80, publicaram-se os primeiros estudos epidemiológicos sobre a incidência de câncer em população humana em operários expostos à acrilamida, e demonstrou-se que não havia diferença entre operários com alta e baixa exposição à substância e, ainda, havia pouca evidência de casos de mortalidade pelo câncer (SOBEL *et al.*, 1986; COLLINS *et al.*, 1989; MARSH *et al.*, 1999).

Para riscos em relação à ingestão de acrilamida através dos alimentos, são fundadas apenas em casos-controle (MUCCI *et al.*, 2003; PELUCCHI *et al.*, 2004). O JECFA da FAO/OMS acredita ser um estudo limitado para contatar um aumento significativo no risco de câncer pelo consumo de acrilamida através da dieta, ou seja, por fonte alimentar (FAO/WHO, 2005).

4.5MÉTODOS ANALÍTICOS PARA DETERMINAÇÃO DE ACRILAMIDA EM ALIMENTOS

Avanços expressivos têm sido obtidos com relação ao desenvolvimento e confirmação de métodos analíticos para a determinação de acrilamida em alimentos. Atualmente, diversos métodos estão publicados (WENZL *et al.*, 2003; CASTLE; ERIKSSON, 2005; ZHANG *et al.*, 2005).

A maior parte das metodologias, para determinação de acrilamida em alimentos, envolvem técnicas cromatográficas em fase líquida e gasosa associada às diferentes técnicas de extração.

4.5.1 Preparo

Devido à grande solubilidade da substância em água, a extração da acrilamida, em meio aquoso, normalmente é suficiente (TATEO & BONONI, 2003; ROSEN, NYMAN, HELLENAS, 2007). O FDA relatou que se deve evitar o aquecimento durante a etapa de extração, pois poderia produzir uma grande

quantidade de partículas finas, que poderiam saturar as colunas de extração em fase sólida aplicadas nas etapas seguintes de limpeza (FDA, 2003). No entanto, Ahn e colaboradores (2002) fizeram uso de água a 80 °C durante a extração de acrilamida presente em pão, batata frita e chips, não relatando qualquer problema na limpeza do extrato.

Em amostras ricas em gordura, o uso de solventes orgânicos polares é mais eficaz para extração. Alguns métodos propõem o uso de uma mistura de acetona e água para extração (FAUHL *et al.*, 2002; TAKATSUKI *et al.*, 2003). Ainda, o metanol também tem sido utilizado, com taxas de recuperação variando de 68 % a 75,4 % (TATEO & BONONI, 2003). Outra possibilidade é a introdução de uma etapa de desengorduramento, acrescentando-se hexano, éter de petróleo ou ciclohexano, antes ou em combinação com a etapa de extração (WENZL *et al.*, 2003; ZHANG *et al.*, 2005). A Tabela 2 mostra a solubilidade da acrilamida em diferentes solventes.

Tabela 2: Solubilidade da acrilamida em diferentes solventes.

Solvente	Solubilidade	
Solvente	(g em 100 ml de solvente)	
Água (30 ºC)	215	
Metanol	155	
Etanol	86	
Acetona	63	
Acetato de etila 12,6		
Benzeno	0,35	
Heptano	0,0068	

Fonte: UWSF, 2002.

Os resultados de dois estudos interlaboratoriais administrados pelo Instituto Federal Alemão de Avaliação de Risco e pelo JRC demonstraram desempenho satisfatório dos métodos adotados na análise de acrilamida, para a maioria das matrizes avaliadas. No entanto, muitos laboratórios apresentaram problemas na determinação de acrilamida em alimentos à base de cacau e café, pois essas matrizes foram classificadas como complexas ou difíceis (KLAFFKE *et al.*, 2005). Um potencial inconveniente é a existência de interferentes co-extrativos, com tempos de retenção muito próximos ao da acrilamida (WENZL *et al.*, 2003).

Contudo, Delatour e colaboradores (2004) obtiveram resultados satisfatórios ao analisar acrilamida em cacau e café, incluindo uma etapa de desproteinização, durante a extração, realizada através da adição de soluções salinas Carrez I e Carrez II.

Nielsen e colaboradores (2006) utilizaram, para determinação de acrilamida, asparagina, glicose, sacarose e frutose em pães, a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência, acoplado a um espectrômetro de massa em tandem (HPLC/MS-MS). Os resultados mais satisfatórios foram em relação à acrilamida e seu principal precursor, a asparagina. As recuperações para acrilamida foram de 93 a 112%, e para asparagina de 97 a 101%, com limites de detecção de 13 mg.kg⁻¹ e 2 mg.kg⁻¹, respectivamente.

Outro estudo utilizando o mesmo método, descrito acima, foi realizado por Bermudo e colaboradores, em 2006, para determinação de acrilamida em churros, batata frita, biscoitos e pães. O método alcançou uma média de 85% de recuperação, limites de detecção de 250 pg.g⁻¹ para curva padrão e 45 ng.g⁻¹ para curva construída na presença de uma matriz de pão, com precisão de 3,3 a 8%, respectivamente.

Para a determinação em vários alimentos, Hoenicke e colaboradores (2004) utilizaram HPLC/MS-MS e CG/MS-MS. Para o primeiro método analisou-se até 60 amostras por dia em alimentos à base de batata, cereais, pão e café torrado. O segundo método permitiu a análise de amostras mais difíceis como cacau, café solúvel, malte e melaço. O limite de quantificação e detecção para HPLC/MS-MS foi de 30 μg.kg⁻¹ e 10 μg.kg⁻¹, respectivamente, e para CG/MS-MS foram de 5 μg.kg⁻¹ e 1,5 μg.kg⁻¹, respectivamente.

Liu e colaboradores (2014) realizaram a determinação de acrilamida em alimentos termicamente processados, utilizando a técnica de fluorescência. Para aplicação da técnica, a acrilamida foi degradada, através da reação de Hoffman, gerando a vinil amina e a leitura realizada em 480 nm. A faixa linear de determinação, para as concentrações de acrilamida foi de 0,05 até 20 μg.mL⁻¹, com coeficiente de correlação R² = 0,9935. O limite de detecção da acrilamida foi de 0,015 μg.mL⁻¹ e a porcentagem de recuperação para amostras de alimentos foi de 66,0 a 110,6%.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 ESTRATÉGIAS DE REDUÇÃO OU DIMINUIÇÃO

Os experimentos realizados em alimentos e sistemas modelo têm indicado um grande número de possíveis alternativas para a redução da formação de acrilamida. Algumas estratégias, para diminuir a concentração de seus precursores na matéria-prima, podem ser empregadas em diferentes estágios da cadeia produtiva como, por exemplo, através da seleção de cultivares de batatas com um menor conteúdo de açúcares redutores (BIEDERMANN, 2002; AMREIN *et al.*, 2003), do armazenamento de batatas a temperaturas acima de 8 °C, para evitar o aumento da concentração de açúcares redutores (NOTI, 2003; DE WILDE *et al.*, 2005), de técnicas simples como o branqueamento (KITA *et al.*, 2004; PEDRESCHI *et al.*, 2004; BRATHEN, KNUTSEN, 2005) e da utilização da enzima asparaginase, que remove seletivamente a asparagina antes do tratamento térmico (HENDRIKSEN, 2005).

Outras possíveis alternativas para a diminuição do teor de acrilamida formada em alimentos são os controles de tempo e temperatura de processamento (BIEDERMANN, 2002; TAUBERT et al., 2004), a diminuição do pH, através da imersão de batatas em soluções de ácido clorídrico, cítrico ou acético (RYDBERG et al., 2003; KITA et al., 2004; PEDRESCHI et al., 2004), o aumento do tempo de fermentação durante o processamento de pães (FREDRIKSSON et al., 2004), a alteração da composição do produto através da adição de aminoácidos e ingredientes proteicos (RYDBERG et al., 2003; VATTEM, SHETT, 2003), a adição de compostos antioxidantes como alecrim (BECALSKI et al., 2003) e flavonoides (FERNANDEZ, KURPPA, 2003) em batatas e a adição de bicarbonato de sódio na formulação de pães de gengibre (AMREIN et al., 2004).

No âmbito do CCFAC, foi recomendada, em sua 38ª reunião, a elaboração de um Código de Práticas para a redução de acrilamida em alimentos, visando à proteção do consumidor pela diminuição da ingestão de acrilamida através da dieta. Este Código apresenta os principais aspectos da produção comercial de alimentos, incluindo práticas agrícolas, estocagem, matérias-primas, processamento e preparação de alimentos, e métodos potenciais para a redução de acrilamida nas

áreas de agronomia, composição de produtos, condições de processamento e preparação final (CCFAC, 2006).

Ainda, para estratégias de redução, diversos pesquisadores determinaram grupos de alimentos, segundo seu produto base, por existir uma grande variedade que forma acrilamida. Desta forma, criaram-se três grupos principais: produtos à base de batata, de cereais e de café (ARVANITOYANNIS, DIONISOPOULOU, 2013). Confirmou-se que o precursor principal não é o mesmo para as diferentes classes alimentícias, sendo de real importância, para obter estratégias para cada uma (FOOD DRINK EUROPE, 2014).

5.1.1 Produtos à base de batata

O principal precursor, para esse grupo, é a asparagina. No entanto, são os açúcares redutores os responsáveis pela reação limitante, ou seja, se não houver açúcares redutores a acrilamida não é formada (WILDE *et al.*, 2006).

Neste caso, a escolha de variedades que possuem menores teores de açúcares redutores já é fundamental (FOOD DRINK EUROPE, 2014). Além disso, durante o processamento, pode-se utilizar algumas estratégias. Brathen e colaboradores (2005) fizeram a incorporação de aminoácidos como a glicina ou a glutamina, obtendo reduções na faixa de 30% (BRATHEN, KNUTSEN, 2005). Em contrapartida, Urbancic e colaboradores (2014), associaram o uso de extrato de alecrim ao óleo de fritar, obtendo redução da formação de acrilamida. Segundo Morales e colaboradores (2014), comprovaram ainda que tratamentos préprocessamento em batatas com extratos naturais de ácido ascórbico e chá verde propiciaram a diminuição do contaminante.

Sabe-se que o pH é um dos motivos do favorecimento à Reação de Maillard, portanto, torna-se positivo o uso de sais de cálcio, de vanádio, ácido cítrico ou acético, e até mesmo um pré-tratamento com cátions bivalentes, já que estes alteram o pH, diminuindo-o (FOOD DRINK EUROPE, 2014). Há pouco tempo, Koklamaz e colaboradores (2014), apontaram que o emprego de radiofrequência de aquecimento após a secagem reduzia a acrilamida formada.

5.1.2 Produtos à base de cereais

Semelhante ao grupo anterior, é considerável o uso de produtos com baixo teor de asparagina pra produtos à base de cereais (FOOD DRINK EUROPE, 2014). Há, ainda, a possibilidade do uso conjunto de duas farinhas, a de trigo e a de grão-de-bico, sendo que a segunda permite a redução da acrilamida, pelo efeito "protetor" da proteína da mesma (MISKIEWICZ *et al.*, 2012).

No momento da fabricação, Amrein e colaboradores (2004) trocaram o fermento por bicarbonato de sódio e analisaram, ainda, a adição de glicina, constatando que ambas estratégias diminuem o contaminante em estudo. Pode-se empregar, também, o uso de especiarias como alho, pimenta branca, anis, ervadoce, noz-moscada, baunilha, cardamomo, etc (AMREIN *et al.*, 2004; MARKOVÁ *et al.*, 2012).

A aplicação das folhas de bambu é outra opção, pois estas apresentam propriedades antioxidantes tais como ácidos ferúlico, *p-cumárico*, cafeico e clorogênico (NI *et al.*, 2014). Chen e colaboradores (2012) apuraram que os polifenóis de chá, também diminuem a acrilamida.

Um fator determinante para a Reação de Maillard é o tempo de fermentação, este proporciona que a asparagina e os açúcares redutores sejam eliminados, determinando-se assim que, quanto maior o tempo de fermentação, menor o teor de contaminante no produto final (FOOD DRINK EUROPE, 2014).

5.1.3 Produtos à base de café

Há poucas publicações a respeito de estratégias de mitigação da acrilamida para produtos à base de café. Contudo, acredita-se que grandes empresas estejam desenvolvendo amplos estudos para mudar esta realidade, pois trata-se de uma bebida altamente consumida no mundo e já relacionada à presença de acrilamida (ALVES, 2010).

O café pode ser elaborado industrialmente ou pelo consumidor, havendo, no entanto, poucas estratégias adotadas para ambos os casos. Alves e colaboradores (2010) verificaram que a diluição do café diminuiu a acrilamida (ALVES, 2010; FOOD DRINK EUROPE, 2014). Apesar disso, Banchero e colaboradores (2013) desenvolveram uma estratégia que constitui na remoção da acrilamida, por meio da

remoção supercrítica com CO₂, na fase do processamento do café, podendo ser aplicado apenas industrialmente (BANCHERO et al., 2013).

Em suma, existem várias estratégias para redução da acrilamida, assim como sua eliminação. O uso da enzima asparaginase, para inativação da asparagina é uma ótima opção, podendo ser empregada nos três grupos alimentícios, porém gera altos custos (ANESE *et al.*, 2011; PEDRESCHI *et al.*, 2011 FOOD DRINK EUROPE, 2014).

5.1.4 Mitigação baseada em processos

Os primeiros métodos de mitigação da acrilamida envolvia o controle das condições de processamento, como diminuir o pH, reduzir a temperatura e/ou tempo no processamento. Embora eficazes, esses tratamentos implicam na descaracterização das propriedades sensoriais dos alimentos (PALAZOGLU; GOKMEN, 2008).

Como a acrilamida se forma quando os alimentos são submetidos a temperaturas mais altas, a primeira opção, neste método, é a dimiuição da temperatura e tempo de aquecimento. Porém, a Reação de Maillard é responsável por acrescentar características sensoriais desejáveis, em alguns alimentos, portanto este método não deve ser utilizado (MASI *et al.*, 2013).

Para o pH, em um sistema modelo, quando em torno de oito, próximo ao valor de pKa da asparagina, o conteúdo de acrilamida no alimento terá atingido uma quantidade máxima, conduzido pelo desenvolvimento, nas fases iniciais da formação da substância (RYDBERG *et al.*, 2003). Vários autores diminuíram a formação da acrilamida reduzindo o pH, utilizando o ácido cítrico (GAMA-BAUMGARTNER *et al.*, 2004), embora tenha diminuído, também, a qualidade desses produtos (VINCI *et al.*, 2012).

5.1.5 Uso de aditivos

A utilização de aditivos, antes ou depois do aquecimento, pode diminuir os níveis de acrilamida final em um alimento (BRATHEN *et al.*, 2005).

A glicina compete com a asparagina, portanto, seu uso antes do processo de cocção fará com que a quantidade final de acrilamida seja menor (BRATHEN et al.,

2005). Pode ser utilizada, também, após a Reação de Maillard, reagindo diretamente com a acrilamida, diminuindo a quantidade final da mesma no produto (LIU *et al.*, 2013). Contudo, este método, também, tem efeitos negativos nas propriedades sensoriais do produto, visto que a glicina reage com a redução de açúcares, aumentando os níveis de alquipirazinas ativas, moléculas responsáveis pelo odor (LOW *et al.*, 2007).

A adição de cátions divalentes, também, demonstrou ser um meio eficaz de redução de acrilamida. A nixtamalização, processo de cozimento e maceração de grãos de milho, em solução alcalina de CaO, é muito utilizado para produção de tortilhas (SALAZAR *et al.*, 2014). A imersão de batatas, em solução de cloreto de cálcio, reduziu acrilamida, após fritura, em 95 %, sem nenhum problema relatado na qualidade do produto, provavelmente, pela inibição da formação da base de Schiff (GOKMEN, SENYUVA, 2007).

Cátions monovalentes, em baixa concentração, também são capazes de causar um efeito de mitigação. A adição de 1-2% de cloreto de sódio conduziu a redução considerável em uma mistura de pão assada em rolos. Maiores concentrações inibiram o crescimento de leveduras, o que resultou no aumento da formação da acrilamida (CLAUS et al., 2008). Um pré-tratamento por imersão em cloreto de sódio (2%) por sessenta minutos, em temperatura ambiente resultou em uma redução de 78% da acrilamida em discos de batata frita (SANSANO et al., 2015).

A utilização de antioxidantes para inibir a formação da acrilamida também foi descrita por alguns autores. No entanto, os efeitos foram diferentes para cada tipo de antioxidante estudado (JIN et al., 2013). O uso de alecrim adicionado ao milho ou ao azeite pode ter efeito redutor na quantidade de acrilamida em fatias de batata frita (BECALSKI et al., 2003), em contrapartida, outros antioxidantes como o BHT, sesamol e vitamina E, tiveram um melhor efeito na formação da acrilamida em carnes cozidas. A redução ou estímulo desses efeitos podem ser atribuídos às diferentes condições de reação, dosagem de antioxidantes e vias de reação (TAREKE, 2003).

5.1.6 Uso de reações enzimáticas

Os processos de fermentação utilizam microrganismos específicos para consumir a asparagina ou os açúcares redutores antes do processamento do alimento (SADD *et al.*, 2008). Um meio inicial, composto por bactérias láticas no preparo de pão de centeio integral, teve níveis de acrilamida, significativamente, diminuídos no produto final (BARTKIENE *et al.*, 2013a). Ainda, as bactérias do ácido lático reduziram os números de açúcares redutores na massa.

Contudo, há muitos pontos que devem ser considerados em uma abordagem fermentativa. O pH e a temperatura devem ser controlados para maximizar a atividade do microrganismo. Ainda, que o açúcar redutor consumido tenha sido adicionado novamente, após o processamento, a qualidade sensorial do produto final, ainda pode ser influenciada pela etapa de fermentação (BARTKIENE et al., 2013b). A fermentação é aplicada apenas em produtos de padaria, portanto, tem aplicação limitada em produtos à base de batata e café (KAMKAR et al., 2015).

O uso de tratamento enzimático para modificar vias de reação foi proposto pela primeira vez, por Amrein e colaboradores em 2004, que fizeram uso da asparaginase para hidrolisar a asparagina transformando-a em ácido aspártico e amônia (CIESAROVÁ *et al.*, 2006). Essa alternativa foi apontada como eficaz, pois a asparagina não contribui para dar cor e sabor à alimentos cozidos, devido à suas características sensoriais serem mantidas (PARKER *et al.*, 2012).

5.1.7 Uso da asparaginase

O primeiro estudo foi realizado por Zyzak e colaboradores em 2003, logo após o mecanismo de formação foi revelado. Porém, o foco da pesquisa de Zyzak era no mecanismo de formação e não na eficiência da mitigação. Neste estudo, utilizou-se 50 U de asparaginase comercial da Aldrich®, adicionados à 60g de pasta de purê de batata (15g de batata, 45g de água), para hidrolisar a asparagina, com intuito de verificar se a asparagina de fato era precursora da acrilamida. A asparaginase, alcançou uma redução da asparagina, de 88%, levando uma redução de acrilamida em 99%, em um lanche com purê de batata levado ao microondas, aquecido em potência máxima até ficar marrom.

No ano seguinte, um artigo sobre o uso da asparaginase como método de mitigação da acrilamida foi publicado. Adicionou-se asparaginase (de E. coli, 4 U.kg⁻¹) ao pão de gengibre hidrolisado (aproximadamente 75% da asparagina livre), levando 55% de redução da acrilamida no produto final (AMREIN *et al.*, 2004).

Pedreschi e colaboradores (2008) foram os primeiros a publicar resultados utilizando a asparaginase comercial Acrylaway[®]. Foi estabelecido que a temperatura ideal para esta enzima era de 60 °C e pH 7,0. Constatou-se uma redução de 67% na acrilamida em batatas fritas, nessas condições. Provou-se, a importância do branqueamento, do controle da temperatura e do pH no tratamento com asparaginase. Sabe-se que o branqueamento muda a microestrutura das tiras de batata aumentando a possibilidade de contato da asparaginase e asparagina, assim sendo, o branqueamento é muito indicado por aumentar o desempenho da enzima (LISINSKA, *et al.*, 2007).

Outro estudo, do mesmo grupo, ressaltou o uso da asparaginase Acrylaway® junto com o branqueamento convencional. Amostras de tubérculos de batata, branqueados por três minutos e meio, com água a 85 °C, foram comparadas à mitigação, utilizando uma solução de asparaginase (10000 ASNU.L-1) a 50 °C por 20 minutos. ASNU é a quantidade de asparaginase que produz um micromol de amônia por minuto nas condições normais de pH=7,0 e temperatura de 37 ± 0,50 °C (FAO, 2007; PEDRESCHI *et al.*, 2011).

Resultados experimentais apontaram que os tratamentos de branqueamento e enzimas tiveram um efeito semelhante, 17% sobre a redução da acrilamida. Combinando os dois métodos, quase 90% da acrilamida foram mitigados. Os autores admitiram ainda, que a microestrutura dos tecidos da batata foi alterada no processo de branqueamento, o que provocou uma interação mais eficaz pela asparagina da célula com a enzima fora dela (PEDRESCHI *et al.*, 2011).

Em 2009, outro estudo envolvendo a Acrylaway® foi realizado. Neste caso, incluindo uma variedade maior de alimentos, como pão de gengibre, pão estaladiço, biscoitos semidoces, batatas fritas e batatas chips (HENDRIKSEN *et al.*, 2009). As condições iniciais de temperatura e pH foram 60 °C e 7,0, respectivamente. Foram levados em consideração outros fatores, de acordo com a matriz alimentar. Para os biscoitos semidoces a temperatura foi ajustada para 40 °C, com dosagens variadas.

O tratamento com asparaginase foi realizado antes de assar, no tempo de descanso da massa. A temperatura utilizada neste processo de cozimento foi de 260 °C por cinco minutos e meio. Para o pão estaladiço, a temperatura foi mantida em 10, 15 ou 20 °C por trinta ou sessenta minutos, para uma dosagem de 2100 ASNU.kg-1 de farinha. Posteriormente, o pão foi assado a 250 °C durante onze minutos. Para alimentos à base de cereais, além da dosagem e temperatura, o teor de água, também deve ser levado em consideração, visto que a atividade de água mais alta fornecerá contato suficiente da enzima com o substrato. Para não comprometer as características sensoriais do produto, recomenda-se uma secagem adicional, posteriormente (KUKUROVÁ *et al.*, 2009).

Para os produtos à base de batata, a redução foi alcançada, tanto para as batatas fritas quanto os *chips*. Batatas cortadas para batatas fritas foram tratadas com 10500 ASNU.L⁻¹ e, depois, fritos por três minutos e meio à 175 °C. Já as batatas fatiadas, utilizadas para batatas chips foram tratadas com varias conncentrações de enzima de quinze a quarenta minutos, então fritas a 180 °C por dois minutos e meio. No primeiro experimento, os autores prepararam um conjunto de amostras com imersão de um minuto, e, em seguida, uma imersão de vinte minutos, no mesmo banho enzimático. Na imersão de um minuto, foi observada uma redução no teor de acrilamida de 59%, entretanto nas amostras que ficaram imersas por vinte minutos a redução se apresentou maior, 85%. Os resultados apresentaram uma ampla gama de aplicações enzimáticas. A sugestão dos autores é que, quando combinadas as condições de processamento modificadas com uma abordagem enzimática, a acrilamida pode ser mitigada a um baixo custo. Nessa pesquisa, os autores tentaram avaliar todas as variáveis e gerar soluções para cada tipo de produto, utilizando um enorme conjunto de dados.

Kukurová e colaboradores (2009) também utilizaram Acrilaway[®] em dois níveis, 100 U.kg⁻¹ E 500 U.kg⁻¹ de farinha, na preparação de pães fritos. O tratamento com asparaginase à 37 °C por quinze minutos, removeu no mínimo 96% da acrilamida. A acrilamida não pode ser quantificada nos rolos adicionados de Acrilaway[®] e fritos, enquanto níveis de 215 μg.kg⁻¹ estavam presentes nos rolos controle fritos à 200 °C por oito minutos (HENDRIKSEN *et al.*, 2009).

O mesmo grupo estudou, também, a formação de acrilamida em biscoitos tratados com Acrilaway[®] (500 215 U.kg⁻¹ de farinha) e diferentes agentes levantadores (MARKOVÁ *et al.*, 2012). Estes aumentaram o pH da massa, reduzindo a eficácia da asparaginase no processo de redução de asparagina. Quando aplicados, por menos de trinta minutos, a asparagina não modificou as características sensoriais dos biscoitos.

Hendriksen e colaboradores (2013) estudaram o uso de Acrylaway[®] em produtos à base de batata, cerais e, ainda, realizaram os primeiros experimentos sobre o uso e efeitos de asparaginase no café. Em produtos à base de cereais, a eficiência de mitigação alcançou 95% em biscoitos de natal Lebkuchen[®] e 90% em tortilhas. No café foi alcançada uma redução de 70-80%. Dois pontos inovadores se destacam nesse estudo. O primeiro é que a asparaginase é adicionada ao SAPP, e não, separadamente. SAPP é popularmente usado em batatas para evitar escurecimento pós-cozimento.

A associação dos dois tratamentos pode reduzir tempo e custo. O segundo ponto trata-se de um teste realizado, em escala industrial, avaliando a eficiência de mitigação da asparaginase no processamento contínuo. Reduções em produtos de batata foram comparativamente baixas, pois o contato de asparagina e enzima foram insuficientes. Contudo, o experimento em escala industrial (8 ton/h) obteve resultados satisfatórios; uma redução de 43% em pedaços de batata de tamanho 10 mm x 10 mm, e 53% em pedaços de 7 mm x 7mm.

Para o café, uma maior redução da acrilamida poderia ser alcançada incubando os grãos verdes umedecidos. Usualmente, os grãos verdes são cozidos no vapor para diminuir o teor de cafeína. O processo de descafeinação é, geralmente, realizado pela água ou um sistema dividido de solventes. Primeiro, os grãos são cozidos no vapor para liberar a cafeína, e depois é extraída por meio de solventes. Finalmente, os grãos passam por vapor novamente, removendo qualquer resíduo de solvente (SPILLER, 1997). Logo, a asparaginase pode ser introduzida durante as etapas de descafeinação, com pequenas mudanças nas condições de processamento.

Um teste, em escala laboratorial, aprovou que uma dose baixa de asparaginase 2000 – 6000 ASNU poderia atingir uma redução de 55-74% na

acrilamida em grãos verdes de café (HENDRIKSEN *et al.*, 2013). Enquanto, em outros testes mostraram que tanto a etapa de vapor quanto o tratamento com asparaginase, causaram uma redução de asparagina livre quando o café foi torrado, provocando na acrilamida perdas de 69-86% usando dosagens de 2600-20000 ASNU, respectivamente (XU *et al.*, 2015).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por ser formada em alimentos que passam por processamento térmico, a acrilamida é uma substância que trouxe muitas discussões acerca, principalmente, sobre o processo de formação endógena, seu potencial mutagênico, e ainda seus efeitos neurotóxicos.

Levando em consideração os mecanismos de formação da acrilamida em alimentos, concluiu-se que os métodos utilizados para mitigação ou diminuição analisados são eficazes, sendo que alguns não são indicados por modificar as características sensoriais do produto. Deve ser levado em consideração, portanto, o precursor da acrilamida para cada classe de alimento aplicando o melhor tratamento para tal.

Há poucas publicações a respeito da mitigação da acrilamida em produtos à base de café, porém a diluição da bebida mostrou ser eficiente na redução da substância, entretanto, industrialmente a remoção crítica por CO₂ mostrou-se eficiente na fase do processamento do café. Em produtos à base de batata e cereais, onde o precursor é a asparagina, o uso de glicina apresentou uma redução de 30%, além de tratamentos pré-processamento que demonstrou resultados positivos. A imersão em solução de cloreto diminuiu 95% da substância em batatas após fritura. Para produtos de panificação o uso conjunto de farinha de grão-de-bico e farinha de trigo, assim como aumentar o tempo de fermentação diminuíram a acrilamida, porém alteraram as características sensoriais.

O uso da enzima asparaginase mostrou-se ser o melhor método para redução da substância, apesar de que os potenciais efeitos adversos nas propriedades sensoriais dos alimentos cozidos e a necessidade de atingir o contato enzima-substrato são áreas para futuras pesquisas.

REFERÊNCIAS

AHN, J. S., CASTLE, L., CLARKE, A. S., LLOYD, M. R., SPECK, D. R. Verification of the findings of acrylamide in heated foods. **Food Additives and Contaminants**, Oxon, v.19, p.1116-1124, 2002.

ALVES, R. C. Acrylamide in espresso coffee: Influence of species, roast degree and brew length. **Food Chemistry**, v. 119, p. 929–934, 2010.

AMREIN, T. M., SCHÖNBÄCHLER, B., ESCHER, F., AMADÒ, R. Acrylamide in gingerbread: Critical factors for formation and possible ways for reduction. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 4282–4288, 2004.

AMREIN, T., BACHMANN, S., NOTI, A., BIEDERMANN, M., BARBOSA, M. F., BIEDERMANN-BREM, S., GROB, K., KEISER, A., REALINI, P., ESCHER, F., AMADÓ, R. Potential of acrylamide formation, sugars, and free asparagine in potatoes: a comparison of cultivars and farming systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 51, p. 5556-5560, 2003.

ANESE, M., QUARTA, B., FRIAS, J. Modelling the effect of asparaginase in reducing acrylamide formation in biscuits. **Food Chemistry**, v. 126, p. 435–440, 2011.

ARISSETO, A. P. Estimativa preliminar da ingestão de acrilamida no Brasil. **Revista Brasileira de Toxicologia**, 21, n. 1. 2008.

ARISSETO, A. P., TOLEDO, M. C. F., GOVAERT, Y., VAN LOCO, J., FRASELLE, S., WEVERBERGH, E., DEGROODT, J. M. Determination of acrylamide levels in selected foods in Brazil. **Food Additives and Contaminants**, Oxon, v.24, p.236-241, 2007.

ARVANITOYANNIS, I. S., DIONISOPOULOU, N. Acrylamide: Formation, Occurrence in Food Products, Detection Methods, and Legislation. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**., v. 54, p. 708–733, 2013.

BANCHERO, M., PELLEGRINO, G., MANNA, L. Supercritical fluid extraction as a potential mitigation strategy for the reduction of acrylamide level in coffee. **Journal of Food Engineering**, 115, p. 292–297. 2013.

BARTKIENE, E., JAKOBSONE, I., JUODEIKIENE, G., VIDMANTIENE, D., PUGAJEVA, I., BARTKEVICS, V. Effect of lactic acid fermentation of lupine wholemeal on acrylamide content and quality characteristics of wheat-lupine bread. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, p. 890–896. 2013a.

BARTKIENE, E., JAKOBSONE, I., JUODEIKIENE, G., VIDMANTIENE, D., PUGAJEVA, I., BARTKEVICS, V. Study on the reduction of acrylamide in mixed rye bread by fermentation with bacteriocin-like inhibitory substances producing lactic acid bacteria in combination with Aspergillus niger glucoamylase. **Food Control**, p. 35–40. 2013b.

BECALSKI, A., LAU, B. P. Y., LEWIS, D., SEAMAN, S. W. Acrylamide in foods: Occurrence, sources, and modeling. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 602–808. 2003.

BERGMARK, E., CALLEMAN, C. J., HE, F., & COSTA, L. G. Determination of hemoglobin adducts in humans occupationally exposed to acrylamide. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 120, p. 45–54. 1993.

BERMUDO E., MOYANO E., PUIGNOU L,. GALCERAN M. T. Determination of acrylamide in foodstuffs by liquid chromatography ion-trap tandem mass-spectrometry using an improved clean-up procedure. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 559, p. 207-214. 2006.

BIEDERMANN, M. Methods for determining the potential of acrylamide formation and its elimination in raw materials for food preparation, such potatoes. **Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchung und Hygiene**, Zurich, v. 93, p. 653-667, 2002.

BRATHEN, E. KITA A., KNUTSEN, S. H., WICKLUND, T. Addition of glycine reduces the content of acrylamide in cereal and potato products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 53, p. 3259-3264, 2005.

BRATHEN, E., KNUTSEN, S. H. Effect of temperature and time on the formation of acrylamide in starch-based and cereal model systems, flat breads and bread. **Food Chemistry**, p. 693–700. 2005.

BULL, R. J., ROBINSON, M., LAURIE, R. D., STONER, G. D., GREISIGER, E., MEIER, J. R., STOBER, J. Carcinogenic effects of acrylamide in SENCAR and A/J mice. **Cancer Research**, Philadelphia, v.44, p.107-111, 1984.

CASTLE L, ERIKSSON S. Analytical methods used to measure acrylamide concentrations in foods. **Journal of the AOAC International**. 2005.

CCFAC (Codex Committee on Food Additives and Contaminants). Proposal for a new work on a Code of Practice for the reduction of acrylamide in food. **Report of the 38th Session of the Codex Committee on Food Additives and Contaminants**, The Hague, The Netherlands, 2006.

CHEN Y., ZHANG Y., LU B., JIN C., WU X.. Study on Mitigation of Acrylamide Formation in Cookies by 5 Antioxidants. **Journal Food Science**, v. 77, 2012.

CIESAROVÁ, Z., KISS, E., BOEGL, P. Impact of L-asparaginase on acrylamide content in potato products. **Journal of Food and Nutrition Research**, p. 141–146. 2006.

CLAUS, A., MONGILI, M., WEISZ, G., SCHIEBER, A., CARLE, R. Impact of formulation and technological factors on the acrylamide content of wheat bread and bread rolls. **Journal of Cereal Science**, p. 546–554. 2008.

COLLINS, J. J., SWAEN, G. M. H., MARSH, G. M., UTIDJIAN, H. M. D., CAPOROSSI, J. C., LUCAS, J. J. Mortality patterns among workers exposed to acrylamide. **Journal of Occupational and Environmental Medicine**, Philadelphia, v.31, p.614-617, 1989.

CURTIS, T. Y., POWERS, S. J., BALAGIANNIS, D., ELMORE, J. S., MOTTRAM, D. S., PARRY, M. A. J., HALFORD, N. G. Free amino acids and sugars in rye grain: Implications for acrylamide formation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 1959–1969. 2010.

DE WILDE, T. DE MEULENAER, B., MESTDAGH, F., GOVAERT, Y., VANDEBURIE, S., OOGHE, W., FRASELLE, F., DEMEULEMEESTER, K., VAN PETEGHEM, C., CALUS, A., DEGROODT, J. M., VERHÉ R. Influence of storage

practices on acrylamide formation during potato frying. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.53, p. 6550-6557, 2005.

DELATOUR, T., PÉRISSET, A., GOLDMANN, T., RIEDIKER, S. AND STADLER, R. H. Improved sample preparation to determine acrylamide in difficult matrixes such as chocolate powder, cocoa, and coffee by liquid chromatography tandem mass spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.52, p.4625-4631, 2004.

ELMORE, J. S., BRIDDON, A., DODSON, A. T., MUTTUCUMARU, N., HALFORD, N. G., & MOTTRAM, D. S. Acrylamide in potato crisps prepared from 20 UK-grown varieties: Effects of variety and tuber storage time. **Food Chemistry**, v. 182, p.1–8. 2015.

ELMORE, J. S., MOTTRAM, D. S., MUTTUCUMARU, N., DODSON, A. T., PARRY, M. A. J., & HALFORD, N. G. Changes in free amino acids and sugars in potatoes due to sulfate fertilization and the effect on acrylamide formation. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, p. 5363–5366. 2007.

FAO (Food and Agriculture Organization). **Asparaginase from** *Aspergillus oryzae* **expressed in** *A. oryzae*. FAO JECFA Monographs 4. 2007.

FAO/WHO (Food and Agriculture Organization/World Health Organization). Health implications of acrylamide in food. **Report of a Joint FAO/WHO Consultation**. Geneva, Switzerland, 2002. p. 1-39. Disponível em: http://www.who.int/fsf/acrylamide/SummaryReportFinal.pdf>. Acesso em: 13 abr. 2019.

FAO/WHO (Food and Agriculture Organization/World Health Organization). Acrylamide. **Summary and conclusions of the sixty-fourth meeting**, Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), **Rome**, 2005. p.7-17. Disponível em: <ftp://ftp.fao.org/es/esn/jecfa/jecfa64_summary.pdf>. Acesso em: 13 abr. 2019.

FAUHL, C., KLAFFKE, H., MATHAR, W., PALVINSKAS, R., WITTKOWSKI, R. Acrylamide interlaboratory study. 2002. Disponível em:

http://www.bfr.bund.de/cm/245/proficiency_testing_studie.pdf>. Acesso em: 24 out. 2019.

FDA (Food and Drug Administration). Exploratory data on acrylamide in food, 2002. Disponível em: http://www.cfsan.fda.gov/~dms/acrydata.html. Acesso em: 10 abr. 2019.

FDA (Food and Drug Administration). Meeting Acrylamide. Food Advisory Committee. 2003. Disponível em: http://www.cfsan.fda.gov/. Acesso em: 10 abr. 2019.

FERNANDEZ, S., KURPPA, L. Content of acrylamide decreased in potato chips with addition of a proprietary flavonoid spice mix (Flavomare) in frying. **Innovations in Food Technology**, 2003. Disponível em: http://www.innovfoodtech.com. Acesso em: 24 jun. 2019.

FOOD DRINK EUROPE. Acrylamide Toolbox. 2014. Disponível em: https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/cs_contaminants_catalogue_a crylamide_toolbox__201401_en.pdf>. Acesso em: 06 set. 2019.

FREDRIKSSON H., TALLVING J., ROSÉN J., ÅMAN P. Fermentation reduces free asparagine in dough and acrylamide content in bread. **Cereal Chemistry**, . 81, p. 650–653, 2004.

FRIEDMAN, M. A., DULAK, L. H., STEDHAM, M. A. A lifetime oncogenicity study in rats with acrylamide. **Fundamental and Applied Toxicology**, San Diego, v.27, p.95-105, 1995.

GAMA-BAUMGARTNER, F., GROB, K., BIEDERMANN, M. Citric acid to reduce acrylamide formation in French fries and roasted potatoes. **Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchung und Hygiene**, p. 110–117. 2004.

GIL, A. C. Como elaborar projetos de pesquisa. 4. edição - São Paulo: Atlas. 2002.

GOKMEN, V. Acrylamide in food: Analysis, content and potential health effects (1st ed.). New York: Academic press. 2015.

GOKMEN, V., SENYUVA, H. Z. Acrylamide formation is prevented by divalent cations during the Maillard reaction. **Food Chemistry**, v. 103, p. 196–203. 2007.

GRAF,M., AMREIN, T. M., GRAF, S., SZALAY, R., ESCHER, F., & AMADÓ, R. Reducing the acrylamide content of a semi-finished biscuit on industrial scale. LWT - **Food Science and Technology**, v. 39, p. 724–728. 2006.

GUERRA-HERNÁNDEZ, E., CORZO, N., & GARCIA-VILLANOVA, B. Maillard reaction evaluation by furosine determination during infant cereal processing. **Journal of Cereal Science**, v. 29, p. 171–176. 1999.

HALFORD, N. G., CURTIS, T. Y., MUTTUCUMARU, N., POSTLES, J., ELMORE, J. S., & MOTTRAM, D. S. The acrylamide problem: A plant and agronomic science issue. **Journal of Experimental Botany**, v. 63, p. 2841–2851. 2012.

HENDRIKSEN, H. V. Asparaginase-mediated reduction of acrylamide formation in baked, fried and roasted products. **Journal of Biotechnology**, Amsterdam, v. 118, p. 135, 2005.

HENDRIKSEN, H. V., BUDOLFSEN, G., BAUMANN, M. J. Asparaginase for acrylamide mitigation in food. **Aspects of Applied Biology**, v. 116, p. 41–50. 2013.

HENDRIKSEN, H. V., KORNBRUST, B. A., OSTERGAARD, P. R., STRINGER, M. A. Evaluating the potential for enzymatic acrylamide mitigation in a range of food products using an asparaginase from Aspergillus oryzae. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 4168–4176. 2009.

HOENICKE K., GATERMANN R., HARDER W., HARTIG W. Analysis of acrylamide in different foodstuffs using liquid chromatography-tandem mass spectrometry and gas chromatography-tandem mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 520, p. 207-215. 2004.

IARC (International Agency for Research on Cancer). Acrylamide. IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks of chemicals to humans, v. 60, 1994. Disponível em:

http://www.cie.iarc.fr/htdocs/monographs/vol60/m6011.htm. Acesso em: 16 abr. 2019.

JIN, C., WU, X., ZHANG, Y. Relationship between antioxidants and acrylamide formation: A review. **Food Research International**, v. 51, p. 611–620. 2013.

JOHNSON, K. A., GORZINSKI, S. J., BODNER, K. M., CAMPBELL, R. A., WOLF, C. H., FRIEDMAN, M. A., MAST, R. W. Chronic toxicity and oncogenicity study on acrylamide incorporated in the drinking water of Fischer 344 rats. **Toxicology and Applied Pharmacology**, San Diego, v.85, p.154-168, 1986.

KAMKAR, A., QAJARBEYGI, P., JANNAT, B., BABAEI, A. H. H., MISAGHI, A., & AGHAEE, E. M. The inhibitory role of autolysed yeast of Saccharomyces cerevisiae, vitamins B-3 and B-6 on acrylamide formation in potato chips. **Toxin Reviews**, v. 34, p. 1–5. 2015.

KERAMAT, J., LE BAIL, A., PROST, C., & JAFARI, M. Acrylamide in baking products: A review article. **Food and Bioprocess Technology**, v. 4, p. 530–543. 2011.

KITA, A., BRÅTHEN, E., KNUTSEN, S. H., WICKLUND, T. Effective ways of decreasing acrylamide content in potato crisps during processing. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 52, p. 7011-7016, 2004.

KLAFFKE, H., FAUHL, C., MATHAR, W., PALAVINSKAS, R, WITTKOWSKI, R., WENZL, T., ANKLAM, E. Results from two interlaboratory comparison tests organized in Germany and at the EU level for analysis of acrylamide in food. **Journal of the AOAC International**, Gaithersburg, v.88, 2005.

KOKLAMAZ, E., PALAZOĞLU, T. K., KOCADAĞLI, T., GÖKMEN, V. Effect of combining conventional frying with radio-frequency post-drying on acrylamide level and quality attributes of potato chips. **Journal Science and Food Agricultural**, v. 94, p. 2002–2008, 2014.

KUKUROVÁ, K., MORALES, F. J., BEDNÁRIKOVÁ, A., CIESAROVÁ, Z. Effect of Lasparaginase on acrylamide mitigation in a fried-dough pastry model. Molecular **Nutrition & Food Research**, v. 53, p. 1532–1539. 2009.

LINGNERT H., GRIVAS S., JÄGERSTAD M., SKOG K., TÖRNQVIST M., ÅMAN P. Acrylamide in food: mechanisms of formation and influencing factors during heating of foods. **Scandinavian Journal of Nutrition**, v. 46, p. 159–172, 2014.

LISINSKA, G., TAJNER-CZOPEK, A., KALUM, L. The effects of enzymes on fat content and texture of French fries. **Food Chemistry**, v. 102, p. 1055–1060. 2007.

LIU Y., WANG P., CHEN F., YUAN Y., ZHU Y., YAN H., HU X. Role of plant polyphenols in acrylamide formation and elimination. **Food Chemical**, vol. 186, p. 46–53, 2015.

LIU, C., LUO F., CHEN D., QUI B., TANG X., KE H., CHEN X. Fluorescence determination of acrylamide in heat-processed foods. **Talanta, London**, v. 123, p. 95-100. 2014.

LIU, J., MAN, Y., ZHU, Y., HU, X., CHEN, F. Simultaneous analysis of acrylamide and its key precursors, intermediates, and products in model systems by liquid chromatography-triple quadrupole mass spectrometry. **Analytical Chemistry**, v. 85, p. 9262–9271. 2013.

LO PACHIN, R. M. Acrylamide neurotoxicity: neurological, morphological and molecular endpoints in animal models. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v.561, p.21-37, 2005.

LOW, M. Y., PARKER, J. K., MOTTRAM, D. S. Mechanisms of alkylpyrazine formation in a potato model system containing added glycine. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 4087–4094. 2007.

MARKOVÁ, L., CIESAROVÁ, Z., KUKUROVÁ, K., ZIELIŃSKI, H., PRZYGODZKA, M., BEDNÁRIKOVÁ, A., ŠIMKO, P. Influence of various spices on acrylamide content in buckwheat ginger cakes. **Chemical Papers**, v. 66, p. 949–954, 2012.

MARSH, G. M., LUCAS, J. J., YOUK, A. O., SCHALL, L. C. Mortality patterns among workers exposed to acrylamide: 1994 follow up. **Occupational and Environmental Medicine**, London, v.56, p.181-190, 1999.

MASI, C., DINNELLA, C., BARNABA, M., NAVARINI, L., MONTELEONE, E. Sensory properties of under-roasted coffee beverages. **Journal of Food Science**, v. 78(8), p. 1290–S1300. 2013.

MESTDAGH, F., De WILDE, T., FRASELLE, S., GOVAERT, Y., OOGHE, W., DEGROODT, J. -M., & De MEULENAER, B. Optimization of the blanching process to reduce acrylamide in fried potatoes. **Food Science and Technology**, v. 41, p. 1648–1654. 2008.

MISKIEWICZ, K., NEBESNY, E., ORACZ, J. Formation of Acrylamide During Baking of Shortcrust Cookies Derived from Various Flours. **Czech Journal of Food Sciences**, v. 30, p. 53–66, 2012.

MOJSKA, H., GIELECIŃSKA, I., & STOŚ, K. Determination of acrylamide level in commercial baby foods and an assessment of infant dietary exposure. **Food and Chemical Toxicology**, v. 50, p. 2722–2728. 2012.

MORALES, G., JIMENEZ M., GARCIA, O., MENDOZA, M. R., BERISTAIN, C. I. Effect of natural extracts on the formation of acrylamide in fried potatoes. **Food Science and Technology**, v. 58, p. 587–593, 2014.

MOTTRAM, D. S., WEDZICHA, B. L., DODSON, A. T. Acrylamide is formed in the Maillard reaction. **Nature**, London, v.419, p.448-449, 2002.

MUCCI, L. A., DICKMAN, P. W., STEINECK, G., ADAMI, H. -O., AUGUSTSSON, K. Dietary acrylamide and cancer of the large bowel, kidney, and bladder: absence of an association in a population-based study in Sweden. **British Journal of Cancer**, London, v.88, p.84-89, 2003.

MUTTUCUMARU, N., HALFORD, N. G., ELMORE, J. S., DODSON, A. T., PARRY, M., SHEWRY, P. R., & MOTTRAM, D. S. Formation of high levels of acrylamide

during the processing of flour derived from sulfate-deprived wheat. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, p. 8951–8955. 2006.

MUTTUCUMARU, N., POWERS, S. J., ELMORE, J. S., MOTTRAM, D. S., & HALFORD, N. G. Effects of nitrogen and sulfur fertilization on free amino acids, sugars, and acrylamide-forming potential in potato. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, p. 6734–6742. 2013.

NFCA. Risk Assessment of Acrylamide Intake from Foods with Special Emphasis on Cancer Risk. Report from the Scientific Committee of the Norwegian Food Control Autority, Oslo, 2002. Disponível em: http://www.snt.no. Acesso em: 13 out. 2019.

NI, Q., ZHANG, Y., XU, G., GAO, Q., GONG, L. Influence of harvest season and drying method on the antioxidant activity and active compounds of two bamboo grass leaves. **Journal Food Process**. v. 38, p. 1565–1576, 2014.

NIELSEN, N.J., GRANBY K., HEDEGAARD R. S., SKIBSTED, L.H. A liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for simultaneous analysis of acrylamide and the precursors, asparagine and reducing sugars in bread. **Analytica Chimica Acta**. 2006. v. 557, p. 211-220. 2006.

NOTI, A. Storage of potatoes at low temperatures should be avoided to prevent increased acrylamide formation during frying or roasting. **Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchung und Hygiene**, Zurich, v. 94, p. 167-180, 2003.

OHARA-TAKADA, A., MATSUURA-ENDO, C., CHUDA, Y., ONO, H., YADA, H., YOSHIDA, M., MORI, M. Change in content of sugars and free amino acids in potato tubers under short-term storage at low temperature and the effect on acrylamide level after frying. **Bioscience, Biotechnology and Biochemistry**, p. 1232–1238. 2005.

OU, S., LIN, Q., ZHANG, Y., HUANG, C., SUN, X., & FU, L. Reduction of acrylamide formation by selected agents in fried potato crisps on industrial scale. Innovative **Food Science & Emerging Technologies**, v.9, p.116–121. 2008.

PALAZOGLU, T. K., GOKMEN, V. Reduction of acrylamide level in French fries by employing a temperature program during frying. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.56, p.6162–6166. 2008.

PAPADOPOULOS, I., SIOEN, F., CUBADDA, H., OZER, H. I., OKTAY BASEGMEZ, A., TURRINI, M. T., LOPEZ ESTEBAN, P. M., FERNANDEZ SAN JUAN, D. SOKOLIĆ-MIHALAK, M. JURKOVIC, S. DE HENAUW, F. AURELI, K. VIN, AND V. SIROT. TDS exposure project: Application of the analytic hierarchy process for the prioritization of substances to be analyzed in a total diet study. **Food and Chemical Toxicology**, v. 76, p. 46–53, 2015.

PARIZA M. W., COUGHLIN J., DAVIES C., SCIENCES F., KETTLITZ B., ROBIN L. P., NUTRITION A., FOOD U. S., SCHMIDT D., COUNCIL F. I., SCIMECA J., STADLER R., TECHNOL N. P., ZETTERBERG L. A., ZETTERBERG A., ADMINIS N. F., KIM H., D. Acrylamide in Food. **Science**, p. 80. 2006.

PARKER, J. K., BALAGIANNIS, D. P., HIGLEY, J., SMITH, G., WEDZICHA, B. L., MOTTRAM, D. S. Kinetic model for the formation of acrylamide during the finish-frying of commercial French fries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.60, p.9321–9331. 2012.

PEDRESCHI, F., KAACK, K., GRANBY, K. The effect of asparaginase on acrylamide formation in French fries. **Food Chemistry**, v.109, p.386–392. 2008.

PEDRESCHI, F., KAAK, K., GRANBY, K. Reduction of acrylamide formation in potato slices during frying. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, Amsterdam, v. 37, p. 679-685, 2004.

PEDRESCHI, F., MARIOTTI, S., GRANBY, K., RISUM, J. Acrylamide reduction in potato chips by using commercial asparaginase in combination with conventional blanching. **Food Science and Technology**, v. 44, p. 1473–1476, 2011.

PELUCCHI, C., FRANCESCHI, S., LEVI, F., TRICHOPOULOS, D., BOSETTI, C., NEGRI, E., LA VECCHIA, C. Fried potatoes and human cancer. **International Journal of Cancer**, Hoboken, v.108, p.636-637, 2004.

RAK, K., NAVARRO, F. M., PALTA, J. P. Genotype_storage environment interaction and stability of potato chip color: Implications in breeding for cold storage chip quality. **Crop Science**, p. 1944–1952. 2013.

ROBERT, F., VUATAZ, G., POLLIEN, P., SAUCY, F., ALONSO, M. I., BAUWENS, I., BLANK, I. Acrylamide formation from asparagine under low-moisture Maillard reaction conditions. 1. Physical and chemical aspects in crystalline model systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.52, p.6837-6842, 2004.

ROSEN J., NYMAN A., HELLENAS E. K. Retention studies of acrylamide for the design of a robust liquid chromatography-tandem mass spectrometry method for food analysis. **Journal of Chromatografy A**, v. 1172, p. 19–24, 2007.

RYDBERG, P. ERIKSSON, S., TAREKE, E., KARLSSON, P., EHRENBERG, L., TÖRNQVIST, M. Investigations of factors that influence the acrylamide content of heated foodstuffs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 51, p. 7012-7018, 2003.

SADD, P. A., HAMLET, C. G., LIANG, L. Effectiveness of methods for reducing acrylamide in bakery products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.56, p. 6154–6161. 2008.

SALAZAR, R., ARAMBULA-VILLA, G., LUNA-BARCENAS, G., FIGUEROA-CARDENAS, J. D., AZUARA, E., & VAZQUEZ-LANDAVERDE, P. A. Effect of added calcium hydroxide during corn nixtamalization on acrylamide content in tortilla chips. **Food Science and Technology**, v. 56, p. 87–92. 2014.

SANSANO, M., JUAN-BORRAS, M., ESCRICHE, I., ANDRES, A., & HEREDIA, A. Effect of pretreatments and air-frying, a novel technology, on acrylamide generation in fried potatoes. **Journal of Food Science**, v. 80, p. 1120 –1128. 2015.

SHIBAMOTO, T., BJELDANES, L. F. Introdução à toxicologia de alimentos.2. ed. - Rio de Janeiro: Elsevier, 2014.

SMITH, E. A., PRUES, S. L., & OEHME, F. W. Environmental degradation of polyacrylamides. Effects of artificial environmental conditions: Temperature, light, and pH. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 35, p. 121–135. 1996.

SNFA (Swedish National Food Administration). Acrylamide in food, 2002. Disponível em: http://www.slv.se/templates/SLV_DocumentList.aspx?id=4089. Acesso em: 13 abr. 2019.

SOBEL, W., BOND, G. G., PARSONS, T. W., BRENNER, F. E. Acrylamide cohort mortality study. **British Journal of Industrial Medicine**, London, v.43, p.785-788, 1986.

SOPH (Swiss Office of Public Health). Assessment of acrylamide intake by duplicate diet study, 2002. Disponível em: http://www.bag.admin.ch/verbrau/aktuell/d/DDS%20acrylamide%20preliminary%20 communication.pdf>. Acesso em: 14 abr. 2019.

SPILLER, G. A. Caffeine. London: Taylor & Francis. 1997.

STADLER, R. H., BLANK, I., VARGA, N., ROBERT, F., HAU, J., GUY, P. A., ROBERT, M. C., RIEDIKER, S. Acrylamide from Maillard reaction products. **Nature**, London, v.419, p.449-450, 2002.

STADLER, R. H., ROBERT, F., RIEDIKER, S., VARGA, N., DAVIDEK, T., DEVAUD, S., GOLDMANN, T., HAU, J., BLANK, I. In-depth mechanistic study on the formation of acrylamide and others vinylogous compounds by the Maillard reaction. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.52, p.5550-5558, 2004.

TAKATSUKI, S., NEMOTO, S., SASAKI, K., MAITANI, T. Determination of acrylamide in processed foods by LC-MS using column switching. **Journal of the Food Hygienic Society of Japan**, Hokkaido, v.44, p.89-95, 2003.

TAREKE, E. Identification and origin of potential background carcinogens: Endogenous isoprene and oxiranes, dietary acrylamide. Tese de Doutorado. **Department of Environmental Chemistry**, University of Stockholm. 2003.

TAREKE, E., RYDBERG, P., KARLSSON, P., ERIKSSON, S., TÖRNQVIST, M. Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated foodstuffs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v.50, p.4998-5006, 2002.

TATEO, E., BONONI, M. A GC-MS method for the routine determination of acrylamide in food. **Italian Journal of Food Science**, Pinerolo, v.15, p.149-151, 2003.

TAUBERT, D. HARLFINGER, S., HENKES, L., BERKELS, R., SCHÖMIG, E. Influence of processing parameters on acrylamide formation during frying of potatoes. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 52, p. 2735-2739, 2004.

UK FSA (United Kingdom Food Standards Agency). Food Standards Agency study of acrylamide in foods: background information and research findings, 2002. Disponível em: http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/acrylamideback.pdf. Acesso em: 13 abr. 2019.

URBANCIC S., KOLAR M. H., DIMITRIJEVIC D., DEMSAR L., VIDRIH R. Stabilisation of sunflower oil and reduction of acrylamide formation of potato with rosemary extract during deep-fat frying. **Food Science and Technology**, v. 57, p. 671–678, 2014.

US EPA (United States Environmental Protection Agency). Acrylamide, document EPA 749-F-94-005. **Chemicals in the environment**, 1994. Disponível em: http://www.epa.gov/chemfact/f_acryla.txt. Acesso em: 13 abr. 2019.

UWSF – Umweltwissenschaften und Schadstoff-Forschung,. Lebensmittelsicherheit: Acrylamid. **Z Umweltchem Ökotox**, v. 14, p. 266 – 267, 2002.

VATTEM, D. A.; SHETTY, K. Acrylamide in food: a model for mechanism of formation and its reduction. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Amsterdam, v. 4, p. 331-338, 2003.

VINCI, R. M., MESTDAGH, F., DE MEULENAER, B. Acrylamide formation in fried potato products – Present and future, a critical review on mitigation strategies. **Food Chemistry**, p. 1138–1154. 2012.

WENZL, T.; DE LA CALLE, M. B.; ANKLAM, E. Analytical methods for the determination of acrylamide in food products: a review. **Food Additives and Contaminants**, London, v. 20, p. 885-902, 2003.

WILDE, T. de, MEULENAER, B. de, F. MESTDAGH, Y., GOVAERT, W., OOGHE, S., FRASELLE, K., DEMEULEMEESTER, C., VAN PETEGHEM, A., CALUS, J. M. DEGROODT, R. VERHÉ. Selection criteria for potato tubers to minimize acrylamide formation during frying. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, vol. 54, p. 2199–2205, 2006.

XU, F., KHALID, P., ORUNA-CONCHA, M.-J., ELMORE, J. S. Effect of asparaginase on flavour formation in roasted coffee. A. J. Taylor & D. S. Mottram (Eds.), **Flavour science**, p. 563–566. Packington, United Kingdom: Context Products Ltd. 2015.

YAYLAYAN, V. A., STADLER, R. Acrylamide formation in food: a mechanism perspective. **Journal of the AOAC International**, Gaithersburg, v.88, p.262-267, 2005.

ZHANG Y., JIAO J., REN Y., WU X. Determination of acrylamide in infant cereal-based foods by isotope dilution liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 551, p. 150-158, Oct. 2005.

ZYZAK, D. V., SANDERS, R. A., STOJANOVIC, M., TALLMADGE, D. H., EBERHART, B. L., EWALD, D. K., VILLAGRAN, M. D. Acrylamide formation mechanism in heated foods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 4782–4787. 2003.