

A FORMAÇÃO NATURAL DE ACRILAMIDA EM ALIMENTOS E SEUS RISCOS PARA A SAÚDE

*Erykson Lima¹, Fernanda Stephens Hermes Silva², Naína Monsores Felix da Silva³,
Katia Regina Araújo da Silva⁴*

RESUMO

Desde meados dos anos 50, a acrilamida, uma substância química importante, vem sendo utilizada como um intermediário da produção de poliacrilamida. Embora as pesquisas sejam limitadas, em 1994, a Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC) classificou a acrilamida como grupo 2A, sendo ela um provável carcinogênico para humanos. Em 2002, após o vazamento de água contendo poliacrilamida durante a construção de um túnel na Suécia, pesquisadores reportaram a presença da substância em alimentos ricos em carboidratos submetidos a altas temperaturas durante o processo de preparo. Em junho do mesmo ano, a Organização Mundial de Saúde (OMS) realizou um encontro na Suécia para discutir as implicações da sua produção espontânea em alimentos. A partir desse encontro, diversos países começaram a investigar os níveis de acrilamida presentes nos alimentos, sua formação, a otimização da formulação, e condições de processamento/cozimento. Entretanto, a Califórnia é o único local que possui legislação específica para o limite máximo tolerável de acrilamida em alimentos. Na União Europeia, sugere-se evitar o consumo excessivo da substância. No Brasil, até o momento, ainda não há legislação que regulamente sobre a quantificação da formação da acrilamida, devido a estudos insuficientes sobre o mecanismo da sua formação. O presente trabalho visa reunir informações sobre os aspectos bioquímicos e toxicológicos da acrilamida e verificar a preocupação de órgãos governamentais nos os estudos já publicados.

Palavras-chave: Acrilamida. Alimentos. Legislação. Carcinogênico. Toxicidade.

ABSTRACT

Acrylamide is an important chemical compound that has been widely used since mid-1950s for the production of polyacrylamide. Despite limited research, the International Agency for Research on Cancer (IARC) classified acrylamide as Group 2A, being it considered a possible carcinogen for humans in 1994. In 2002, after a water leak during the construction of a tunnel in Sweden, researchers reported the presence of polyacrylamide in starch-rich foods cooked at high temperature. In June of the same year, a meeting was held by the World Health Organization (WHO) in Sweden to discuss the implications of its spontaneous production in foods. From this point on, several countries began to investigate the levels of acrylamide present in foods, its formation, the optimization of the formulation, and processing conditions. However, California is the only place where there is specific legislation to determine the tolerable amount of acrylamide in foods. In the European Union it is recommended that the excessive consumption of food containing the substance be avoided. In Brazil, due to

¹ Graduado em Biologia pelo Centro Universitário Celso Lisboa

² Graduada em Biologia pelo Centro Universitário Celso Lisboa

³ Graduada em Biologia pelo Centro Universitário Celso Lisboa

⁴ Docente do Curso de Biologia do Centro Universitário Celso Lisboa

insufficient studies on the mechanism of acrylamide formation, there is still no legislation to regulate the quantification of this substance. The present work aims to gather information on biochemical and toxicological aspects of acrylamide and verify what concerns governmental agencies in the studies already published.

Keywords: Acrylamide. Food. Legislation. Carcinogenic. Toxicity.

INTRODUÇÃO

A alimentação é a principal fonte de nutrientes e faz parte das necessidades básicas humanas, além de estar presente em convenções culturais e sociais (ABREU *et al.*, 2001). A qualidade alimentar é fundamental para garantir os nutrientes necessários para a manutenção da saúde da população (MONDINI & MONTEIRO, 1994). A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) é um órgão federal responsável por regulamentar a legislação e proteger a população promovendo saúde e segurança sanitária de produtos e serviços. Sua regulamentação também abrange a qualidade dos alimentos consumidos no país, sejam eles nacionais ou importados. De acordo com o Decreto-Lei nº 986, de 21 de outubro de 1969:

Alimentos são todas substâncias ou mistura de substâncias, no estado sólido, líquido ou pastoso ou de qualquer outra forma adequada, destinadas a fornecer ao organismo humano os elementos normais à sua formação, manutenção e desenvolvimento.

A preocupação com a qualidade alimentar está presente desde o período Neolítico, quando o homem iniciou a agricultura e tornou-se o responsável pela produção do seu próprio alimento. Com a agricultura e pecuária, a disponibilidade de alimentos tornou-se maior do que as famílias conseguiam consumir, com isso veio a necessidade de trocar produtos entre famílias, popularizando o escambo. Para o alimento ser um produto adequado à troca, era necessário manter um padrão de qualidade, de modo a parecerem mais atrativos, mesmo quando não eram frescos, surgindo assim a necessidade de conservá-los (DIONYSIO & MEIRELLES, 2003).

A partir do século XX, com o avanço da tecnologia no setor alimentício, os métodos têm se tornado cada vez mais aprimorados para reduzir as perdas nutricionais e aumentar sua durabilidade (LEONARDI & AZEVEDO, 2018). Esses métodos de conservação de alimentos são bastante diversificados e vão desde o processo mais simples de desidratação e defumação, utilizados no período Neolítico, até o mais moderno, como o uso de Alta Pressão Hidrostática (APH) (BINOTI & RAMOS, 2015).

Para a indústria, assim como em laboratórios de controle de qualidade em alimentos, existem regras específicas para a correta manipulação. Deste modo, minimizam-se os riscos de contaminação, uma vez que muitos alimentos funcionam como ótimos meios de cultura para a proliferação de microrganismos (LEONARDI & AZEVEDO, 2018). Segundo Menezes (1998):

A segurança alimentar e nutricional significa garantir, a todos, condições de acesso a alimentos básicos de qualidade, em quantidade suficiente, de modo permanente e sem comprometer o acesso a outras necessidades essenciais, com base em práticas alimentares saudáveis, contribuindo, assim, para uma existência digna, em um contexto de desenvolvimento integral da pessoa humana.

Além da preservação alimentar, o aumento da temperatura desenvolve substâncias que realçam o sabor e tornam o alimento mais palatável. Segundo o antropólogo e biólogo Richard Ranham (2010), o cozimento dos alimentos tornou a digestão mais fácil, o que aumentou a quantidade de calorias disponíveis para o organismo, sendo fundamental para a evolução dos homens até o atual *Homo sapiens sapiens*. Durante o cozimento, ocorrem reações que geram alterações químicas nos alimentos. A principal é a reação de Maillard, responsável pelo escurecimento dos mesmos. Porém, em alimentos ricos em proteínas e/ou carboidratos, esta reação gera metabólitos que podem colocar em risco a saúde humana, como por exemplo, a acrilamida (SHIBAO & BASTOS, 2011).

A acrilamida (ACM) é a nomenclatura IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*) para uma substância química que não ocorre naturalmente na natureza. Sua molécula é pequena e simples, com fórmula C_3H_5NO e peso igual a 71.08 u (unidade de massa atômica), conhecida também como 2-propenamida. Em temperatura ambiente, é um sólido cristalino branco, estável e inodoro. Todavia, ao ser aquecida ou exposta à luz ultravioleta, polimeriza ou decompõe-se. Apresenta temperatura de fusão de $84.5^{\circ}C$ e temperatura de ebulição em torno de $192.6^{\circ}C$ (NATIONAL TOXICOLOGY, 2016). A solubilidade em solventes polares e apolares como metanol, etanol, acetona e benzeno variam consideravelmente. Em água, é altamente solúvel, com solubilidade de 215.5 g/100 mL a $30^{\circ}C$. Essa propriedade, bem como o baixo peso molecular e a baixa volatilidade (0.007 mm Hg a $25^{\circ}C$) são os principais fatores que permitem seu uso em métodos analíticos, tal como a síntese de poliacrilamida (ERIKSSON, 2005).

Desde meados dos anos 50, a ACM é uma substância química altamente utilizada na indústria como intermediário da produção de poliacrilamida. É utilizada

como floculante para purificação de água, e em aplicações industriais, como a produção têxtil, de plásticos e selantes. Sua produção comercial por uma empresa dos Estados Unidos da América (EUA) começou em 1954, porém na época não haviam dados sobre sua toxicidade. Em 1956, Hamblin relatou o seu potencial efeito tóxico em estudo com mamíferos roedores e, desde então diversas pesquisas foram realizadas nesse âmbito. O Instituto Nacional de Segurança e Saúde Ocupacional (NIOSH), agência federal dos EUA, constatou a potencial exposição de cerca de 20 mil trabalhadores à ACM (HAMBLIN, 1956). Em 1976, os EUA estabeleceram um limite de exposição ocupacional à substância, juntamente com outros 12 países, por meio de regulamento ou recomendação de diretriz. Devido à sua toxicidade, em 1984, a ACM foi definida como resíduo perigoso na lei federal de Conservação e Recuperação de Recurso dos EUA, que controla o descarte de resíduos sólidos e perigosos, pela Agência de Proteção Ambiental (IARC, 1986). Em 1994, a Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC) classificou a ACM como grupo 2A, sendo um provável carcinógeno humano. O documento reuniu estudos experimentais feitos com camundongos, que corroboram a carcinogenicidade do produto químico (IARC, 1994).

Em 2002, pesquisadores suecos fizeram uma importante descoberta sobre o potencial carcinogênico para a saúde humana dessa substância - a sua presença em alimentos (FERNANDES, 2016). A primeira vez que a atenção se voltou para a existência da ACM em alimentos foi após o desastre em uma construção de túnel em 1997 na Suécia, onde utilizou-se poliacrilamida para selar vazamentos provocados pela deterioração rochosa (NERI, 2004). No entanto, o grande fluxo de água impediu a sua polimerização e ocasionou um vazamento que resultou na contaminação de rios e lençóis freáticos, provocando a morte de peixes e sintomas neurotóxicos em animais que ingeriram a água, alertando a população. A partir disso, ambientalistas suspeitaram que a contaminação poderia estar relacionada à construção do túnel e, de fato, a contaminação estava associada ao selante utilizado. Autoridades suecas, preocupadas com que a contaminação pudesse gerar danos à saúde da população, baniram o uso de leites e derivados, carne bovina e qualquer outro produto agrícola que pudesse estar contaminado (WEIDEBORG, 2001). Como forma de entender os riscos da contaminação, foram feitas análises sanguíneas dos trabalhadores envolvidos na construção, e comparou-se seus resultados com grupos de pessoas que não foram expostas. Os resultados obtidos demonstraram, que não havia grande

variação das concentrações em ambos os grupos testados. Esse resultado impulsionou pesquisadores a investigarem como o grupo de pessoas não expostas possuíam concentrações similares ao outro grupo, levantando assim a hipótese de que a exposição poderia ser alimentar (FERNANDES, 2016). Posteriormente, foi demonstrado a presença de níveis significativos de acrilamida em alimentos que continham alto teor de carboidrato, e que eram submetidos à alta temperatura (REIS, GONÇALVES & MARIN, 2014).

Após essas pesquisas, a Agência Nacional de Alimentos da Suécia (SNFA) divulgou o potencial de risco da substância presente nos alimentos, o que alarmou a população. Em 2002, a Organização Mundial de Saúde (OMS) realizou um encontro na Suécia para discutir as implicações da sua produção em alimentos, denominado *Consultation* (FSA, 2002). A partir deste encontro, diversos países começaram a investigar os níveis de ACM presentes nos alimentos. Diante desses fatos, a legislação estrangeira vem padronizando valores seguros de consumo diário (FAO/WHO, 2002). No Brasil, esses dados ainda são escassos e, devido a isto, a legislação não possui informações sobre a substância até o momento.

Sendo assim, o presente trabalho tem como objetivo fazer uma revisão de literatura, focando em dados relativos aos riscos atribuídos à ingestão de acrilamida, formada em alimentos processados sob temperaturas elevadas, bem como os parâmetros físico-químicos envolvidos no processo, e analisar a atuação de órgãos nacionais e internacionais em relação à investigação de seus efeitos adversos. O trabalho expõe os fatores intrínsecos e extrínsecos dos alimentos que podem influenciar na formação da acrilamida durante o seu processamento, aponta evidências sobre os riscos mutagênico, carcinogênico, genotóxico e neurotóxico relacionados à ingestão de ACM, menciona medidas mitigadoras para reduzir a formação desse produto em alimentos e divulga os níveis presentes nos alimentos mais consumidos pela população brasileira, objetivando a conscientização da mesma.

METODOLOGIA

Esta pesquisa é um estudo qualitativo de caráter bibliográfico e descritivo, visando reunir informações sobre os aspectos bioquímicos e toxicológicos da ACM e a preocupação de órgãos governamentais perante os estudos já publicados. Os artigos científicos, bem como dissertações e teses, foram obtidos nos seguintes bancos de dados online: Google Acadêmico, PubMed, SCIELO, LILACS. Também

foram consultados documentos sobre controle de qualidade alimentar da Europa e Estados Unidos, comparando-os com os vigentes no Brasil, pela ANVISA. As palavras-chave utilizadas foram: acrilamida, alimentos, legislação, carcinogênico e toxicidade. A pesquisa também foi realizada na língua inglesa, utilizando as seguintes palavras-chave: *acrylamide*, *food*, *legislation*, *carcinogenic* e *toxicity*. Foram utilizados artigos nacionais e internacionais, publicados desde os primeiros testes efetuados na década de 50.

O critério de inclusão da bibliografia selecionada foi a abordagem teórica sobre as características químicas que envolvem a formação da ACM e a abordagem experimental sobre a exposição alimentar de animais de laboratórios. Foram considerados também, documentos sobre regulamentação e fiscalização da concentração da substância presente nos principais alimentos consumidos, a fim de esclarecer e discutir as disparidades entre países quanto à atenção dada à temática. Estudos que versam sobre a presença de ACM em outras fontes, tais como água e cigarro, foram excluídos.

A coleta dos dados foi composta pelas seguintes premissas: leitura exploratória das obras escolhidas, objetivando, através de uma leitura rápida, a relevância do material para a composição do trabalho. Leitura seletiva, examinando cautelosamente os conteúdos de maior importância. Por fim, as informações extraídas foram organizadas conforme as subdivisões do trabalho (introdução, objetivos e discussão), registrando seus respectivos autores e anos.

Para a análise dos resultados, a fim de se obter as respostas para as questões da pesquisa, uma leitura analítica foi realizada de forma a sintetizar as informações das bibliografias. Posteriormente, as interpretações dos resultados foram ponderadas e discutidas segundo o referencial teórico tocante à temática do estudo. A citação dos autores utilizados no trabalho foi respeitada conforme a disposição da norma brasileira regulamentadora 6023.

ANÁLISE E DISCUSSÃO DOS DADOS

Riscos mutagênico, carcinogênico, genotóxico e neurotóxico relacionados à ingestão de acrilamida

Em 1978, o cientista Yukimasa Shiraishi demonstrou que a ACM era capaz de produzir aberrações cromossômicas em células da medula óssea e germinativa de

ratos expostos à substância via intraperitoneal. Em 1985, o Instituto de Higiene e Epidemiologia da Bélgica publicou resultados que comprovaram aberrações cromossômicas em linfócitos humanos *in vitro* na concentração de 50 µg/mL (SHIRAIISHI, 1978).

Em 1988, Brantner *et al.* evidenciaram a alta incidência de tumores malignos ou benignos (tumores nas mamas, na cavidade oral, na tireóide e no útero) em camundongos fêmeas tratadas com 2.0 mg/kg/dia de ACM via intraperitoneal. Dos 60 animais que receberam a dose, 46 apresentaram algum tipo de tumor supracitado.

Bergmark (1997) comprovou a ocorrência de câncer em ratos de laboratório expostos à ACM. Diversos testes foram feitos posteriormente, não só para descobrir seu potencial tóxico, mas principalmente para entender como o organismo metaboliza a substância.

Devido ao seu baixo peso molecular e a facilidade em ser absorvida, a ACM é rapidamente distribuída no organismo. O fígado, por exemplo, é um dos órgãos envolvidos nesse processo. Nele, a ACM ingerida é epoxidada e transformada em glicidamida (SERÔDIO, 2015).

Os epóxidos, como a glicidamida, são compostos já conhecidos na literatura por serem muito reativos, de fácil interação com o DNA e por possuírem capacidade de gerar mutação e carcinogenicidade (GHANAYEM, 2005). Um estudo da Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar (EFSA) revelou que essa glicidamida gerada é capaz de induzir a formação de células neoplásicas e, posteriormente, a ocorrência de tumores malignos (EFSA, 2015).

A ACM também pode estar associada à neurotoxicidade, além de causar danos ao sistema reprodutor e de genotoxicidade. Devido a esses indícios, McCollister *et al.* (1964) efetuaram testes de toxicidade crônica em gatos e primatas não-humanos, para saber os riscos da exposição a longo prazo. Os testes em primatas não-humanos (espécie não especificada) foram feitos com fêmeas que recebiam a substância por gavagem, durante 5 dias por semana no período de um ano. Como resultado, para a maior dose testada (10 mg/kg), foram observados sinais severos de neuropatia. Apesar de atualmente serem menos comumente usados em pesquisa científica, os gatos são ótimos modelos para estudos de complexidade neuronal, devido ao seu sistema sensorial extremamente desenvolvido. McCollister *et al.* (1964) utilizaram 2 gatos por grupo, nas doses de: 0 mg/kg (controle), 0,03, 0,1, 1, 3 e 10 mg/kg ao dia, também administrado 5 dias por semana durante 1 ano. Os gatos que receberam a

dose de 10 mg/kg, progressivamente apresentaram fraqueza nas patas traseiras, até sua completa imobilidade, em apenas 52 dias de tratamento. Posteriormente, Johnson *et al.* (1986) e Friedman *et al.* (1995) fizeram pesquisas de toxicidade crônica em roedores. Os experimentos tiveram a duração de 2 anos e também apresentaram dados relevantes sobre a degeneração no nervo ciático e tibial, como apresentado na Tabela 1.

Tabela 1: Compilação de testes de toxicidade crônica em roedores e seus respectivos desfechos

Autor(es)/Ano	Gênero	Dosagem (mg/kg/dia)	Resultado	Incidência
Johnson <i>et al.</i> (1986)	Macho	0,5 2,0	Degeneração leve e moderada do nervo tibial	32/60 (53%) 33/60 (53%)
Johnson <i>et al.</i> (1986)	Fêmea	0,5 2,0	Degeneração leve e moderada do nervo tibial	7/60 (12%) 16/60 (26%)
Friedman <i>et al.</i> (1995)	Macho	0,5 2,0	Degeneração do nervo ciático	13/38 (34%) 26/49 (53%)
Friedman <i>et al.</i> (1995)	Fêmea	1,0 3,0	Degeneração do nervo ciático	2/20 (10%) 38/86 (44%)
Programa Nacional de Toxicologia - NTP (2012)	Macho	1,32 2,71	Degeneração axonal do nervo ciático	11/48 (23%) 23/48 (48%)
Programa Nacional de Toxicologia - NTP (2012)	Fêmea	1,84 4,02	Degeneração axonal do nervo ciático	4/48 (8%) 19/48 (40%)

Fonte: adaptado de: Johnson *et al.*, 1986; Friedman *et al.*, 1995; Programa Nacional de Toxicologia, 2012

Além destes testes, cientistas como Hashimoto (1981; 1986) estudaram a toxicidade reprodutiva em roedores. Várias publicações foram feitas, tanto dos danos ocasionados nos órgãos de fêmeas e machos, como da diminuição de fecundidade, peso corpóreo e quantidade de filhotes, degeneração do epitélio testicular, taxa de implantação e desempenho copulatório. Ademais, os animais apresentaram alterações comportamentais e neurológicas, conforme Tabela 2.

Tabela 2: Compilação de testes de toxicidade reprodutiva e comportamental em roedores

Autor(es)/ Ano	Objetivo/ Metodologia	Espécie	Menor dose tóxica	Resultado observado
Nalco Chemical Co., 1985	Dominância letal do gene 1 (mutação) – Gavagem	Fisher 344 rat	2,0 mg/Kg/dia	· Neuropatia periférica aumentada; · Diminuição do peso corporal; · Diminuição do número de fetos.
Hashimoto <i>et al.</i> , 1981	Efeitos no testículo – Gavagem	ddY mouse	35,5mg/kg	· Degeneração do epitélio testicular; · Fraqueza e ataxia dos membros posteriores.
Sakamoto and Hashimoto, 1986	Toxicidade reprodutiva- Drinking water	ddY mouse	0,6mM ou 8,8 mg/kg/dia	· Taxa de fertilidade diminuída; · Diminuição do número de fetos.
Edwards, 1976	Desenvolvimento de toxicidade – via oral	Porton rat	200ppm	· Ataxia; · Marcha anormal.
American Cyanamid, 1980	Desenvolvimento de toxicidade – via oral	Sprague- Dawley rat	50ppm	· Diminuição do ganho de peso corporal; · Leve alopecia; · Degeneração da fibra nervosa em nervos ciáticos e ópticos.
Zenick <i>et al.</i> , 1986	Reprodução e fertilidade – Drinkingwater	Long- Evans rat	50ppm	· Diminuição do peso corporal; · Diminuição da ingestão de líquidos; · Aumento do membro posterior.
Nalco Chemical Co., 1985	Reprodução de geração única – Drinkingwater	Fischer 344 rat	2,0 mg/Kg	· Neuropatia periférica; · Diminuição do peso corporal; · Diminuição do ganho de peso corporal.

Fonte: adaptado de: Edwards, 1976; Nalco Chemical Co., 1985; Sakamoto and Hashimoto, 1986; Zenick *et al.*, 1986; American Cyanamid, 1980

Todas as pesquisas realizadas forneceram dados que permitiram a inserção, em 1994, da acrilamida na classificação 2A, da Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC). Neste grupo, estão as substâncias que já possuem evidências suficientes de que o agente é carcinogênico para animais e evidências limitadas ou insuficientes de que ele é carcinogênico para humanos (IARC, 1994). A classificação de carnes processadas como carcinógeno pela IARC (2018), tendo suas evidências suficientemente embasadas em estudos de corte, demonstra que este modelo

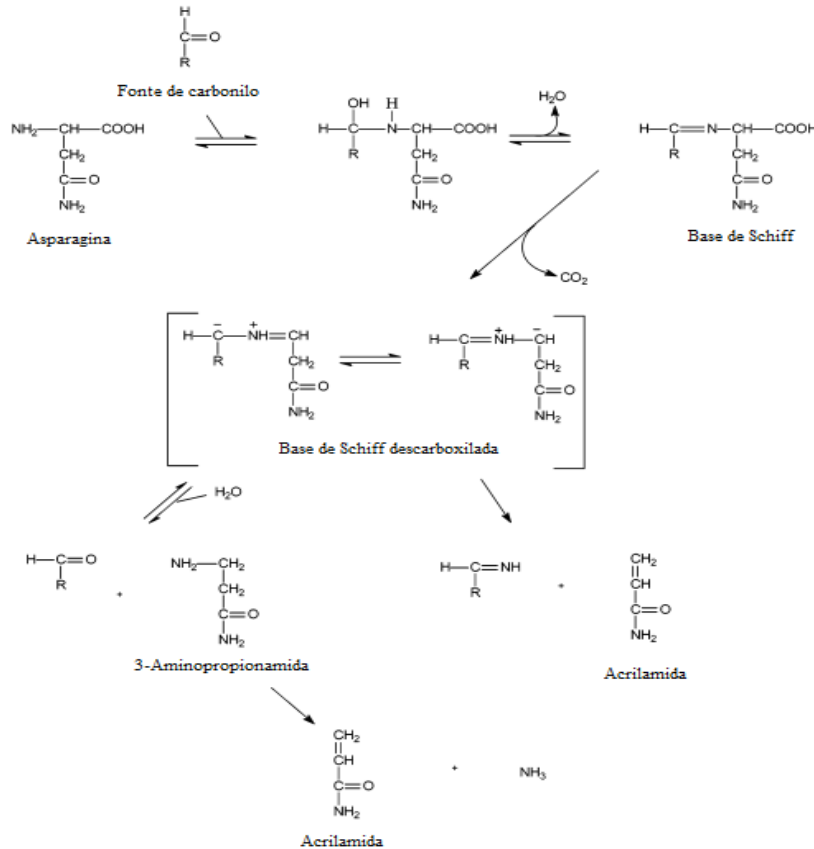
experimental é confiável para a análise de alimentos e surge como uma alternativa aos testes com camundongos.

Princípios bioquímicos da formação de acrilamida

Com a evidenciação da existência de ACM em alguns alimentos processados, começaram a ser realizados diversos estudos a fim de desvendar o mecanismo pelo qual ela é produzida. Dessa forma, pesquisas apontaram a sua ocorrência em alimentos preparados em temperaturas acima de 120°C e o aumento gradativo da sua concentração, de acordo com a elevação da temperatura, o tempo de exposição e o modo de aquecimento. Tem-se demonstrado, em uma ampla gama de alimentos ricos em carboidratos, que o principal mecanismo de formação desta substância é a reação de Maillard, a partir de asparagina livre e açúcares redutores. Tal reação é responsável pelo escurecimento dos alimentos, alteração do sabor e dos valores nutritivos, além da síntese de moléculas tóxicas, como as aminas aromáticas heterocíclicas (SOARES, 2006).

A origem da reação de Maillard ocorre pela junção do grupo amino do aminoácido asparagina e o grupo carbonila do açúcar redutor, derivando em uma glicosilamina. Por conseguinte, há a formação de uma base de Schiff, dentre outras reações intermediárias. Após a desidratação em alta temperatura, a base de Schiff é descarboxilada e sua decomposição pode levar à formação direta da acrilamida, ou indireta pela hidrólise de aminopropionamida, como mostra a Figura 1 (PEDRESCHI, MARIOTTI & GRANBY, 2014).

Figura 1: Representação esquemática da reação de Maillard

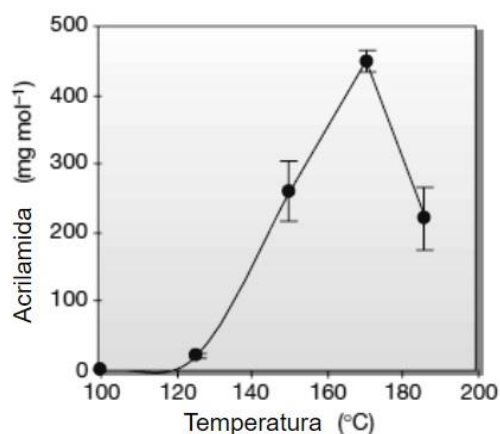


Fonte: adaptado de: Zyzak *et al.*, 2003

Vale destacar que a produção da ACM a partir da asparagina pela reação de Maillard é um processo complexo, que pode abranger uma cascata de reações químicas intermediárias diferentes, como por exemplo, a degradação de Strecker e a descarboxilação do composto de Amadori (KERAMAT, 2010). Diversos parâmetros estão envolvidos na formação de ACM nos alimentos. Dentre eles é possível ressaltar a necessidade dos precursores presentes nas matérias-primas, como os açúcares redutores glicose e frutose e os aminoácidos. A concentração destes precursores, no entanto, varia de acordo com as características genéticas e as condições ambientais. Sendo assim, a época da colheita, a temperatura de armazenamento, a espécie e o cultivar do alimento e o sistema agrícola podem influenciar na disponibilidade final dos precursores, afetando na formação da ACM (PEDRESCHI, MARIOTTI & GRANBY, 2014). A concentração final de ACM também está intimamente relacionada a fatores exógenos, como a temperatura. Como dito anteriormente, sua formação é elevada conforme o tempo de aquecimento e o aumento da temperatura a partir de 120°C. No entanto, após 170°C há um decréscimo da sua produção, como ilustrado pelo Gráfico 1 (MOTTRAM *et al.*, 2002). O rendimento da ACM também pode ser observado com o

aumento do pH e a diminuição da atividade de água (PEDRESCHI, MARIOTTI & GRANBY, 2014).

Gráfico 1: Relação entre a formação de acrilamida e o aumento da temperatura



Fonte: adaptado de: Mottram *et al.*, 2002

Níveis de acrilamida presentes nos alimentos mais consumidos pela população brasileira

A classificação da IARC, somada à contaminação na Suécia, foram fatores relevantes para que países começassem a se preocupar com a exposição de humanos à ACM. Em 2002, pesquisadores suecos comunicaram a descoberta de altos níveis da substância em alimentos submetidos à cocção, o que motivou uma série de operações, já a nível mundial, para identificar o limite seguro e formas de reduzir a ingestão de ACM (ARISSETO, 2008). Nesse mesmo ano, a *Joint Expert Committee on Food Additives* (JECFA), que é um comitê internacional de especialistas em aditivos alimentares, administrado juntamente pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO), divulgou a quantidade de ACM presente em alguns alimentos mais consumidos (FAO/WHO, 2002).

Desde 2002, devido à alta toxicidade da substância, a União Europeia (UE) através dos seus países membros e juntamente com a representante das indústrias alimentícias e de bebidas europeia, a *Food Drink Europe* (FDE), tem reunido esforços para investigar os meios de produção e mitigação da ACM. A partir de então, a FDE tem incentivado seus produtores de alimentos a reduzirem os teores dessa substância, por meio do fornecimento de uma “caixa de ferramentas” (do inglês, *toolbox*), resultado de mais de 10 anos de colaboração entre a indústria alimentícia e

autoridades da UE, contendo diferentes parâmetros com a finalidade de elucidar as vias de formação e as possíveis estratégias para redução da ACM. Desse modo, a última revisão da toolbox foi reestruturada em torno das três principais categorias de produtos com maior risco de produção de ACM, como batatas, cereais e café. Estas, por sua vez, se subdividem em parâmetros e ferramentas distintas, permitindo assim que o fabricante compreenda melhor, identificando os parâmetros que podem ser aplicados de acordo com as necessidades específicas e critérios do seu produto/processo (COMISSÃO EUROPEIA, 2014).

Além disso, desde 2007, a UE estabelece recomendações, por meio de documentos oficiais, para monitorar os teores de ACM nos principais alimentos que fazem parte da dieta alimentar. Dessa forma, exige-se dos seus Estados-membros a realização de apurações, sempre que os teores de ACM em determinado gênero alimentício, em comparação com outros produtos da mesma categoria, excedam os níveis recomendados (COMISSÃO EUROPEIA, 2013).

Desde 2011, a Califórnia é o único local que possui legislação específica para o limite máximo tolerável de acrilamida em alimentos. A lei, denominada PROPOR 65, preconiza que alimentos com mais de 275 ppb (partes por bilhão) de acrilamida devem conter em seu rótulo esta informação. Na União Europeia, sugere-se evitar o consumo excessivo da substância, pois se a mesma está inserida no grupo A2 da IARC, é recomendável cautela ao se expor (ARISSETO, 2008).

Em 2013, a associação de consumidores PROTESTE elaborou uma pesquisa tentando quantificar os teores de ACM no Brasil. Os resultados foram entregues à ANVISA, solicitando a elaboração de um código de boas práticas para que as empresas reduzissem os níveis de ACM nos alimentos. Até o momento, no Brasil ainda não há legislação que regulamente a redução dos níveis da substância em alimentos pelas empresas. A ANVISA justifica que não há legislação específica, porque os testes realizados em amostras de alimentos foram insuficientes, pois os valores apresentados são muito variáveis para que se possa estabelecer um limite seguro e, o mecanismo de formação de ACM ainda é pouco compreendido para se propor uma forma de redução (ANVISA, 2019). A Portaria do Ministério da Saúde nº. 2914, de 12 de dezembro de 2011, já estabelece um limite de 0,5 µg/L para a presença do químico na água potável, conforme recomendado pela OMS. Logo, ao mesmo tempo em que a ANVISA reconhece a relevância do controle de ACM na água, as pesquisas de órgãos internacionais que demonstram os níveis da substância

encontrada nos alimentos superior ao regulamentado para a água são desconsideradas.

Devido à falta de legislação e dados disponíveis no país, o trabalho comparou os teores de ACM em alimentos divulgados em 2002 pelo JECFA e pela WHO (Tabela 3) (FAO/WHO, 2002), com o Inquérito Nacional de alimentação 2008/2009 (Tabela 4). Este último documento é publicado há cada 10 anos pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), como forma de conhecer a rotina alimentar da população brasileira (IBGE, 2011).

Tabela 3: Grupos de alimentos com teores de ACM avaliados pelo FAO/OMS e JECFA

Grupo de Alimento	n	FAO/OMS	n	JECFA
		Média (µg/kg)		Média (µg/kg)
Batata chips	38	1312	874	752
Batata frita	39	537	1097	334
Biscoitos e torradas	58	423	1270	350
Pão	41	50	1294	446
Cereais matinais	29	298	96	96
Café	3	200	205	288

Fonte: adaptado de: FAO/WHO, 2002

Tabela 4: Análise do Consumo Alimentar Pessoal no Brasil

Alimento (consumo diário)	Nacional (%)
Batata	17,98
Batata frita	0,21
Salgadinho	0,46
Mandioca	6,21
Farinha de mandioca	21,26
Pão de queijo	0,43
Floco de milho	1,03
Fubá	8,73
Biscoito salgado	5,17
Torrada	0,29
Farinha de rosca	0,16
Pão francês	33,79

Pão integral	0,20
Pão (outros)	0,52
Café moído	6,77
Café solúvel	0,35

Fonte: adaptado de IBGE, 2008-2009

Na tabela do IBGE, pode-se observar que o pão é o alimento mais presente em todas as regiões do Brasil, principalmente o pão francês. O café, bebida tradicional no Brasil (ENCARNAÇÃO, 2003), também aparece com altos níveis da substância. Sabe-se que, tanto o café como o pão francês fazem parte da rotina matinal ou do lanche da tarde dos brasileiros. Essa combinação expõe a população duas vezes mais à ACM.

A batata aparece como a principal fonte de contaminação. O consumo deste tubérculo é mais comum na região Sul e Sudeste do Brasil, mas ainda assim nas outras regiões seus níveis de consumo são altos. A batata frita, por exemplo, é comum ser consumida em lanches, refeições principais ou aperitivos, podendo estar presente em diversos pratos.

Medidas mitigadoras que podem ser utilizadas para reduzir a formação de acrilamida em alimentos

De modo geral, a ACM é formada em alimentos ricos em carboidratos submetidos a temperaturas superiores à 120°C, com baixa umidade (FAO/WHO, 2002). Devido à sua carcinogenicidade, genotoxicidade e neurotoxicidade, diversas estratégias mitigadoras para redução da produção desse composto têm sido elaboradas, de modo que não interfiram nas características organolépticas dos alimentos, como textura, cor e sabor, mantendo assim sua qualidade. Estudos comprovam, que fatores endógenos e exógenos estão envolvidos na formação da ACM. Por esse motivo, as metodologias desenvolvidas levam em consideração princípios biológicos, físicos e químicos para a redução deste composto tóxico (XU *et al.*, 2014).

A principal via de formação da ACM ocorre através da reação de Maillard, entre açúcares redutores (particularmente glicose e frutose) e o aminoácido livre asparagina. Sendo assim, a asparagina é convertida em ACM, por reações de descarboxilação e desaminação térmica, na qual precisa de um composto carboxila,

presente nos açúcares redutores (XU *et al.*, 2014). Portanto, para diminuir a produção de ACM nos alimentos é necessária a redução dos seus principais precursores.

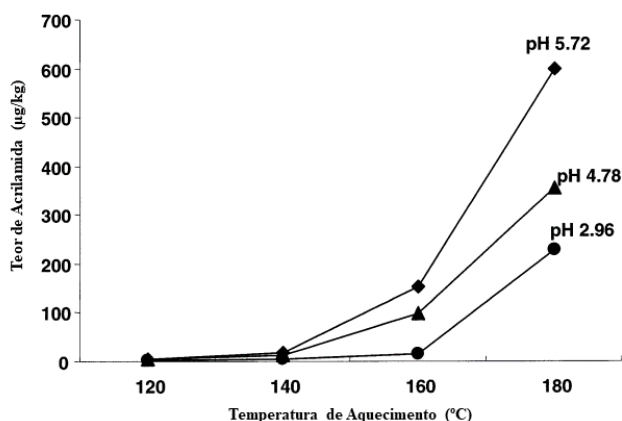
Adição de ácidos

Algumas análises feitas a respeito da reação de Maillard revelaram, que o potencial hidrogeniônico (pH) é um dos principais determinantes das taxas e ampliação da formação dos produtos dessa reação, da mesma maneira que o tempo de reação, atividade de água e temperatura. Nesse sentido, Rydberg *et al.* (2003), através de estudos relacionados ao efeito do pH na produção total de ACM, constataram que o pH em torno de 8 (alcalino) apresentava um ápice na produção dessa substância. Isso ocorre devido ao grupo R-amino do aminoácido asparagina ficar mais propenso, neste pH, a reagir com eletrófilos, como grupos aldeídos de carboidratos, originando a base de Schiff, reação que dará início a formação da ACM.

Rydberg *et al.* (2003) conduziu dois experimentos para investigar os efeitos da variação do pH na produção da ACM. Para isso, foram selecionadas batatas da espécie *Solanum tuberosum* de duas safras diferentes, que foram trituradas e homogeneizadas com cada ácido escolhido. No primeiro experimento, utilizou-se o ácido clorídrico (HCl). As amostras foram divididas em controle (sem adição de ácido), e dois lotes diferentes com ácido clorídrico. Após a adição do ácido, o pH de cada amostra foi mensurado, sendo o controle com pH 5.72, o lote 1 com pH 4.76 e o lote 2 com pH 2.96. Logo após ao aquecimento a 180°C durante 25 min, tais amostras tiveram uma redução no nível de ACM de 31% e 47% respectivamente. Sendo assim, sugere-se que a produção da ACM aumenta com a temperatura, embora sofra uma redução em meios acidificados (RYDBERG *et al.*, 2003).

Gráfico 2: Efeito do pH sobre o teor de acrilamida (expresso em microgramas por quilograma) em batatas homogeneizadas aquecidas num forno a diferentes temperaturas

O pH da amostra original foi de 5,72 e a acidificação foi obtida pela adição de HCl. O aquecimento foi realizado durante 25 min.



Fonte: adaptado de Rydberg *et al.*, 2003

O mesmo teste foi realizado utilizando ácido cítrico em três amostras de batatas de lotes diferentes, onde foi estabelecido uma amostra controle sem a adição do ácido. A metodologia foi a mesma do teste anterior. Os resultados obtidos são semelhantes aos verificados com a aplicação do HCl, enfatizando assim, uma degradação acelerada, acompanhada de um decréscimo na produção de ACM (RYDBERG *et al.*, 2003).

Tabela 5: Efeitos da adição de ácido cítrico sobre o teor^a de acrilamida em amostras de batatas^b (Cv. Rosor) aquecidas em forno a 180 ° C por 25 min

Adição na amostra	Quantidade adicionada (mmol/kg)	pH mensurado	Teor de Acrilamida (µg/kg)
Nenhuma (controle)	-	5.75	275
Ácido cítrico	6.5 (0.125) ^c	5.61	225
	26 (0.500)	5.24	180
	104 (2.00)	4.54	149

^a Corrigido para perda de peso. ^b Batata homogeneizada (amostras individuais). ^c Porcentagem do peso úmido é dado em parênteses

Fonte: adaptado de: Rydberg *et al.*, 2003

Contudo, cabe ressaltar que os ensaios executados utilizando ácidos mostraram-se realmente eficazes para a redução da taxa de ACM, entretanto não esclareceram alterações em relação às características organolépticas das batatas testadas.

Amrein *et al.* (2007) também testou esta metodologia para fins da redução do pH, adicionando ácidos tartárico ou cítrico em associação com bicarbonato de sódio (NaHCO_3) nas massas de certos produtos de padarias, como biscoitos doces de gengibre e biscoitos semiacabados. O experimento com biscoitos de gengibre foi realizado em baixa escala, adicionando ácido cítrico à massa. Foi constatado que a concentração dos níveis de ACM reduziu consideravelmente em relação ao aumento da adição de ácido cítrico. Todavia, alterações foram perceptíveis quanto ao sabor ácido e um escurecimento insatisfatório do biscoito de gengibre.

Já o experimento com biscoitos semiacabados foi feito em escala industrial num lote total de 400 kg, adicionando outro ácido orgânico conhecido como ácido tartárico. Por conseguinte, resultados semelhantes foram constatados havendo uma redução de 30 – 40% nos níveis de ACM, além de mudanças nas características sensoriais, quanto ao sabor e à textura do biscoito (AMREIN *et al.*, 2007; GRAF *et al.*, 2006).

Em vista disso, a aplicabilidade de ácidos orgânicos nos experimentos citados, com o propósito de reduzir a formação da ACM, é bastante eficaz. No entanto, o acréscimo moderado de ácido cítrico superior a 250 g/100 kg provocou modificações nítidas nas características sensoriais dos alimentos, mesmo resultando na redução da ACM (AMREIN *et al.*, 2007).

Seleção de matérias-primas

Os principais precursores da ACM, a asparagina e açúcares redutores, estão presentes em muitos ingredientes utilizados para o preparo de certos alimentos, como biscoitos e pães. Assim sendo, alguns métodos de redução são baseados na seleção e substituição de matérias-primas que contenham concentrações mais baixas desses precursores, de tal forma que as características sensoriais e nutricionais dos alimentos não sejam afetadas (SERÔDIO, 2015).

Vários produtos de confeitaria são consumidos por milhares de pessoas ao redor do mundo, como pães, biscoitos e bolachas. Estes possuem como base de suas receitas a farinha, sendo a principal fonte de asparagina livre. Contudo, o nível desse aminoácido livre pode variar de acordo com o tipo de farinha. Em Amrein *et al.* (2007),

foi investigada a concentração dos principais aminoácidos livres em 75 amostras de farinhas de diferentes variedades, empregados em produtos de confeitaria na Suíça. Foi concluído que 20% do total de aminoácidos livres eram compostos por asparagina. Além disso, foi possível determinar que as amostras de farinhas de trigo continham as menores concentrações de asparagina livre (40-60 mg/kg) em comparação com as farinhas integrais de graham (250-350 mg/kg) e de espelta (150-400 mg/kg). As maiores concentrações de asparagina foram constatadas em farinha integral de centeio (600-800 mg/kg) (AMREIN *et al.*, 2007).

É evidente que as farinhas integrais dispõem de qualidades nutricionais, como importante fonte de fibras e proteínas, porém contém em sua composição altas concentrações de asparagina em comparação com a farinha de trigo. Além disso, Serôdio (2015), em um estudo com bolachas, concluiu que a base de farinha de trigo continha menores concentrações de ACM também em relação as que eram feitas com farinha de aveia.

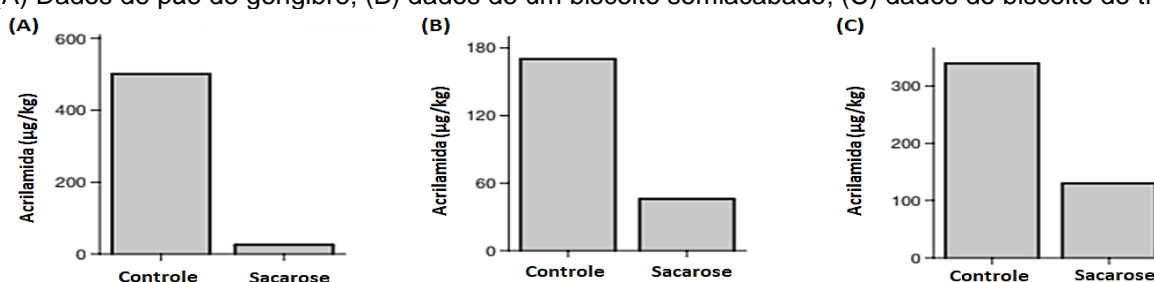
Em relação aos ingredientes de cozimento levedantes, muito utilizados na fabricação de produtos de confeitaria, são importantes agentes no processo de produção da ACM. O bicarbonato de amônio (NH_4HCO_3) tem efeito promotor maior na formação da ACM, em comparação com o bicarbonato de sódio (NaHCO_3) (AMREIN *et al.*, 2006). Isso se deve ao fato de NH_4HCO_3 produzir mais dicarbonilas por meio da fragmentação de glicose e frutose. Esses fragmentos de açúcar, incluindo o glioxal formado a partir da glicose, gliceraldeído e outros, em reação com o aminoácido livre asparagina, produzem ainda mais ACM. Em biscoitos de gengibre, a substituição de NH_4HCO_3 por NaHCO_3 diminuiu em mais de 60% os níveis de ACM (AMREIN *et al.*, 2004). Além disso, foi verificado que a combinação do NaHCO_3 com ácido tartárico no preparo de biscoitos de gengibre causou um decréscimo de mais de 90% na produção da ACM (AMREIN *et al.*, 2007).

Do mesmo modo que a asparagina, os açúcares redutores, como glicose e frutose, também desempenham um papel relevante na formação da ACM. Esses açúcares estão presentes em diversos ingredientes, tais como mel, xarope de açúcar e corante de caramelo, que integram receitas de produtos doces de padaria (AMREIN *et al.*, 2004). Amrein *et al.* (2007) testaram a substituição desses ingredientes por uma solução de sacarose em biscoitos doces de gengibre, bolachas de trigo e biscoitos semi-acabados, uma vez em que a asparagina depende do tipo de açúcar redutor presente no alimento. Dessa maneira, foi verificado que houve uma diminuição de

mais de 90% na produção de ACM em biscoitos doces de gengibre com sacarose(A). No entanto, o processo de escurecimento desses biscoitos era inexistente, tornando sua qualidade padrão inaceitável. Em contrapartida, nos biscoitos semi-acabados, o nível de ACM foi reduzido em 70% e o escurecimento foi menor do que o do produto padrão, embora a qualidade tenha sido mantida (B). Similarmente, o efeito redutor nas bolachas de trigo foi constatado, apesar de o escurecimento não ter atingido a qualidade mínima exigida (C).

Gráfico 3: Efeito da substituição de açúcares redutores por soluções de sacarose em diferentes produtos de panificação

(A) Dados do pão de gengibre; (B) dados de um biscoito semiacabado; (C) dados do biscoito de trigo.



Fonte: adaptado de Amrein *et al.*, 2007

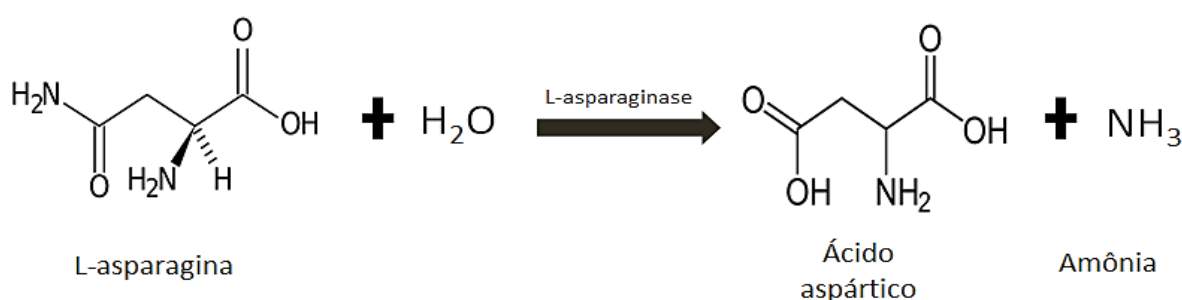
Asparaginase

A asparagina é um dos principais precursores envolvidos no mecanismo de formação da ACM, sendo assim, o seu controle é de extrema importância para a inibição desse composto (PEDRESCHI, MARIOTTI & GRANBY, 2014). Este aminoácido está presente na composição de muitos alimentos do dia-a-dia, incluindo vegetais, frutas, cereais, aves, peixes, ovos, carne bovina. Seus níveis podem variar de acordo com as condições de processamento, armazenamento e exposição ao calor (NERI, 2004). Dentre as estratégias empregadas, a que demonstra maior eficiência para a mitigação da ACM é a utilização da enzima L-asparaginase. Também conhecida como L-asparagina amido hidrolase, essa enzima é encontrada em diversos seres vivos, tais como fungos, leveduras, bactérias, plantas e vertebrados, possuindo grande aplicabilidade na terapêutica quimioterápica de alguns tipos de câncer e na indústria alimentícia (HOSAMANI & KALIWAL, 2011).

As enzimas manipuladas no setor industrial são provenientes de estirpes recombinantes de fungos *Aspergillus oryzae* *Aspergillus niger*. As asparaginases de *A. oryzae* são mais empregadas na indústria alimentícia, em virtude de seu elevado

desempenho (DIAS, 2016). Além disso, outro fator para a utilização desta enzima é por ela reduzir o nível de asparagina nos alimentos, limitando assim a formação de ACM, sem modificar as características nutricionais e sensoriais dos alimentos, especialmente o sabor e odor, assegurando sua qualidade (PEDRESCHI *et al.*, 2011; HENDRIKSEN *et al.*, 2009). O princípio da técnica consiste em utilizar a L-asparaginase para catalisar o aminoácido asparagina, convertendo-o em ácido aspártico e amônia pelo processo de hidrólise.

Figura 2: Esquema da reação de hidrólise do aminoácido asparagina em ácido aspártico e amônia, catalizada pela enzima L-asparaginase



Fonte: adaptado de Cândido, 2015

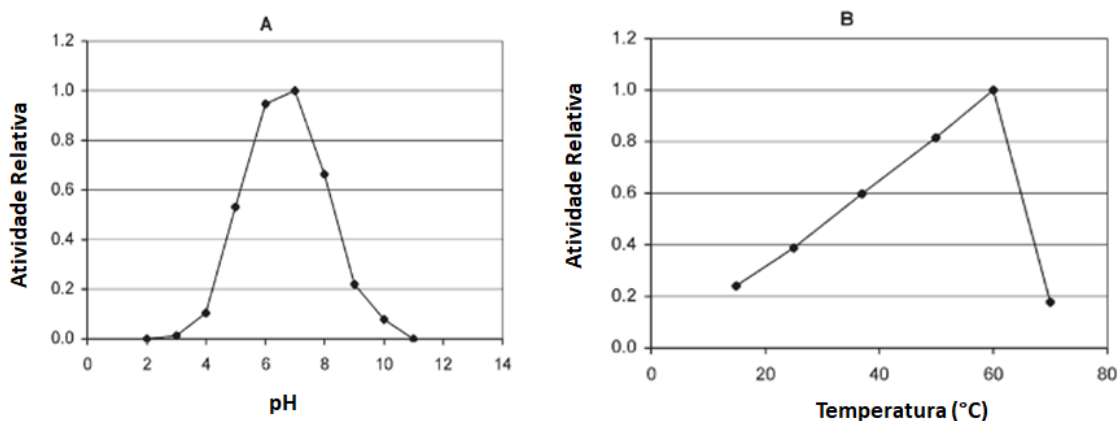
Em relação à aplicação dessa enzima em certos alimentos, há uma variação quanto à sua etapa de processamento. Nos produtos de panificação, como pão torrado, biscoitos de gengibre e biscoitos meio amargos, a adição da enzima asparaginase é realizada diretamente na massa, permanecendo por um determinado período de incubação à temperatura ambiente. Já em batatas fritas e batatas chips, por se tratarem de alimentos sólidos, a aplicação é feita por meio do método de branqueamento, antecedendo o processo de fritura (CÂNDIDO, 2015; HENDRIKSEN *et al.*, 2009; PEDRESCHI *et al.*, 2011).

Entretanto, por se tratar de uma enzima, diversos fatores podem influenciar sua função catalisadora, tais como dose, temperatura, pH e atividade de água do meio de ação. Hendriksen *et al.* (2009), em um de seus estudos, analisaram todas essas variáveis quanto ao potencial da L-asparaginase de *A. oryzae* para a redução da ACM. Tais condições foram testadas em uma variedade de produtos, incluindo batata-frita, pão torrado, biscoitos de gergelim, batatas chips e biscoitos meio amargos.

Hendriksen *et al.* (2009) verificaram a atividade ótima da enzima L-asparaginase de *A. oryzae* em relação ao pH e à temperatura. Dessa maneira, foi possível constatar a atividade ótima da enzima em pH = 7 e temperatura de 37°C (Gráfico 4). Quando

submetida a um aumento da temperatura, ela mostrou ser mais ativa a 60°C numa faixa de pH neutro (Gráfico 5).

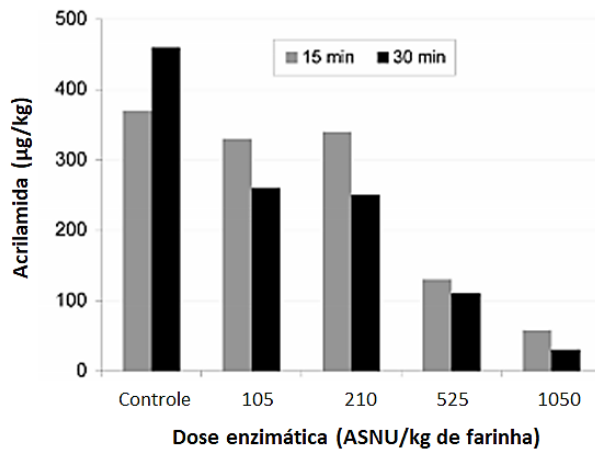
Gráficos 4 e 5: (A) pH do perfil de atividade a 37°C. As atividades são representadas em relação ao pH ótimo. (B) Perfil de atividade de temperatura em pH 7. As atividades são representadas em relação à temperatura ótima



Fonte: adaptado de Hendriksen *et al.*, 2009

Neste estudo, amostras de massas de biscoitos meio amargos foram testadas para verificação dos níveis de ACM em função da dose de enzima utilizada em um intervalo de repouso da massa (15 e 30 minutos). Nos controles foram detectados 370 µg e 470 µg de acordo com o tempo de repouso. As amostras tratadas com concentrações de asparaginase de 525 e 1050 ASNU/ kg de farinha, com intervalo de 15 minutos, tiveram uma redução nos níveis de ACM de 65% e 84%, respectivamente, comparadas com as amostras controle. Portanto, é notório que a redução de ACM nos biscoitos é resultado do aumento da quantidade de enzima, como pode ser observado no Gráfico 6 (HENDRIKSEN *et al.*, 2009). De acordo com a FAO (2007), ASNU é a unidade de medida para a dosagem de enzima, definida como a quantidade de asparaginase que produz 1 micromolar de amônia por minuto, sob as condições de ensaio de pH igual a 7 e temperatura de 37°C a 50°C.

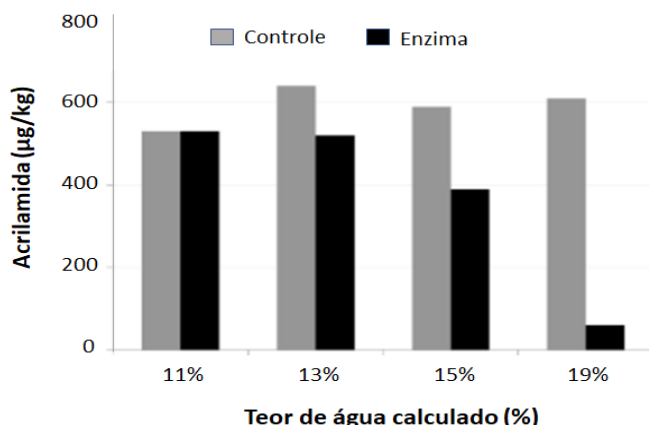
Gráfico 6: Níveis de acrilamida em biscoitos meio amargo em função do tempo de repouso da massa (40°C) e dose de asparaginase (os valores mostrados representam determinações únicas)



Fonte: adaptado de Hendriksen *et al.*, 2009

Além disso, com o objetivo de verificar a influência da atividade de água do meio em relação ao potencial de ação da enzima, amostras de biscoitos de gengibre, que são preparados com baixa quantidade de água, foram testadas quanto ao tratamento com asparaginase e variações no teor de água da massa. Os valores de ACM variaram de 530 a 640 µg/Kg nas amostras padrões. Já os biscoitos tratados com a enzima e numa concentração de 15% e 19% de água revelaram uma redução de 34% e 90%, respectivamente, nos níveis de ACM, como apresenta o Gráfico 6. Isto demonstra, que a baixa atividade de água da massa limita a difusão da enzima, causando uma hidrólise incompleta do substrato (asparagina) e, conseqüentemente, uma redução parcial na produção de ACM (HENDRIKSEN *et al.*, 2009; AMREIN *et al.*, 2007).

Gráfico 6: Níveis de ACM em biscoitos de gengibre feitos a partir de massas com várias concentrações de água, com e sem enzima. Dose fixa de asparaginase = 1000 ASNU / kg de farinha



Fonte: adaptado de Hendriksen *et al.*, 2009

Batatas fritas e batatas *chips* são alimentos bastante consumidos pela população brasileira e mundial, constituindo uma grande fonte de exposição à ACM. Nesses tubérculos, as taxas de açúcares redutores podem variar conforme a espécie, a idade, fatores agrônômicos, tempo e as condições de armazenamento. Muitos estudos relacionam os níveis de ACM com as concentrações de açúcares redutores encontrados nesses tipos de alimentos (CÂNDIDO, 2015; AMREIN *et al.*, 2007; XU *et al.*, 2014).

Devido ao fato de serem alimentos sólidos, nos quais o contato da enzima com o substrato é mais restrito, acabam exigindo um processo adicional de branqueamento térmico, associado ao tratamento com asparaginase, para a obtenção de resultados mais significativos quanto à redução da ACM. Contudo, a temperatura é um agente que deve ser levado em consideração quanto a atividade enzimática. Temperaturas altas e fora da zona ótima da enzima podem romper ligações fracas, como as dissulfeto e de hidrogênio, acarretando mudanças na conformação do sítio ativo, o que caracteriza a desnaturação enzimática (CÂNDIDO, 2015; HENDRIKSEN *et al.*, 2009; PEDRESCHI *et al.*, 2011).

Algumas estratégias foram desenvolvidas com o propósito de reduzir os precursores da ACM em batatas fritas, dentre elas o branqueamento. Esta técnica consiste em submeter o alimento, geralmente vegetais e frutas, a um tratamento térmico em água fervente, seguido de uma imersão em água fria, durante um curto período de tempo. Além disso, apresenta muitas vantagens a respeito da conservação dos alimentos, através da redução da carga microbiana e inativação de enzimas do

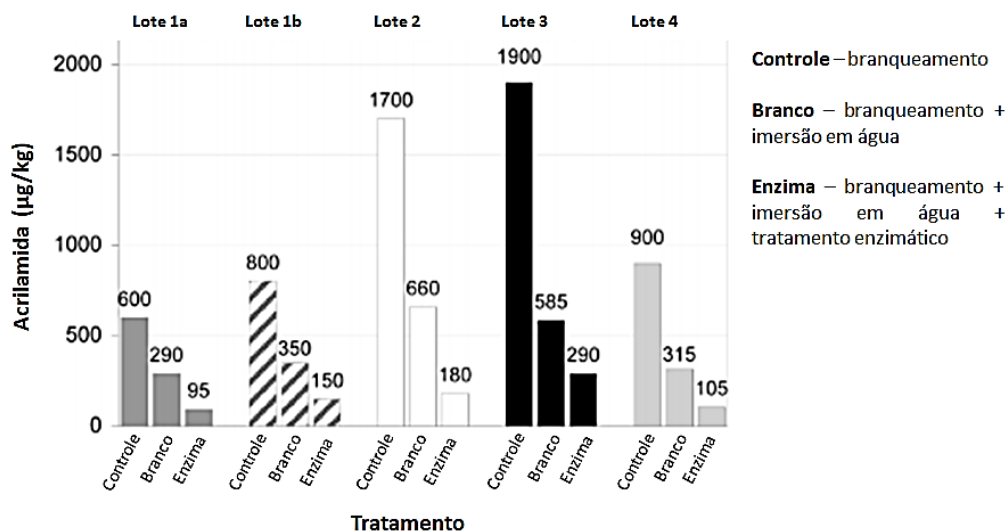
alimento, preservando assim suas características sensoriais e aumentando sua durabilidade (LEONARDI & AZEVEDO, 2018).

Sendo assim, Hendriksen *et al.* (2009) realizaram testes com batatas fritas de diferentes idades e condições de armazenamento e constataram que as amostras em branco, que passaram pelo processo de branqueamento, e em seguida permaneceram em imersão por 20 minutos em água, tiveram níveis de ACM que variaram entre 290 e 660 $\mu\text{g}/\text{Kg}$, chegando até 60% de redução nas taxas desse composto, comparadas às amostras controle. Isto evidencia que a técnica de branqueamento é bastante eficaz, pois inativa as enzimas da batata, permitindo a eliminação de parte dos açúcares redutores e asparagina. No entanto, esta técnica associada ao tratamento com asparaginase resultou em um decréscimo de 80-90% nos percentuais de ACM, como presente no Gráfico 7. (PEDRESCHI *et al.*, 2011; HENDRIKSEN *et al.*, 2009).

Para as batatas *chips*, a execução da técnica de branqueamento durante o processamento industrial é alternativa para este tipo de produto. As amostras de batatas chips que passaram somente pelo processo de branqueamento apresentaram níveis de ACM de 1750 $\mu\text{g}/\text{kg}$ e posteriormente, quando tratadas com asparaginase, esse valor caiu para 710 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Isso se deve ao fato, de que o branqueamento térmico é capaz de reduzir a integridade dos pedaços de batata, debilitando a parede celular e a membrana e potencializando o contato da enzima com o substrato. Portanto, tal técnica, seguida por imersão em solução enzimática, faz-se necessária para a conquista de resultados expressivos em relação à diminuição do aminoácido asparagina e conseqüente redução de ACM. (HENDRIKSEN *et al.*, 2009; PEDRESCHI *et al.*, 2011).

Gráfico 7: Níveis de acrilamida em batatas fritas feitas a partir de diferentes lotes de batatas

Os lotes variaram em relação à idade e condições de armazenamento. As batatas fritas eram feitas de tiras de batata descascadas embebidas em água (em branco) ou em solução enzimática (enzima) a 40°C por 20 min. Dose de asparaginase= 10500 ASNU / L de água. As amostras-controle foram tiras branqueadas que não tinham sido emergidas em água ou solução enzimática, mas foram secas logo após o branqueamento. Os lotes 1a e 1b são replicados feitos do mesmo lote, mas processados dentro de 2 dias. Para lotes 3 e 4 amostras duplicadas foram feitas, e os valores apresentados são médias, enquanto todos os outros valores representam determinações simples. O teor de umidade de todos os produtos finais foi de cerca de 50%.



Fonte: adaptado de Hendriksen *et al.*, 2009

Em síntese, tais testes confirmam que a enzima asparaginase de *A. oryzae*, dentre todas as estratégias citadas, é a mais promissora, pois é capaz de reduzir os níveis de ACM, sem modificar as características organolépticas dos alimentos (Tabela 6). Além disso, possui potencial para ser aplicada na receita de uma variedade de alimentos a nível industrial (HENDRIKSEN *et al.*, 2009). A aplicabilidade dessa enzima vem crescendo no cenário internacional, apesar do alto custo de obtenção. Empresas como a Novozymes têm comercializado a *Acrylaway*, produto líquido capaz de reduzir níveis consideráveis de ACM dos alimentos. Entretanto, Vass *et al.* (2004) obtiveram 85% de redução no teor de ACM empregando asparaginase de *E. coli* em biscoitos à base de farinha de trigo. Desse modo, caracterizando uma vertente mais econômica para a produção dessas enzimas, através de organismos geneticamente modificados (AMREIN *et al.*, 2007).

Tabela 6: Comparação das estratégias que podem ser empregadas para redução da ACM

Estratégias	Princípio	Características sensoriais
Adição de ácidos orgânicos	Tornar o meio acidificado, diminuindo assim a produção de ACM	Com alteração no sabor (biscoitos)
Seleção de matérias-primas	Matérias-primas com baixas concentrações de precursores, produzem níveis mais baixos de ACM	Com alteração no escurecimento (solução de sacarose)
Tratamento com Asparaginase	Catalisar o aminoácido asparagina, transformando-o em ácido aspártico e amônia pelo processo de hidrólise.	Sem alteração
Branqueamento térmico associado ao tratamento com Asparaginase	Redução inicial de parte dos precursores	Sem alteração

CONCLUSÃO

Com os dados obtidos nos estudos já realizados, tal qual os descritos no trabalho, é possível fazer uma correlação apropriada entre a metabolização da ACM em seres humanos e nos animais utilizados, uma vez que ambos compartilham semelhanças genéticas, biológicas e comportamentais. No entanto, mais estudos são necessários para compreender a associação entre o consumo da ACM e os riscos ocasionados após sua metabolização. A grande limitação de estudos toxicológicos referentes à ACM é que efeitos carcinogênicos normalmente possuem longos períodos de latência, o que dificulta atribuir o dano apenas a ela. Apesar disso, o teste de toxicidade crônica tem demonstrado resultados significativos. Faz-se necessário também esclarecer seu processo de formação durante o cozimento, as possibilidades de redução de sua formação e o estabelecimento de índices seguros entre a dose e o surgimento de efeitos adversos.

Pesquisas epidemiológicas sobre a exposição prolongada à substância, nas quais o nível de acrilamida ou metabólitos são medidos no decorrer de um tempo em um mesmo indivíduo, permitirão uma estimativa mais precisa para determinar a

correlação entre a exposição alimentar e o desenvolvimento dos malefícios demonstrados. A seleção de biomarcadores também é uma ferramenta interessante para a avaliação da exposição à substância química, a partir da interpretação de parâmetros biológicos. Estudos mais abrangentes no Brasil são de suma importância para averiguar as concentrações de acrilamida nos alimentos consumidos no país, além de também investigar a sua presença em outros alimentos além dos já testados.

Tendo em vista os princípios da toxicologia, seu aspecto mais importante é o preventivo, no qual padrões de segurança são estabelecidos na presença de conhecimentos sobre os riscos oferecidos por uma determinada substância. Tal medida previne intoxicações, determinando uma relação segura com o produto químico por extrapolação. Ademais, o consumidor precisa ser alertado sobre os riscos ao qual está exposto e para isso é fundamental a informação sobre as propriedades do alimento consumido, sendo explicitado em sua rotulação, como acontece com a indicação visual de alimentos transgênicos, que também geram debates científicos sobre evidências de sua carcinogenicidade. Os alimentos que contém ACM, como pães e biscoitos, estão presentes nas refeições diárias da população brasileira. A implementação de monitoramento da sua quantidade em alimentos, de metas de redução, de regras para a indústria alimentícia e o alerta da sua presença em rótulos são medidas primordiais, que devem ser adotadas para assegurar a qualidade da saúde da população.

REFERÊNCIAS

ABREU, E. S.; VIANA, I. C.; MORENO, R. B.; TORRES, E. A. F. S. **Alimentação mundial – uma reflexão sobre a história**. Saúde e Sociedade, São Paulo, v. 10, n. 2, p. 3-14, junho de 2001.

AMERICAN CYANAMID CO. **A fetal toxicity study of acrylamide in rats**. Office of Toxic Substances. U.S. Environmental Protection Agency, Washington, 1980.

AMREIN, T. M.; ANDRES, L.; ESCHER, F.; AMADÒ, R. **Occurrence of acrylamide in selected foods and mitigation options**. Food Additives & Contaminants, [Zurique], v. 24 (S1), p. 13-25, setembro, 2007.

AMREIN, T. M.; ANDRES, L.; MANZARDO, G. G. G.; AMADÒ, R. **Investigations on the Promoting Effect of Ammonium Hydrogencarbonate on the Formation of Acrylamide in Model Systems**. Journal of Agricultural and Food Chemistry, [Zurique], v. 54, n. 26, p. 10253-10261, dezembro, 2006.

AMREIN, T. M.; SCHÖNBÄCHLER, B.; ESCHER, F.; AMADÒ, R. **Acrylamide in Gingerbread: Critical Factors for Formation and Possible Ways for Reduction.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, [Zurique], v. 52, n. 13, p. 4282-4288, maio 2004.

ANVISA – AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **Acrilamida.** Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/resultado-de-busca?p_p_id=101&p_p_lifecycle=0&p_p_state=maximized&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_count=1&_101_struts_action=%2Fasset_publisher%2Fview_content&_101_assetEntryId=417391&_101_type=content&_101_groupId=33916&_101_urlTitle=acrilamida&inheritRedirect=true. Acesso em: 10 de fev. 2019.

ARISSETO, A. P.; TOLEDO, M. C. F. **Estimativa preliminar da ingestão de acrilamida no Brasil.** Revista Brasileira de Toxicologia, Campinas, v. 21, n. 1, p. 9-14, janeiro de 2008.

BERGMARK, E. **Hemoglobin Adducts of Acrylamide and Acrylonitrile in Laboratory Workers, Smokers and Nonsmokers.** Chemical Research in Toxicology, [Estocolmo], v. 10, n. 1, p. 78-84, janeiro de 1997.

BINOTI, M. L.; RAMOS, A. M. **Conservação de alimentos: uma visão mais saudável.** HU Revista, Juiz de Fora, v. 41, n. 3 e 4, p. 171-179, jul./dez. 2015.

BRANTNER, J. H.; DEARFIELD, K. L.; ALBERNATHY, C. O.; OTTLEY, M. S.; HAYES, P. F. **Acrylamide: its metabolism, developmental and reproductive effects, genotoxicity, and carcinogenicity.** Mutation Research, [Washington], v. 195, n. 1, p. 45-77, janeiro de 1988.

BRASIL. Presidência da República. **Decreto-Lei nº 986, de 21 de outubro de 1969.** Institui normas básicas sobre alimentos. Brasil, 1969.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade.** Portaria n. 2914, de 12 de dezembro de 2011.

CÂNDIDO, M. A. **Formação de acrilamida em alimentos processados e sua possível ação carcinogênica.** 2015. 44 p. Monografia (Bacharelado em Engenharia Química) - Escola de Engenharia de Lorena - USP, São Paulo, 2015.

COMISSÃO EUROPEIA. **2013/647/UE: Recomendação da Comissão relativa à investigação dos teores de acrilamida nos alimentos.** Jornal Oficial da União Europeia, Bruxelas, novembro de 2013.

DIAS, F. F. G. **Produção, caracterização bioquímica e aplicação de L-asparaginase fúngica.** 2016. 195 p. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos - UNICAMP, São Paulo, 2016.

DIONYSIO, R. B.; MEIRELLES, F. V. P. **Conservação de alimentos.** Sala de Leitura. [Rio de Janeiro], Pontifícia Universidade Católica, 2003.

EDWARDS, P.M. **The insensitivity of the developing rat fetus to the toxic effects of acrylamide.** *Chemico-Biological Interactions*, v. 12, p. 13-18, 1976.

EFSA - European Food Safety Authority. **Scientific Opinion on acrylamide in food EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM).** *EFSA Journal*, Parma, v. 13, n. 6, 321 p. abril de 2015.

ENCARNAÇÃO, R. O.; LIMA, D. R. **O café e a saúde humana.** Embrapa Café, 64 p. Brasília, abril de 2003.

ERIKSSON, S. **Acrylamide in food products: Identification, formation and analytical methodology.** 2005. 83 p. Tese (Doutorado em Ciências Ambientais) - Faculdade de Ciências - Universidade de Estocolmo, Estocolmo, 2005.

EUROPEAN COMMISSION. **Food Drink Europe Acrylamide Toolbox 2013.** [S. l.], janeiro de 2014.

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

FERNANDES, C. L. **Acrilamida em Bolachas: Otimização e Aplicação da Metodologia de Análise.** 2016. 71 p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia e Ciência Alimentar) - Faculdade de Ciências - Universidade do Porto, Porto, 2016.

FRIEDMAN, M. A.; DULAK, L. H.; STEDHAM, M. A. **A lifetime oncogenicity study in rats with acrylamide.** *Fundamental and Applied Toxicology*, USA, v. 27, n. 1, p. 95– 105, agosto de 1995.

FSA (United Kingdom Food Standards Agency). **Food Standards Agency study of acrylamide in foods: background information and research findings**, 2002.

GHANAYEM, B. I.; MCDANIEL, L. P.; CHURCHWELL, M. I.; TWADDLE, N. C.; SNYDER, R.; FENNELL, T. R.; DOERGE, D. R. **Role of CYP2E1 in the Epoxidation of Acrylamide to Glycidamide and Formation of DNA and Hemoglobin Adducts.** *Toxicological Sciences*, [Carolina do Norte], v. 88, n. 2, p. 311-318, setembro de 2005.

GRAF, M.; AMREIN, T. M.; GRAF, S.; SZALAY, R.; ESCHER, F.; AMADÒ, R. **Reducing the acrylamide content of a semi-finished biscuit on industrial scale.** *LWT*, [Zurique], v. 39, n. 7, p. 724-728, setembro de 2006.

HAMBLIN, D. O. **The toxicity of acrylamide — a preliminary report.** In: *Hommage Au Doyen Rene Fabre, Membre De 1'Institut, Professeur De Toxicologic A La Faculte De Pharmacie De Paris*, 159-199, S.E.D.E.S., Paris. 1956

HASHIMOTO, K.; ALDRIDGE, W. N. **Biochemical studies on acrylamide, a neurotoxic agent.** *Biochemical Pharmacology*, [Reino Unido], v. 19, n. 9, p. 2591-2604, setembro de 1986.

HASHIMOTO, K.; SAKAMOTO, J.; TANII, H. **Neurotoxicity of acrylamide and related compounds and their effects on male gonads in mice.** Archives of Toxicology, [Kanazawa], v. 47, n. 3, p. 179-189, junho de 1981.

HENDRIKSEN, H. V.; KORNBRUST, B. A.; ØSTERGAARD, 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, [Dinamarca], v. 57, n. 10, p. 4168-4176, abril de 2009.

HOSAMANI, R.; KALIWAL, B.B. **Isolation, molecular identification and optimization of fermentation parameters for the production of L-asparaginase, an anticancer agent by International *Fusarium equiseti*.** Journal of Microbiology Research, [Índia], v. 3, n. 2, p. 108-119, setembro de 2011.

IARC. **Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans - Some Chemicals Used in Plastics and Elastomers.** World Health Organization, v. 39, França, junho de 1986.

IARC. **Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans - Some Industrial Chemicals.** World Health Organization, v. 60. França, fevereiro de 1994.

IARC. **Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans - Red Meat and Processed Meat.** World Health Organization. v. 114. França, março de 2018.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009: Tabelas de Composição Nutricional dos Alimentos Consumidos no Brasil.** IBGE, Rio de Janeiro, 2011.

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, USA, v. 85, n. 2, p. 154–168, abril de 1986.

KERAMAT, J.; LEBAIL, A.; PROST, C.; SOLTANIZADEH, N. **Acrylamide in foods: Chemistry and analysis. A review.** Food and Bioprocess Technology, EUA, v. 4, n. 3, p. 340-363, abril de 2010.

LEONARDI, J. G.; AZEVEDO, B. M. **Métodos de Conservação de Alimentos.** Revista Saúde em Foco, [São Paulo], ed. 10, p. 51-61, 2018.

MCCOLLISTER, D. D.; OYEN, F.; ROWE, V. K. **Toxicology of acrylamide.** Toxicology and Applied Pharmacology, [Michigan], v. 6, n. 2, p. 172–181, março de 1964.

MENEZES, F. **Panorama atual da segurança alimentar no Brasil.** In: Encontro Nacional De Segurança Alimentar E Nutricional, São Paulo: Actionaid, novembro de 1998.

MONDINI, L.; MONTEIRO, C. A. **Mudanças no padrão de alimentação da população urbana brasileira (1962-1988).** Revista Saúde Pública, São Paulo, v. 28, n. 6, p. 433-439, dezembro de 1994.

MOTTRAM, D. S.; WEDZICHA, B. L.; DODSON, A. T. **Acrylamide is formed in the Maillard reaction.** Nature, Reino Unido, vol. 419, p. 448-449, outubro de 2002.

NALCO CHEMICAL CO. **Preliminary report of draft results from the F0 breeding and dominant lethal assay.** Office of Toxic Substances, U.S. Environmental Protection Agency, Washington, 1985.

NATIONAL TOXICOLOGY PROGRAM. **Report on carcinogens.** 14^a ed. Departamento de Saúde e Serviços Humanos, USA, 2016.

NERI, V. C. C. **Acrilamida em Alimentos: Formação Endógena e Riscos à Saúde.** 2004. 72 p. Dissertação (Mestrado em Vigilância Sanitária) - INCQS, Rio de Janeiro, 2004.

NTP (National Toxicology Program), NTP Technical Report on the Toxicology and Carcinogenesis. **Studies of glycidamide in F344/N Nctr rats and B6C3F1 mice (feed and drinking water studies).** NTP TR 588. National Institutes of Health. Public Health Service. U.S. Department of Health and Human Services. July 2012.

PEDRESCHI, F.; MARIOTTI, M. S.; GRANBY, K. **Current issues in dietary acrylamide: formation, mitigation and risk assessment.** Journal of the Science of Food and Agriculture, [Santiago], v. 94, n. 1, p. 9-20, setembro de 2014.

PEDRESCHI, F.; MARIOTTI, S.; GRANBY, K.; RISUM, J. **Acrylamide reduction in potato chips by using commercial asparaginase in combination with conventional blanching.** LWT - Food Science and Technology, [Santiago], v. 44, n. 6, p. 1473-1476, fevereiro de 2011.

REIS, L. S.; GONÇALVES, E. C. B. A.; MARIN, V. A. **O Perigo dos Alimentos Contendo Amido.** Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos, Curitiba, v. 32, n. 1, p. 151-161, jan./jun. 2014.

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, Suécia, v. 51, n. 24, p. 7012-7018, outubro de 2003.

SAKAMOTO, J.; HASHIMOTO, K. **Reproductive toxicity of acrylamide and related compounds in mice - effects on fertility and sperm morphology.** Archives of Toxicology, v. 59, p. 201-205, 1986.

SERÔDIO, A. P. F. **Acrilamida em bolachas: ocorrência, análise e estratégias de mitigação.** 2015. 90 p. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) - Universidade de Aveiro, Aveiro, 2015.

SHIBAO, J.; BASTOS, D. H. M. **Produtos da reação de Maillard em alimentos: implicações para a saúde.** Revista de Nutrição, [São Paulo], ano 2011, v. 24, n. 6, p. 895-904, nov./dez. 2011.

SHIRAISHI, Y. **Chromosome Aberrations Induced by Monomeric Acrylamide in Bone Marrow and Germ Cells of Mice.** Mutation Research, Kanazawa, v. 57, n. 2, p. 313-324, janeiro de 1978.

SOARES, C. M. D. **Determinação dos teores de acrilamida em alimentos.** 2006. 184 p. Dissertação de Mestrado - Faculdade de Farmácia - Universidade do Porto, Porto, 2006.

VASS, M.; AMREIN, T. M.; SCHÖNBÄCHLER, B.; ESCHER, F.; AMADÒ, R. **Ways to Reduce the Acrylamide Formation in Cracker Products.** Czech Journal of Food Sciences, Prague, v. 22, p. 19-21, 2004.

WEIDEBORG, M.; KÄLLQVIST, T.; ØDEGARD, K. E.; SVERDRUP, L. E.; VIK, E. A. **Environmental Risk Assessment of Acrylamide and Methyolacrylamide from a Grouting Agent Used in the Tunnel Construction of Romeriksporten, Norway.** Water Research, [Oslo], v. 35, n. 11, p. 2645-2652, agosto de 2001.

WHO - World Health Organization; FAO - Food and Agriculture Organization. **Health Implications of Acrylamide in Food.** WHO, Geneva, junho de 2002.

WRANGHAM, R.; CARMODY, R. **Human Adaptation to the Control of Fire.** Evolutionary Anthropology, [USA], v. 19, n. 5, p. 187–199, outubro de 2010.

XU, Y.; CUI, B.; RAN, R.; LIU, Y.; CHEN, H.; KAI, G.; SHI, J. **Risk assessment, formation, and mitigation of dietary acrylamide: Current status and future prospects.** Food and Chemical Toxicology, [China], v. 69, p. 1-12, abril de 2014.

ZENICK, H.; HOPE, E.; SMITH, M. K. **Reproductive toxicity associated with acrylamide treatment in male and female rats,** Journal of Toxicology and Environmental Health,[Ohio], v. 17, p. 457-472, 1986.

ZYZAK, D. V.; SANDERS, R. A.; STOJANOVIC, M.; TALLMADGE, D. H.; EBERHART, B. L.; EWALD, D. K.; GRUBER, D. C.; MORSCH, T. R.; STROTHERS, M. A.; RIZZI, G. P.; VILLAGRAN, M. D. **Acrylamide Formation Mechanism in Heated Foods.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, [Ohio], v. 51, p. 4782–4787, junho de 2003.