



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA

FACULDADE DE FARMÁCIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DE ALIMENTOS

**DETERMINAÇÃO DE ACRILAMIDA EM ACARAJÉS E BATATAS
FRITAS POR CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA AO
ESPECTRÔMETRO DE MASSAS (GC-MS) E SUA AVALIAÇÃO DE
RISCO PARA O CONSUMO HUMANO**

ANDRESSA DE OLIVEIRA CERQUEIRA

Salvador-BA

2019

ANDRESSA DE OLIVEIRA CERQUEIRA

**DETERMINAÇÃO DE ACRILAMIDA EM ACARAJÉS E BATATAS
FRITAS POR CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA AO
ESPECTRÔMETRO DE MASSAS (GC-MS) E SUA AVALIAÇÃO DE
RISCO PARA O CONSUMO HUMANO**

Dissertação apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. José Antônio Menezes Filho

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Carolina Oliveira de Souza

Salvador-BA

2019

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Universitário de Bibliotecas (SIBI/UFBA),
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Cerqueira, Andressa de Oliveira
DETERMINAÇÃO DE ACRILAMIDA EM ACARAJÉS E BATATAS
FRITAS POR CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADA AO
ESPECTRÔMETRO DE MASSAS (GC-MS) E SUA AVALIAÇÃO DE
RISCO PARA O CONSUMO HUMANO / Andressa de Oliveira
Cerqueira. -- SALVADOR, 2019.
82 f. : il

Orientadora: José Antônio Menezes Filho.
Coorientadora: Carolina Oliveira de Souza.
Dissertação (Mestrado - PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIA DE ALIMENTOS) -- Universidade Federal da
Bahia, UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA, 2019.

1. Acrilamida. 2. acarajé. 3. batata frita. 4. GC-
MS. 5. risco à saúde. I. Menezes Filho, José Antônio.
II. Souza, Carolina Oliveira de. III. Título.

TERMO DE APROVAÇÃO


ANDRESSA DE OLIVEIRA CERQUEIRA

**DETERMINAÇÃO DE ACRILAMIDA EM ACARAJÉS E BATATAS
FRITAS POR CROMATOGRÁFIA GASOSA ACOPLADA AO
ESPECTRÔMETRO DE MASSAS (GC-MS) E SUA AVALIAÇÃO DE
RISCO PARA O CONSUMO HUMANO**


Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos (nível Mestrado Acadêmico) da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para a obtenção do título de mestre em Ciência de Alimentos.

Aprovada em 25 de setembro de 2019.

BANCA EXAMINADORA


Dr. José Antônio Menezes Filho
Universidade Federal da Bahia
Orientador


Dr.ª Adriana Pavesi Ariseto Bragotto
Universidade Estadual de Campinas


Dr.ª Maria Eugênia de Oliveira Mamede
Universidade Federal da Bahia

*À minha mainha, Marcia,
gratidão eterna por ter
me feito o que sou, e por
ser meu farol nessa Terra.
Sempre será por você!*

AGRADECIMENTOS

À Deus pela sua presença constante em minha vida, por me dar forças e discernimento para conclusão desta etapa.

Aos meus pais, Marcia (*in memoriam*) e José Reis por todo esforço, incentivo e sustento nos caminhos da vida e o tão valorizado por vocês, da educação. Nenhum agradecimento será suficiente! “É, e sempre será pra você e por você, mainha!”

Agradeço aos meus familiares por todo incentivo, torcida e assistência durante o período do mestrado e, de forma mais do que especial, agradeço a Tia Lú, Tio Dindo, Lari e Ló; palavras jamais conseguirão expressar minha gratidão, muito obrigada por tudo! Ao meu irmão, Leonardo por toda ajuda e por sempre acreditar em mim, vislumbrando dias melhores. A minha irmã Carol e meu sobrinho Gabriel pela presença nesse período.

À André pelo seu companheirismo, por acreditar, ser fonte de motivação, participar efetivamente e incentivar sempre além. Mais uma vez a conquista também é sua, preto!

À Universidade Federal da Bahia, à Faculdade de Farmácia e ao Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos, pela oportunidade. Aos laboratórios LABTox, LAPAAC e LAPESCA por todo suporte ao longo da pesquisa.

Ao Prof. Dr. José Antônio Menezes Filho por sua orientação, recomendações e disponibilidade para esta pesquisa.

À Prof^a Dr^a Janice Izabel Druzian pela disponibilidade do laboratório, por seu apoio e suas contribuições ao longo da pesquisa.

À Prof^a Dr^a Eliete da Silva Bispo por seu acolhimento, contribuições e carinho.

À Prof^a Dr^a Carolina Oliveira de Souza pela imensa contribuição nesse trabalho, pela confiança depositada, pelos ensinamentos e também por ser sempre prestativa e disponível em todos os momentos. Fico muito grata e me sinto orgulhosa pela oportunidade de conviver com uma profissional tão competente. Obrigada por tanto!

Aos membros da banca examinadora pela disponibilidade e valiosas contribuições.

Aos parceiros de laboratório que tornaram a jornada diária mais leve: Jamille, Paulo Romano, Denilson, Karina, Izabel, Bianca, Saulo, Talles, Paulo Lemos, Jania e Lucas.

Ao sexteto formado: Thâmilla, Elba, Jéssica, Roberta e Pedro por se tornarem muito mais que colegas de turma, em especial Thâmilla e Elba, pela parceria nas 24h de bancada e além dela. Gratidão por ter conhecido vocês! Obrigada por tantos momentos incríveis!

Agradeço ainda a todos que ajudaram de alguma forma e que também torceram para que a realização deste trabalho fosse possível.

RESUMO

Diferentes metodologias são propostas para a identificação e quantificação de acrilamida (AA) em alimentos, subproduto potencialmente neurotóxico e carcinogênico formado entre aminoácidos e açúcares redutores na reação de Maillard. Desde a divulgação pela primeira vez em 2002 da relação de sua formação em alimentos que são submetidos a tratamento em altas temperaturas, uma gama de produtos, como café, cereais matinais, alimentos à base de batata e biscoitos já foi explorada. Entretanto, nenhum dado na literatura a respeito da ocorrência de AA em acarajés foi encontrado. Estudos com animais mostraram que a AA é rapidamente absorvida por todas as vias de exposição, sendo mais rápida por via digestiva. Dado o grau de periculosidade e toxicidade para o consumidor a sua detecção e quantificação é muito importante. Este trabalho propôs a adaptação de metodologias analíticas para a quantificação da AA em amostras de acarajé e batata frita e posterior avaliação do risco à saúde com base na ingestão destes alimentos. A d3-acrilamida, marcada isotopicamente, foi utilizada como padrão interno. O método envolveu a extração com isooctano e acetonitrila, seguido por concentração e derivatização com o xantidrol. A análise por cromatografia gasosa com espectrometria de massas (GC-MS) foi utilizada no modo de monitorização de íons seletivos. De acordo com as condições estabelecidas, os limites de detecção e quantificação foram de 3 e 10 µg/L, respectivamente. As recuperações variaram entre 98 a 104%. O método analítico proposto foi aplicado a dezoito amostras de acarajés comercializados na cidade de Salvador, Brasil e nove amostras de batatas fritas de três cadeias de *fast-food*. Os teores de AA variaram de 16,4 a 49,9 µg/kg nos acarajés dos diversos pontos de venda. Na batata frita, observamos diferença significativa nos teores de AA de acordo com a rede *fast-food*, com valor mínimo de 48,9 e máximo de 414,0 µg/kg. A preocupação à saúde foi estimada para um consumo de AA superior a 1 µg/kg pc por dia, sendo traduzido em valor MOE de 10.000 de acordo com EFSA (2015). Assim, o consumo de uma porção de batata frita com alto teor de AA como observado neste estudo, pode representar um risco carcinogênico (MOE 1866). Por outro lado, o consumo exagerado de acarajé, três ou mais unidades por semana também pode estar associado a este risco em longo prazo. É importante que mais amostras e outros tipos de alimentos sejam investigados, para que assim futuramente a contribuição da acrilamida na dieta total possa ser calculada e conseqüentemente os possíveis riscos à saúde para a população brasileira relacionados à exposição dietética deste contaminante possam ser avaliados.

Palavras-chave: Acrilamida, acarajé, batata frita, CG-MS, risco à saúde.

ABSTRACT

Different methodologies are proposed for the identification and quantification of acrylamide (AA) in food, a potentially neurotoxic and carcinogenic byproduct formed between amino acids and reducing sugars in the Maillard reaction. Since the first release in 2002 of the relationship of its formation in foods that undergo high temperature treatment, a range of products such as coffee, breakfast cereals, potato-based foods and cookies has been explored. However, no data in the literature regarding the occurrence of AA in acarajés were found. Animal studies have shown that AA is rapidly absorbed by all exposure routes and is faster digestive. Given the degree of hazard and toxicity to the consumer, its detection and quantification is very important. This work proposed the adaptation of analytical methodologies for the quantification of AA in acarajé and chips samples and subsequent health hazard assessment based on the intake of these foods. Isotopically labeled d3-acrylamide was used as the internal standard. The method involved extraction with isooctane and acetonitrile, followed by concentration and derivatization with xanthidol. Gas chromatographic analysis with mass spectrometry (GC-MS) was used in selective ion monitoring mode. According to the established conditions, the detection and quantification limits were 3 and 10 µg/L, respectively. The recoveries ranged from 98 to 104%. The proposed analytical method was applied to eighteen samples of acarajés sold in the city of Salvador, Brazil and nine samples of chips from three fast food chains. AA contents ranged from 16.4 to 49.9 µg/kg in the acarajés of the various points of sale. In potato chips, we observed a significant difference in AA levels according to the fast food network, with a minimum value of 48.9 and a maximum of 414.0 µg/kg. Health concern has been estimated for an AA intake of more than 1 µg/kg bw per day, and translated into an EOM of 10,000 according to EFSA (2015). Thus, the consumption of a portion of high AA content potato chips as observed in this study may represent a carcinogenic risk (MOE 1866). On the other hand, excessive acarajé consumption, three or more units per week may also be associated with this long-term risk. It is important that more samples and other types of food be investigated so that in the future the contribution of acrylamide to the total diet can be calculated and consequently the possible health risks to the Brazilian population related to the dietary exposure of this contaminant.

Keywords: Acrylamide, acarajé, chips, CG-MS, health hazard.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA - Acrilamida

ALARA - Tão baixo quanto razoavelmente possível

EFSA - European Food Safety Authority/Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar

EXT - Extração

FAO - Food and Agriculture Organization/Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação

FDA - Food and Drug Administration

GA - Glicidamida

GC - Cromatografia gasosa

HPLC - High Performance Liquid Chromatography/Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

IARC - Agência Internacional para Pesquisa sobre Câncer

IUPAC - International Union of Pure and Applied Chemistry/União Internacional de Química Pura e Aplicada

JEFCA - Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives/Comité Misto de Peritos da FAO/OMS em aditivos alimentares

LC - Cromatografia Líquida

OEHHA - California Office of Environmental Health Hazard Assessment/ Escritório de Avaliação de Perigo para a Saúde Ambiental

OMS - Organização Mundial da Saúde

MOE - Margem de exposição

MS - Espectro de massas

NIST - National Institute of Standards and Technology

NOAEL - No Observed Adverse Effect Level / Nível de Efeito Adverso não Observado

PI – Padrão interno

RSD - Desvio padrão relativo

EU - União Europeia

WHO - World Health Organization / Organização Mundial de Saúde

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1. Estrutura molecular da acrilamida.	20
Figura 2. Amostras de batatas fritas de diferentes redes de <i>fast-food</i> de Salvador, BA.	26
Figura 3. Amostras de acarajé de diferentes locais de comercialização de Salvador, BA.	27
Figura 4. Acarajé com acompanhamentos	27
Figura 5. Gráfico 1. Composição centesimal do acarajé.	28

CAPÍTULO II

Figura 1. Cromatograma de íons totais (SIR) e cromatogramas de xantil-acrilamida e xantil-d3-acrilamida (P.I.) (Tr. 17, 87) em amostra de batata frita.	58
Figura 2. Visão geral do princípio de derivatização com xantidrol.	58
Figura 3 A. Espectro de massas de acrilamida.	60
Figura 3 B. Espectro de massas de d3-acrilamida.	61
Figura 4 A. Cromatogramas SIR de amostras de batatas fritas analisadas.	62
Figura 4 B. Cromatogramas SIR de amostras de acarajés analisados	62
Figura 5. Avaliação das curvas analíticas e equações resultantes	65
Figura 6. O gráfico de caixas mostra a distribuição dos teores de Acrilamida em batatas fritas por rede de <i>fast-food</i> (a) e em acarajés por local de comercialização (b).	68

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

- Tabela 1.** Teores de acrilamida em diferentes alimentos. 24
- Tabela 2.** Diferentes metodologias analíticas para determinação de AA. 29

CAPÍTULO II

- Tabela 1.** Peso médio (n=3) das amostras de batata frita e acarajé por origem (rede *fast-food* ou local de comercialização, respectivamente). 53
- Tabela 2.** Percentual de consumo de acarajés em relação à frequência. 54
- Tabela 3.** Resultados quantitativos de acrilamida em amostras acarajés e batatas fritas. 63
- Tabela 4.** Teores médios (n=3), DP, mínimo e máximo de AA ($\mu\text{g}/\text{kg}$), nas amostras de batatas fritas por redes de *fast-food* (FF) e acarajés por local de comercialização em Salvador, Bahia. 67
- Tabela 5.** Cenários de exposição para avaliação de risco de ingestão de AA. 70

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	15
2.OBJETIVOS	17
2.1.Objetivo Geral	17
2.2.Objetivos Específicos	17
CAPÍTULO I	18
3.REVISÃO DE LITERATURA	19
3.1. Acrilamida	19
3.2. Aspectos toxicológicos da acrilamida	20
3.2.1. Absorção e distribuição	21
3.2.2. Carcinogenicidade	21
3.2.3. Risco associado à exposição à acrilamida	22
3.3. Acrilamida em alimentos	23
3.3.1. Alimentos alvos do estudo	24
3.3.1.1 Batatas fritas	24
3.3.1.2 Acarajés	26
3.4. Métodos analíticos para a determinação de acrilamida em alimentos	28
3.4.1. Determinação cromatográfica	30
3.4.2. Extração e derivatização	30
3.5. Avaliação de risco	31
4. CONSIDERAÇÕES	34
REFERÊNCIAS	35
CAPÍTULO II	42
RESUMO	43
1. INTRODUÇÃO	44
2. MATERIAL E MÉTODOS	49
2.1. Reagentes e Equipamentos	49
2.2. Preparo de soluções	50
2.2.1. Elaboração da curva analítica	50
2.3. Tratamento das amostras	51
2.4. Condições operacionais (GC-MS)	52
2.5. Amostragem	53
2.6. Avaliação de risco do consumo de batatas fritas e acarajés	53
2.6.1 Margem de exposição	55
	13

2.7. Análise estatística	56
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
3.1. Escolha e compilação do método	57
3.2. Derivatização	58
3.3. Detecção por cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (GC-MS)	59
3.4. Validação do método analítico	62
3.4.1. Linearidade	63
3.4.1.1. Efeito matriz	64
3.4.2. Precisão (repetibilidade)	65
3.4.3. Limite de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ)	66
3.4.4. Recuperação	66
3.5. Aplicação do método em amostras de batatas fritas e acarajés	66
3.6. Avaliação de risco de consumo de alimentos com AA	69
4. Conclusões	71
CONFLITOS DE INTERESSE	72
AGRADECIMENTOS	72
REFERÊNCIAS	73
CONSIDERAÇÕES FINAIS	80
ANEXO A	81
ANEXO B	82

1. INTRODUÇÃO

Durante a produção de alimentos, podem ser formados compostos que causam efeitos carcinogênicos, mutagênicos e neurotóxicos. Um desses compostos é a acrilamida (AA) que desperta preocupação por autoridades públicas em todo o mundo (ZHANG et al., 2005; FRIEDMAN, 2003).

Descoberta a relativamente pouco tempo em alimentos por cientistas da Suécia (SNFA, 2002), a AA é produzida principalmente em produtos de batata e cereais submetidos a temperaturas acima de 120 °C (PORTO et al., 2015). A AA é um dos produtos da reação de Maillard entre a asparagina e os açúcares redutores (principalmente glicose e frutose).

A maioria dos estudos realiza a quantificação da acrilamida através de técnicas cromatográficas, como a cromatografia líquida e cromatografia gasosa. A grande diferença entre os dois métodos está no fato da análise por cromatografia gasosa necessitar de uma derivatização prévia do composto, enquanto que a semelhança consiste em ambas as técnicas utilizar de detectores de massa (SOARES et al., 2006). A utilização da espectrometria de massas se justifica pela complexidade das matrizes analisadas (alimentos) e pelos elevados níveis de sensibilidade exigidos.

Apesar de muitos países divulgarem pesquisas relacionadas aos níveis de AA em seus alimentos, ainda não há nenhum dado sobre a ocorrência deste contaminante em acarajés, alimento amplamente consumido no Brasil. Desta forma, esta pesquisa teve como objetivo principal investigar os níveis de acrilamida em alimentos que fazem parte da dieta da população brasileira (batatas fritas e acarajés), utilizando-se de método analítico adaptado e validado previamente. A partir dos níveis de ocorrência de AA obtidos no presente estudo e de dados de consumo dos alimentos analisados, uma avaliação de risco foi realizada para se estimar a ingestão deste contaminante. Espera-se que as informações

geradas nesta pesquisa possam contribuir para resoluções dos problemas gerados pela ingestão de AA nos mais diversos alimentos.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

O objetivo do presente estudo foi determinar o teor de acrilamida em acarajés e batatas fritas comercializados na cidade de Salvador, Bahia.

2.2. Objetivos Específicos

- Validar metodologia analítica por cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas;
- Determinar o teor de acrilamida em amostras de acarajés de diferentes bairros da cidade de Salvador;
- Determinar o teor de acrilamida em amostras de batata fritas de três diferentes redes de *fast-food* da cidade de Salvador;
- Proceder a avaliação de risco para o consumo humano da ingestão de acrilamida em acarajés e batatas fritas.

CAPÍTULO I

REVISÃO DE LITERATURA

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. Acrilamida

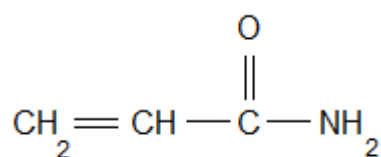
Denominada cientificamente pela União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC) como Prop-2-enamida, a acrilamida (AA) é um composto orgânico, sólido, incolor, inodoro e altamente solúvel em água e em outros solventes polares (ESPOSITO et al., 2017). Com fórmula estrutural C_3H_5NO (Figura 1) e massa molecular de 71,09 g/mol (CAS N.79-06-1) dá origem à poliacrilamida no ponto de fusão ou sob luz ultravioleta (HU et al., 2015). As poliacrilamidas são usadas na produção de géis para eletroforese e para clarificar e purificar água potável e esgoto. A acrilamida também é usada na construção de fundações para barragens e túneis (WHO, 2002)

Durante a construção de um túnel para ferrovia na Suécia um gel selante, que continha acrilamida em sua composição, foi utilizado para conter vazamentos, porém a grande mortandade de peixes e animais que consumiam a água próximos ao local da construção chamou a atenção de ambientalistas. Com relatos de sinais clínicos, como dormência e formigamento em membros inferiores e superiores, os trabalhadores da construção expostos foram submetidos a análises sanguíneas. Entretanto os resultados das análises sanguíneas chamaram atenção porque foram encontrados também, níveis elevados de adutos de acrilamida ligados à hemoglobina em pessoas participantes do grupo controle. Após eliminar as fontes de exposição já conhecidas, os pesquisadores realizaram estudos experimentais utilizando diferentes dietas em ratos e descobriram que os animais alimentados com dieta submetida à fritura apresentavam níveis elevados de acrilamida no sangue (TEREKE et al., 2002; REYNOLDS et al., 2002).

A exposição prolongada induziu tumores em ratos e a Agência Internacional para Pesquisa sobre Câncer (IARC) classificou a acrilamida no Grupo 2A, como "provável

cancerígeno para os seres humanos" (IARC, 1999). Como consequência, muitas pesquisas para analisar a presença de acrilamida em diversos tipos de alimentos processados a altas temperaturas foram iniciadas, e significativos progressos já foram obtidos. Diferentes metodologias analíticas foram desenvolvidas e validadas, viabilizando a determinação do teor de acrilamida nos alimentos, em níveis de concentração cada vez menores (ARISSETO et al., 2008).

Figura 1- Estrutura molecular da acrilamida.



Fonte: A autora.

Na sequência destas descobertas, foi demonstrado em 2002 que a formação da acrilamida pode ser através da reação de Maillard com aminoácidos (por exemplo, asparagina) e açúcares redutores (por exemplo, glucose e frutose) (MOTTRAM et al., 2002; STADLER et al., 2002). A acrilamida também pode ser formada a partir dos triacilglicerídeos quando sujeitos a altas temperaturas, o que se torna importante em alimentos fritos (ZHANG et al., 2007)

3.2. Aspectos toxicológicos da acrilamida

A AA teve o seu potencial tóxico confirmado nos resultados da primeira avaliação de risco em 2005, pelo Comitê de Especialistas em Aditivos Alimentares da FAO/OMS (JECFA) (ARISSETO et al., 2006). A exposição à acrilamida pode ocorrer no local de trabalho ou no ambiente após sua liberação para o ar, água, solo, ou água subterrânea e pode penetrar no organismo pela via respiratória, através do consumo de alimentos ou água contaminados (SOARES et al., 2006). Outras fontes de exposição à acrilamida são os

cosméticos, os materiais de embalagem dos alimentos ou o fumo do cigarro (ativo e passivo) (MATTHYS et al., 2005).

O potencial toxicológico deste contaminante em alimentos está relacionado não somente presença de seus precursores, aminoácidos e açúcares redutores, mas também com as concentrações desses compostos na matéria-prima, que podem variar significativamente entre diferentes espécies, as práticas de cultivo e o processamento (BORÉM et al., 2009).

3.2.1. Absorção e distribuição

Dados sobre envenenamentos ou exposição ocupacional acidental disponíveis na literatura revelam que a AA é rapidamente absorvida através das vias respiratória, oral e dérmica (SUMNER et al., 2003). Em estudos com animais, verificou-se que a AA é absorvida por todas as vias de exposição, sendo mais rápida por via oral. Após a exposição, a AA e a glicidamida (GA, seu principal metabólito) são metabolizadas e distribuídas por todos os tecidos do corpo (WHO, 2002b).

As propriedades da molécula de AA possibilitam a sua rápida distribuição pelos tecidos corporais (DOERGE et al, 2005a; 2005b) e seu metabolismo segue principalmente duas rotas: a epoxidação e a conjugação com a glutatona. A AA é biotransformada *in vivo* ao epóxido GA (GHANAYEM et al, 2005)

A GA é muito mais reativa com o DNA do que a AA. Já com a hemoglobina, AA e GA podem se ligar covalentemente aos aminoácidos da proteína do sangue para formar adutos (FAO/WHO, 2005).

3.2.2. Carcinogenicidade

Conforme classificação da IARC, grupo 2A, a partir de resultados positivos de experimentos com roedores e suportada pela evidência de que a acrilamida é metabolizada

nos mamíferos gerando a GA (um epóxido reativo) os possíveis efeitos carcinogênicos foram testados em dois experimentos. Tais experimentos, de longa duração, com ratos foram realizados por meio da administração de doses de até 3 mg de acrilamida/kg pc/dia na água, durante até dois anos de estudo. Foi verificado um aumento significativo na incidência de vários tipos de tumores nos animais experimentais de ambos os sexos quando comparados ao grupo controle (JOHNSON et al., 1986; FRIEDMAN et al., 1995; BESARATINIA et al., 2007). Estudos de curta duração em camundongos que receberam de 0 até 60 mg/kg pc de acrilamida na água, três vezes por semana, durante oito semanas, também mostraram um aumento significativo do número de adenomas no pulmão e do número de animais que apresentaram os adenomas, proporcional à dose administrada (BULL et al., 1984).

Segundo Rice (2005) a AA é um carcinogênico multiorgânico nos ratos, já que a ocorrência de tumores na tireóide, mama, pulmões e cérebro foi observada; o que implica fortemente na potencialidade carcinogênica da AA em humanos.

Pelucchi e colaboradores (2006) realizaram um estudo de caso-controle com pessoas hospitalizadas na Suíça e Itália, com o objetivo de examinarem a influência da acrilamida alimentar na ocorrência de tumores em vários órgãos: cavidade oral/faringe, laringe, esôfago, cólon/recto, mama, ovários e próstata. Os autores não encontraram uma associação positiva entre o consumo de acrilamida e a tumorigênese.

3.2.3. Risco associado à exposição à acrilamida

A acrilamida pode ser encontrada no ambiente, em cosméticos e fumo de tabaco (DELATOUR et al., 2004; XU et al., 2014) e apesar de estar presente em várias situações, o que tem causado maior preocupação é a sua ocorrência em alimentos, já que segundo a

Agência Europeia para a Segurança Alimentar (EFSA), cerca de 40% dos alimentos consumidos atualmente contêm acrilamida (XU et al., 2014).

Por não haver até ao momento legislação que regule os limites máximos de AA e devido ao potencial tóxico deste contaminante, a fim de conhecer os riscos que a sua ingestão através de alimentos poderia representar para a saúde humana, os resultados da avaliação de risco realizada pelo Comitê de Especialistas em Aditivos Alimentares da FAO/OMS (JECFA), que confirmaram o potencial tóxico da AA, são utilizados como base para resoluções de questões relativas à saúde pública (ARISSETO et al, 2006).

3.3.Acrilamida em alimentos

Conforme relata Arisseto e colaboradores (2006) a Agência Nacional de Alimentos da Suécia foi o primeiro órgão a realizar um estudo sobre a determinação de acrilamida em produtos alimentícios. Após a confirmação da presença do contaminante em diferentes níveis e em muitos alimentos processados termicamente, outras pesquisas em outros países começaram a ser realizadas e tais resultados evidenciaram que produtos à base de batata, ricos em hidratos de carbono (principalmente batatas fritas), torradas, biscoitos e café, apresentaram os maiores teores de AA. As quantidades de acrilamida em diversas categorias de alimentos estão resumidas na Tabela 1.

A variação do conteúdo de acrilamida nos diferentes produtos alimentares encontra-se relacionada com a composição química das matérias-primas, acondicionamento e métodos de preparo. O teor de acrilamida em alguns alimentos crus ou cozinhados costuma ser menor ou até inexistente (TAREKE et al., 2002). O potencial de formação de acrilamida está fortemente relacionado com a glicose e teor de frutose (PEDRESCHI et al., 2006; CURTIS et al., 2010), A concentração de asparagina livre é o principal limitante da formação de acrilamida nos produtos de cereais (AMREIN, 2005; CLAUS et al., 2008) e os

açúcares redutores são os principais fatores limitantes em batatas (SANNY et al., 2012; HAMLET et al., 2008). Vários fatores afetam a velocidade de formação da acrilamida oriunda da aspargina e de açúcares redutores, em que pode-se salientar a concentração dos reagentes e a razão entre eles, bem como, o pH, temperatura e o conteúdo em água (GOMES et al., 2016).

Tabela 1: Teores de acrilamida em diferentes alimentos. Adaptado de Krishnakumar e Visvanathan (2014).

Produto	Teor de acrilamida (µg/kg)
Produtos de panificação e biscoitos	18 - 3324
Pães	<10 - 3200
Cereais matinais	<10 - 1649
Produtos de chocolate	<2 - 826
Batatas fritas	59 - 5200
Carnes	<10 - 116
Batatas (cruas)	<10 - 50
Café torrado	45 - 9359

3.3.1. Alimentos alvos deste estudo

3.3.1.1. Batata frita

Segundo a FAO (2008) a batata (*Solanum tuberosum*) possui uma composição média de 75% de água, 20% de amido, 2,5% de proteína, 1,8% de fibra e 0,15% de ácidos graxos. O amido representa 65 a 80% do conteúdo de matéria seca, o seu mais importante componente nutricional, do ponto de vista calórico. O amido da batata é constituído por 21% de amilose, 75% de amilopectina, 0,1% de proteína e 0,08% de fósforo. Os açúcares predominantes são a glicose e a frutose (0,3 a 4%) assim como a sacarose (0,1 a 12%) (PEDRESCHI et al., 2009). A batata contém cerca de 1 a 3% de compostos nitrogenados, dos quais 35 a 80% correspondem a proteínas, sendo a parte restante constituída por aminoácidos livres, péptidos e outros compostos. Na sua maioria, a fração proteica consiste

em enzimas e a sua presença é importante na formação de compostos aromáticos (BELITZ et al., 2004).

Para aumentar sua digestibilidade, as batatas são consumidas após o cozimento, assando, fritando, entre outros (DECKER & FERRUZZI, 2013). De acordo com a EFSA, as batatas processadas (fritas, Figura 2) juntamente com alimentos à base de cereais, são as principais fontes de exposição acrilamida na dieta de adultos (EFSA, 2014). As práticas agronômicas, métodos de armazenamento pós-colheita e variedades de batata influenciam a composição da mesma, e o método de cozimento determina os nutrientes que continuarão disponíveis aos consumidores. (SANTOS et al., 2018)

Como mencionado por Soares e colaboradores (2018) fritar está entre os métodos de cozimento mais populares do mundo e para o consumo das batatas fritas, como o próprio nome já elucida, é necessário a realização da etapa de fritura. Existem dois tipos de processo de fritura por imersão: a contínua e a descontínua. Na fritura por imersão de forma contínua, o alimento é frito em uma só etapa, ou seja, o óleo é continuamente aquecido. Este tipo de fritura é amplamente utilizado pelo mercado industrial de batatas, para o processamento daquelas vendidas pré-fritas. O processo da fritura das batatas em redes de *fast-food* acontece de forma descontínua, ou seja, o óleo é aquecido repetidas vezes; aquecido para fritar determinada porção, resfriado e reaquecido posteriormente para o preparo das porções seguintes (ALMEIDA et al., 2006).

Prever a quantidade de acrilamida que será formada durante o processo de fritura de um alimento é algo complexo, uma vez que muitos parâmetros que desempenham um papel importante neste sistema devem ser considerados (BARUTCU et al., 2009; CARRIERI et al., 2009), por outro lado saber a quantidade de acrilamida formada em alimentos, contribui para se obter as condições adequadas de processos térmicos e de produção, para que sejam produzidos alimentos mais seguros (ZOKAEI et al., 2016).

Figura 2 – Amostras de batata frita de diferentes redes de *fast-food* de Salvador, BA.



Fonte: a autora.

3.3.1.2. Acarajé

A culinária baiana se destaca por possuir diferentes pratos como moquecas, vatapá, caruru e o acarajé. O acarajé (Figura 3) é uma iguaria amplamente consumida no Brasil, principalmente na Bahia, e consiste em uma massa preparada à base de feijão fradinho (*Vigna unguiculata*), cebola ralada e sal, moldado em forma de bolinho e frito em óleo de palma ou azeite de dendê. O processo da fritura do acarajé acontece da mesma forma que para as batatas fritas de redes de *fast-food*, ou seja, de forma descontínua (ALMEIDA et al., 2006). O acarajé está atualmente plenamente incorporado na cultura baiana e também na brasileira, entretanto trata-se de uma iguaria de origem africana, vinda com os escravos na colonização do Brasil (CORRÊA et al. 2003). Para o consumo, o acarajé pode ser servido ou não de acompanhamentos como vatapá, caruru, camarão, pimenta e salada (Figura 4).

Figura 3 – Amostras de acarajé de diferentes locais de comercialização de Salvador, BA.



Fonte: a autora.

Figura 4 – Acarajé com acompanhamentos.



Fonte: a autora.

Com relação à literatura científica brasileira, os estudos sobre a formação de AA nos bolinhos de acarajé são inexistentes. As pesquisas sobre o tema têm focado a atenção na composição centesimal (BENEVIDES et al.,2003; TACO, 2006; MOUTALEB et al., 2017), condições higiênico sanitárias do acarajé e seus acompanhamentos (LEITE et al.,2000; MAGALHÃES, 2012; SAMPAIO, 2015) e qualidade e caracterização do óleo de fritura (CURVELO et al., 2011; ALMEIDA et al., 2013; KOUSHKI et al, 2015; ALMEIDA et al., 2017) . Segundo a Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO, 2006) o acarajé possui em sua composição centesimal 8,3g de proteínas e 19,1 g de carboidratos, o Gráfico 1 abaixo ilustra a composição centesimal do acarajé segundo a TACO.

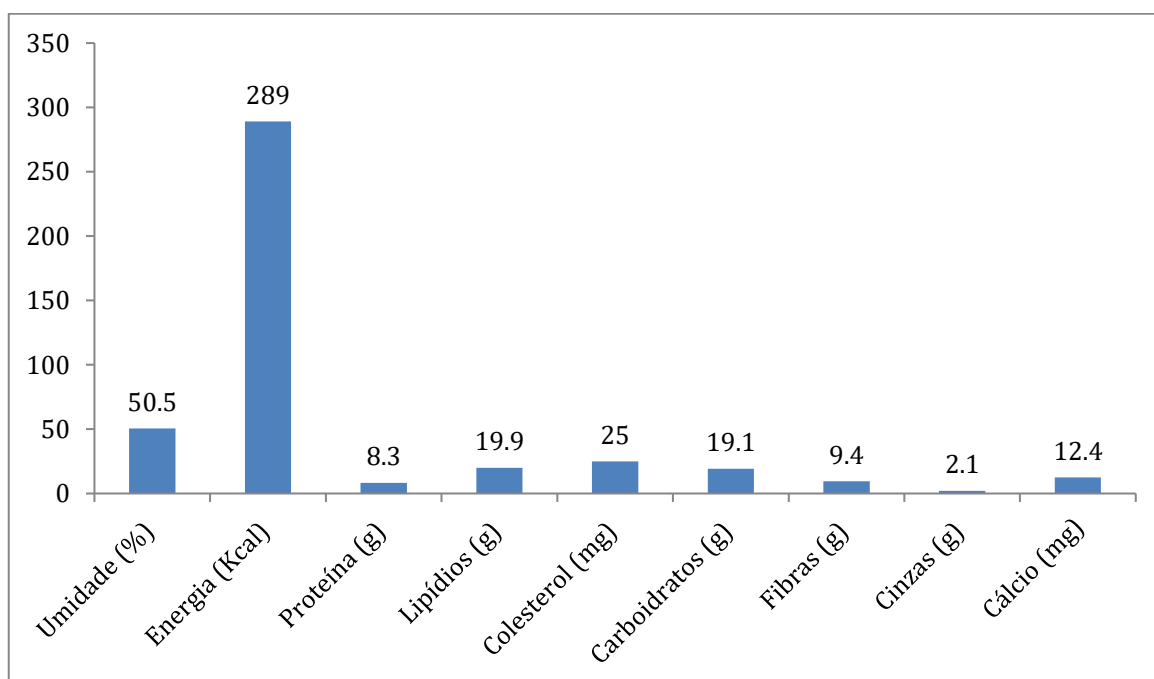


Figura 5. Gráfico 1. Composição centesimal do acarajé. **Fonte:** TACO, 2006.

3.4. Métodos analíticos para a determinação de acrilamida em alimentos

Alguns fatores como baixa massa molecular, com elevada polaridade e reatividade tornam a AA uma molécula de difícil detecção e quantificação, bem como difícil de extrair de matrizes por solventes orgânicos convencionais (EFSA, 2015). A escolha das condições de extração, derivatização ou detecção depende da matriz alimentar que será analisada, por isso faz-se necessário em alguns casos a otimização da metodologia adotada.

A maioria das metodologias disponíveis para determinação de acrilamida em alimentos envolve as técnicas cromatográficas em fase líquida e gasosa, combinadas com etapas antecedentes de extração. A Tabela 2 descreve algumas metodologias analíticas adotadas para a determinação de AA em batatas fritas e outros alimentos.

Tabela 2. Diferentes metodologias analíticas para determinação de AA. Adaptado Tavares (2015).

Matriz	Extração	Método	Referência
Batata frita	Acetona	Polarografia	Zargar, Sahraie e Khoshnam (2009)
Batata frita	Água	Voltametria (eletrodo de pasta de carbono modificada com HbFe(II)/Hb-Fe(III))	Stobiecka, Radecka e Radecki (2007)
Batata frita, frango frito e biscoito	Água	Fluorescência	Liu et al. (2014)
Batata frita e pão	Brometo de 1-butil-3-metilimidazólio (BMIMBr)	HLPC/UV	Albrohri e El-Hady (2014)
Batata frita, berinjela frita e grão de bico	Sol-gel metiltrimetoxissilano-tetraetoxissilano (MTMOS-TEOS)	GC/MS	Ibrahim e Omar, Elbashir (2014)
Batata frita, biscoito e farinha	Água	HPLC-MS-MS	Hoenicke et al. (2004)
Batata frita, pão, café, cerveja	Água/MeOH	HPLC-MS-MS	Arisseto et al. (2007)
Batata frita	0,1% Ácido fórmico/Água	FTIR associado ao HPLC/MS	Ayvaz et al. (2013)

3.4.1. Determinação cromatográfica

O monitoramento da acrilamida e a redução de sua formação são questões de grande relevância. Os métodos analíticos mais comumente empregados para a determinação de acrilamida são baseados em cromatografia de fase gasosa (GC) e em cromatografia de fase líquida (LC), podendo estes estar acoplados à espectrometria de massa (MS) para a detecção e identificação e do composto (FAO/WHO 2011). Gomes (2016) relata que em função do baixo peso molecular e alta reatividade, os desafios na análise da AA são grandes, principalmente se esta estiver presente em baixas concentrações nos gêneros alimentícios. Em contrapartida os métodos de determinação cromatográfica (GC e HPLC) oferecem excelentes condições de precisão, repetibilidade e sensibilidade (CLAUS et al., 2008; ORACZ et al., 2011; HU et al., 2015).

Zokaei e colaboradores (2016) descrevem que em função da alta repetibilidade, os dados obtidos na análise de GC são mais confiáveis. Entretanto por conta da não volatilidade da acrilamida, a identificação usando GC precisa de derivatização que consome tempo e torna o trabalho complicado.

3.4.2. Extração e derivatização

Atrelado ao fato de que alimentos são matrizes muito complexas, antes da injeção (tanto em GC como em LC) é necessário a realização de uma etapa de tratamento prévio da amostra. É neste tratamento onde ocorre a extração e limpeza da amostra, simultânea ou não. A maioria dos processos de extração utiliza água como solvente devido à alta solubilidade da acrilamida neste (TAREKE et al., 2002; MOLINA-GARCIA et al., 2015). No entanto, o solvente de extração pode ser um solvente orgânico ou também uma mistura de água com solvente orgânico (KERAMAT et al., 2010).

O aumento da superfície de contato das matrizes melhora a extração com os solventes e as taxas de recuperação (BIEDERMANN et al., 2003; WENZL et al., 2003). Outra forma de melhorar a extração é aquecer o solvente ou colocar a amostra de alimentos em banho de ultrassons (ALBISHRI et al., 2014). Dependendo do teor de gordura na matriz um passo de desengorduramento no procedimento de limpeza é necessário. A limpeza das matrizes pode ser feita pelos métodos clássicos, a exemplo da SPE, ou outros procedimentos, como métodos de dispersão da matriz em fase sólida, que exigem menos reagentes químicos e permitem uma separação mais rápida (ORACZ et al., 2011). De um modo geral, após os procedimentos de extração e purificação, como descreve Soares e colaboradores (2006), é necessário eliminar o solvente em excesso. A maioria dos estudos executa tal evaporação em evaporadores rotativos.

Para o processo de derivatização muitos estudos concentraram seus esforços na bromação (TAREKE et al., 2002; AHN et al., 2002; CASTELO 1993; CASTLE et al., 1991; ONO et al., 2003) entretanto, após a publicação do estudo de Yamazaki e colaboradores (2012) condições ótimas para derivatização de AA com xantidrol foram alcançadas, além da diminuição do tempo gasto com essa etapa e utilização de temperatura mais balanceada (FRIEDMAN et al., 2003; ZOKAEI et al., 2016).

Ratsamisomsi e colaboradores (2016) evidenciaram comparativamente o desempenho analítico das duas derivatizações (bromação e xantidrol) em termos de faixa linear, sensibilidade e precisão, encontrando para o método com o xantidrol menor tempo de análise e maior sensibilidade com menor limite de quantificação. Dessa maneira os autores preferiram o método com xantidrol para derivatização de acrilamida em amostras de batata frita.

3.5. Avaliação de risco

Desde que os altos teores de AA foram encontrados em produtos alimentícios comerciais a discussão sobre os possíveis riscos em relação a saúde humana relacionados a esta exposição alimentar intensificou-se. Ariseto e Vicente (2015) relatam que as informações disponíveis sobre as manifestações adversas da AA e seu principal metabólito (GA) indicavam que toxicidade reprodutiva, genotoxicidade e carcinogenicidade em estudos em animais constituíam potenciais riscos para a saúde humana.

Em seu estudo Neri (2004) destaca que a AA não se trata de um contaminante intencional que provoque efeito imediato após exposição aguda, e atrelado a isto, quantificar o risco à saúde a partir de um contaminante fruto de reações entre nutrientes, o qual está sendo ingerido há várias décadas, é difícil. Claeys e colaboradores (2010) ressaltam que AA é um possível carcinógeno genotóxico ao qual se aplica o princípio ALARA ("Tão baixo quanto razoavelmente possível"), e por isso a abordagem da margem de exposição (MOE) pode dar uma ideia dos riscos associados à sua presença nos alimentos. A MOE é a razão entre um ponto de referência definido na curva dose-resposta para o efeito adverso e o consumo humano, e não faz suposições implícitas sobre um consumo "seguro" (EFSA, 2005).

A abordagem da MOE tem sido utilizada em estudos de avaliação de risco para estabelecer prioridades em relação à presença de compostos carcinogênicos em alimentos (ARISSETO e VICENTE, 2015). Valores baixos de MOE indica uma grande preocupação à saúde enquanto que valores elevados de MOE indicam pouca preocupação.

Em função da inexistência de um nível máximo para AA em alimentos a estimativa de ingestão desse contaminante é uma saída para se prevê o risco a qual determinada população está sendo exposta. A Comissão Europeia estabeleceu valores indicativos para este contaminante em vários produtos alimentícios. Esses valores não são limites legais,

mas pretendem sugerir investigações adicionais caso sejam excedidos. O nível indicativo para batatas-fritas é de 1000 ng/g = 1 µg/kg (EFSA, 2015a).

A quantidade de acrilamida varia não só com o tipo de alimentos como também com as porções ingeridas, que variam segundo as culturas e as regiões. Um alimento pode ter valores relativamente baixos de acrilamida e ser largamente consumido, tornando-se assim uma fonte importante de acrilamida numa determinada dieta. Como destaca muito bem Ariseto e Vicente (2015) estudos epidemiológicos não forneceram evidências consistentes de que a exposição da dieta à acrilamida esteja associada ao câncer em humanos, entretanto as MOEs apontam que a acrilamida deve ser considerada uma alta prioridade para ações de gerenciamento de risco.

4. CONSIDERAÇÕES

A principal questão inconclusa vinculada a AA se refere à maneira como o teor deste contaminante em alimentos pode afetar a saúde humana. Embora efeitos neurotóxicos tenham sido documentados em humanos, os riscos associados à carcinogenicidade e genotoxicidade são baseados somente em estudos com animais. Desta maneira, ainda são necessárias pesquisas relacionadas ao potencial genotóxico e carcinogênico da acrilamida em seres humanos.

REFERÊNCIAS

- ALBISHRI, H. M.; EL-HADY, D. A. Eco-friendly ionic liquid based ultrasonic assisted selective extraction coupled with a simple liquid chromatography for there liable determination of acrylamide in food samples. **Talanta**, London, v. 118, p. 129-136, 2014.
- ALMEIDA, D. T.; ARAÚJO, M. P. N.; FORTUNATO, D. M. N.; SOUZA, J. C.; MORAES, T. M. Revisão de literatura: aspectos gerais do processo de fritura de imersão. **Higiene Alimentar**, vol. 20, n. 138, p. 42-47, 2006.
- ALMEIDA, D. T.; NUNES, I. L.; CONDE, P. L.; ROSA, R. P. S.; ROGÈRIO, W. F.; MACHADO, E. R. A quality assessment of crude palm oil marketed in Bahia, Brazil. **Grasas y Aceites**, v. 64, p. 387-394, 2013.
- ALMEIDA, D. T. ; CURVELO, F. M.; COSTA, M. M.; VIANA, T. V.; LIMA, P.C. Estabilidade oxidativa do óleo de palma cru após fritar acarajé (Fried Bean Paste). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 38, n. 1, p. 142–147, 2017.
- AMREIN, T.; SCHOBACHLER, B.; ESCHER, F.; AMADÓ, R. Acrylamide in gingerbread: critical factors for formation and possible ways for reduction. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 52, p. 4282-4288, 2004.
- AMREIN, T. M. **Estudos sistemáticos sobre otimização de processos para minimizar o conteúdo de acrilamida em alimentos**, 161 f. Tese (Doutorado), Zúrique, Alemanha, 2005.
- ARISSETO, A. P.; TOLEDO, M. C.; GOVAERT, Y.; LOCO, J. V.; FRASELLE, S.; WEVERBERGH, E.; DEGROODT, J. M. Determination of acrylamide levels in selected foods in Brazil. **Food Addit Contaminantes**, v. 24, n. 3, p. 236-41, 2007.
- ARISSETO, A. P.; TOLEDO, M. C. F. Estimativa preliminar da ingestão de acrilamida no Brasil. **Revista Brasileira Toxicologia**, v. 21, n.1, p. 9-14, 2008.
- ARISSETO, A. P.; VICENTE, E. Estimate of acrylamide intake from coffee and health risk assessment. In: Preddy, V.R. (Ed.), *Coffee in Health and Disease Prevention*. **Academic Press**, London, UK, p. 575–584, 2015.
- AYVAZ, H.; PLANS, M.; RIEDL, K. M.; SCHWARTZ, S.J.; RODRIGUEZ-SAONA, L. E. Application of infrared microspectroscopy and chemometric analysis for screening the acrylamide content in potato chips. **Analytical Methods**, London, v. 5, n. 8, p. 2020-2027, 2013.
- BARUTCU I.; SAHIN S.; SUMNU G. Acrylamide formation in different batter formulations during microwave frying. **LWT- Food Science and Technology**, v. 42, p. 17-22, 2009.
- BENEVIDES, C. M. J; ALMEIDA, V. F. A; MIRANDA, K. E. S, COELHO, J. N. S: Determinação da composição centesimal e valor calórico de acarajés e abarás em Salvador, Bahia. **Revista Nutrição Brasil**, São Paulo, v. 5, n.5, 2003.

- BESARATINIA, A.; PFEIFER, GP. A review of mechanisms of acrylamide carcinogenicity. **Carcinogenesis**, v. 28 n. 3, p. 519-28, 2007.
- BELITZ, H. D.; GROSCH, W.; SCHIEBERLE, P. Química dos Alimentos, Terceira Edição. **Química Analítica e Bioanalítica**, v. 382, p. 10-11, 2005.
- BIEDERMANN, M.; BREM, S. B.; NOTI, A.; GROB, K. (2003). Two GC-MS Methods for the Analysis of Acrylamide. **Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchung und Hygiene**, v. 94, p. 406-422, 2003.
- BORÉM, F.M.; DIAS, E.C.; GUERREIRO, M. C.; PEREIRA, R. G.; OLIVEIRA, P. D.; NOBRE, G.W.; NEVES, J. B. Perfil de aminoácidos nos frutos verdes do cafeeiro processados por via seca e via úmida. **VI Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil**, v. 20, p. 234-238, 2009.
- CARRIERI G.; DE BONIS M.; PACELLA C.; PUCCIARELLI A.; RUOCCO G. Modeling and validation of local acrylamide formation in a model food during frying. **Journal of Food Engineering**, v. 95, p. 90–98, 2009.
- CLAUS, A.; CARLE, R.; SCHIEBER, A. Acrylamide in cereal products: A review. **Journal of Cereal Science**, v. 47, p. 118-133, 2008.
- CLAEYS, W.; BAERT, K.; MESTDAGH, F.; VERCAMMEN, J.; DAENENS, P.; DE MEULENAER, B.; HUYGHEBAERT, A. Avaliação da ingestão de acrilamida da população belga e o efeito das estratégias de mitigação. **Food Additives and Contaminants Part. A**, v. 27, ed. 9, p. 1199–1207, 2010.
- CORRÊA, R.H.M.A.; COSTA, E.G.; TAILLEFER, R.J.F.; ZORZO, V.: Bahia com pimenta: um estudo comparado da tradução da culinária de dona flor para o francês, o inglês e o espanhol. Terra roxa e outras terras. **Revista de Estudos Literários**, Londrina, v.3, p. 52-68, 2003.
- CURVELO, F. M., ALMEIDA, D. T., NUNES, I. L., & FEITOSA, S. Qualidade do óleo de palma bruto (*Elaeis guineensis*): matéria-prima para fritura de acarajés. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 70, p. 641-646, 2011.
- CURTIS, T. Y.; POWERS, S. J.; BALAGIANNIS, D.; ELMORE, J. S.; MOTTRAM, D. S.; PARRY, M. A. J.; RAKSZEKI, M.; BEDO, Z.; SHEWRY, P. R.; 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.
- DECKER, E. A & FERRUZZI, M. G. Inovações em Química de Alimentos e Processamento para Melhorar o Perfil de Nutrientes da Batata Branca em Todas as Formas. **Avanços em Nutrição**, v. 4, ed. 3, p. 345S-350S, 2013.
- DOERGE, D.; YOUNG, J.; MCDANIEL, L.; TWADDLE, N.; CHURCHWELL, M. Toxicokinetics of acrylamide and glycidamide in B6C3F1 mice. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 202, ed. 3, p. 258-67, Fev. 2005a.

DOERGE, D. R.; YOUNG, J. F.; MCDANIEL, L. P.; TWADDLE, N. C.; CHURCHWELL, M. I. Toxicokinetics of acrylamide and glycidamide in Fischer 344 rats. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 208, ed. 3, p. 199–209, Nov. 2005b.

EFSA (European Food Safety Authority). "Scientific Opinion on Acrylamide in Food." *European Food Security Authority Journal*, v. 6, p. 13-4104, 2015.

EFSA (European Food Safety Authority). Draft Scientific Opinion on Acrylamide in Food. 2014.

ESPOSITO, F.; NARDONE, A.; FASANO, E.; TRIASSI, M.; CIRILLO, T. Determinação dos níveis de acrilamida em batatas fritas e outros snacks e avaliação do risco de exposição através de uma abordagem de Margem de Exposição. **Food and Chemical Toxicology**, v. 108, p. 249–256, 2017.

FAO (Food and Agriculture Organization). **International year of the potato 2008: new light on a hidden treasure**, 2008.

GHANAYEM, BI. et al. Role of CYP2E1 in the epoxidation of acrylamide to glycidamide and formation of DNA and hemoglobin adducts. **Toxicological Sciences**, v. 88, ed. 2, p. 311-8, 2005.

GOMES, T. S. F. **Monitorização dos níveis de acrilamida durante o processo de maltagem de cevada**. 69 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia e Ciência Alimentar) - Universidade do Porto, Porto, Portugal, 2016.

HAMLET, C. G.; SADD, P. A.; LIANG, L. Correlations between the amounts of free asparagine and saccharides present in commercial cereal flours in the UK and the generation of acrylamide during cooking. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 56, p. 6145-6153, 2008.

HOENICKE, K.; GATERMANN, R.; HARDER, W.; HARTIG, L. Analysis of acrylamide in different foodstuffs using liquid chromatography-tandem mass spectrometry and gás chromatography-tandem mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 520, ed. 1/2, p. 207-215, 2004

HU, Q.; XU, X.; FU, Y.; LI, Y. Métodos rápidos para detectar acrilamida em alimentos termicamente processados: uma revisão. **Food Control**, v. 56, p. 135-146, 2015.

IARC, 1994. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks of Chemicals to Humans.

IPHAN (Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional). Dossiê IPHAN 6: Ofício das Baianas do Acarajé. Brasília: IPHAN, 2005.

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, ed. 2, p. 154-168, 1986.

KERAMAT J, LEBAIL A, PROST C, SOLTANIZADEH N. Acrylamide in Foods: Chemistry and Analysis. A Review. **Food Bioprocess Technology**, v. 4, p. 340–363, 2010.

KOUSHKI, M.; NAHIDI, M.; CHERAGHALI, F. Physico-chemical properties, fatty acid profile and nutrition in palm oil. **Journal of Paramedical Sciences**, v. 6, p. 117-134, 2015.

KRISHNAKUMAR, T., & VISVANATHAN, R. Acrylamide in food products: A review. **Journal of Food Processing and Technology**, v. 5, 2014.

LAMBERT, M.; INTHAVONG, C.; HOMMET, F.; LEBLANC, J-C.; HULIN, M.; GUÉRIN, T. Levels of acrylamide in foods included in ‘the first French total diet study on infants and toddlers’, **Food Chemistry**, v. 240, p. 997-1004, 2017.

LEITE, C. C; SANT'ANNA, M. E. B; ASSIS, P. N. DE; MARIANO, A. P. M.: Qualidade higiênico-sanitária do acarajé e seus complementos, comercializados em diferentes pontos turísticos da cidade de Salvador, BA. **Higiene Alimentar**, Campinas, v. 14, ed. 74, p. 50-54, 2000.

LIU, C.; LUO, F.; CHEN, D.; QIU, 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 chromatographytriple quadrupole mass spectrometry. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 85, ed. 19, p. 9262-9271, 2013.

MAGALHÃES, L. M. **A higiene dos sentidos e os sentidos da higiene para as baianas de acarajé da cidade de Salvador, Bahia**. 105f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal da Bahia. Escola de Nutrição, Salvador, 2012.

MARTINS, E.A.; CORREIA, A. C.; TEIXEIRA, L. E. A Funcionalidade da Dieta Mediterrânea na Diabetes Tipo 2. **Revista Portuguesa de Diabetes**; v. 9, ed. 2, p. 83-91, 2014.

MEDEIROS VINCI, R., MESTDAGH, F., & DE MEULENAER, B. Acrylamide formation in fried potato products – present and future, a critical review on mitigation strategies. **Food Chemistry**, v. 133, n. 4, p. 1138–1154, 2012.

MOLINA-GARCIA, L.; SANTOS, C. S. P.; MELO, A.; FERNANDES, J. O.; CUNHA, S. C.; CASAL, S. Acrilamida em Batata Frita e Batata Frita: um Método Novo e Simples Usando Xantidrol para sua Determinação GC-MS. **Food Analytical Methods**, v. 8, p. 1436–1445, 2015.

MOTTRAM, D.S.; WEDZICHA, B.L.; DODSON, A.T. A acrilamida é formada na reação de Maillard. **Nature**, v. 419, p. 448–449, 2002.

MOUTALEB, O. H.; AMADOU, I.; AMZA, T.; ZHANG, M. Propriedades físico-funcionais e sensoriais de receitas à base de farinha de feijão-caupi (acarajé) e enriquecidas

com batata doce. **Journal of Nutritional Health and Food Engineering**, v. 7, n. 4, p. 325-330, 2017.

NERI, V. C. C. **Acrilamida em alimentos: formação endógena e riscos à saúde**. 72 f. Dissertação (Mestrado em Vigilância Sanitária) - Fundação Oswaldo Cruz, Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Rio de Janeiro, 2004.

OMAR, M. M. A.; IBRAHIM, W. A. W.; ELBASHIR, A. A. Sol-gel hybrid methyltrimethoxysilane-tetraethoxysilane as a new dispersive solid-phase extraction material for acrylamide determination in food with direct gas chromatography-mass spectrometry analysis. **Food Chemistry**, Oxford, v. 158, p. 302-309, 2014.

ORACZ, J.; NEBESNY, E.; ŻYŻELEWICZ, D. "New trends in quantification of acrylamide in food products". **Talanta**, v. 86, p. 23-34, 2011.

PEDRESCHI, F.; KAACK, K.; GRANBY, K. Acrylamide content and colour development in fried potato strips. **Food Research International**, v. 39, p. 40-46, 2006.

PEDRESCHI F (2009a). Fried and Dehydrated Potato Products. In Advances in potato chemistry and technology. Jaspreet Singh and Lovedeep Kaur editors, Burlington: Academic Press is an imprint of Elsevier; 319- 337.

PORTO, A. C. V.; SILVA, F. O.; ROSA, S. J.; GOTTSCHALK, F. M. L. Estimated Acrylamide Intake from Coffee Consumption in Latin America. **American Journal of Agricultural and Biological Sciences**, v. 10, p. 91-98, 2015.

RATSAMISOMSI, A.; RODPHAI, P.; SUPPRAPHAKORN, L.; TIYAPONGAATTANA, W. Comparação de dois métodos de derivatização de acrilamida entre a reação de brominação e xantidrol para detecção de ionização de chama por cromatografia gasosa. Pure and Applied Chemistry International Conference, **PACCON**, 2016.

RICE, J.M. The carcinogenicity of acrylamide. **Mutation Research**; v. 580, p. 3-20, 2005.

SAMPAIO, A. P. **Avaliação microbiológica e química de acarajés comercializados na cidade de Cruz das Almas, Bahia**. 95f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Cruz das Almas, 2015.

SANNY, M.; JINAP, S.; BAKKER, E. J.; VAN, B. M. A. J. S.; LUNING, P. A. Is lowering reducing sugars concentration in French fries an effective measure to reduce acrylamide concentration in food service establishments. **Food Chemistry**, v. 135, p. 2012-2020, 2012.

SANTOS, C.S.P.; MOLINA-GARCIA, L.; CUNHA, S.C.; CASAL, S. Fried potatoes: impact of prolonged frying in monounsaturated oils, **Food Chemistry**, v. 243, p. 192-201, 2018.

SNFA, 2002. Swedish National Food Administration. Information about Acrylamide in Food. <<http://www.slv.se>>.

SOARES, C.; CUNHA, S.; FERNANDES, J. Determination of acrylamide in coffee and coffee products by GC-MS using an improved SPE clean-up, **Food Additives and Contaminants**, v. 23, ed. 12, p. 1276-1282, 2006.

SOARES, C. "**Assessment of the dietary intake of acrylamide in Portugal.**" Tese de Doutorado em Ciências Farmacêuticas, Especialidade de Nutrição e Química dos Alimentos, Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto, Porto, 2015.

STADLER, R.H.; BLANK, I.; VARGA, N.; ROBERT, F.; HAU, J.; GUY, P.A.; ROBERT, M.-C., RIEDECKER, S. Acrilamida de produtos de reação de Maillard. **Nature**, v. 419, p. 449-450, 2002.

STOBIECKA, A.; RADECKA, H.; RADECKI, J. Novel voltammetric biosensor for determining acrylamide in food samples. **Biosensors and Bioelectronics**, Essex, v. 22, n. 9/10, p. 2165-2170, 2007.

SUMNER S.C.J.; WILLIAMS C.C.; SNYDER R.W.; KROL W.L.; ASGHARIAN B.; FENNELL T.R. Acrylamide: A comparison of metabolism and hemoglobin adducts in rodents following dermal, intraperitoneal, oral, or inhalation exposure. **Toxicological Sciences**; v. 75, p. 260-270, 2003.

SVENSSON, K.; ABRAMSSON, L.; BECKER, W.; GLYNN, A.; HELLENAS, K.-E., LIND, Y.; ROSEN, J. Ingestão dietética de acrilamida na Suécia. **Food and Chemical Toxicology**, v. 41, n. 11, p. 1581-1586, 2003.

TACO- Tabela de Composição de Alimentos NEPA/UNICAMP Versão II: Campinas, São Paulo, 2006.

TAREKE, E.; RYDBERG, P.; KARLSSON, P.; ERIKSSON, S.; TÖRNQVIST, M. Análise de acrilamida, uma substância cancerígena formada em alimentos aquecidos. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 4998-5006, 2002.

TAVARES, E. de F. L. **Identificação e quantificação de acrilamida em alimentos por métodos voltamétricos e espectroscópicos na região do infravermelho.** 115 p. Tese (Doutorado em Agroquímica) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2015.

WENZL, T.; B. DE LA CALLE, M.; ANKLAM, E. Analytical methods for the determination of acrylamide in food products: a review. **Food Additives and Contaminants**, v. 20, ed. 10, p. 885-902, 2003.

WHO (World health organization). **IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to human - Acrylamide**, v. 60, p. 389-433, 1994.

WHO (1999). "Acrylamide. International Programme on Chemical Safety. Poisons Information Monograph. 652. Acrylamide." Acesso em dez de 2018, disponível em: <<http://www.inchem.org/documents/pims/chemical/pim652.htm>>.

WHO (2002). "Health implications for acrylamide in food." Report of a Joint FAO/WHO Consultation, Acesso em dez de 2018, disponível em: <<http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/42563/1/9241562188.pdf>>.

XU, F.; ORUNA-CONCHA, M. J.; ELMORE, J. S. The use of asparaginase to reduce acrylamide levels in cooked food." **Food Chemistry**, v. 210, p. 163-171, 2016.

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**, v. 69, p. 1-12, 2014.

ZARGAR, B.; SAHRAIE, N. R.; KHOSHNAME, F. Catalytic squarewave voltammetric determination of acrylamide in potato chips. **Analytical Letters**, New York, v. 42, n. 10, p. 1407-1417, 2009.

ZOKAEI, M.; KAMANKESH, M.; SHOJAEI, S.; MOHAMMADI, A. Determinando a quantidade de acrilamida em batatas fritas usando Xantidrol como um representante derivado com cromatografia gasosa-espectrometria de massa. **Nutrition and Food Sciences Research**, v. 3, n.1, p. 51-56, 2016.

CAPÍTULO II

Determinação de acrilamida em acarajés e batatas fritas: validação da metodologia e avaliação do risco para o consumo humano

Determinação de acrilamida em acarajés e batatas fritas: validação da metodologia e avaliação do risco para o consumo humano

Andressa de Oliveira Cerqueira; Carolina Oliveira de Souza; Janice Izabel Druzian; José Antônio Menezes Filho

Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos, Universidade Federal da Bahia (UFBA), Rua Barão de Jeremoabo, s/n, 40170-210, Ondina, Salvador, Bahia, Brasil

RESUMO

A acrilamida (AA) é um contaminante dos alimentos amiláceos, potencialmente neurotóxico e carcinogênico, formado na reação de Maillard, quando estes são submetidos a altas temperaturas. Estudos com animais mostraram que a AA é rapidamente absorvida por todas as vias de exposição, sendo mais rápida por via digestiva. Dado o grau de periculosidade e toxicidade para o consumidor a sua detecção e quantificação revela-se de grande importância. Têm sido propostas diferentes metodologias para a sua identificação e quantificação, desde que foi divulgada a sua formação em alimentos processados termicamente, como café, cereais matinais, alimentos à base de batata e biscoitos. No entanto, não há dados na literatura a respeito da ocorrência de AA em acarajés. Este trabalho propôs a adaptação de metodologias analíticas para a quantificação da AA em amostras de acarajé e batata frita, validação da metodologia para as referidas matrizes e avaliação de risco à saúde com base na ingestão destes alimentos. A d3-acrilamida, marcada isotopicamente, foi utilizada como padrão interno. O método envolveu a extração com isooctano e acetonitrila, seguido por concentração e derivatização com o xantidrol. A análise por cromatografia gasosa com espectrometria de massas (GC-MS) foi utilizada no modo de monitorização de íons seletivos. De acordo com as condições estabelecidas, os limites de detecção e quantificação foram de 3 e 10 µg/L, respectivamente. As recuperações variaram entre 98 e 104%. O método analítico proposto foi aplicado a dezoito amostras de acarajés comercializados na cidade de Salvador, Brasil, e nove amostras de batatas fritas de três cadeias de *fast-food*. Os teores de AA variaram entre 16,4 e 49,9 µg/kg nos acarajés dos diversos pontos de venda. Na batata frita, observaram-se diferenças significativas nos teores de AA de acordo com a rede *fast-food*, com valor mínimo de 48,9 e máximo de 414,0 µg/kg. O risco foi estimado para um consumo de AA superior a 1 µg/kg pc por dia,

sendo traduzido em valor MOE de 10.000 de acordo com EFSA. Assim, o consumo semanal de uma porção de batata frita com alto teor de AA como observado neste estudo, pode representar uma preocupação à saúde (MOE 1866). Por outro lado, o consumo exagerado de acarajé, três ou mais unidades por semana também pode estar associado a este exposição em longo prazo.

Palavras-chaves: Acrilamida, acarajé, batatafrita, CG-MS, risco à saúde.

1. INTRODUÇÃO

O processamento de alimentos que utilizam técnicas realizadas em altas temperaturas, como fritar e assar envolve problemas de segurança alimentar, uma vez que substâncias prejudiciais geradas como parte da reação de Maillard podem ser formadas e ingeridas. Em 1994, a International Agency for Research on Cancer (IARC) classificou a AA como “provável carcinógeno para humanos” (Grupo 2A), com base na possibilidade de exposição industrial a este composto e sua potencial ingestão na água e fumaça de tabaco (IARC, 1994). Desde então, cientistas em todo o mundo iniciaram estudos sobre a presença de AA em alimentos e a investigar sobre sua toxicidade. Estudos publicados a partir de 2002 relataram que a reação de Maillard é uma das principais vias de formação da acrilamida (AA) (BIEDERMANN et al. 2002; BECALSKI et al. 2003; MOTTRAM et al. 2002; STADLER et al. 2002). Tareke e colaboradores (2002) divulgaram a descoberta da formação de acrilamida em alimentos processados a altas temperaturas e desde então investigações sobre a formação da AA (2-propenamida) nos mais diversos tipos de alimentos têm sido desenvolvidas (CAPUANO e FOGLIANO, 2011).

A acrilamida (C_6H_5NO) é um sólido incolor, inodoro, de baixo peso molecular (ZOKAEI et al., 2016) formado em alimentos principalmente pela reação de asparagina com açúcares redutores (especialmente glicose e frutose) como parte da reação de Maillard (ARISSETO et al., 2008). Tal formação ocorre principalmente sob altas temperaturas (geralmente acima de $120\text{ }^\circ\text{C}$) e baixa umidade (CODEX Alimentarius, 2009). Esta molécula atraiu a atenção devido à sua toxicidade para animais e humanos (CASTLE e ERIKSSON, 2005), pois possui um grupo carbonila α , β -insaturado, com reatividade eletrofílica, que pode reagir com grupos nucleófilos de moléculas biológicas, e contribuir para efeitos tóxicos ao sistema nervoso e reprodutivo de homens e animais (WHO 1994). A

reação da AA com proteínas é extensa e os produtos desta reação são utilizados como biomarcadores da sua presença (EFSA 2015).

Para a determinação da AA em alimentos, diversos métodos cromatográficos são propostos, sendo que alguns estudos utilizam a bromação para derivatização da AA e posterior análise por cromatografia gasosa (TAREKE et al. 2002;ONO et al. 2003; HAMLET et al. 2004; PITTET et al. 2004; ZHANG et al. 2007). No entanto, a partir de 2012, com o estudo de Yamazaki e colaboradores, o uso do xantidrol como agente derivatizante passou a ser considerado nos experimentos (MOLINA-GARCIA et al., 2015; ZOKAEI et al., 2016; LUO et al., 2016; YOSHIDA et al., 2017). Yamazaki e colaboradores (2012) enfatizam que no procedimento de bromação existe a obtenção de derivados instáveis e a detecção inconsistente, o que não acontece com o derivado xantílico obtido através do xantidrol. O método proposto consiste em passos muito mais simples e mais curtos quando comparado com o precedente (bromação); além disso, os produtos químicos utilizados no método de bromação são perigosos, geram vapores de mau cheiro e envolve uma etapa final crítica para remover cuidadosamente o excesso de brometo, prejudicial para as fases estacionárias das colunas de cromatografia gasosa, enquanto o xantidrol não apresenta essas desvantagens (MOLINA-GARCIA, et al., 2015; ZOKAEI, et al., 2016).

Em 2005, o Joint Expert Committee on Food Additives da FAO/WHO (JECFA) estimou a ingestão de AA em 0,3 a 2,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de peso corpóreo por dia ($\mu\text{g}/\text{kg pc}/\text{dia}$) para consumidores médios e entre 0,6 a 5,1 $\mu\text{g}/\text{kg pc}/\text{dia}$ para grandes consumidores, com base nos dados de ingestão submetidos por 17 países do mundo, com exceção de países da América Latina e África. No mesmo ano e a partir dos dados avaliados, o JECFA estabeleceu que a ingestão de 1,0 $\mu\text{g}/\text{kg pc}/\text{dia}$ de AA poderia ser utilizado para representar o consumo médio e 4,0 $\mu\text{g}/\text{kg pc}/\text{dia}$ para grandes consumidores. Em 2015, a European Food Safety Authority (EFSA) classificou a AA como provável carcinógeno, de modo que

os níveis de exposição alimentar são preocupantes em relação à maneira como este contaminante pode afetar a saúde humana. Estudos para avaliar se a exposição à acrilamida através da ingestão de alimentos que a contenham representam um risco para uma população, têm grande relevância, já que sua formação pode ocorrer em diversos grupos alimentares. Um relatório da EFSA sobre o monitoramento dos níveis de AA nos alimentos mostrou que batatas fritas, produtos de panificação e café eram as três principais categorias de alimentos que continham maiores níveis de AA e que também eram os principais contribuintes para a exposição de adultos a este subproduto (HU et al., 2015).

O acarajé (um bolinho elaborado com feijão fradinho (*Vigna unguiculata*) descorticado, cebola ralada e sal) é frito por imersão em óleo de palma bruto, em temperaturas que podem atingir até 200 °C (ALMEIDA et al., 2017). Considerado patrimônio imaterial do Brasil (IPHAN, 2005), e bastante consumido na Bahia, é servido em porções individuais de cerca de 100 g em média, podendo ou não ser acompanhados de recheio (vatapá, camarão, caruru e salada), e comercializados largamente no Estado pelas baianas de acarajé, sobretudo na capital, Salvador (CURVELO, et al., 2011). De acordo com dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) Salvador tem 2.921.087 habitantes, sendo que cerca de 5 mil desses habitantes são comerciantes de acarajé (BRASIL, 2016). Por outro lado, as batatas fritas são muito apreciadas pelos consumidores e muitos estudos sobre níveis de AA em batatas fritas já foram realizados mundialmente, porém nenhum estudo sobre níveis de AA em acarajés foi encontrado. Em função do amplo consumo dessa iguaria, combinado ao elevado teor de proteínas do feijão fradinho (*Vigna unguiculata*) (MOUTALEB et al., 2017) e o modo de preparo dos bolinhos, observou-se a necessidade de uma exploração maior acerca desse alimento, a fim de fornecer informações para a população sobre a formação de acrilamida em acarajés.

Este estudo propôs investigar a ocorrência de AA em acarajés e batatas fritas comercializados em Salvador, Bahia, utilizando o xantidrol como agente derivatizante. A validação da metodologia e a quantificação ocorreram por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-MS). Foi também elaborada uma avaliação de risco do consumo destes produtos, contribuindo para aumentar o conhecimento existente sobre este alimento típico e de valor imaterial.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Reagentes e Equipamentos

Acrilamida (99%, 01700), padrão interno (d3-acrilamida em solução ~500 mg/L em acetonitrila, 72834), xantidrol (9-hidroxiacrideno, 98%, 252573) e dietilenoglicol (99%, H26456) foram adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA). Isooctano (2,2,4-Trimethylpentane) foi obtido da Macron (Estados Unidos), acetonitrila, metanol grau cromatográfico e ácido clorídrico (32%) da J. T. Baker (Michigan, Estados Unidos), acetato de etila da Mallinckrodt (Califórnia, Estados Unidos). Cloreto de sódio ($\geq 99,5\%$) foi adquirido da Êxodo Científica (São Paulo, Brasil). Água ultra-pura (18,2 M Ω .cm) foi preparada por um sistema de purificação PURELAB Option-Q (High Wycombe, Reino Unido).

A moagem das amostras foi realizada em moinho elétrico (Cadence, MDR302, Brasil) com passagem por peneira granulométrica de 24 Mesh (Tamis, Bertel, Brasil). A homogeneização foi realizada em vórtex Mixer Labnet modelo VX-200 (Analítica, Brasil) e as centrifugações foram feitas em Centrifuga Eppendorf modelo 5430/ 5430 R (Osterode, Alemanha). Um banho ultrassônico Unique modelo (Offenburg, Alemanha) foi utilizado. A concentração foi realizada em concentrador, acoplado à bomba de vácuo, Modelo RVC 2-18 (Christ, Alemanha). A derivatização foi realizada num banho de água com temperatura controlada (Novatécnica, Brasil).

Um cromatógrafo a gás Perkin Elmer, modelo Clarus 500, equipado com um injetor split-splitless e acoplado a um detector seletivo de massa Perkin Elmer, modelo Clarus 500 (Palo Alto, CA, USA), foi usado para análise de AA, e utilizou-se uma coluna modelo DB5-MS (5% de difenil e 95% dimetilsilicone 50m \times 0,25mm \times 0,25 μ m) (J&W Scientific, USA) para separação analítica.

Para a condução da metodologia deste estudo foi realizada a compilação de metodologias analíticas estabelecidas anteriormente a fim de elaborar a estratégia que melhor se adequasse às amostras e a determinação de AA nas mesmas. Dessa forma, para a extração da gordura das amostras de acarajés e batatas fritas foi utilizado o isooctano como solvente extrator de acordo com o estabelecido por Russo e colaboradores (2014), também foi seguido o que estes autores estabeleceram para a extração de AA. Foram realizadas pequenas alterações de volume, massa e adição de etapas descritas em detalhes na sessão 2.4 (Tratamento de amostras). A etapa de derivatização foi baseada no que estabeleceram Yamazaki e colaboradores (2012).

2.2 Preparo das soluções

Foi preparada uma solução estoque de AA (1,0 mg/mL), dissolvendo 100,0 mg do padrão em 100 mL de água ultra pura. As soluções de trabalho de AA (1, 10 e 100 µg/mL) foram preparadas por diluição da solução estoque em metanol. Como a solução de padrão interno adquirida estava diluída em acetonitrila, a solução de 40 µg/mL de d3-acrilamida utilizada foi obtida por dissolução direta em acetonitrila.

2.2.1 Elaboração da Curva Analítica

Para a elaboração da curva analítica alíquotas das soluções trabalho foram transferidas para tubos de vidro com tampa de rosca com selo de Teflon®, contendo 1,0 mL de metanol, 25 µL de solução padrão interno (40 µg/mL) e 100 µL de solução de dietilenoglicol (10%). Cada ponto da curva de calibração com adição de padrão foi preparada adicionando alíquotas de soluções de trabalho de acrilamida em sete diferentes tubos de vidro. As quantidades de acrilamida adicionadas foram 0,02, 0,05 e 0,1 µg (20, 50

e 100 µL de 1 µg/mL), 0,2, 0,5 e 1,0 µg (20, 50 e 100 µL de 10 µg/mL) e 2,0 µg (20 µL de 100 µg/mL), respectivamente. Aos tubos foram adicionados 100 µL de solução de xantidrol (5% em metanol) e 100 µL de solução de ácido clorídrico (0,3 mol/L em metanol), seguido de aquecimento em banho-maria (40°C/2h). Após arrefecimento, o material foi concentrado até à secura sob vácuo a 40 °C em concentrador rotativo. Posteriormente foram adicionados 5 mL de água e 2g de NaCl, seguido de extração com 2mL de acetato de etila. O sobrenadante coletado foi transferido para frascos do amostrador automático e conduzido para análise por GC-MS.

2.3 Tratamento das amostras

As amostras previamente processadas foram estabilizadas a temperatura ambiente e 1,5 g de cada amostra foram pesadas em tubo de vidro de 10 mL com tampa de rosca. Foram adicionados em seguida, 25 µL da solução de trabalho do padrão interno para obter 1 µg de d3-acrilamida e deixados em repouso por 10 minutos.

Primeiramente a cada tubo foram adicionados 3 mL de isooctano, seguido de agitação em homogeneizador do tipo vórtex por 3 minutos e centrifugação (10.000 RPM durante 5 minutos). Após a separação, a fase orgânica foi desprezada e o processo foi repetido por duas vezes, visando a eliminação da gordura presentes na amostra. Em seguida o analito foi extraído das amostras de acarajé e batata-frita por extração líquida com acetonitrila à temperatura ambiente (RUSSO et al., 2014). Foram adicionados aos tubos 1,5 mL de acetonitrila, agitados no homogeneizador durante três minutos, colocados em banho ultrassônico por 5 minutos e centrifugados (10.000 RPM durante 5 minutos). A extração foi realizada por 3 vezes e os sobrenadantes foram combinados e em seguida, 100 µL da solução de dietilenoglicol foram adicionados (RUSSO et al., 2014). Após agitação em vórtex, o extrato foi concentrado a vácuo até secura e conduzido para o processo de derivatização.

Para a realização da reação de derivatização, adicionou-se 1 mL de metanol, 100 µL de solução de xantidrol (5% em metanol) e 100 µL de solução de HCl (0,3 mol/L em metanol). A reação foi conduzida em banho-maria com temperatura controlada a 40 ° C, em vidro âmbar, por 2 horas. Posteriormente, a amostra foi concentrada até a secura sob vácuo (40°C), seguido da adição de 5 mL de água e 2 g de NaCl. Para a extração, foram utilizados 2 mL de acetato de etila, que após agitação em vórtex e centrifugação por 5 min, 2 mL do sobrenadante foram transferidos para frasco do amostrador automático do CG-MS.

2.4 Condições operacionais (GC-MS)

A identificação e quantificação da AA nas amostras foram realizadas em um cromatógrafo a gás acoplado a um detector seletivo de massa. A separação foi conduzida em coluna capilar de média polaridade com temperatura inicial do forno programada para 60°C, aumentando 10°C/min. até 280°C, permanecendo por 10 min. O gás hélio 99,9997% foi utilizado como gás de arraste a um fluxo de 1,0 mL/minuto, a temperatura do injetor foi programada em 250°C e 1 µL da amostra foi injetada no modo splitless, usando o amostrador automático.

O detector foi operado no modo de ionização por impacto de elétrons (70 eV) e monitoramento de íons seletivos (SIM), com temperatura da fonte programada para 250 °C e linha de transferência em 280 °C. Os derivados da AA (xantil-acrilamida) e do padrão interno (PI, d3-xantil-acrilamida) foram monitorados com os íons m/z 251 e 210, respectivamente. Os dados gerados foram analisados utilizando o software *TotalChrom*, sendo os espectros de massas dos compostos comparados com os da biblioteca “NIST” do equipamento e com os do padrão analítico de AA.

2.5 Amostragem

Para análise de acrilamida, os bolinhos de acarajé foram obtidos diretamente das vendedoras (baianas de acarajé) em seis bairros diferentes da cidade de Salvador (Bahia, Brasil). Foram selecionados para coleta os bairros onde estão localizados os pontos de venda com maior frequência de consumo na cidade. Em cada local de comercialização, foram adquiridos três bolinhos da mesma baiana, sendo as amostras codificadas em BA-A a BA-F. As amostras de batatas fritas foram adquiridas nas três principais redes de *fast-food* da cidade, aqui denominadas FFA, FFB e FFC. Foram adquiridas três porções padrão de batatas fritas com cerca de 100 g. Todas as amostras foram acondicionadas em sacos de coleta e transportadas para o laboratório. Imediatamente, ao chegar ao laboratório, as amostras foram trituradas em moinho elétrico, passadas em peneira granulométrica de 24 Mesh e armazenadas em freezer. O peso médio obtido de cada grupo de amostras está descrito na Tabela 1.

Tabela 1. Peso médio (n=3) das amostras de batata frita e acarajé por origem (rede *fast-food* ou local de comercialização, respectivamente).

Origem	Batata Frita			Acarajés					
	FFA	FFB	FFC	BA-A	BA-B	BA-C	BA-D	BA-E	BA-F
Massa (g)	106,4	110,1	107,7	134,1	107,7	151,5	108,1	111,3	84,2
Média									
DP (±)	4,4	6,2	4,0	5,4	8,4	8,4	3,5	1,5	9,9
Média Total		108,1±1,9					116,2±23,5		

2.6 Avaliação do risco de consumo de batatas fritas e acarajés

A avaliação de risco deste estudo teve como objetivo considerar a probabilidade de ocorrência dos possíveis efeitos adversos à saúde associados ao consumo destes alimentos contendo acrilamida. A partir dos pesos médios das porções de acarajés e batatas fritas e os níveis de ocorrência do contaminante nestas amostras, este estudo estimou a ingestão de

AA. Foram considerados três cenários, consumo de uma porção de batata frita por semana com teor de AA elevado (0,414 µg/g) cenário 1 (C1); consumo de uma porção de batata frita por semana com teor baixo (0,045 µg/g) de AA o cenário 2 (C2); e o cenário 3 (C3), o consumo de um acarajé por semana com teor correspondente a média de AA entre todos os seis locais de comercialização amostrados.

A pesquisa de campo efetuada por Borges e colaboradores em 2008 sobre os consumidores de acarajé foi aplicada a 156 pessoas no centro da cidade de Salvador (Pelourinho, Comércio e Avenida Sete de Setembro) e no bairro do Rio Vermelho, onde estão localizados três dos mais famosos tabuleiros de acarajés da cidade. Neste instrumento de pesquisa também foi identificado a idade, sexo, nível social e econômico, e preferência dos consumidores, porém não foi estabelecido o consumo alimentar médio de acarajé por dia. Dessa forma, a partir dos dados deste estudo, adotou-se o peso médio do bolinho de acarajé como 116 g e dividiu-se pela frequência de ingestão de acarajé para obter o consumo alimentar médio (g/dia). Na Tabela 3 estão descritos os percentuais em relação à frequência de consumo de acarajés.

Tabela 2. Percentual de consumo de acarajés em relação à frequência, adaptado de BORGES (2008).

Frequência de ingestão de acarajé	% de entrevistados	Consumo alimentar médio (g/dia)
1 vez por semana	39,10	16,6
2 vezes por semana	20,51	33,1
3 vezes por semana	7,05	49,7
4 vezes ou mais	3,85	66,3
1 vez por mês	2,56	3,9
Raramente	24,36	
Não consomem	2,56	

A ingestão foi estimada de acordo com o estabelecido por Arisseto e colaboradores (2008) e Esposito e colaboradores (2017): multiplicando-se o valor médio de consumo do alimento (batata frita e acarajé) pelo valor mediano do teor de acrilamida encontrado nestes alimentos e por fim, o resultado foi dividido pelo peso corporal, de acordo com a seguinte fórmula: (peso corpóreo médio de 70 kg foi adotado para expressar os resultados em $\mu\text{g}/\text{kg}$ de peso corpóreo por dia ou $\mu\text{g}/\text{kg pc}/\text{dia}$)

$$\text{ID} = \text{C} \times \text{Q} / \text{PC}$$

Onde:

ID = ingestão diária de AA ($\mu\text{g}/\text{kg}$ de peso corporal/dia)

C = concentração de AA observada nas amostras ($\mu\text{g}/\text{g}$).

Q = consumo alimentar médio per capita (g/dia).

PC = peso corporal individual (kg de peso corporal).

Como nenhum dado sobre grandes consumidores batatas fritas foi disponibilizado pela Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF), do IBGE (2011), para estimar a exposição de grandes consumidores à acrilamida o valor de ingestão de médios consumidores é multiplicado por três. Esta abordagem é sugerida pela Organização Mundial da Saúde (OMS), em seu documento de orientação para o estudo de ingestão de contaminantes em alimentos – Guidelines for the Study of Dietary Intake of Chemical Contaminants (WHO, 1985). Entretanto, neste estudo, para representar a ingestão de acrilamida devido ao consumo de batata frita, adotou-se o consumo de uma porção por semana (peso médio 108 g).

2.6.1 Margem de exposição

Para avaliar os riscos à saúde derivados da exposição à AA ingerida junto com os alimentos, valores de margens de exposição (MOEs) foram calculados através da relação entre dose de referência toxicológica e os níveis estimados de ingestão, como sugerido pelo JECFA (FAO/WHO, 2005). Para avaliar o quanto a ingestão de acrilamida devido ao consumo de batata frita e acarajé representa preocupação para os brasileiros, as MOEs neste estudo foram calculadas seguindo-se a fórmula:

$$\text{MOE} = \text{BMDL}_{10} / \text{ID}$$

Onde:

MOE = margem de exposição (adimensional)

BMDL₁₀ = limite de confiança inferior da dose de referência para uma resposta de referência de 10%
(µg/kg de peso corporal/dia)

ID = ingestão diária de AA calculada acima (µg/kg de peso corporal/dia)

O valor de BMDL₁₀ para a AA considerado para a estimativa de risco carcinogênico é de 170 µg/kg de peso corporal/dia. Este valor foi derivado de evidências experimentais de adenocarcinomas de glândulas endócrinas em ratos, conforme relatado pela EFSA (EFSA, 2015).

2.7 Análise Estatística

Os dados foram expressos em µg de AA/kg das matrizes analisadas. Os resultados foram descritos como média, DP, mínimo e máximo. Para testar diferença entre as concentrações de AA nos diferentes grupos de matrizes (Redes de *fast-food* para as batatas fritas e Local de comercialização para os acarajés) foi usada a análise de variância (ANOVA). O grau de significância de $p < 0,05$ foi utilizado para o teste de Tukey. Os dados foram processados usando o software Statistica® versão 7.0 (STATISTICA, 2004).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Escolha e compilação do método

Os alimentos são considerados matrizes complexas principalmente por serem formados por diferentes compostos que podem reagir quimicamente entre si. Assim, a identificação e quantificação de analitos nessas matrizes requer a avaliação da seletividade do método empregado. Russo e colaboradores (2014) citam Delatour e colaboradores (2004) destacando a dificuldade de quantificação de AA em matrizes ricas em interferentes, evidenciando o importante papel desempenhado pela matriz da amostra. Norouzi e colaboradores (2018) relataram a importância do emprego da etapa de preparação de amostra que proporciona eliminar muitas interferências da matriz amostral como a gordura. Segundo as revisões de literatura acerca da determinação da acrilamida (KERAMAT et al., 2010; ORACZ et al., 2011; TEKKELI et al., 2012), que abordam as diferentes metodologias analíticas desenvolvidas desde 2004, o método por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC-MS) têm sido amplamente utilizado devido à sua sensibilidade e robustez, mas ainda assim, exige que as etapas de extração e derivatização sejam criteriosas. Por muito tempo a bromação foi um método de derivatização amplamente utilizado (PITTET et al., 2004; SOARES et al., 2006; ZHANG et al., 2006). Entretanto, alguns autores (YAMAZAKI et al., 2012; WENZL et al., 2013; MOLINA-GARCIA et al., 2015) a consideraram complexa, cara e laboriosa, além de afirmarem que o derivado gerado pode ser termicamente instável e adsorvente devido aos grupos de amida remanescentes. Dessa forma e baseado em trabalhos que utilizaram o xantidrol como reagente derivatizante (TSUKAKOSHI et al., 2012; YAMAZAKI et al., 2012; LIM e SHIN, 2013; MOLINA-GARCIA et al., 2015; RATSAMISOMSI et al., 2016; ZOKAEI et al., 2016; YOSHIDA et al., 2017,), as amostras foram desengorduradas com isooctano em três etapas, e a acetonitrila foi utilizada como solvente extrator (RUSSO et al., 2014). O

xantidrol foi utilizado como agente derivatizante pois reage com o grupo amida da AA para formar um composto estável em meio ácido sob condições de aquecimento (LIM e SHIN, 2013).

Os cromatogramas dos íons totais (TIC) e os cromatogramas dos íons específicos (SIM, da sigla em Inglês, Single Ion Monitoring) m/z 251 e 210, de uma amostra real de batata frita contendo $360 \pm 20,0$ mg/kg de AA, são mostrados na Figura 1.

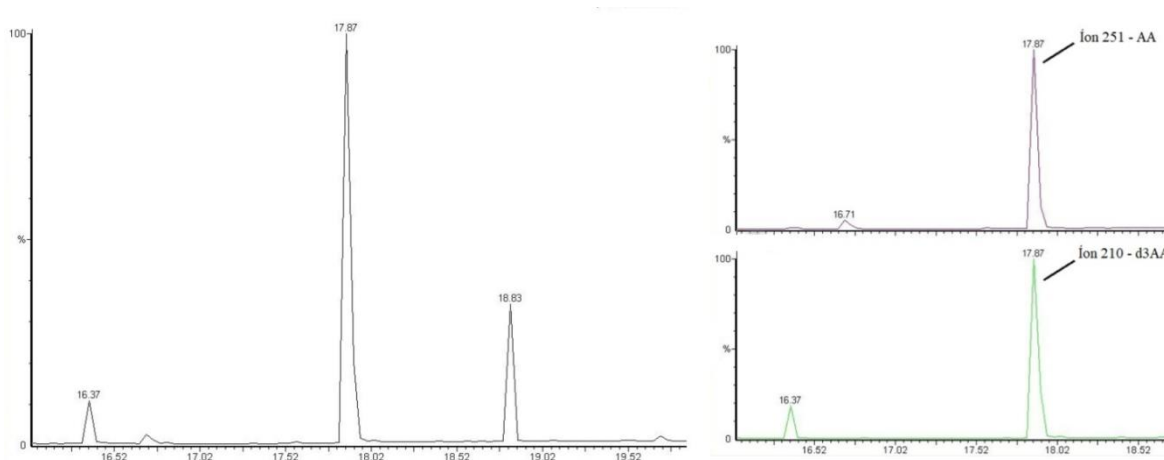


Figura 1. Cromatograma de íons totais (SIR) e cromatogramas de xantil-acrilamida e xantil-d3-acrilamida (P.I.) (Tr. 17, 87) em amostra de batata-frita.

3.2. Derivatização

Segundo Yamazaki e colaboradores (2012), o xantidrol era comumente utilizado como reagente de identificação em ensaios de ureia, eritromicina e outros antibióticos. Lim e Shin (2013) encontraram as condições reacionais ótimas de AA com xantidrol por 30 minutos à temperatura ambiente, usando HCl a 0,05 M. Em 2015, Molina-Garcia e colaboradores por meio de um projeto estatístico otimizaram as condições experimentais para derivatizar a AA, concluindo que a reação deveria ocorrer a 40°C, durante 50 minutos, com uma quantidade de 1,65 mL de agente de derivatização (xantidrol 5% em metanol). Para

um estudo de determinação de acetamidas em carne bovina e leite, Vismeh e colaboradores (2018) afirmaram que a reação entre xantidrol e acetamida sob condição ácida teve 15-20% maior rendimento e melhor reprodutibilidade a 40°C em comparação com a temperatura ambiente de 25 °C. Zokaei e colaboradores (2016) avaliaram a quantidade de reagente e o tempo de derivatização, estabelecendo 40µL de xantidrol e 40 minutos como a resposta mais alta para o método. Já Elahi et. al. 2019 utilizaram 60µL de xantidrol, 2 mL HCL (1 mol/L) e 30 minutos de reação. Dessa forma, a partir das referências citadas, o presente estudo conduziu a reação de derivatização a 40°C, com 100 µL de xantidrol (5% em metanol) por 2h, ao abrigo da luz.

Na Figura 2 as reações ocorridas são ilustradas e a reação com a acrilamida deuterada segue apresentada na mesma figura.

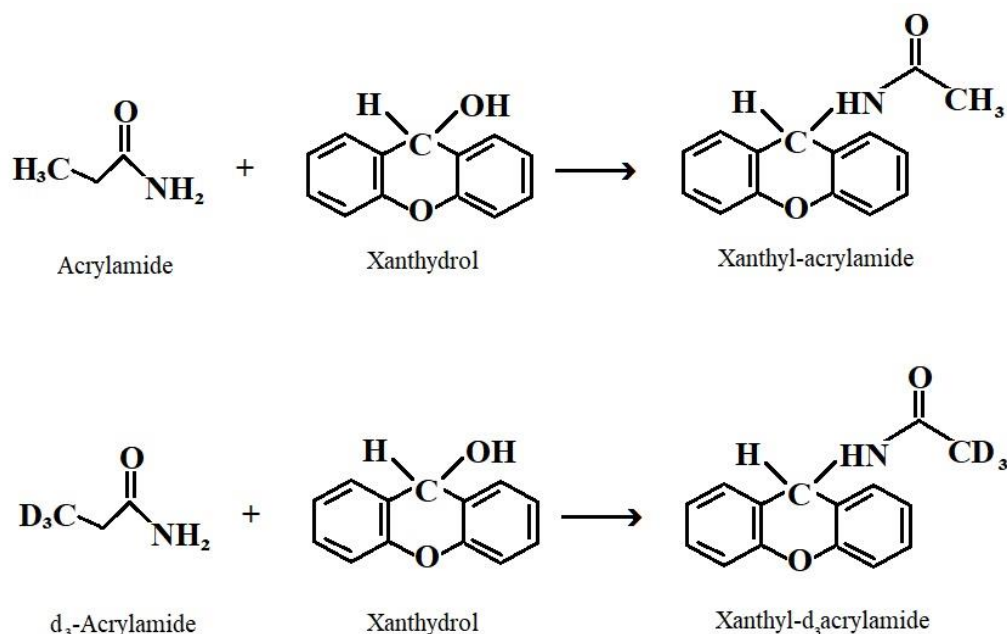


Figura 2. Visão geral do princípio de derivatização com xantidrol. **Fonte:** Molina-Garcia et al., 2015 e Vismeh et al., 2018.

3.3. Detecção por cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (GC-MS)

Os espectros de massas dos derivados de xantidrol com a AA e com a d3-acrilamida são apresentados na Figura 3 A e Figura 3 B respectivamente. Yamazaki e colaboradores (2012) utilizaram os dados dos relatórios de referência do Instituto Nacional de Estudos Ambientais do Japão (NIES) para identificar o pico relevante nos espectros, já que é um tanto difícil determinar o pico correspondente no cromatograma de íon total do produto derivado, baseando a quantificação no íon molecular m/z 251. Também utilizando o íon molecular m/z 251, Lim e Shim em 2013 indicaram que tal íon diagnosticava o derivado correspondente a xantil-acrilamida. Assim como os dois estudos citados anteriormente, neste estudo a detecção foi realizada pelo modo de monitoramento seletivo de íons (SIR) com o íon molecular m/z 251, usado como íon de quantificação da AA. Para o padrão interno (d3-acrilamida), o íon monitorado foi o m/z 210, como igualmente utilizaram Yamazaki e colaboradores (2012) que relataram a escolha de tal íon preferível em relação ao íon de massa m/z 237, pois este último sofre influência devido à AA nativa na matriz amostral.

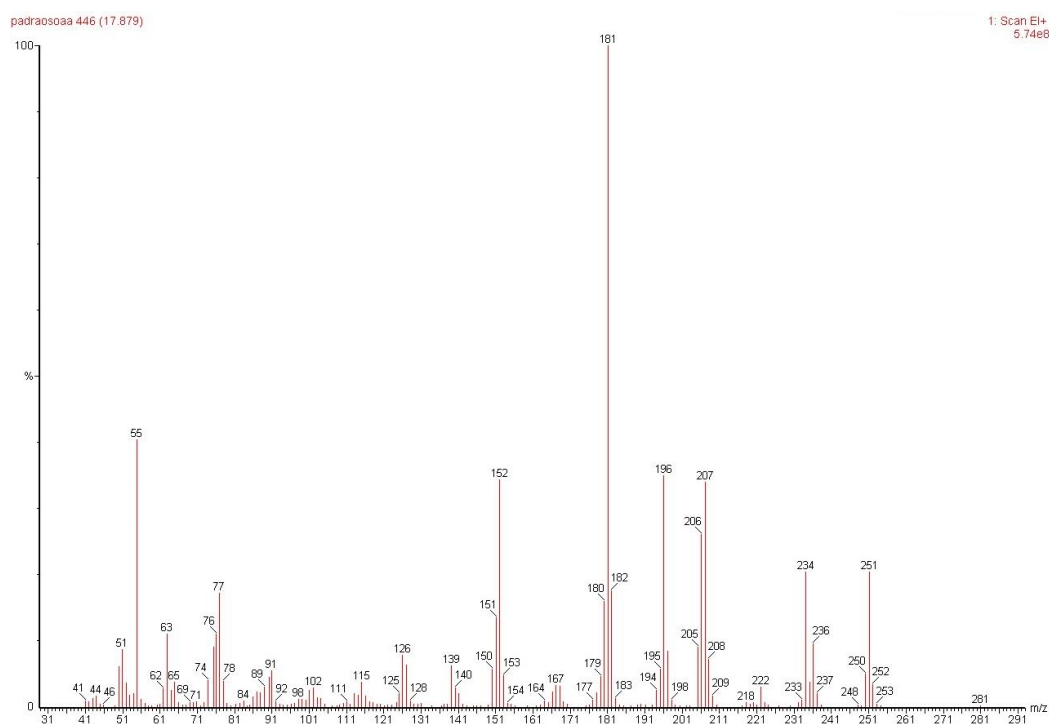


Figura 3 A. Espectro de massas de acrilamida.

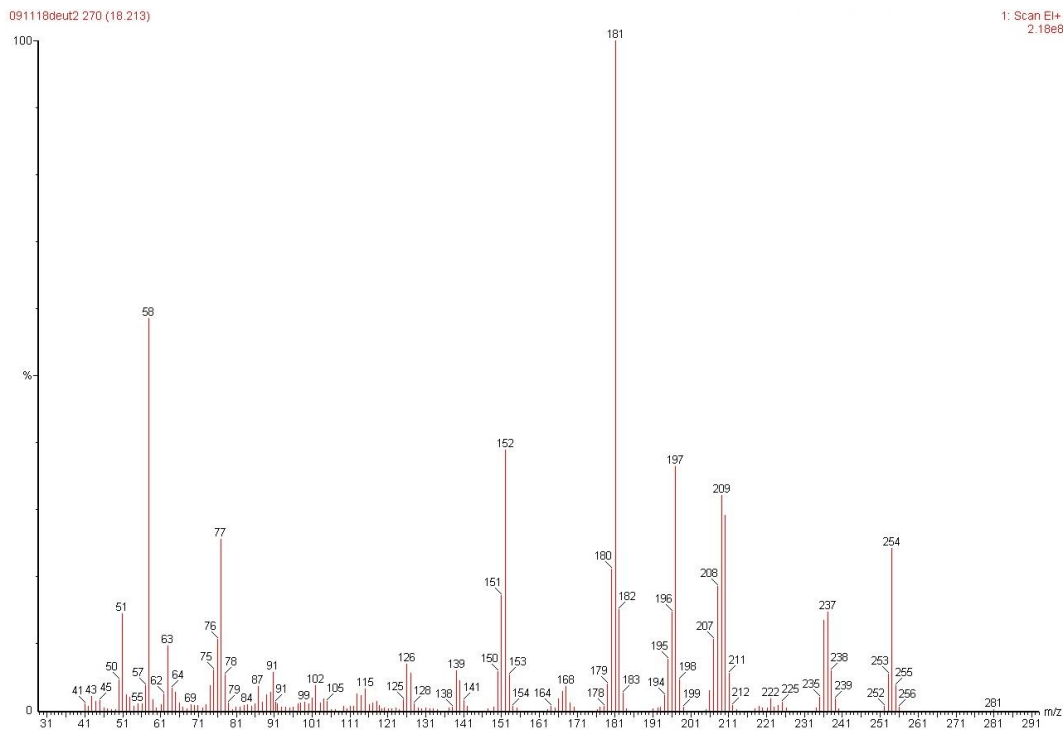


Figura 3 B. Espectro de massas de d3-acrilamida.

Uma junção representativa dos cromatogramas SIR de uma amostra de batata frita é mostrada na Figura 4 A e de acarajé na Figura 4 B. Nas condições estabelecidas no presente estudo, o pico de acrilamida foi eluído num tempo de retenção em torno de 17,86 minutos (temperatura do forno aproximadamente a 280 °C).

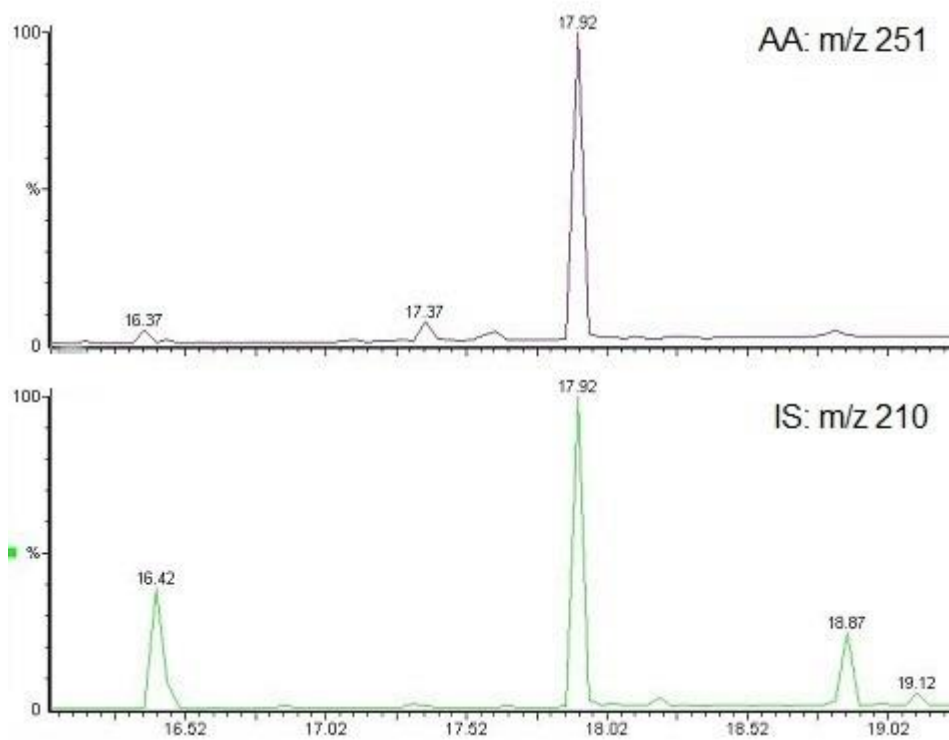


Figura 4 A. Cromatogramas SIR de amostras de batatas fritas analisadas.

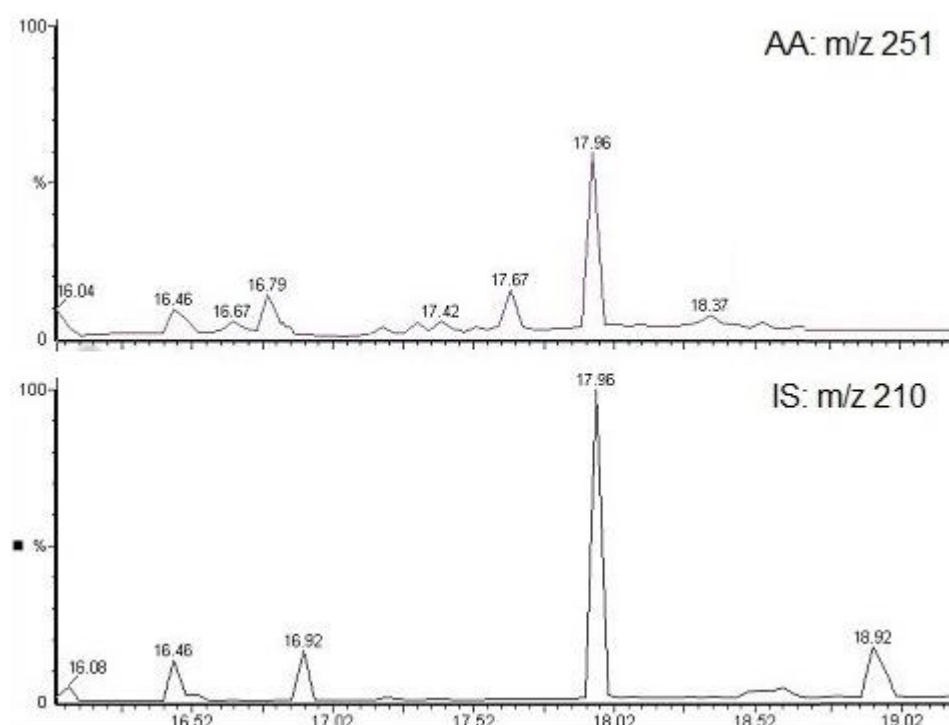


Figura 4 B. Cromatogramas SIR de amostras de acarajés analisados.

3.4 Validação do método analítico

O desempenho analítico do método sob condições ótimas foi validado através do estudo de linearidade (coeficiente de correlação), limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ), precisão (desvio padrão relativo) e exatidão por recuperação. Os resultados estão resumidos na Tabela 3.

Tabela 3. Resultados quantitativos de acrilamida em amostras acarajés e batatas fritas.

Parâmetros	Resultados
Equação de regressão ^a	$y = 1,615 (\pm 0,0611) x + 0,018 (\pm 0,0132)$
Número de pontos	6
r^b	0,992
LOD (µg/L) ^c	3
LOQ (µg/L) ^d	10
RSDr (%)^e	5,13
Recuperação (%)	98-104

^a $Y = A (\pm \text{erro padrão}) \times + B (\pm \text{erro padrão})$ de três repetições; ^bcoeficiente de determinação; ^c Limite de Detecção; ^d Limite de quantificação; ^e Desvio padrão relativo.

3.4.1 Linearidade

A linearidade do método foi avaliada utilizando soluções padrão de calibração, elaboradas com a mesma metodologia para as amostras. Constituída por seis pontos (0,01; 0,025; 0,05; 0,1; 0,25 e 1 µg/mL de AA) realizados em triplicata, uma alíquota fixa da solução de trabalho de d3-acrilamida (P.I., 40 µg /mL) foi adicionado a cada tubo. A curva de calibração foi obtida pelo procedimento de regressão linear, plotando as razões de área de AA/d3-AA versus concentração.

De acordo com a RDC nº166, de 24 de julho de 2017 da ANVISA que dispõe sobre a validação de métodos analíticos, o coeficiente de correlação (r) deve ser superior a 0,990 para ser usado como critério de aceitação da linearidade da gama de trabalho utilizada, tal critério foi sempre cumprido ao longo dos vários ensaios e para a curva de calibração do presente estudo o r foi de 0,9964. Além disso, o coeficiente de determinação (r^2) obtido foi de 0,992 (Tabela 3) resultado este em concordância com valores encontrados por Russo e colaboradores (2013) e Zokaei e colaboradores (2016).

3.4.1.1 Efeito matriz

Conforme descrito no Manual de garantia da qualidade analítica para resíduos e contaminantes em alimentos do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) (BRASIL, 2011) o efeito matriz é um estudo de seletividade que tem por objetivo averiguar possíveis interferências causadas pelas substâncias que compõem a matriz amostral gerando, basicamente, fenômenos de diminuição, ou ampliação, do sinal ou resposta instrumental.

De acordo com a RDC nº 166 (ANVISA, 2017) o efeito matriz deve ser determinado por meio da comparação entre as curvas de calibração construídas como padrão do analito em solvente e com a amostra fortificada com o padrão do analito. Ainda segundo tal resolução, as curvas devem ser estabelecidas para os mesmo níveis de concentração, utilizando, no mínimo 5 concentrações diferentes e em triplicata. O critério adotado para verificar a existência do efeito matriz é a avaliação do paralelismo entre as curvas relativas ao analito em solvente e a amostra fortificada com o analito, além da verificação de diferença significativa entre os coeficientes angulares das curvas de calibração. No presente estudo a influência da matriz batata frita foi analisada nas duas curvas de calibração com seis pontos de concentrações diferentes, em triplicata.

A Figura 5 mostra os resultados obtidos a partir da junção destas curvas, ilustrando o intercepto e as inclinações das curvas de calibração em que é possível identificar a presença da interferência dos constituintes da matriz por meio da perpendicularidade das retas.

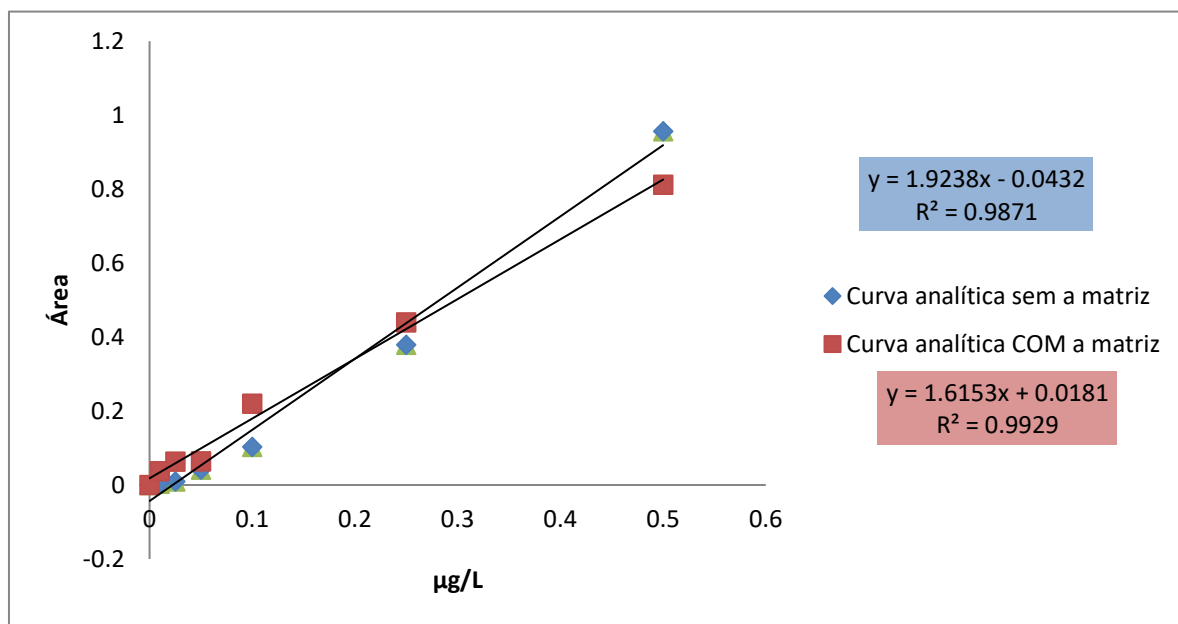


Figura 5. Avaliação das curvas analíticas e equações resultantes

Uma vez identificado o efeito matriz, com a construção das curvas em amostras de batatas fritas, o método de adição-padrão foi empregado para as análises de acrilamida em acarajés e batatas fritas.

3.4.2 Precisão (repetibilidade)

A precisão foi avaliada por meio do cálculo do desvio padrão relativo da repetibilidade (RSDr%) com base em nove determinações (em matriz fortificada de batata frita), que contemplaram o intervalo linear do método analítico, ou seja, as três concentrações: baixa, média e alta, em três réplicas em cada nível, conforme preconizado pela RDC nº 166 de 2017. As respectivas concentrações foram: 0,025; 0,1 e 0,25 µg /mL. O

valor RSDr% obtido neste estudo foi de 5,13% (Tabela 4), valor similar ao encontrado por Nouruzi e colaboradores (2018) de 5,4%.

3.4.3 Limite de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ)

Os limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) foram calculados pela relação sinal-ruído (S/R) (Tabela 4). Tais parâmetros foram estimados como a concentração mínima de analito proporcionando razões S/R de 3:1 para o LOD e 10:1 para o LOQ. Uma série de soluções diluídas com concentração conhecida do analito foram injetadas no GC-MS e os LOD's e LOQ's obtidos foram de 3 e 10 µg/L, respectivamente.

3.4.4 Recuperação

A exatidão expressa pela relação entre a concentração média, determinada experimentalmente na matriz batata frita, e a concentração teórica correspondente variou entre 98 e 104%, corroborando com a faixa de 84 a 105% encontrada por Molina-Garcia e colaboradores (2015); assim como os valores de 97 a 106% encontrados por Galuch e colaboradores (2019) e Elahi e colaboradores (2019) que encontraram valores para a recuperação entre 89 a 95%.

3.5 Aplicação do método em amostras de batatas fritas e acarajés

O método foi aplicado com sucesso na determinação de AA nas amostras de acarajé e batata frita comercializadas na cidade de Salvador, Bahia. O procedimento de extração e derivatização descrito no presente estudo foram utilizados para todas as amostras, que foram analisadas em triplicata e os resultados expressos em média ± desvio padrão. O intervalo para amostras de acarajé se manteve entre 10 e 110 µg/kg e para as batatas fritas

de 32 a 680 $\mu\text{g}/\text{kg}$, como mostrado na Tabela 5. A distribuição dos teores de AA nos dois grupos de alimentos está apresentada no gráfico de caixas na Figura 6.

As comparações entre as médias de concentração de AA entre as três redes de *fast-food* indicaram diferença significativa entre a FFA e FFB bem como entre FFB e FFC, enquanto que as redes FFA e FFC não apresentaram diferença significativa entre si.

Os teores de AA encontrados nas amostras de alimentos deste estudo variaram de 10 $\mu\text{g}/\text{kg}$ a 680 $\mu\text{g}/\text{kg}$, estando essas quantidades em concordância com estudos anteriores que relatam concentrações de AA, em diferentes matrizes alimentares, como o intervalo de 60 $\mu\text{g}/\text{kg}$ a 90 $\mu\text{g}/\text{kg}$ encontrado em batatas fritas (Zokaei e colaboradores), 160 a 290 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de AA em amostras de pão (Nourouzi e colaboradores) e 0,05 $\mu\text{g}/\text{kg}$ a 420 $\mu\text{g}/\text{kg}$ para biscoitos (Elahi e colaboradores).

Tabela 4. Teores ($\mu\text{g}/\text{kg}$) médios, DP, mínimo e máximo de AA nas amostras de batatas fritas por redes de *fast-food* (FF) e acarajés por local de comercialização (BA) em Salvador, Bahia.

Matriz alimentar	Média	\pm DP	Min. - Máx	p-valor
FF A	319,9	46,4	233 – 442	
FF B	48,9	10,5	32 – 65	<0,001
FF C	414,0	111,4	293 – 680	
BA-A^a	19,9	15,5	10 – 60	
BA-B^b	49,9	16,9	20 – 90	
BA-C^b	45,7	13,9	30 – 110	
BA-D^a	20,0	7,6	10 – 40	<0,001
BA-E^b	40,9	13,1	20 – 80	
BA-F^a	16,4	6,3	10 – 40	

Resultados expressos como média \pm desvio padrão (DP) de três unidades amostrais. p-valor ANOVA diferença das médias dentro dos grupos. ^{a,b}Sem diferença estatística entre si.

Em 2016 a Food and Drug Administration (FDA) emitiu uma orientação final para a indústria de alimentos a fim de ajudar produtores, fabricantes e operadores de serviços alimentícios a tomar medidas para reduzir os níveis de AA em certos alimentos. Anteriormente a esta data estudos realizados encontraram valores maiores para os máximos de concentração de AA, como é o caso de Yamazaki e colaboradores (2012) que apresentam o intervalo de 120 a 910 $\mu\text{g}/\text{kg}$ para amostras de batatas fritas, Molina-Garcia e colaboradores (2015) que relatam de 218 até 1260 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de AA em batatas fritas, e Ferrer-Aguirre e colaboradores (2015) que encontraram a faixa de 105 a 860 $\mu\text{g}/\text{kg}$ deste contaminante em seis amostras de batatas fritas. Este comparativo chama atenção ao verificar os anos de realização dos estudos, indicando que nas pesquisas mais recentes os teores de AA encontrados nos alimentos têm sido mais baixos. Isto pode ser um indicativo de que medidas de prevenção para a formação de AA nos alimentos, como as sugeridas pelo arquivo emitido pela FDA em 2016, estejam sendo tomadas por parte dos produtores e manipuladores de alimentos, já que a formação deste composto é facilmente influenciada pelo teor de açúcar presentes nas matérias-primas e pelo tempo e temperatura de cozedura.

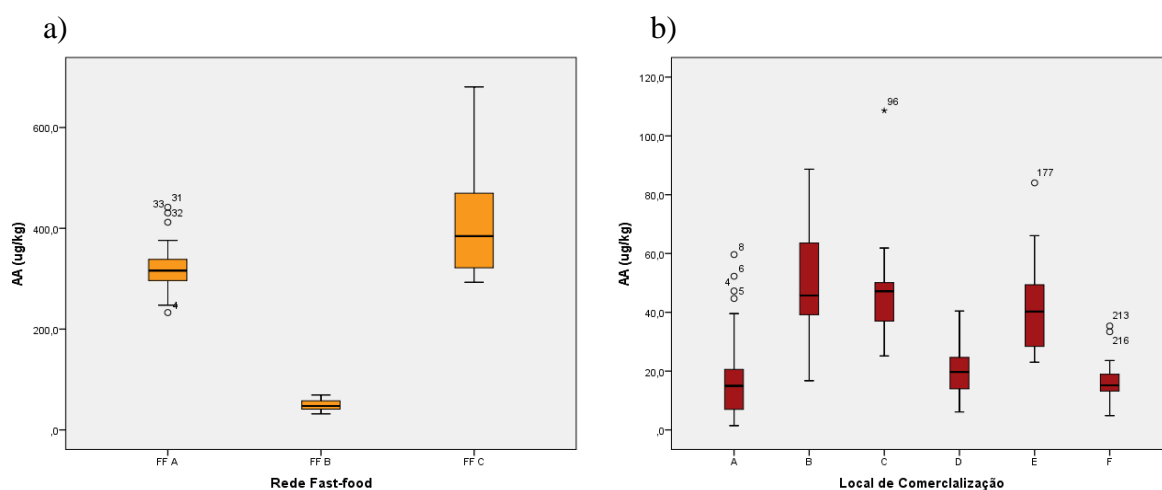


Figura 6. O gráfico de caixas mostra a distribuição dos teores de Acrilamida em batata frita por rede de *fast-food* (a) e em acarajé por local de comercialização (b).

3.6 Avaliação do risco de consumo de alimentos com AA

Com o objetivo de avaliar a possível preocupação à saúde pública em função do consumo de acarajés e batatas fritas, devido à provável exposição à AA, a ingestão de acrilamida (IA) foi calculada com base na relação entre o consumo destes alimentos e a concentração da AA detectada nas amostras coletadas na Cidade do Salvador, Bahia. Como citado por Costa e colaboradores (2018), se a estimativa da dose de exposição ao elemento de consumo alimentar for superior à dose de referência, assume-se que o risco não carcinogênico pode ocorrer para a saúde da população do estudo, devido ao consumo dos alimentos, entretanto, até o momento, nenhuma dose de referência ou nível máximo para AA em alimentos foi estabelecida. Em contrapartida, a Comissão Europeia estabeleceu “valores indicativos” para este composto em vários gêneros alimentícios. Esses valores não são limites legais, mas apenas pretendem sugerir investigações adicionais caso os valores sejam excedidos. O nível indicativo de acrilamida em alimentos é de 1 µg AA/kg pc (EFSA, 2015).

Consoante ao descrito, as margens de exposição (MOE) foram estimadas para avaliar se o consumo de acarajés e batatas fritas pode representar uma preocupação quanto a efeitos carcinogênicos. De acordo com o relatório da EFSA (2005), o valor que deve ser considerado sem preocupação para as pessoas é de MOE 10.000, relativo à carcinogenicidade. Além disso, como a MOE é inversamente proporcional ao consumo de AA, é importante ressaltar que quanto menor o valor de MOE, maior é a preocupação. Na Tabela 6 são apresentados os parâmetros encontrados para cada um dos cenários estabelecidos neste estudo. No cenário 1 (C1), consumo de uma porção de batata frita semanalmente com alto teor de AA (FF C), pode representar uma preocupação dado que a MOE calculada é 1866. No entanto, os dados mostram no C2 (cenário 2) que o consumo de uma porção semanal de batata frita com baixo teor de AA (FF B), não representa uma

preocupação considerável, uma vez que a MOE calculada é maior que 10.000 o limite de segurança da EFSA.

Tabela 5. Cenários de exposição para avaliação de risco de ingestão de AA.

Parâmetros	C1 (AA elevado BF)	C2 (AA baixo BF)	C3 (AA Acarajé)
C (µg AA/g)	0,414	0,049	0,032
Q (g/dia)	15,4	15,4	16,6
PC (kg de peso corporal)	70	70	70
ID (µg/kg de peso corporal/dia)	0,0911	0,0108	0,0076
BMDL ₁₀ (µg/kg de peso corporal/dia)	170	170	170
MOE	1.866	15.740	22.368

C: concentração de AA observada nas amostras; Q: consumo alimentar médio per capita; PC: peso corporal individual; ID: ingestão diária de AA; BMDL₁₀: limite de confiança inferior da dose de referência para uma resposta de referência de 10%; MOE: margem de exposição.

Dessa maneira, os resultados de ingestão diária para batatas fritas encontrados neste estudo, podem ultrapassar o nível indicado pela EFSA para alimentos (1 µg AA/kg pc). No que tange ao consumo de acarajé e exposição à acrilamida, o consumo semanal de um bolinho (com cerca de 100g) não representa um risco carcinogênico. Contudo, baseado nesses dados, não seria recomendável consumir mais que dois bolinhos semanalmente (>200g). O consumo de três bolinhos por semana (>300g), por um indivíduo de 70 kg, representa uma ingestão diária de cerca 49,7 g de acarajé, que seria traduzido numa MOE de quase 7.500, representando, portanto, uma preocupação a longo prazo.

Tais dados coadunam com estudo de Wyka e colaboradores (2015), que avaliaram a exposição dietética à acrilamida em um grupo de adolescentes de um ambiente urbano, encontrando MOE entre 152 a 3.444 para as ingestões de 0,09 µg de AA/kg pc/dia para garotas e 0,13 µg de AA/kg pc/dia para garotos. Em 2016, Claeys e colaboradores estabeleceram o valor de 0,35 µg/kg pc/dia ao comparar dois períodos (2002-2007 e 2008-

2013) em termos de níveis alimentares de AA e exposição alimentar na Bélgica e encontraram MOE de 3.461 para neurotoxicidade.

Esposito e colaboradores (2017), que avaliaram a ingestão de AA em seis grupos de consumidores divididos de acordo com a idade e o consumo de batatas fritas, relatam que apesar dos níveis de acrilamida detectados nos alimentos à base de batatas sejam variáveis, a contribuição da ingestão de batatas fritas não é insignificante; e, por isso, devem ser estabelecidos valores indicativos para níveis de acrilamida em alimentos e regulamentos sobre níveis máximos de AA devem ser emitidos.

As diferenças observadas em relação à ingestão de AA podem estar relacionadas aos hábitos alimentares diversos dos locais em que os estudos foram conduzidos. É importante salientar que as considerações feitas neste estudo podem ter subestimado os resultados pelo fato de ser considerado apenas o consumo de batatas fritas e acarajés. A ingestão total da AA recebe a contribuição de outras fontes alimentares consumidas na dieta do ser humano, a exemplo de torradas, biscoitos, café, chocolate, etc.

4. CONCLUSÕES

Na presente pesquisa, a acrilamida foi identificada e quantificada com eficiência. Os dados de validação mostraram que esta compilação de métodos exibiu boa precisão e exatidão. Na etapa de preparação da amostra, a complexidade do componente da matriz foi removida e a quantidade presente de analito alvo pôde ser efetivamente extraída em um curto espaço de tempo. Além disso, foi comprovado que alimentos com concentrações baixas de acrilamida podem ser determinados usando este método. Acreditamos que a união de metodologias realizada neste estudo é promissora e aplicável a uma gama de alimentos, principalmente em iniciativas globais direcionadas à vigilância e monitoramento da formação de acrilamida em alimentos.

A avaliação de risco baseada na avaliação da MOE indicou que o consumo de uma porção de batata frita por semana com alto teor de acrilamida pode representar uma preocupação á saúde. Com respeito ao consumo de acarajé, recomenda-se o consumo moderado, não mais que duas unidades por semana, pois outros alimentos contidos na dieta também podem ser fontes de AA. Este estudo demonstrou que, comparativamente, o risco de exposição a AA devido ao consumo de batata frita em rede de *fast-food* é aproximadamente 12 vezes maior do que o consumo de acarajés comercializados nas ruas da cidade. Recomenda-se que as redes *fast-foods* invistam em pesquisa e inovação, buscando medidas tecnológicas que visem diminuir os teores de AA gerados nas batatas fritas.

CONFLITOS DE INTERESSE

Os autores declaram não haver nenhum conflito de interesses.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro (CNPq 400710/2014-5).

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, D. T.; CURVELO, F. M.; COSTA, M. M.; VIANA, T. V.; LIMA, P.C. Estabilidade oxidativa do óleo de palma cru após fritar akara (Pasta de Feijão Frito). **Food Science and Technology Brazil**,v.38, p.142–147, 2017.

ALMEIDA, D. T.; NUNES, I. L.; CONDE, P. L.; ROSA, R. P. S.; ROGÉRIO, W. F.; MACHADO, E. R. Uma avaliação da qualidade do óleo de palma bruto comercializado na Bahia, Brasil. **Grasas y Aceites**,v.64, p.387–394, 2013.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC N° 166, de 24/07/2017. Guia para validação de métodos analíticos - Julho, 2017.

ARISSETO, A. P.; TOLEDO, M. C. F. Acrilamida em alimentos: uma revisão. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.9, n.2, p. 123-134, 2006.

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

ARISSETO, A. P.; TOLEDO, M.C. F.; GOVAERT, Y. Contribuição de alimentos selecionados para o consumo de acrilamida por uma população de adolescentes brasileiros. **LWT-Food Science and Technology**,v. 42, p. 207–211, 2009.

BIEDERMANN, M.; BIEDERMANN-BREM, S.; NOTI, A.; GROB, K.; EGLI, P.; MANDLI, H. Two GC-MS methods for the analysis of acrylamide in foods. **Mitteilungen Aus Lebensmitteluntersuchung Und Hygiene**, v. 93, p. 638–652, 2002.

BECALSKI, A.; LAU, B. P.; LEWIS, D.; SEAMAN, S. W. Acrilamida em alimentos: Ocorrência, fontes e modelagem. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**,v.51, p. 802–808, 2003.

BORGES, F. M. **Acarajé : tradição e modernidade**. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal da Bahia. Faculdade de Filosofia e Ciências Humanas. Programa de Pós-Graduação em Estudos Étnicos e Africanos, 2008.

BRASIL. Ministério do Planejamento, Orçamento e Gestão. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Contagem Populacional. Disponível em <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/estimativa2015/estimativa_dou.shtm>. Acesso em 10 de abril de 2019.

BRASIL. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Manual de garantia da qualidade analítica. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília: MAPA/ACS, 2011.

BRASIL ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada - RDC N° 166, 24 de julho de 2017. Validação de métodos analíticos, 2017.

CAPUANO, E.; FOGLIANO, V. Acrilamida e 5-hidroxi metilfurfural (HMF): Uma revisão sobre metabolismo, toxicidade, ocorrência em alimentos e estratégias de mitigação. **LWT - Food Science and Technology**, v. 44, n. 4, p. 793–810, 2011.

CASTLE, L.; ERIKSSON, S. Métodos analíticos utilizados para medir as concentrações de acrilamida nos alimentos. **Journal of AOAC International**, v. 88, p. 274–284, 2005.

CLAEYS, W.; DE VLEESCHOUWER K.; HENDRICKX M. E. Cinética de formação e eliminação de acrilamida durante o aquecimento de um sistema modelo de asparagina-açúcar. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p. 9999-10005, 2005.

COSTA, R.G.; ARAÚJO, C.F.D.S.; FERREOL BAH, A.H.; JUNIOR, E.A.G.; RODRIGUES, Y.J.M.; MENEZES-FILHO, J.A. Chumbo em caranguejo de raiz de mangue (*Goniopsis cruentata*) e avaliação de risco devido à exposição de aldeões estuarinos. **Food Additives and Contaminants**, 2018.

CODEX ALIMENTARIUS. Food and agricultura organization (FAO) of the United Nations World Health organization 2009. Disponível em <www.fao.org/input/download/standards/11258/CXP_067e.pdf>. Acesso em: 05 de abril de 2019.

CUMMINS, E.; BUTLER, F.; GORMLEY, R.; BRUNTON, N. Uma metodologia para avaliar a formação e a exposição humana à acrilamida através de batatas fritas. **LWT - Food Science and Technology**, v. 41, p. 854-867, 2008.

CURVELO, F. M.; ALMEIDA, D. T. DE; NUNES, I. L.; FEITOSA, S. Qualidade do óleo de palmabuto (*Elaeis guineensis*): matéria-prima para fritura de acarajés. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 70, p. 641-646, 2011.

DELATOUR, T.; PÉRISSET, A.; GOLDMANN, T.; RIEDIKER, S.; STADLER, R. H. Preparação melhorada de amostras para determinar a acrilamida em matrizes difíceis como chocolate em pó, cacau e café por cromatografia líquida em tandem espectroscopia de massa. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, p. 4625–4631, 2004.

EFSA (European Food Safety Authority), Utilização da base de dados europeia abrangente sobre consumo alimentar na EFSA na avaliação da exposição. **EFSA Journal**, v. 9, n. 3, p. 2097, 2011.

EFSA (European Food Safety Authority). Resultados sobre os níveis de acrilamida nos alimentos dos anos de monitoramento de 2007-2009 e avaliação da exposição. Relatório científico da EFSA. **EFSA Journal**, v. 9, n. 4, p. 2133, 2011.

EFSA (European Food Safety Authority). Parecer científico sobre acrilamida em alimentos. **EFSA Journal**, v. 13, p. 1-321, 2015.

EFSA (European Food Safety Authority) A Base de Dados Europeia Abrangente sobre o Consumo Alimentar da EFSA. Disponível em: <https://www.efsa.europa.eu/it/node/949501>. Acesso em: 10 de abril de 2019.

ELAHI, M.; KAMAN KESH, M.; MOHAMMADI, A.; JAZAERI, S. Acrilamida em Amostras de Biscoitos: Análise Usando uma Co-Derivatização Eficiente Conjugada com Método de Microextração Sensível Seguido por Cromatografia Gasosa-Espectrometria de Massa. **Food Analytical Methods**, v. 12, 2019.

ESPOSITO, F.; NARDONE, A.; FASANO, E.; TRIASSI, M.; CIRILLO, T. Determinação dos níveis de acrilamida em batatas fritas e outros snacks e avaliação do risco de exposição através de uma abordagem de Margem de Exposição. **Food and Chemical Toxicology**, v. 108, p. 249–256, 2017.

FDA (Food and Drug Administration). Survey Dados de pesquisa sobre acrilamida em alimentos: produtos alimentícios individuais. FDA/Center for Food Safety and Applied Nutrition, Disponível em: <https://www.fda.gov/food/chemicals/survey-data-acrylamide-food>. Acesso em: 20 de março de 2019.

FAO/WHO (Food and Agriculture Organization/World Health Organization). Resumo e conclusões da sexagésima quarta reunião, de 8 a 17 de fevereiro de 2005. Roma, Itália, p.7-17, 2005.

FELZENSZWALB, I.; COSTA MAZZEI, J. L. DA; FEITOSA, S.; FORTES AIUB, C. A.; ALMEIDA, D. T. de. Avaliação toxicológica do óleo de palma cru (*Elaeis guineensis*) utilizado na fritura de akara (alimento de feijão e caupi). **Grasas y Aceites**, v. 65, p. 1-8, 2014.

FEITOSA S.; BOFFO E. F.; BATISTA C. S. C.; VELASCO J.; SILVA C. S.; BONFIM R.; ALMEIDA D. T. Um estudo de caso real sobre as mudanças físico-químicas na palma bruta. óleo (*Elaeis guineensis*) durante a fritura de akara, tradicionais bolas de feijão-caupi, no Brasil. **Grasas y Aceites**, v. 70, n. 2, p. 305, 2019.

FERRER-AGUIRRE, A.; ROBERTO R. G.; VIDAL J. L. M.; FRENICH A. G. Determinação simples e rápida de acrilamida e metabólitos em batatas fritas e espargos grelhados por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas, **Food Analytical Methods**, v. 9, p. 1237–1245, 2015.

FRIEDMAN M. Química, bioquímica e segurança da acrilamida. Uma revisão. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, p. 4504–4526, 2003.

FRIEDMAN M.; LEVIN C. E. Revisão de métodos para a redução do teor dietético e toxicidade da acrilamida. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 6113–6140, 2008.

GALUCH, M. B.; MAGON, T. F. S.; SILVEIRA, R.; NICÁCIO, A. E.; PIZZO, J. S.; BONAFE, E. G.; MALDANERA, L.; SANTOS, O. O.; VISENTAINER, J. V. Determinação de acrilamida em café fermentado por microextração líquido-líquida dispersiva (DLLME) e espectrometria de massa em tandem por cromatografia líquida de ultra-desempenho (UPLC-MS/MS). **Food Chemistry**, v. 282, 2019.

HAMLET, C. G.; JAYARATNE, S. M.; SADD, P. A. Análise rápida, sensível e seletiva de acrilamida em produtos de cereais usando brominação e GC/MS/MS. **Czech Journal of Food Sciences**, v. 22, p. 290–293, 2004.

HU, Q.; XU, X.; FU, Y.; LI, Y. Métodos rápidos para detectar acrilamida em alimentos termicamente processados: uma revisão. **Food Control**, v. 56, p. 135–146, 2015.

IARC (International Agency for Research on Cancer). Monografias do IARC sobre a avaliação do risco carcinogênico para humanos. Alguns produtos químicos industriais. Lyon, França, v. 60, p. 389–433, 1994.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). Pesquisa de orçamentos familiares 2008-2009: Análise do consumo alimentar per capita no Brasil, 2011.

IPHAN (Instituto do Patrimônio Histórico e Artístico Nacional), 2005. Dossiê IPHAN 6: Ofício das Baianas do Acarajé. Brasília: IPHAN. Disponível em: http://portal.iphan.gov.br/uploads/publicacao/PatImDos_OficioBaianasAcaraje_m.pdf. Acesso em: 28 de abril de 2019.

JOHNSON K. A.; GORZINSKI S. J.; BODNER K. M.; CAMPBELL R. A.; WOLF C. H.; FRIEDMAN M. A.; MAST R. W. Estudo de toxicidade crônica e oncogenicidade em acrilamida incorporada na água de beber de ratos Fischer 344. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 85, p.154-168, 1986.

KERAMAT, J.; LEBAIL A.; PROST C.; SOLTANIZADEH N. Acrilamida em Alimentos: Química e Análise. Uma revisão. **Food Bioprocess Technology**, v. 4, p. 340–363, 2011.

KUMAR, J.; DAS, S.; TEOH, S. L. Acrilamida na dieta e os riscos de desenvolver câncer: fatos a serem considerados. **Frontiers in Nutrition**, v. 5, p. 14, 2018.

LIM, H. H.; SHIN, H. S. Ultra determinação do nível de traços de acrilamida na superfície e água potável por GC-MS após derivatização com xantidrol. **Journal of Separation Science**, v. 36, p. 3059–3066, 2013.

LUO, L.; REN, Y.; LIU, J.; WEN, X. Investigação de um sistema de reação não aquoso rápido e sensível para determinação de acrilamida em alimentos processados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. **Analytical Methods**, v. 8, n. 30, p. 5970-5977, 2016.

MESÍAS, M.; MORALES, F. J. Acrilamida no café: estimativa da exposição das máquinas de venda automática. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 48, p. 8–12, 2016.

MOLINA-GARCIA, L.; SANTOS, C. S. P.; MELO, A.; FERNANDES, J. O.; CUNHA, S. C.; CASAL, S. Acrilamida em Batata Frita e Batata Frita: um Método Novo e Simples Usando Xantidrol para sua Determinação GC-MS. **Food Analytical Methods**, v. 8, p. 1436–1445, 2015.

MOTTRAM, D. S.; WEDZICHA, B. L.; DODSON, A. T. Acrylamideis formed in the Maillard reaction. **Nature**, v. 419, p. 448, 2002.

MOUTALEB, O. H.; AMADOU, I.; AMZA, T.; ZHANG, M. Propriedades Físico-Funcionais e Sensoriais de Receitas à Base de Farinha de Feijão (Akara) e Enriquecido com Batata-Doce. **Journal of Nutritional Health & Food Engineering**, v. 7, n. 4, p.243, 2017.

NEMATOLLAHI, A.; KAMANKESH, M.; HOSSEINI, H.; GHASEMI, J.; HOSSEINIESFAHANI, F.; MOHAMMADI, A. Investigação e determinação de acrilamida no principal grupo de produtos derivados de cereais usando o método de microextração

avançada acoplado à cromatografia gasosa-espectrometria de massa, **Journal of Cereal Science** (2019)

NOROUZI, E.; KAMANKESH, M.; MOHAMMADI, A.; ATTARAN, A. Acrilamida em amostras de pão: determinação utilizando extração assistida por ultra-som e método de microextração seguido por cromatografia gasosa-espectrometria de massa. **Journal of Cereal Science**, v. 79, p. 1–5, 2018.

ONO, H.; CHUDA, Y.; OHNISHI-KAMEYAMA, M.; YADA, H.; ISHIZAKA, M.; KOBAYASHI, H.; YOSHIDA, M. Análise de acrilamida por LC-MS / MS e GC-MS em alimentos processados japoneses. **Food Additives and Contaminants**, v. 20, p. 215–220, 2003.

ORACZ, J.; NEBESNY, E.; ZELEWICZ, D. Novas tendências na quantificação da acrilamida em produtos alimentícios. **Talanta**, v. 86, p. 23–34, 2011.

PITTET, A.; PÉRISSET, A.; OBERSON, J. M. Determinação do nível de traços de acrilamida em alimentos à base de cereal por espectrometria de massa por cromatografia em fase gasosa. **Journal of Chromatography A**, v. 1035, p. 123–130, 2004.

RATSAMISOMSI, A.; RODPHAI, P.; SUPPRAPHAKORN, L.; TIYAPONGAATTANA, W. Comparação de dois métodos de derivatização de acrilamida entre a reação de brominação e xantidrol para detecção de ionização de chama por cromatografia gasosa. Pure and Applied Chemistry International Conference, **PACCON**, 2016.

RUSSO, M. V.; AVINO, P.; CENTOLA, A.; NOTARDONATO, I.; CINELLI, G. Determinação rápida e simples de acrilamida em alimentos convencionais à base de cereais e batatas fritas através da conversão em trifluoroacetato de 3- [bis (trifluoroetil) amino] -3-oxopropilo por cromatografia gasosa acoplada a detectores de captura de elétrons e espectrometria de massa com armadilha de íons. **Food Chemistry**, v. 146, p. 204-211, 2014.

STADLER, R. H., BLANK, I., VARGA, N., ROBERT, F., HAU, J., GUY, P. A., et al. Acrylamide from Maillard reaction products. **Nature**, v. 419, p. 449, 2002.

STATISTICA. Data analysis software system, Version 7.0 Cary: StatSoft Inc., 2004. Disponível em: www.statsoft.com

SOARES, C. M.; FERNANDES, J. O. Método MSPD para determinar acrilamida em alimentos. **Food Analytical Methods**, v. 2, p. 197–203, 2009.

SOARES, C.; CUNHA, S.; FERNANDES, J. Determinação de acrilamida em café e produtos de café por GC-MS usando uma limpeza SPE aprimorada. **Food Additives and Contaminants**, v. 23, p. 1276–1282, 2006.

SOARES, C. M.; ALVES, R. C.; CASAL, S.; OLIVEIRA, M. B. P. P.; FERNANDES, J. O. Desenvolvimento e validação de um método de dispersão em fase sólida da matriz para determinação de acrilamida em substitutos de café e café. **Journal of Food Science**, v. 75, p. T57–T63, 2010.

TARDIFF, R. G.; GARGAS, M. L.; KIRMAN, C. R.; LEIGH CARSON, M.; SWEENEY, L. M. Estimativa dos níveis de ingestão alimentar segura de acrilamida para humanos. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 2, p. 658–667, 2010.

TAREKE, E.; RYDBERG, P.; KARLSSON, P.; ERIKSSON, S.; TÖRNQVIST, M. Análise de acrilamida, uma substância cancerígena formada em alimentos aquecidos. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 50, p. 4998–5006, 2002.

TEKKELI, S. E. K.; ÖNAL, C.; ÖNAL, A. Uma revisão dos métodos atuais para a determinação de acrilamida em produtos alimentícios. **Food Analytical Methods**, v. 5, p. 29–39, 2012.

TIAN, S. M.; MA, Y. X.; SHI, J.; LOU, T. Y.; LIU, S. S.; LI, G. Y. Neurotoxicidade da acrilamida no encéfalo de ratos desmamados. **Neural Regeneration Research**, v. 10, p. 938-943, 2015.

TYL, R. W.; FRIEDMAN, M. A.; LOSCO, P. E.; FISHER, L. C.; JOHNSON, K. A.; STROTHER, D. E.; WOLF, C.H. Reprodução de duas gerações de ratos e estudo letal dominante de acrilamida em água potável. **Reproductive Toxicology**, v. 14, p. 385-401, 2000.

VISMEH, R.; HADDAD, D.; MOORE, J.; NIELSON, C.; BALS, B.; CAMPBELL, T.; JULIAN A.; TEYMOURI F.; JONES A. D.; BRINGI, V. Avaliação da Exposição de Acetamida em Leite, Carne de Bovino e Café Usando Derivatização com Xantidrol e Cromatografia Gasosa/Espectrometria de Massa. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, n. 1, p. 298–305, 2017.

WENZL, T.; ANKLAM, E. Banco de dados da União Européia sobre os níveis de acrilamida em alimentos: atualização e revisão crítica da coleta de dados. **Food Additives and Contaminants**, v. 24, p. 5–12, 2007.

WHO (World Health Organization). Instruções para submissão eletrônica de dados sobre contaminantes químicos em alimentos - Apêndice 4: Avaliação de contaminação de baixo nível em alimentos, p. 51-52, 2003.

WHO (World Health Organization). Diretrizes para o Estudo de Ingestão Dietética de Contaminantes Químicos. WHO Offset Publication No. 87 (Geneva: WHO), 1985.

WHO (World Health Organization). "IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to human - Acrylamide", v. 60, p. 389-433, 1994.

WYKA, J.; TAJNER-CZOPEK, A.; BRONIECKA, A.; PIOTROWSKA, E.; BRONKOWSKA, M.; BIERNAT, J. Estimativa da exposição alimentar à acrilamida de adolescentes polacos de um ambiente urbano. **Food and Chemical Toxicology**, v. 75, p. 151-155, 2015.

YAMAZAKI, K.; ISAGAWA, S.; KIBUNE, N.; URUSHIYAMA, T. Um método para a determinação de acrilamida em uma ampla variedade de alimentos processados por GC-MS usando derivatização xantidrol. **Food Additives and Contaminants**, v. 29 p. 705–715, 2012.

YOSHIDA, M.; ISAMU, M.; CHIKU, K. Acrilamida em Batata Frita e Cebola para Pratos Cozidos no Japão. **Journal of Food Safety**, v. 5, n. 2, p. 54–60, 2017.

ZHANG, Y.; ZHANG, Y. Formação e redução de acrilamida na reação de Maillard: uma revisão baseada no estado atual do conhecimento. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 47, p. 521–542, 2007.

ZHANG, Y.; REN, Y.; ZHAO, H.; ZHANG, Y. Determinação de acrilamida em alimentos ricos em carboidratos tradicionais chineses usando cromatografia gasosa com detector de captura de microelétrons e cromatografia líquida de diluição isotópica combinada com espectrometria de massa em tandem por ionização por electrospray. **Analytica Chimica Acta**, v. 584, p. 322–332, 2007.

ZHANG, C.; XIAN, Y.; GUO, X.; LIU, H.; DONG, H.; XUN, Z.; HUANG, J.; FENG, X. Método do padrão interno do isótopo para a determinação de quatro compostos de acrilamida em produtos de papel em contato com alimentos e estimulantes de alimentos por cromatografia líquida de ultra-alto desempenho em tandem espectrometria. **Food Analytical Methods**, v. 9, p. 1895–1903, 2016.

ZHU, F.; CAI, Y. Z.; KE, J.; CORKE, H. Materiais de plantas dietéticas reduzem a formação de acrilamida em sistemas modelo baseados em biscoitos e amido. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 91, p. 2477–2483, 2011.

ZOKAEI, M.; KAMANKESH, M.; SHOJAEI, S.; MOHAMMADI, A. Determinando a quantidade de acrilamida em batatas fritas usando Xantidrol como um representante derivado com cromatografia gasosa-espectrometria de massa. **Nutrition and Food Sciences Research**, v. 3, n.1, p. 51-56, 2016.

ZOKAEI, M.; ABEDI, A. S.; KAMANKESH, M.; SHOJAEI-ALIABABADI, S.; MOHAMMADI. Extração assistida por ultrassom e microextração líquido-líquido dispersiva combinada com cromatografia gasosa-espectrometria de massa como método eficiente e sensível para determinação de acrilamida em amostras de batatas fritas. **Food Chemistry**, v. 234, p.55–61, 2017.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Embora a AA contida em alimentos venha sendo estudada desde 2002, a sua mitigação nos mesmos é muito complexa, já que a formação deste contaminante sofre influência de muitas variáveis. Por isso a necessidade de resultados fidedignos sobre avaliação de risco da exposição alimentar à acrilamida serve de fundamento para sejam tomadas medidas de controle da ingestão de alimentos com elevado teor de AA. A avaliação de risco à saúde proposta neste estudo mostrou que ao ingerir tanto batata frita quanto acarajé o consumidor está exposto à concentrações de AA que a longo prazo e, combinadas à ingestão de outros alimentos potencialmente carcinogênicos, podem aumentar as chances de desenvolvimento de processos carcinogênicos.

No decorrer do trabalho constatou-se que a etapa de eliminação da água é crucial para a quantificação, bem como a derivatização, assim como em grande parte dos métodos apresentados na literatura, em que a determinação e quantificação da AA em alimentos requerem diversos passos de tratamento da amostra. Dessa forma estes métodos tornam-se demorados e complexos, dificultando sua aplicação em análises de rotina.

Apesar de já terem sido obtidos significativos progressos nos métodos de determinação da AA em alimentos, a cromatografia gasosa ou líquida acopladas à espectrometria de massas são as técnicas mais utilizadas, considerando o estado da arte, porém não existe um método padronizado internacionalmente para tais determinações. Dessa forma, a continuidade de pesquisas acerca do risco à saúde pública associado à acrilamida é de suma importância e carece de um programa de intercalibração e proficiência interlaboratorial, para que sejam obtidos resultados confiáveis em todo o mundo, já que os alimentos que mais contribuem para a formação de AA são amplamente consumidos por toda população mundial em maior ou menor extensão.

ANEXO A

Massa média em gramas das amostras de acarajé e batata frita.

	Amostra	Massa (g)	Desv P	CV
Acarajé	BA-A	108,2	5,4	4,8
		108,2		
		117,5		
	BA-B	76,6	8,4	10
		82,9		
		93,2		
	BA-C	142,1	8,4	5,5
		154,6		
		157,9		
	BA-D	136,4	3,5	2,6
		130,1		
		135,9		
BA-E	109,6	1,5	1,4	
	108,1			
	106,6			
BA-F	116,1	9,9	9,2	
	110,2			
	96,8			
Batata frita	FFA	102,9	4,4	4,1
		111,3		
		105,1		
	FFB	107,8	6,2	5,6
		117,1		
		105,3		
FFC	111,2	4,0	3,7	
	108,3			
	103,4			

ANEXO B

Teor de acrilamida ($\mu\text{g/g}$) encontrado por amostra.

Amostras	Batata frita			Acarajé					
	FFA	FFB	FFC	BA-A	BA-B	BA-C	BA-D	BA-E	BA-F
	0,37	0,06	0,56	0,01	0,08	-	0,01	0,05	0,01
	0,29	0,03	0,31	0,02	0,04	0,05	0,01	0,05	0,01
	0,29	0,04	0,31	0,04	0,05	0,03	0,02	0,07	<0,001
	0,23	0,03	-	0,05	0,06	0,04	0,03	0,03	0,01
	0,31	0,04	0,44	0,04	0,07	0,04	0,01	0,04	0,02
	0,30	0,07	0,37	0,05	0,07	0,05	0,01	0,04	0,02
	0,33	0,04	0,42	0,02	0,06	0,05	0,02	0,02	0,02
	0,36	0,04	0,68	0,06	0,07	0,03	0,02	0,04	0,02
	0,32	0,06	0,51	0,01	0,09	0,05	0,02	0,05	0,02
	0,38	0,07	-	0,00	0,07	0,04	0,02	0,05	0,01
	0,33	0,06	0,59	0,00	0,06	0,05	0,02	0,06	0,02
	0,34	0,05	0,65	0,01	0,08	0,04	0,01	0,03	0,01
	0,34	0,05	0,35	-	0,04	0,05	0,01	0,03	0,02
	0,31	0,05	0,41	-	0,04	0,04	0,01	0,02	0,02
	0,26	0,05	0,32	-	0,02	0,05	0,02	0,05	0,02
	0,30	0,05	0,34	-	0,04	0,05	0,02	0,04	0,01
Concentração de AA ($\mu\text{g/g}$)	0,31	0,05	0,50	0,02	0,03	0,05	0,02	0,03	0,01
	0,28	0,04	0,30	0,02	0,02	0,05	0,02	0,03	0,01
	0,26	0,04	-	0,02	0,06	0,05	0,03	0,03	0,02
	0,32	0,04	0,54	0,02	0,06	0,05	0,03	0,02	0,01
	0,32	0,05	-	0,01	0,07	0,06	0,02	0,04	0,01
	0,32	0,05	0,30	0,01	0,04	0,05	0,01	0,04	0,01
	0,32	0,05	0,32	0,02	0,02	-	0,02	0,05	0,01
	0,33	0,04	0,40	0,02	0,04	0,11	0,01	0,03	0,01
	0,30	0,06	-	-	0,04	0,04	0,02	0,05	0,01
	0,25	0,06	-	-	0,05	0,05	0,03	0,04	0,02
	0,25	0,06	-	-	0,04	0,04	0,01	0,05	0,02
	0,31	0,06	-	-	0,04	0,03	0,02	0,04	0,02
	0,29	0,07	0,38	0,01	0,04	0,03	0,02	0,03	0,02
	0,32	0,06	0,43	0,01	0,05	0,03	0,01	0,04	0,01
	0,44	0,04	0,43	0,01	0,05	0,03	0,02	0,03	0,01
	0,41	0,06	0,38	0,01	0,03	0,05	0,04	0,04	0,02
0,43		0,32	0,02	0,04	0,04	0,03	0,08	0,04	
0,32	0,04	0,29	0,01	0,05	0,05	0,03	0,05	0,02	
0,31	0,03	0,32	0,01	0,05	0,05	0,02	0,04	0,02	
0,35	0,04	-	0,01	0,04	0,05	0,03	0,05	0,03	