

**AUTORES**  
AUTHORS

✉ **Adriana Pavesi ARISSETO**  
**Maria Cecília de Figueiredo TOLEDO**

Departamento de Ciência de Alimentos  
Faculdade de Engenharia de Alimentos  
Universidade Estadual de Campinas  
Caixa Postal 6121, CEP 13083-862  
Campinas-SP, Brasil  
E-mail: pavesi@fea.unicamp.br  
E-mail: macecil@fea.unicamp.br

**RESUMO**

Em abril de 2002, pesquisadores suecos comunicaram a formação de altos níveis de acrilamida durante o processamento térmico de diversos alimentos como a batata frita, batata chips, cereais matinais e pão. Esta descoberta motivou uma série de ações em nível mundial, justificadas pelo conhecimento de que a acrilamida pode provocar danos ao sistema nervoso em humanos, além de apresentar propriedades genotóxicas e carcinogênicas, confirmadas em estudos experimentais com animais. De acordo com as informações disponíveis até o presente, o principal caminho para a formação da acrilamida envolve a reação de Maillard entre aminoácidos e açúcares redutores, sendo o aminoácido asparagina identificado como principal precursor. Entretanto, o mecanismo exato da formação de acrilamida em alimentos ainda não está completamente esclarecido. Muitos estudos relativos à otimização de parâmetros de processo para minimizar a formação de acrilamida nos alimentos, metodologias analíticas, metabolismo e efeitos biológicos deste contaminante têm sido publicados. Embora progressos significativos já tenham sido obtidos, ainda existe a necessidade de um melhor entendimento de seu papel na saúde humana. O presente artigo apresenta uma revisão de literatura sobre acrilamida, incluindo aspectos toxicológicos, ocorrência, mecanismos de formação, estimativas de exposição e metodologias analíticas para sua determinação em alimentos.

**SUMMARY**

In April 2002, Swedish researchers announced the formation of high levels of acrylamide during the thermal treatment of many foods such as French fries, potato chips, breakfast cereals and bread. The discovery motivated worldwide concern, justified by the knowledge that acrylamide can cause damage to the nervous system in humans and presents genotoxic and carcinogenic properties confirmed in experimental studies with animals. According to the information available at this moment, the main pathway for acrylamide formation is the Maillard reaction between amino acids and reducing sugars, with asparagine identified as the main precursor. However, the exact mechanism of acrylamide formation in foods is not completely understood. Many studies concerning the optimization of process parameters to minimize acrylamide formation in foods, analytical methodologies, its metabolism and biological effects have been published. Although significant progress has been obtained, a need exists for a better understanding of its role in human health. This paper presents a literature review on acrylamide including toxicological aspects, its occurrence in food, mechanisms of formation, exposure assessments and analytical methodologies for its determination in foods.

**PALAVRAS-CHAVE**  
KEY WORDS

Carcinógeno; Reação de Maillard;  
Carboidratos; Asparagina.

Carcinogen; Maillard Reaction;  
Carbohydrates; Asparagine.

## 1. INTRODUÇÃO

Durante a construção de um túnel na Suécia em 1997, a utilização de material selante contendo altos níveis do monômero acrilamida foi responsável pela contaminação ambiental de lençóis freáticos localizados na região da construção. Este acidente, que resultou na morte de peixes e paralisia de vacas, foi atribuído a uma reação de polimerização incompleta do material, com liberação de acrilamida no ambiente. Altos níveis de adutos de acrilamida com hemoglobina foram encontrados no sangue das vacas que apresentaram paralisia, comprovando a origem da contaminação.

Adicionalmente, trabalhadores envolvidos na construção do túnel relataram o aparecimento de sintomas como paralisia e formigamento nas mãos e nos pés. Ao se avaliar quantitativamente a exposição destes trabalhadores à acrilamida, através da medida de adutos com hemoglobina, observou-se que não somente o grupo de indivíduos ocupacionalmente expostos à substância, mas também o grupo controle, com exceção de fumantes, apresentava níveis significativos de adutos no sangue (TÖRNQVIST *et al.*, 2000).

Os níveis de adutos de acrilamida encontrados no sangue de indivíduos não expostos se tornou uma questão preocupante, já que as fontes de exposição até então conhecidas, como a água, cosméticos e a fumaça de cigarro, foram consideradas não significativas para explicá-los, sugerindo a existência de uma nova fonte de exposição. A ocorrência de acrilamida na fumaça de cigarro poderia indicar que esta substância era formada durante combustão incompleta ou aquecimento de matéria orgânica (BERGMARK, 1997).

A formação de acrilamida durante o aquecimento foi posteriormente confirmada em estudos experimentais através da identificação de adutos de acrilamida com a hemoglobina em animais alimentados com ração frita a 200°C, sendo que a presença deste aduto não era observada no sangue de animais alimentados com ração não frita (TAREKE *et al.*, 2000). Em abril de 2002, os mesmos pesquisadores comunicaram a descoberta de altos níveis de acrilamida em diversos alimentos submetidos a tratamento térmico a altas temperaturas (TAREKE *et al.*, 2002).

Devido às preocupações sobre os possíveis efeitos tóxicos à saúde humana relacionados à ingestão de acrilamida através da dieta, a Agência das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) e a Organização Mundial da Saúde (OMS) realizaram um encontro, em junho de 2002, para discutir as conseqüências sanitárias da presença deste contaminante em alimentos. Diversas recomendações foram estabelecidas com a finalidade de se obter mais informações e de se proceder a novos estudos para um melhor entendimento dos riscos que a ingestão de acrilamida através de alimentos representava para a saúde humana (FAO/WHO, 2002).

Desde então, muitos pesquisadores têm se dedicado ao estudo da acrilamida em alimentos e significativos progressos já foram obtidos com relação ao metabolismo e efeitos biológicos desta substância. Diferentes metodologias analíticas foram desenvolvidas e validadas, viabilizando a determinação do teor de acrilamida em vários tipos de alimentos, em níveis

de concentração cada vez menores. Indústrias e institutos de pesquisa têm trabalhado juntos na otimização de parâmetros de processos para minimizar a formação de acrilamida em alimentos, sendo que diferentes estratégias potencialmente promissoras já foram identificadas e apresentadas.

## 2. ASPECTOS TOXICOLÓGICOS DA ACRILAMIDA

Acrilamida (C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>NO, peso molecular 71) é um sólido branco cristalino, estável à temperatura ambiente, solúvel em água, etanol, metanol, dimetil éter e acetona, e insolúvel no benzeno. Fazem parte de sua estrutura química uma função amida polar, que confere a característica de alta solubilidade em água, e uma função vinil, que permite a polimerização. A acrilamida também é conhecida como 2-propenamida (US EPA, 1994).

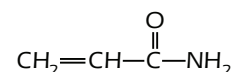


FIGURA 1. Estrutura molecular da acrilamida.

Acrilamida tem sido produzida desde a década de 50 através da hidratação de acrilonitrila e é utilizada, principalmente, para produzir poliácrlamida, que é empregada, por exemplo, no tratamento de clarificação da água e do esgoto e na produção de géis para eletroforese. Além de produzir poliácrlamida, acrilamida é utilizada em fundações para a construção de túneis e barragens (WHO, 2002).

Os riscos associados à acrilamida não são recentes e, provavelmente, a população tem sido exposta a esta substância por algumas gerações. Segundo a Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC), acrilamida é classificada como uma substância provavelmente carcinogênica em humanos (grupo 2A) e, além disso, pode ser tóxica ao sistema nervoso e reprodutivo de homens e animais em determinadas doses (IARC, 1994).

Devido ao potencial tóxico deste contaminante e, conseqüentemente, aos riscos que a sua ingestão através de alimentos poderia representar para a saúde humana, o Comitê do Codex sobre Aditivos e Contaminantes em Alimentos (CCFAC), em 2004, recomendou ao Comitê de Especialistas em Aditivos Alimentares da FAO/OMS (JECFA) que realizasse uma avaliação do risco da acrilamida e, eventualmente, estabelecesse limites para sua ingestão, já que esta substância nunca tinha sido avaliada anteriormente.

O JECFA solicitou dados relacionados a todas as áreas de pesquisa sobre acrilamida e conduziu a primeira avaliação toxicológica deste contaminante durante sua 64ª Reunião, em fevereiro de 2005. Os resultados da avaliação confirmaram o potencial tóxico da acrilamida, tendo o Comitê concluído que a substância deveria ser reavaliada assim que os resultados de pesquisas em andamento sobre carcinogenicidade e neurotoxicidade estivessem disponíveis. Foi recomendado também que esforços deveriam ser direcionados para a redução

do teor de acrilamida formada durante o processamento e era desejável que os países em desenvolvimento apresentassem dados sobre a ocorrência de acrilamida nos alimentos representativos das dietas nacionais (FAO/WHO, 2005).

## 2.1 Absorção, distribuição, metabolismo e excreção

Em animais experimentais, acrilamida é rapidamente absorvida pelo trato gastrointestinal e largamente distribuída nos tecidos. É metabolizada ao epóxido glicidamida através de uma reação catalisada pela enzima citocromo P2E1. A conjugação da acrilamida com glutathione é um caminho alternativo para o seu metabolismo. A biodisponibilidade absoluta da acrilamida varia entre 23 e 48% em roedores para uma dose de 0,1 mg/kg pc, e tanto a acrilamida quanto a glicidamida são rapidamente eliminadas na urina.

A glicidamida é muito mais reativa com o DNA do que a acrilamida e vários adutos da base purina têm sido identificados *in vitro*. Já com a hemoglobina, acrilamida e glicidamida podem se ligar covalentemente aos aminoácidos da proteína do sangue para formar adutos (FAO/WHO, 2005).

## 2.2 Carcinogenicidade, genotoxicidade e neurotoxicidade

Os possíveis efeitos carcinogênicos da acrilamida foram testados em dois experimentos de longa duração com ratos Fischer 344 através da administração de doses de até 3 mg de acrilamida/kg pc/dia na água, durante até dois anos de estudo. Verificou-se 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). 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).

Além de demonstrar efeitos carcinogênicos em animais experimentais, acrilamida e glicidamida possuem propriedades mutagênicas e clastogênicas em células de mamíferos. Embora a acrilamida não tenha apresentado mutagenicidade no teste de Ames para Salmonella, a administração desta substância induziu mutações genéticas e aberrações cromossômicas em células de roedores *in vivo* e *in vitro* (IARC, 1994; RICE, 2005). A genotoxicidade da acrilamida parece estar relacionada com a sua biotransformação em glicidamida, que mostrou maior potencial mutagênico que a própria acrilamida em uma determinada dose (FAO/WHO, 2005).

Estudos de toxicidade reprodutiva com roedores demonstraram redução da fertilidade, efeitos letais dominantes e efeitos adversos na morfologia e no número de espermatozoides em machos em doses de acrilamida maiores que 7 mg/kg pc/dia. Em fêmeas, nenhum efeito adverso na fertilidade foi

observado. Acrilamida mostrou-se não teratogênica em ratos ou camundongos (FAO/WHO, 2005).

Embora os estudos realizados com animais experimentais tenham implicado a carcinogenicidade e a genotoxicidade como possíveis conseqüências da exposição à acrilamida, a neurotoxicidade é o único efeito adverso identificado através de estudos epidemiológicos envolvendo populações humanas ocupacionalmente expostas (LO PACHIN, 2005). A exposição ocupacional de trabalhadores suecos durante a construção de um túnel resultou em leves e reversíveis sintomas do sistema nervoso periférico (TÖRNQVIST *et al.*, 2000, HAGMAR *et al.*, 2001).

Alguns estudos epidemiológicos sobre a incidência de câncer em populações humanas, envolvendo operários ocupacionalmente expostos à acrilamida, começaram a ser publicados na década de 80. Os resultados indicaram que nenhuma tendência era encontrada com relação ao aparecimento de casos de câncer ao se comparar grupos de operários com alta e baixa exposição à acrilamida e que havia pouca evidência para se estabelecer uma relação entre exposição à acrilamida e mortalidade por câncer em humanos (SOBEL *et al.*, 1986; COLLINS *et al.*, 1989; MARSH *et al.*, 1999). As únicas informações disponíveis que consideram os riscos à saúde humana relacionados à ingestão de acrilamida através dos alimentos estão baseadas em estudos de casos-controle (MUCCI *et al.*, 2003; PELUCCHI *et al.*, 2004). Entretanto, o JECFA considera que estes estudos apresentam poder limitado para detectar um aumento significativo no risco de câncer provocado pela ingestão de acrilamida através da dieta (FAO/WHO, 2005).

Baseado em dados de estudos experimentais com roedores, o JECFA (FAO/WHO, 2005) estabeleceu o nível sem efeito observado (NOEL) para acrilamida como sendo:

- 0,2 mg/kg pc/dia para indução de alterações morfológicas em nervos
- 10 mg/kg pc/dia para neurotoxicidade durante desenvolvimento
- 2 mg/kg pc/dia para efeitos reprodutivos e no desenvolvimento

## 2.3 Cálculos do risco associado à exposição à acrilamida

Alguns pesquisadores têm estimado o número de casos de câncer em humanos, em órgãos não específicos, como resultado da ingestão de acrilamida através de alimentos e bebidas, baseados em extrapolações de resultados obtidos em experimentos laboratoriais com roedores (NFCA, 2002; KONINGS *et al.*, 2003).

Os resultados das avaliações de risco podem não ser os mesmos, já que são baseados em modelos matemáticos diferentes. Por exemplo, o consumo de 1 µg de acrilamida/kg pc/dia ao longo de toda a vida, considerando-se 10.000 indivíduos expostos, poderia representar o surgimento de:

- 45 casos de câncer, segundo a Agência Americana de Proteção Ambiental (US EPA, 1993);
- 13 casos de câncer, segundo a Agência de Controle de Alimentos da Noruega (NFCA, 2002);
- 7 casos de câncer, segundo a OMS (WHO, 1996).

O risco de surgimento de câncer devido à exposição à acrilamida através do café foi estimado em 2 casos por 10.000 indivíduos noruegueses expostos, considerando-se homens e mulheres. Em relação à ingestão de acrilamida através de alimentos e bebidas, este valor subiu para 7 casos de câncer por 10.000 indivíduos expostos durante 53 anos (NFCA, 2002).

Com base na média de exposição da população holandesa à acrilamida, KONINGS *et al.* (2003) estimaram uma incidência anual de 75 casos de câncer, quando utilizada a estimativa de risco da OMS (WHO, 1996). Este valor aumentou para 130 casos de câncer quando o cálculo foi baseado na estimativa de risco da NFCA (2002).

É importante ressaltar que, embora muitos órgãos de regulamentação de alimentos concordem com a identificação qualitativa da acrilamida como um perigo carcinogênico, a FAO e a OMS consideram que modelos teóricos que calculam um risco quantitativo ao homem não são suficientemente seguros para se tirar conclusões, principalmente na ausência de resultados epidemiológicos positivos (RICE, 2005).

### 3. ACRILAMIDA EM ALIMENTOS

#### 3.1 Ocorrência

Após a descoberta da formação de acrilamida em alimentos pelos pesquisadores da Universidade de Estocolmo, a Agência Nacional de Alimentos da Suécia foi o primeiro órgão que realizou um estudo sobre a determinação de acrilamida em produtos disponíveis no mercado, confirmando sua presença em diferentes níveis, em muitos alimentos processados termicamente (SNFA, 2002). Em seguida, outros países como

Estados Unidos, Noruega, Suíça e Reino Unido iniciaram suas pesquisas, e também confirmaram que acrilamida estava presente em diversos alimentos (FDA, 2002; NFCA, 2002; SOPH, 2002; UK FSA, 2002).

De modo geral, os resultados destas avaliações indicaram que alimentos ricos em carboidratos submetidos a altas temperaturas apresentavam altos níveis de acrilamida. Alimentos que não eram fritos ou assados durante seu processamento ou preparação e alimentos ricos em proteínas não apresentavam níveis significativos de acrilamida, e tampouco a presença do contaminante foi detectada em alimentos crus ou cozidos em água. Produtos à base de batata, como batatas fritas e batatas chips, torradas, biscoitos, cereais matinais e café apresentaram os maiores teores de acrilamida.

Os dados destas primeiras pesquisas foram compilados e discutidos durante o encontro da FAO/OMS sobre as consequências sanitárias da presença de acrilamida em alimentos. Em 240 amostras avaliadas, o nível de acrilamida encontrado estava entre menos de 30 µg/kg e 3500 µg/kg, dependendo do tipo do produto. Observou-se ainda que estes níveis variavam significativamente dentro de uma mesma categoria de alimento, sendo sugerido que o modo de preparo dos alimentos poderia interferir no teor de acrilamida formada. Esta avaliação tornou-se uma orientação para outros países em relação à escolha das amostras a serem analisadas e ao intervalo dos resultados obtidos (FAO/WHO, 2002).

Entre os anos de 2002 e 2005, muitos países apresentaram dados sobre a ocorrência de acrilamida em diversos alimentos, incluindo aqueles em que a presença do contaminante já tinha sido confirmada e outros produtos característicos de cada região. A Tabela 1 apresenta um resumo dos resultados obtidos em alguns países, mostrando que eles estão de acordo com os dados apresentados pela FAO/OMS em 2002. Somente na Turquia o biscoito cracker apresentou o maior teor de acrilamida. Na França e Canadá, altos níveis de acrilamida foram encontrados em café.

No relatório final da avaliação toxicológica da acrilamida, o JECFA apresentou uma compilação dos resultados das análises do teor de acrilamida em alimentos de 24 países da Europa, América do Norte, Ásia e Pacífico, durante o período de 2002 a

**TABELA 1.** Ocorrência de acrilamida em alimentos de diferentes países.

País	n	Mínimo-Máximo (µg/kg)	Alimentos com maior teor de acrilamida	Referência
Bélgica	63	<100-1210	Batata chips, pão de ervas, biscoito infantil	AFSCA, 2002
França	206	<10-1300	Café, batata chips e batata frita	AFSSA, 2003
Austrália	112	<25-1270	Batata chips, biscoitos	CROFT <i>et al.</i> (2004)
Estados Unidos	490	<20-1970	Batata chips, batata frita e biscoitos	FDA, 2005
Canadá	96	<2-4300	Café e substitutos de café, batata chips e batata frita	HC, 2003
Holanda	344	<30-3100	Batata chips, batata frita, snacks, pão de gengibre	KONINGS <i>et al.</i> (2003)
China	425	<3-1700	Batata chips, torrada de centeio	LEUNG <i>et al.</i> (2003)
Áustria	158	<30-2410	Batata chips, biscoitos, café	MURKOVIC (2004)
Japão	63	5-3540	Batata chips, snacks à base de batata, grãos de cevada torrados	ONO <i>et al.</i> (2003)
Turquia	120	<20-3789	Biscoitos cracker, batata chips	SENUYVA & GÖKMEN (2005b)

(n) Número de amostras

2004 (FAO/WHO, 2005). O número total de resultados analíticos foi significativamente maior (6752) que o número avaliado pela FAO/OMS em 2002, o que permitiu um melhor entendimento da distribuição deste contaminante nos alimentos. A Tabela 2 mostra os grupos de alimentos analisados e os resultados obtidos segundo a avaliação da FAO/OMS em 2002 (FAO/WHO, 2002) e do JECFA em 2005 (FAO/WHO, 2005).

**TABELA 2.** Grupos de alimentos e teores de acrilamida avaliados pela FAO/OMS e pelo JECFA.

Grupo de alimento	FAO/OMS			JECFA		
	n	Média (µg/kg)	Máximo (µg/kg)	n	Média (µg/kg)	Máximo (µg/kg)
Batata chips	38	1312	2287	874	752	4080
Batata frita	39	537	3500	1097	334	5312
Biscoitos e torradas	58	423	3200	1270	350	7834
Pão	41	50	162	1294	446	3436
Cereais matinais	29	298	1346	369	96	1346
Café	3	200	230	205	288	1291
Produtos à base de cacau	2	75	100	23	220	909
Bebidas alcoólicas	1*	<30	<30	66**	6,6	46
Peixes e frutos do mar	4	35	39	52	25	233
Carnes	2	52	64	138	19	313
Laticínios	-	-	-	62	5,8	36
Frutas processadas	-	-	-	37	131	770

(n) Número de amostra \*cerveja \*\*vinho, cerveja, gim

Embora muitos países já tenham reportado os níveis de acrilamida em seus produtos de mercado, nenhum dado sobre sua ocorrência em países da África e América Latina foi submetido ao JECFA quando da avaliação deste contaminante. Um estudo sobre a ocorrência de acrilamida em alimentos brasileiros foi realizado entre 2004 e 2006 através da análise de 111 amostras, representando 19 categorias diferentes de alimentos. Os níveis de acrilamida determinados variaram entre menos de 20 µg/kg e 2528 µg/kg, dependendo do tipo do produto. Os resultados mostraram que os maiores níveis eram encontrados em produtos à base de batata, como batata frita, chips e batata palha (n=26), variando entre 144 e 2528 µg/kg. Outros alimentos que apresentaram elevados teores de acrilamida foram café, bolacha água e sal, biscoito cream cracker e torrada (dados não publicados).

### 3.2 Mecanismos de formação

Logo após a descoberta da presença de acrilamida em alguns alimentos processados, muitos pesquisadores se dedicaram ao estudo dos mecanismos envolvidos na sua formação, já que havia poucas evidências de como a molécula era formada nos alimentos. Foi então observado que a acrilamida era produzida naturalmente em alguns alimentos cozidos ou processados em altas temperaturas e que seus

níveis pareciam variar de acordo com o tempo e o modo de aquecimento, mostrando uma correlação com o escurecimento do produto (AHN *et al.*, 2002).

Diversos autores têm demonstrado que o principal caminho para a formação de acrilamida em alimentos envolve a reação de Maillard entre aminoácidos e açúcares redutores (MOTTRAM *et al.* 2002; STADLER *et al.*, 2002; BECALSKI *et al.*, 2003; YAYLAYAN *et al.*, 2003; ZYZAK *et al.*, 2003; ROBERT *et al.*, 2004, STADLER *et al.*, 2004). Portanto, de acordo com as evidências existentes até o presente, este é o principal mecanismo que tem sido aceito pelos pesquisadores para explicar a formação de acrilamida em alimentos, embora ainda não esteja completamente elucidado (YAYLAYAN & STADLER, 2005).

Os primeiros estudos envolvendo misturas de aminoácidos e açúcares redutores submetidas a altas temperaturas mostraram que a presença de asparagina aumentava significativamente o nível de acrilamida formada, principalmente acima de 120°C. O aminoácido asparagina foi identificado como o principal precursor da acrilamida e, além disso, foi confirmado, através de experimentos com <sup>15</sup>N e <sup>13</sup>C marcados, que átomos de carbono e nitrogênio da molécula de acrilamida eram provenientes dos locais correspondentes da molécula de asparagina (MOTTRAM *et al.* 2002; STADLER *et al.*, 2002; BECALSKI *et al.*; 2003). A formação de acrilamida a partir de asparagina poderia explicar as altas concentrações encontradas em batatas e cereais, que são ricos neste aminoácido (MOTTRAM *et al.* 2002).

Em relação aos açúcares redutores, não foi observada formação de acrilamida quando os mesmos eram aquecidos na ausência de aminoácidos (STADLER *et al.*, 2002). Na presença de asparagina, alguns autores verificaram que a frutose era mais eficiente que a glicose na formação de acrilamida. Embora aldoses sejam mais reativas que cetoses, a eficiência da frutose na reação poderia estar relacionada à liberação de água de cristalização e aumento da mobilidade molecular dos precursores, já que o ponto de fusão da frutose é inferior ao da glicose (ROBERT *et al.*, 2004; STADLER *et al.*, 2004).

Mesmo com a identificação dos principais precursores e mecanismos envolvidos na formação de acrilamida em alimentos, ainda faltam informações, principalmente em relação aos compostos intermediários da reação que atuam como precursores diretos da acrilamida. Alguns autores sugeriram o aldeído de Strecker como composto intermediário, que necessitaria de etapas posteriores de redução e desidratação para ser convertido em acrilamida (MOTTRAM *et al.* 2002). Outros autores demonstraram que o N-glicosídeo de asparagina ou base de Schiff, produto da reação inicial entre glicose e asparagina, era o precursor direto de acrilamida (STADLER *et al.*, 2002). Outros compostos intermediários foram sugeridos baseados no mecanismo que envolvia a formação da base de Schiff. Um deles era o composto oxazolidina-5-one, formado a partir de iminas (YAYLAYAN *et al.*, 2003), e o outro era a 3-aminopropionamida, formada pela hidrólise da base de Schiff descarboxilada por aquecimento (ZYZAK *et al.*, 2003). Apesar de vários compostos intermediários já terem sido sugeridos, ainda não existem evidências concretas sobre o verdadeiro envolvimento destas moléculas na formação da acrilamida.

Embora a reação de Maillard seja reconhecida como o principal caminho para a formação de acrilamida em alimentos, outros possíveis mecanismos foram propostos e testados, como a hipótese de sua formação a partir de acroleína ou ácido acrílico (BECALSKI *et al.*, 2003; VATTEM & SHETTY, 2003; YASUHARA *et al.*, 2003). Entretanto, foi verificado que batatas fritas em óleo de milho e em óleo de parafina (destituído de triglicerídeos e, portanto, de acroleína) apresentavam níveis de acrilamida muito próximos, sugerindo que a formação de acrilamida a partir de acroleína não era relevante (BECALSKI *et al.*, 2003). Por outro lado, observou-se a formação de acrilamida a partir de ácido acrílico, porém em quantidades muito inferiores às geradas a partir de asparagina (aproximadamente 5%). Devido à limitação de amônia livre e necessidade de altas temperaturas para a reação proceder eficientemente, é provável que este mecanismo tenha pouca importância em relação à formação de acrilamida em alimentos (YASUHARA *et al.*, 2003).

### 3.3 Variáveis envolvidas na formação de acrilamida em alimentos

Muitos grupos de pesquisas têm se dedicado ao estudo das variáveis que estão envolvidas no processo de formação de acrilamida em alimentos, sendo a presença de seus precursores na matéria-prima e as condições de processamento as mais discutidas. O estudo destas variáveis tem sido útil no desenvolvimento de estratégias para a diminuição do potencial de formação deste contaminante em alimentos. Devido à presença de altos níveis de acrilamida em produtos à base de batata e cereais, estas categorias de alimentos têm sido as mais estudadas.

#### 3.3.1 Precursores

O potencial para a formação de acrilamida em alimentos está relacionado não somente com a presença de seus precursores (asparagina e açúcares redutores), mas também com as concentrações desses compostos na matéria-prima, que podem variar significativamente entre diferentes espécies e práticas de cultivo, e serem fortemente influenciadas pelas condições de estocagem. Em produtos à base de batata, a concentração de açúcares redutores é o fator determinante para a formação de acrilamida (BIEDERMANN *et al.*, 2002b; AMREIN *et al.*, 2003; NOTI *et al.*, 2003; BECALSKI *et al.*, 2004; OLSSON *et al.*, 2004; DE WILDE *et al.*, 2005), enquanto que em cereais o teor de asparagina associado ao método de cozimento parece ser mais relevante (FREDRIKSSON *et al.*, 2004; BRATHEN *et al.*, 2005).

Um estudo realizado com 17 variedades de batatas suíças mostrou que o conteúdo de glicose variava entre 0,04 e 2,7 mg/g (em base úmida) e o conteúdo de asparagina entre 1,4 e 5,2 mg/g (AMREIN *et al.*, 2003). Outros autores mostraram uma variação de 5,5 a 13,9 mg/g (em base seca) para o teor de glicose e de 3,9 a 10,2 mg/g para o de asparagina entre 8 variedades de batatas da Suécia (OLSSON *et al.*, 2004). Selecionando-se matérias-primas adequadas, com um menor conteúdo de açúcares redutores, foi possível reduzir a formação

de acrilamida em 28 vezes utilizando-se o mesmo tratamento térmico (AMREIN *et al.*, 2003).

Em relação às práticas de cultivo, nenhuma diferença significativa foi observada na concentração dos precursores de acrilamida quando batatas eram cultivadas em sistemas orgânico, convencional e integrado (AMREIN *et al.*, 2003). Verificou-se um aumento significativo no teor de asparagina relacionado à adição de nitrogênio durante a fertilização de batatas (EPPENDORFER, 1996; DE WILDE *et al.*, 2005). Entretanto, para outros autores, a fertilização do solo com nitrogênio mostrou ser um fator não relevante para os conteúdos de asparagina e açúcares redutores e, conseqüentemente, para a formação de acrilamida (BIEDERMANN *et al.*, 2002b; AMREIN *et al.*, 2003).

O armazenamento de batatas a temperaturas abaixo de 8°C resulta em aumento das concentrações de glicose e frutose, fenômeno conhecido como adoçamento por baixas temperaturas (COFFIN *et al.*, 1987). BIEDERMANN *et al.* (2002b) observaram um aumento de até 15 vezes no conteúdo de frutose e de aproximadamente 40 vezes no de glicose durante a estocagem de diferentes variedades de batatas a 4°C. O acondicionamento em maiores temperaturas pode reverter parcialmente o aumento da concentração de açúcares redutores. De acordo com os mesmos autores, foi observada uma redução de 53 e 41% nos conteúdos de frutose e glicose, respectivamente, durante o acondicionamento a 25°C.

#### 3.3.2 Condições de processamento

A influência da temperatura, do tempo e do modo de cozimento na formação de acrilamida em alimentos têm sido demonstrada desde a sua descoberta (BIEDERMANN *et al.*, 2002a; MOTTRAM *et al.*, 2002; STADLER *et al.*, 2002; TAREKE *et al.*, 2002; BECALSKI *et al.*, 2003). O cozimento de batata em água a 100°C ou em panela de pressão a 120°C produziu em torno de 20 µg/kg de acrilamida, sugerindo que sua formação estava relacionada a métodos de cozimento que resultassem primeiramente em uma secagem da superfície do produto (BIEDERMANN *et al.*, 2002a).

Quando batatas foram assadas a 100°C, não houve formação de um nível significativo de acrilamida. A 120°C observou-se um pequeno aumento no teor de acrilamida formada, de aproximadamente 30 µg/kg, indicando que a temperatura necessária para a sua formação era maior que 100°C (TAREKE *et al.*, 2002). Entretanto, a combinação de temperaturas maiores ou igual a 200°C com longos tempos de aquecimento resultaram em uma diminuição do conteúdo de acrilamida formada em batatas (RYDBERG *et al.*, 2003; TAUBERT *et al.*, 2004) e em café (SENYUVA, GÖKMEN, 2005a), após um aumento ocorrido no início do tratamento térmico.

A influência do tipo de óleo utilizado na fritura de batatas também tem sido estudada em alguns trabalhos. Batatas fritas em óleo de oliva apresentaram maior concentração de acrilamida comparativamente às batatas fritas em óleo de milho (BECALSKI *et al.*, 2003). Por outro lado, não foram observadas diferenças significativas na concentração de acrilamida formada em batatas fritas em óleo de palma, de soja e parafina (MESTDAGH *et al.*, 2005). A influência do óleo de fritura na formação de acrilamida

deve estar relacionada com a taxa de transferência de calor e não com a presença de acroleína (BECALSKI *et al.*, 2003).

### 3.4 Estratégias para a redução do teor de acrilamida formada em alimentos

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

Outras possíveis alternativas para a diminuição do teor de acrilamida formada em alimentos são o controle do tempo e da temperatura de processamento (BIEDERMANN *et al.*, 2002a; BIEDERMANN *et al.*, 2002b; TAUBERT *et al.*, 2004), a diminuição do pH, através da imersão de batatas em soluções de ácido clorídrico, cítrico ou acético (RYDBERG *et al.*, 2003; KITA *et al.*, 2004; PEDRESCHI *et al.*, 2004), o aumento do tempo de fermentação durante o processamento de pães (FREDRIKSSON *et al.*, 2004), a alteração da composição do produto através da adição de aminoácidos e ingredientes protéicos (RYDBERG *et al.*, 2003; VATTEM & SHETTY, 2003; BRATHEN *et al.*, 2005), a adição de compostos antioxidantes como alecrim (BECALSKI *et al.*, 2003) e flavonóides (FERNANDEZ *et al.*, 2003) em batatas e a adição de bicarbonato de sódio na formulação de pão de gengibre (AMREIN *et al.*, 2004).

No âmbito do CCFAC, foi recomendada, em sua 38ª reunião, a elaboração de um Código de Práticas para a redução de acrilamida em alimentos, visando a proteção do consumidor pela diminuição da ingestão de acrilamida através da dieta. Este Código apresentará os principais aspectos da produção comercial de alimentos, incluindo práticas agrícolas, estocagem, matérias-primas, processamento e preparação de alimentos, e métodos potenciais para a redução de acrilamida nas áreas de agronomia, composição de produtos, condições de processamento e preparação final (CCFAC, 2006).

## 4. ESTIMATIVA DE INGESTÃO

Valores médios da ocorrência de determinado contaminante podem ser combinados com informações disponíveis sobre o consumo médio de alimentos ou grupos de alimentos para se calcular a estimativa de exposição a este contaminante, em uma dada região (WHO, 2000). Muitos autores têm estimado valores de ingestão potencial diária para

a população e investigado os alimentos ou grupos de alimentos que mais contribuem para a ingestão de acrilamida, de acordo com os hábitos alimentares de cada país. A Tabela 3 mostra os resultados obtidos em diferentes países.

**TABELA 3.** Ingestão potencial diária de acrilamida em diferentes países.

País	Ingestão de acrilamida ( $\mu\text{g}/\text{kg pc}/\text{dia}$ )		Referência
	Consumidores médios	Grandes consumidores	
França	0,5	2,9	AFSSA (2003)
Alemanha	1,1	3,4	BfR (2003)
Austrália	0,4	1,5	CROFT <i>et al.</i> (2004)
Noruega	0,32	1,35	DYBING & SANNER (2003)
Estados Unidos	0,43	2,31	JIFSAN (2004)
Holanda	0,48	1,1	KONINGS <i>et al.</i> (2003)
Bélgica	0,51	1,09	MATTHYS <i>et al.</i> (2005)
Suíça	0,28	–	SOPH (2002)
Suécia	0,45	1,03	SVENSSON <i>et al.</i> (2003)
Reino Unido	0,3	1,8	UK FSA (2005)

pc = peso corpóreo.

O JECFA estimou uma ingestão de acrilamida entre 0,3 e 2,0  $\mu\text{g}/\text{kg pc}/\text{dia}$  para consumidores médios, considerando dados submetidos por 17 países de todas as regiões com exceção da América Latina e África. Para os grandes consumidores, ou seja, aqueles cujos hábitos diferem amplamente da média, as estimativas de ingestão variaram de 0,6 a 3,5  $\mu\text{g}/\text{kg pc}/\text{dia}$ , podendo chegar a até 5,1  $\mu\text{g}/\text{kg pc}/\text{dia}$ . Os dados disponíveis indicaram que crianças apresentavam valores de ingestão de acrilamida de 2 a 3 vezes maiores que os de consumidores adultos, quando estes eram expressos em base de peso corpóreo. Foi concluído que poderia ser estabelecida a ingestão de 1  $\mu\text{g}/\text{kg pc}/\text{dia}$  de acrilamida (ou 60  $\mu\text{g}$ , assumindo-se um peso corpóreo de 60 kg) para representar consumidores médios e de 4  $\mu\text{g}/\text{kg pc}/\text{dia}$  de acrilamida (ou 240  $\mu\text{g}$ ) para representar grandes consumidores (FAO/WHO, 2005).

Na ausência de níveis de ingestão toleráveis para a acrilamida, o JECFA relatou a contribuição relativa dos alimentos à ingestão total. Os produtos que mais contribuíram para a exposição na maioria dos países avaliados eram batatas fritas (16-30%), batatas chips (6-46%), café (13-39%), produtos de panificação e bolachas doces (10-20%), e pães e torradas (10-30%). Outros alimentos contribuíam menos que 10% da exposição total à acrilamida (FAO/WHO, 2005).

Uma maneira alternativa de se estimar a ingestão de acrilamida é através da medida do aduto formado com a hemoglobina do sangue. Neste caso, o valor estimado

corresponde à acrilamida proveniente de diversas fontes de exposição, como alimentos, bebidas, água, fumaça de cigarro e cosméticos, por exemplo. Para a população sueca de não fumantes, o nível de adutos determinado correspondeu a uma ingestão diária média de, aproximadamente, 100 µg de acrilamida por dia, ou 1,4 µg/kg pc/dia, assumindo-se um peso corpóreo de 70 kg (TÖRNQVIST *et al.*, 1998).

## 5. METODOLOGIAS ANALÍTICAS PARA A DETERMINAÇÃO DE ACRILAMIDA EM ALIMENTOS

Progressos significativos têm sido obtidos com relação ao desenvolvimento e validação de metodologias analíticas para a determinação de acrilamida em alimentos. Atualmente, muitos métodos já estão publicados e este tópico tem sido revisado por diversos autores (WENZL *et al.*, 2003; CASTLE & ERIKSSON, 2005; ZHANG *et al.*, 2005).

### 5.1 Extração

A extração de acrilamida do alimento ocorre na presença de água e/ou solventes orgânicos, dependendo da natureza da matriz. Devido à alta solubilidade da acrilamida em água, a extração em meio aquoso é geralmente suficiente (ROSÉN & HELLENÄS, 2002; TATEO & BONONI, 2003). A Agência Americana de Alimentos e Medicamentos (FDA) relatou que o aquecimento durante a etapa de extração deve ser evitado, já que este procedimento poderia gerar uma grande quantidade de partículas finas que, por sua vez, poderiam saturar as colunas de extração em fase sólida utilizadas nas etapas posteriores de limpeza (FDA, 2003). Entretanto, AHN *et al.* (2002) utilizaram água a 80°C durante a extração de acrilamida em pão, batata frita e batata chips, sem ter relatado qualquer problema durante a limpeza do extrato.

Para amostras ricas em gordura, a extração com solventes orgânicos é mais efetiva. Alguns métodos têm sugerido a utilização de uma mistura de água e acetona para extração de acrilamida (FAUHL *et al.*, 2002; TAKATSUKI *et al.*, 2003). Metanol também tem sido utilizado, com taxas de recuperação variando de 68 a 75,4% (TATEO & BONONI, 2003). Uma outra alternativa é a inclusão de uma etapa de desengorduramento, adicionando-se hexano, éter de petróleo ou ciclohexano, antes ou em combinação com a etapa de extração (WENZL *et al.*, 2003, ZHANG *et al.*, 2005).

A adição de um padrão interno ao extrato tem sido recomendada por muitos autores para controlar as recuperações alcançadas e acompanhar as possíveis perdas que ocorrem durante as etapas de extração e limpeza da amostra. Os padrões internos mais utilizados são: [<sup>13</sup>C<sub>3</sub>] e [<sup>13</sup>C<sub>1</sub>]-acrilamida isotopicamente marcada (TAREKE *et al.*, 2002; BECALSKI *et al.*, 2003; TAKATSUKI *et al.*, 2003) e [D<sub>3</sub>]-acrilamida deuterada (AHN *et al.*, 2002; BECALSKI *et al.*, 2003; ROSÉN & HELLENÄS, 2002).

A maioria dos procedimentos de limpeza da amostra tem utilizado a extração em fase sólida (SPE). Uma das técnicas empregada com sucesso foi a combinação de cartuchos Oasis<sup>®</sup> HLB (Waters, Milford, MS, USA) e Bond Elut-Accucat<sup>®</sup> (Varian, Palo Alto, CA, USA) (FDA, 2003; GOVAERT *et al.*, 2006). A combinação de três cartuchos, Oasis<sup>®</sup> MAX (Waters), Oasis<sup>®</sup> MCX (Waters) e ENVI-Carb<sup>®</sup> (Supelco, Bellefonte, PA, USA), foi utilizada por BECALSKI *et al.* (2003). Outros pesquisadores optaram pelo uso de cartuchos Isolute Multimode<sup>®</sup> (International Sorbent Technology, Hengoed, UK) combinado com filtração (ROSÉN & HELLENÄS, 2002).

Os resultados de dois estudos interlaboratoriais conduzidos pelo Instituto Federal Alemão de Avaliação de Risco (BfR) e pelo Centro de Pesquisa Conjunto da União Européia (JRC) revelaram desempenho satisfatório dos métodos empregados na análise de acrilamida para a maioria das matrizes avaliadas. Entretanto, muitos laboratórios tiveram problemas na determinação de acrilamida em alimentos à base de cacau e café, matrizes consideradas complexas ou difíceis (KLAFFKE *et al.*, 2005). Um potencial inconveniente é a existência de interferentes co-extrativos, com tempos de retenção muito próximos ao da acrilamida (WENZL *et al.*, 2003). DELATOUR *et al.* (2004) obtiveram resultados satisfatórios na análise de acrilamida em cacau e café incluindo uma etapa de desproteínação durante a extração, realizada através da adição de soluções salinas Carrez I e Carrez II.

### 5.2 Determinação cromatográfica

A cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massa (GC-MS), com a etapa de derivatização, tem sido utilizada por diversos autores (AHN *et al.*, 2002; TAREKE *et al.*, 2002). O procedimento é geralmente realizado através da adição de uma solução de brominação pré-preparada, contendo brometo de potássio, brometo de hidrogênio e bromo. A acrilamida brominada é menos polar comparativamente ao composto original sendo, portanto, mais solúvel em solventes orgânicos apolares. Em muitos casos, acetato de etila ou misturas de acetato de etila e ciclohexano são usadas para a extração do analito da fase aquosa. A separação das fases é, na maioria das vezes, realizada por centrifugação.

Com a finalidade de se evitar uma longa preparação da amostra e obter métodos rápidos destinados ao maior número de matrizes diferentes, a cromatografia líquida acoplada ao espectrômetro de massa em série (LC-MS/MS) foi alternativamente investigada. Muitos procedimentos baseados nesta técnica analítica foram então desenvolvidos, com resultados comparáveis aos obtidos por cromatografia gasosa (WENZL *et al.*, 2003). A cromatografia em fase reversa tem sido a técnica mais utilizada para a separação cromatográfica de acrilamida e diversas colunas têm sido sugeridas, como Hypercarb (ROSÉN & HELLENÄS, 2002; TAREKE *et al.*, 2002; BECALSKI *et al.*, 2003), Atlantis C<sub>18</sub> (ONO *et al.*, 2003) e µ-Bondapak C<sub>18</sub> (FDA, 2003, GOVAERT *et al.*, 2006).

Muitos pesquisadores desencorajam o uso da cromatografia líquida com detecção por ultravioleta ou arranjo de diodos (LC-UV ou LC-DAD) pelo fato de a acrilamida



não possuir um forte espectro no UV, gerando falta de especificidade, e pela inviabilidade da utilização de acrilamida deuterada como padrão interno (CASTLE & ERIKSSON, 2005). Entretanto, alguns trabalhos têm incentivado a utilização destas técnicas. VATTEM, SHETTY (2003) utilizaram detector de arranjo de diodos e obtiveram resultados considerados melhores que os esperados, embora os mesmos não tenham sido confirmados por outra técnica. Outros autores também testaram uma nova metodologia empregando LC-DAD e obtiveram resultados precisos e reprodutíveis, confirmados por espectrometria de massa (GÖKMEN *et al.*, 2005). Um outro método utilizando cromatografia líquida de alta eficiência em fase normal com detecção por UV mostrou aplicabilidade em diversos tipos de alimentos, fornecendo resultados similares aos encontrados na literatura (PALEOLOGOS & KONTOMINAS, 2005). Estas técnicas podem ser uma alternativa simples, rápida e barata para análises de rotina de acrilamida em alimentos.

### 5.3 Detecção e confirmação

Para a detecção de acrilamida, a espectrometria de massas tem sido o método mais freqüentemente escolhido. LC-MS/MS, operando no modo de monitoramento de reações múltiplas (MRM) apresenta alta seletividade. O modo MRM significa que a transição a partir de um íon precursor, que é separado no primeiro quadrupolo, a um íon produto, gerado pela colisão com argônio no segundo quadrupolo, é monitorada no terceiro quadrupolo. A transição 72 → 55 foi selecionada para quantificar acrilamida devido a sua intensidade relativamente alta (AHN *et al.*, 2002; ROSÉN & HELLENÄS, 2002; TAREKE *et al.*, 2002; BECALSKI *et al.*, 2003). Outras transições, como 72 → 54, 72 → 44 e 72 → 27, têm sido utilizadas em alguns casos para confirmação. Para a detecção de acrilamida marcada isotopicamente, usada como padrão interno, as transições monitoradas são 75 → 58 para [D<sub>3</sub>] e [13C<sub>3</sub>]-acrilamida e 73 → 56 para [13C<sub>1</sub>]-acrilamida.

## 6. CONCLUSÕES

Desde a descoberta da formação de acrilamida em alimentos pelos pesquisadores suecos em 2002, grupos de pesquisas e indústrias de alimentos, principalmente na Europa e nos Estados Unidos, têm se dedicado ao estudo desta substância, sendo que importantes progressos já foram conseguidos em várias áreas relevantes. Os principais precursores e mecanismos envolvidos na sua formação foram identificados, o que têm contribuído para o entendimento dos níveis de acrilamida encontrados em alimentos e do impacto das condições de processamento. Metodologias analíticas têm sido desenvolvidas para a determinação de acrilamida em diversas matrizes, em concentrações cada vez menores. Entretanto, a principal questão ainda se refere à maneira como o teor de acrilamida 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 forma,

pesquisas ainda são necessárias antes de se tirar qualquer conclusão relativa ao potencial genotóxico e carcinogênico da acrilamida em seres humanos.

## AGRADECIMENTOS

CNPq (Proc. 142119/2003-2) e Capes (Proc. BEX 0770-04/3).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AFSCA (Agence Fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire). Acrylamide dans les denrées alimentaires presentes sur le marché Belge, 2002. Disponível em <<http://www.favv-afsa.fgov.be>>. Acesso em: 24 jan.2006.
- AFSSA (Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments). Acrylamide: point d'information n° 2, 2003. Disponível em <<http://www.afssa.fr/ftp/afssa/basedoc/acrylpoint2sansannex.pdf>>. Acesso em: 24 jan.2006.
- AHN, J. S. *et al.* Verification of the findings of acrylamide in heated foods. **Food Additives and Contaminants**, Oxon, v. 19, n. 12, p. 1116-1124, 2002.
- AMREIN, T. *et al.* Potential of acrylamide formation, sugars, and free asparagine in potatoes: a comparison of cultivars and farming systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 51, n. 18, p. 5556-5560, 2003.
- AMREIN, T. M. *et al.* Acrylamide in gingerbread: critical factors for formation and possible ways for reduction **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 52, n. 13, p. 4282-4288, 2004.
- BECALSKI, A. *et al.* Acrylamide in foods: occurrence, sources, and modelling. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 51, n. 3, p. 602-608, 2003.
- BECALSKI, A. *et al.* Acrylamide in French fries: influence of free amino acids and sugars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 52, n. 12, p. 3801-3806, 2004.
- BERGMARK, E. Hemoglobin adducts of acrylamide and acrylonitrile in laboratory workers, smokers and nonsmokers. **Chemistry Research Toxicology**, Washington, v. 10, n. 1, p. 78-84, 1997.
- BfR (Bundesinstitut für Risikobewertung). Assessment of acrylamide intake from foods containing high acrylamide levels in Germany, 2003. Disponível em: <[http://www.bfr.bund.de/cm/245/assessment\\_of\\_acrylamide\\_intake\\_from\\_foods\\_containing\\_high\\_levels\\_in\\_germany.pdf](http://www.bfr.bund.de/cm/245/assessment_of_acrylamide_intake_from_foods_containing_high_levels_in_germany.pdf)>. Acesso em: 24 jan.2006.
- BIEDERMANN, M.; *et al.* Methods for determining the potential of acrylamide formation and its elimination in raw materials for food preparation, such potatoes. **Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchung und Hygiene**, Zurich, v. 93, n. 6, p. 653-667, 2002a.
- BIEDERMANN, M. *et al.* Experiments on acrylamide formation and possibilities to decrease the potential of acrylamide formation in potatoes. **Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchung und Hygiene**, Zurich, v. 93, n. 6, p. 668-687, 2002b.

- BRATHEN, E. *et al.* Addition of glycine reduces the content of acrylamide in cereal and potato products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 53, n. 8, p. 3259-3264, 2005.
- BULL, R. J. *et al.* Carcinogenic effects of acrylamide in SENCAR and A/J mice. **Cancer Research**, Philadelphia, v. 44, n. 1, p. 107-111, 1984.
- CASTLE, L.; ERIKSSON, S. Analytical methods used to measure acrylamide concentrations in foods. **Journal of the AOAC International**, Gaithersburg, v. 88, n. 1, p. 274-284, 2005.
- CCFAC (Codex Committee on Food Additives and Contaminants). Proposal for a new work on a Code of Practice for the reduction of acrylamide in food. *In*: REPORT OF THE 38<sup>TH</sup> SESSION OF THE CODEX COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES AND CONTAMINANTS, The Hague, The Netherlands, 2006. p. 233.
- COFFIN, R. H. *et al.* Effect of low temperature storage on sugar concentration and chip color of certain processing potato cultivars and selections. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 52, n. 3, p. 639-645, 1987.
- COLLINS, J. J. *et al.* Mortality patterns among workers exposed to acrylamide. **Journal of Occupational and Environmental Medicine**, Philadelphia, v. 31, n. 7, p. 614-617, 1989.
- CROFT, M. *et al.* Australian survey of acrylamide in carbohydrate-based foods. **Food Additives and Contaminants**, Oxon, v. 21, n. 8, p. 721-736, 2004.
- DE WILDE, T. *et al.* Influence of storage practices on acrylamide formation during potato frying. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 53, n. 16, p. 6550-6557, 2005.
- DELATOUR, T. *et al.* Improved sample preparation to determine acrylamide in difficult matrixes such as chocolate powder, cocoa, and coffee by liquid chromatography tandem mass spectroscopy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 52, n. 15, p. 4625-4631, 2004.
- DYBING, E.; SANNER, T. Risk assessment of acrylamide in foods. **Toxicological Sciences**, Oxford, v. 75, n. 1, p. 7-15, 2003.
- EPPENDORFER, W. H. Free and total amino acid composition of edible parts of beans, kale, spinach, cauliflower and potatoes as influenced by nitrogen fertilisation and phosphorus and potassium deficiency. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, W. Sussex, v. 71, n. 4, p. 449-458, 1996.
- FAO/WHO (Food and Drug Administration/World Health Organization). Health implications of acrylamide in food. *In*: REPORT OF A JOINT FAO/WHO CONSULTATION. Geneva, Switzerland, 2002. p. 1-39. Disponível em: <<http://www.who.int/fsf/acrylamide/SummaryReportFinal.pdf>>. Acesso em: 13 out.2003.
- FAO/WHO (Food and Drug Administration/World Health Organization). Acrylamide. *In*: SUMMARY AND CONCLUSIONS OF THE SIXTY-FOURTH MEETING, JOINT FAO/WHO EXPERT COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES (JECFA), Rome, 2005. p. 7-17. Disponível em: <[ftp://ftp.fao.org/esn/jecfa/jecfa64\\_summary.pdf](ftp://ftp.fao.org/esn/jecfa/jecfa64_summary.pdf)>. Acesso em: 12 mai.2005.
- FAUHL, C. *et al.* Acrylamide interlaboratory study, 2002. Disponível em: <[http://www.bfr.bund.de/cm/245/proficiency\\_testing\\_studie.pdf](http://www.bfr.bund.de/cm/245/proficiency_testing_studie.pdf)>. Acesso em: 24 jan.2006.
- FDA (Food and Drug Administration). Exploratory data on acrylamide in food, 2002. Disponível em: <<http://www.cfsan.fda.gov/~dms/acrydata.html>>. Acesso em: 24 jan.2006.
- FDA (Food and Drug Administration). Draft: detection and quantitation of acrylamide in foods, 2003. Disponível em: <<http://vm.cfsan.fda.gov/~dms/acrylami.html>>. Acesso em: 06 jun.2005.
- FDA (Food and Drug Administration). Exploratory data on acrylamide in food: most recently data, 2005. Disponível em: <<http://www.cfsan.fda.gov/~dms/acrydata.html>>. Acesso em: 26 abr.2006.
- FERNANDEZ, S. *et al.* Content of acrylamide decreased in potato chips with addition of a proprietary flavonoid spice mix (Flavomare<sup>®</sup>) in frying. **Innovations in Food Technology**, 2003. Disponível em: <<http://www.innovfoodtech.com>>. Acesso em: 24 jan.2006.
- FREDRIKSSON, H. *et al.* Fermentation reduces free asparagine in dough and acrylamide content in bread. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 81, n. 5, p. 650-653, 2004.
- FRIEDMAN, M. A. *et al.* A lifetime oncogenicity study in rats with acrylamide. **Fundamental and Applied Toxicology**, San Diego, v. 27, n. 1, p. 95-105, 1995.
- GÖKMEN, V. *et al.* Determination of acrylamide in potato chips and crisp by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 1088, n. 1-2, p. 193-199, 2005.
- GOVAERT, Y. *et al.* Optimization of a method for the determination of acrylamide in foods. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 556, n. 2, p. 275-280, 2006.
- HAGMAR, L. *et al.* Health effects of occupational exposure to acrylamide using hemoglobin adducts as biomarkers of internal dose. **Scandinavian Journal of Work and Environment Health**, Helsinki, v. 27, n. 4, p. 219-226, 2001.
- HC (Health Canada's Food Laboratories). Acrylamide levels in selected Canadian foods, 2003. Disponível em: <[http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/secureit/chem-chim/acrylamide/acrylamide\\_level-acrylamide\\_niveau\\_e.html](http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/secureit/chem-chim/acrylamide/acrylamide_level-acrylamide_niveau_e.html)>. Acesso em: 24 jan.2006.
- HENDRIKSEN, H. V. *et al.* Asparaginase-mediated reduction of acrylamide formation in baked, fried and roasted products. **Journal of Biotechnology**, Amsterdam, v. 118, S1, p. S135, 2005.
- IARC (International Agency for Research on Cancer). Acrylamide. *In*: IARC MONOGRAPHS ON THE EVALUATION OF CARCOGENIC RISKS TO HUMANS, v. 60, 1994. Disponível em: <<http://www.cie.iarc.fr/htdocs/monographs/vol60/m60-11.htm>>. Acesso em: 16 mar.2004.
- JIFSAN (Joint Institute for Food Safety and Applied Nutrition). The update exposure assessment for acrylamide, 2004. Disponível em: <[http://www.jifsan.umd.edu/presentations/acry2004/acry\\_2004\\_dinovihoward.pdf](http://www.jifsan.umd.edu/presentations/acry2004/acry_2004_dinovihoward.pdf)>. Acesso em: 24 jan.2006.
- JOHNSON, K. A. *et al.* Chronic toxicity and oncogenicity study on acrylamide incorporated in the drinking water of Fischer 344 rats. **Toxicology and Applied Pharmacology**, San Diego, v. 85, n. 2, p. 154-168, 1986.
- KITA, A. *et al.* Effective ways of decreasing acrylamide content in potato crisps during processing. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 52, n. 23, p. 7011-7016, 2004.
- KLAFFKE, H. *et al.* Results from two interlaboratory comparison test organized in Germany and at the EU level for analysis of acrylamide in food. **Journal of the AOAC International**, Gaithersburg, v. 88, n. 1, p. 292-298, 2005.
- KONINGS, E. J. M. *et al.* Acrylamide exposure from foods of the Dutch population and assessment of the consequent risks. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 41, n. 11, p. 1569-1579, 2003.
- LEUNG, K. S. *et al.* Acrylamide in Asian foods in Hong Kong. **Food Additives and Contaminants**, Oxon, v. 20, n. 12, p. 1105-1113, 2003.

- LO PACHIN, R. M. Acrylamide neurotoxicity: neurological, morphological and molecular endpoints in animal models. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v. 561, p. 21-37, 2005.
- MARSH, G. M. *et al.* Mortality patterns among workers exposed to acrylamide: 1994 follow up. **Occupational and Environmental Medicine**, London, v. 56, n. 3, p. 181-190, 1999.
- MATTHYS, C. *et al.* Risk assessment of dietary acrylamide intake in Flemish adolescents. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 43, n. 2, p. 271-278, 2005.
- MESTDAGH, F. *et al.* Influence of oil type on the amounts of acrylamide generated in a model system and in French fries. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 53, n. 15, p. 6170-6174, 2005.
- MOTTRAM, D. S. *et al.* Acrylamide is formed in the Maillard reaction. **Nature**, London, v. 419, p. 448-449, 2002.
- MUCCI, L. A. *et al.* Dietary acrylamide and cancer of the large bowel, kidney, and bladder: absence of an association in a population-based study in Sweden. **British Journal of Cancer**, London, v. 88, n. 1, p. 84-89, 2003.
- MURKOVIC, M. Acrylamide in Austrian foods. **Journal of Biochemistry and Biophysical Methods**, Amsterdam, v. 31, n. 1-2, p. 161-167, 2004.
- NFCA (Norwegian Food Control Authority). Assessment of cancer risk due to acrylamide intake from coffee consumption. *In*: REPORT FROM THE SCIENTIFIC COMMITTEE OF THE NORWEGIAN FOOD CONTROL AUTHORITY, 2002. Disponível em: <[http://snt.mattilsynet.no/nytt/tema/Akrylamid/RA\\_coffee.pdf](http://snt.mattilsynet.no/nytt/tema/Akrylamid/RA_coffee.pdf)>. Acesso em: 21 jun.2004.
- NOTI, A. *et al.* Storage of potatoes at low temperatures should be avoided to prevent increased acrylamide formation during frying or roasting. **Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchung und Hygiene**, Zurich, v. 94, n. 3, p. 167-180, 2003.
- OLSSON, K. *et al.* Tuber components affecting acrylamide formation and colour in fried potato: variation by variety, year, storage temperature and storage time. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, W. Sussex, v. 84, n. 5, p. 447-458, 2004.
- ONO, H. *et al.* Analysis of acrylamide by LC-MS/MS and GC-MS in processed Japanese foods. **Food Additives and Contaminants**, Oxon, v. 20, n. 3, p. 215-220, 2003.
- PALEOLOGOS, E. K.; KONTOMINAS, M. G. Determination of acrylamide and methacrylamide by normal phase high performance liquid chromatography and UV detection. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 1077, n. 2, p. 128-135, 2005.
- PEDRESCHI, F. *et al.* Reduction of acrylamide formation in potato slices during frying. **Lebensmittel Wissenschaft und Technologie**, Amsterdam, v. 37, n. 6, p. 679-685, 2004.
- PELUCCHI, C.; FRANCESCHI, S.; LEVI, F.; TRICHOPOULOS, D.; BOSETTI, C.; NEGRI, E.; LA VECCHIA, C. Fried potatoes and human cancer. **International Journal of Cancer**, Hoboken, v. 108, n. 4, p. 636-637, 2004.
- RICE, J. M. The carcinogenicity of acrylamide. **Mutation Research**, Amsterdam, v. 580, n. 1-2, p. 3-20, 2005.
- ROBERT, F. *et al.* Acrylamide formation from asparagine under low-moisture Maillard reaction conditions. 1. Physical and chemical aspects in crystalline model systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 52, n. 22, p. 6837-6842, 2004.
- ROSÉN, J.; HELLENÄS, K.; -E. Analysis of acrylamide in cooked foods by liquid chromatography tandem mass spectrometry. **Analyst**, Cambridge, v. 127, n. 7, p. 880-882, 2002.
- RYDBERG, P. *et al.* Investigations of factors that influence the acrylamide content of heated foodstuffs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 51, n. 24, p. 7012-7018, 2003.
- SENYUVA, H. Z, GÖKMEN, V. Study of acrylamide in coffee using an improved liquid chromatography mass spectrometry method: investigations of color changes and acrylamide formation in coffee during roasting. **Food Additives and Contaminants**, Oxon, v. 22, n. 3, p. 214-220, 2005a.
- SENYUVA, H. Z, GÖKMEN, V. Survey of acrylamide in Turkish foods by an in-house validated LC-MS method. **Food Additives and Contaminants**, Oxon, v. 22, n. 3, p. 204-209, 2005b.
- SNFA (Swedish National Food Agency). Acrylamide in food, 2002. Disponível em: <[http://www.slv.se/templates/SLV\\_DocumentList.aspx?id=4089](http://www.slv.se/templates/SLV_DocumentList.aspx?id=4089)>. Acesso em: 13 out.2003.
- SOBEL, W. *et al.* Acrylamide cohort mortality study. **British Journal of Industrial Medicine**, London, v. 43, n. 11, p. 785-788, 1986.
- SOPH (Swiss Office of Public Health). Assessment of acrylamide intake by duplicate diet study, 2002. Disponível em: <<http://www.bag.admin.ch/verbrau/aktuell/d/DDS%20acrylamide%20preliminary%20communication.pdf>>. Acesso em: 21 jun.2004.
- STADLER, R. H. *et al.* Acrylamide from Maillard reaction products. **Nature**, London, v. 419, p. 449-450, 2002.
- STADLER, R. H. *et al.* In-depth mechanistic study on the formation of acrylamide and others vinylogous compounds by the Maillard reaction. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 52, n. 17, p. 5550-5558, 2004.
- SVENSSON, K. *et al.* Dietary intake of acrylamide in Sweden. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 41, n. 1, p. 1-6, 2003.
- TAKATSUKI, S. *et al.* Determination of acrylamide in processed foods by LC-MS using column switching. **Journal of the Food Hygienic Society of Japan**, Hokkaido, v. 44, n. 2, p. 89-95, 2003.
- TAREKE, E. *et al.* Acrylamide: a cooking carcinogen? **Chemistry Research Toxicology**, Washington, v. 13, n. 6, p. 517-522, 2000.
- TAREKE, E. *et al.* Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated foodstuffs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 50, n. 17, p. 4998-5006, 2002.
- TATEO, E.; BONONI, M. A GC-MS method for the routine determination of acrylamide in food. **Italian Journal of Food Science**, Pinerolo, v. 15, n. 1, p. 149-151, 2003.
- TAUBERT, D. *et al.* Influence of processing parameters on acrylamide formation during frying of potatoes **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 52, n. 9, p. 2735-2739, 2004.
- TÖRNQVIST, M. *et al.* Risk assessment of acrylamide. *In*: Report 7/98, Swedish Chemicals Inspectorate, Solna, Sweden, 1998.
- TÖRNQVIST, M. *et al.* Leakage of acrylamide from a tunnel construction work: exposure monitoring and health effects to humans and animals. *In*: ALARA Network Workshop, Antwerp, Belgium, 2000. p. 1-8.
- UK FSA (United Kingdom Food Standards Agency). Food Standards Agency study of acrylamide in foods: background information and research findings, 2002. Disponível em: <<http://www.food.gov.uk/multimedia/pdfs/acrylamideback.pdf>>. Acesso em: 24 jan.2006.
- UK FSA (United Kingdom Food Standards Agency). Analysis of total diet study samples for acrylamide. *In*: FOOD SURVEY INFORMATION SHEET NUMBER 71/05, 2005. Disponível em: <<http://www.food.gov.uk/science/surveillance/fsisbranch2005/fsis7105>>. Acesso em: 15 mar.2006.

- US EPA (United States Environmental Protection Agency). Acrylamide (CASRN 79-06-1). *In*: INTEGRATED RISK INFORMATION SYSTEM (IRIS), 1993. Disponível em: <<http://www.epa.gov/iris/subst/0286.htm#carc>>. Acesso em: 24 jan.2006.
- US EPA (United States Environmental Protection Agency). Acrylamide, document EPA 749-F-94-005. *In*: CHEMICALS IN THE ENVIRONMENT, 1994. Disponível em: <[http://www.epa.gov/chemfact/f\\_acryla.txt](http://www.epa.gov/chemfact/f_acryla.txt)>. Acesso em: 17 abr.2005.
- VATTEM, D. A.; SHETTY, K. Acrylamide in food: a model for mechanism of formation and its reduction. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Amsterdam, v. 4, n. 3, p. 331-338, 2003.
- WENZL, T. *et al.* Analytical methods for the determination of acrylamide in food products: a review. **Food Additives and Contaminants**, Oxon, v. 20, n. 10, p. 885-902, 2003.
- WHO (World Health Organization). Acrylamide. *In*: GUIDELINES FOR DRINKING-WATER QUALITY, 2 ed.; v. 2: Health criteria and other supporting information, 1996. Disponível em: <[http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/dwq/gdwq2v1/en/index1.html](http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq2v1/en/index1.html)>. Acesso em: 9 dez.2003.
- WHO (World Health Organization). Major elements for exposure assessment of contaminants and toxins in food. *In*: Workshop on

Methodology for Exposure Assessment of Contaminants and Toxins in Food. Geneva, Switzerland, 2000. p. 12-19.

- WHO (World Health Organization). Acrylamide in food: frequently asked questions, 2002. Disponível em: <[http://www.who.int/foodsafety/publications/chem/en/acrylamide\\_faqs.pdf](http://www.who.int/foodsafety/publications/chem/en/acrylamide_faqs.pdf)>. Acesso em: 9 dez.2003.
- YASUHARA, A. *et al.* Gas Chromatographic Investigation of acrylamide formation in browning model systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 51, n. 14, p. 3999-4003, 2003.
- YAYLAYAN, V. A. *et al.* Why asparagine needs carbohydrates to generate acrylamide. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 51, n. 6, p. 1753-1757, 2003.
- YAYLAYAN, V. A.; STADLER, R. Acrylamide formation in food: a mechanism perspective. **Journal of the AOAC International**, Gaithersburg, v. 88, n. 1, p. 262-267, 2005.
- ZHANG, Y. *et al.* Occurrence and analytical methods of acrylamide in heated-treated foods: review and recent developments. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 1075, n. 1-2, p. 1-21, 2005.
- ZYZAK, D. V. *et al.* Acrylamide formation mechanism in heated foods **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 51, n. 16, p. 4782-4787, 2003.