

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE  
TECNOLOGIA EM ALIMENTOS**

**Bruna Reis Garcia**

**ACRILAMIDA EM CAFÉ INSTANTÂNEO BRASILEIRO: QUANTIFICAÇÃO E  
AVALIAÇÃO DO RISCO DE EXPOSIÇÃO PELO CONSUMO DA BEBIDA**

**Porto Alegre**

**2023**

**Bruna Reis Garcia**

**ACRILAMIDA EM CAFÉ INSTANTÂNEO BRASILEIRO: QUANTIFICAÇÃO E  
AVALIAÇÃO DO RISCO DE EXPOSIÇÃO PELO CONSUMO DA BEBIDA**

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação apresentado ao Departamento de Tecnologia em Alimentos da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, como requisito parcial para a obtenção do grau de Tecnóloga em Alimentos.

Orientadora: Profa. Manuela Poletto Klein

Co-orientadora: Dra. Denise Wibelinger de Melo

**Porto Alegre**

**2023**

## **FOLHA DE APROVAÇÃO**

**Bruna Reis Garcia**

**ACRILAMIDA EM CAFÉ INSTANTÂNEO BRASILEIRO: QUANTIFICAÇÃO E  
AVALIAÇÃO DO RISCO DE EXPOSIÇÃO PELO CONSUMO DA BEBIDA**

BANCA EXAMINADORA

---

Orientadora: Profa. Manuela Poletto Klein (UFCSPA)

---

Co-orientadora: Dra. Denise Wibelinger de Melo (UFRGS)

---

Avaliadora: Profa. Juliane Elisa Welke (UFRGS)

---

Avaliador: Prof. Juliano Garavaglia

Data de aprovação: \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2023.

Porto Alegre

2023

## AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Manuela Poletto Klein, que com o seu apoio, dedicação, orientação e confiança me ajudou a construir o caminho que percorri desde a idealização até à concretização deste projeto. Foi um privilégio e uma experiência incrível fazer parte da sua linda equipe de Iniciação Científica. Declaro aqui minha eterna gratidão pelo compartilhamento do seu conhecimento e tempo, bem como sua amizade.

Às minhas colegas de projeto pela troca de experiências, ensinamentos, auxílio, companheirismo, transformando este percurso mais leve e ganhando um encanto especial. Deixo um especial agradecimento à colega, também co-orientadora, Denise Wibelinger de Melo pela incansável dedicação e orientação nesse projeto. Amiga, companheira, ouvinte e paciente, soube transformar esta jornada num verdadeiro crescimento e amadurecimento. Quero também agradecer com especial carinho à colega Daniela Rigo pela amizade, empenho e apoio para a conclusão desse projeto.

A todos os professores pelos conhecimentos que me transmitiram e que foram importantes no desenrolar deste trabalho e na transição da minha carreira profissional, em especial a professora Poliana Deyse Gurak, por todos os momentos de apoio que me proporcionou com sua sabedoria, objetividade e entusiasmo.

Aos funcionários da Universidade, em especial a equipe técnica do Laboratório 317 e da Central Analítica. A ajuda da Camila Scheid foi fundamental para a conclusão deste trabalho.

Aos meus colegas de curso, em especial a amiga Renata Lacerda Moraes, pelo companheirismo, troca de conhecimentos e auxílio nesses quatro anos da nossa trajetória na Universidade.

À minha família - minha mãe, pai e irmão - por terem me conduzido por esse caminho e acreditarem comigo na transição de carreira para área de alimentos. Obrigada pela dedicação e suporte durante todo curso e sua finalização.

Ao meu companheiro pela paciência, compreensão e apoio para a realização dos meus objetivos.

Aos meus amigos que sempre estiveram ao meu lado, em especial a Karen Mengue, minha maior incentivadora e a Telma Feijo, pelo carinho e amizade nessa trajetória.

## RESUMO

A acrilamida é uma substância carcinogênica e genotóxica que pode ser gerada em alimentos a partir de açúcares redutores e asparagina, quando submetidos a temperaturas elevadas durante o processamento, como é o caso do café instantâneo. A principal razão em pesquisar este composto no café, fundamenta-se no fato de que a maioria da população consome rotineiramente essa bebida. Neste sentido, o objetivo deste estudo foi quantificar o teor de acrilamida em café instantâneo comercial de diferentes torras e marcas (15 amostras) e avaliar o risco de exposição à acrilamida pela população brasileira através da ingestão deste alimento. O preparo das amostras para análise foi feito pelo método QuEChERS (sigla para *Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe*) e a quantificação da acrilamida foi feita por cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada à espectrometria de massas com fonte de ionização por electrospray (UPLC-ESI-MS/MS). Posteriormente, foi calculada a estimativa de ingestão de acrilamida, com dados de consumo extraídos da Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) e da Associação Brasileira das Indústrias de Café (ABIC), e a margem de exposição (MOE) à acrilamida. Os teores de acrilamida encontrados nas amostras de café analisadas variaram entre  $34,0 \pm 10,4$  a  $272,2 \pm 8,3$   $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Os resultados de exposição média a acrilamida pelo consumo de café pela população brasileira variaram de 0,013 e 0,014  $\mu\text{g}/\text{kg}$  pc/dia para homens e mulheres, respectivamente, através da POF e de 0,023 e 0,027  $\mu\text{g}/\text{kg}$  pc/dia para homens e mulheres, respectivamente, através da pesquisa de hábitos e preferências pela ABIC 2019-2023. A caracterização do risco pelo consumo de café solúvel, realizada através do cálculo da margem de exposição, indicaram uma preocupação para a saúde humana relacionada à ingestão de acrilamida, visto que margens de exposição abaixo de 10.000 foram encontradas. Como perspectivas futuras, sugere-se a criação de um documento de boas práticas para mitigar a formação de acrilamida no processamento de alimentos.

Palavras chave: Acrilamida; Café instantâneo; Exposição dietética

## **ABSTRACT**

*Acrylamide is a carcinogenic and genotoxic substance produced in foods from reducing sugars and asparagine, subjected to high temperatures during processing, such as instant coffee. The main reason in researching this compound is based on the fact that the majority of the population routinely consumes these drinks. In this sense, this study aimed to evaluate the risk of exposure to acrylamide by the Brazilian population by determining the substance content in instant coffee of different roasts and brands (15 samples). The quantification of acrylamide quantification was carried out by the QuEChERS method (acronym for Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe) and by ultra-performance liquid chromatography coupled to electrospray ionization mass spectrometry (UPLC-ESI-MS/MS). Subsequently, the intake estimate was calculated using data extracted from the Family Budget Survey (POF) and the Brazilian Coffee Industry Association (ABIC) and then the exposure margin (MOE) was determined. The acrylamide levels found in the coffee samples analyzed to be from  $34.0 \pm 10.4$  to  $272.2 \pm 8.3$   $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Average exposure to acrylamide through coffee consumption by the Brazilian population ranged from 0.013 and 0.014  $\mu\text{g}/\text{kg}$  bw/day for men and women, respectively, through POF and 0.023 and 0.027  $\mu\text{g}/\text{kg}$  bw/day for men and women, respectively, through the habits and preferences survey by ABIC 2019-2023. The characterization of the risk of soluble coffee consumption, by calculating the exposure margin, indicated a concern for human health related to the ingestion of acrylamide, as exposure margins below 10000 were found. As future perspective, it is suggested the creation of a document that stabilisehs good manufacturing practices to mitigate the formation of acrylamide duriin food processing.*

*Keywords: Acrylamide; Instant coffee; Dietary exposure*

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Acrilamida
ABIC	Associação Brasileira das Indústrias de Café
BMDL <sub>10</sub>	<i>Benchmark Lower Dose</i> - Dose Mais Baixa de Referência
CONTAM <i>Panel</i>	<i>EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain</i> - Painel da EFSA sobre Contaminantes na Cadeia Alimentar
EFSA	<i>European Food Safety Authority</i> - Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos
FD	<i>Freeze Drying</i> - Liofilização
FDA	<i>U.S. Federal Drug Administration</i> - Agência de Controle de Alimentos e Medicamentos dos EUA
JECFA	<i>The Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives</i> - Comitê de Especialistas em Aditivos Alimentares da FAO/OMS
MOE	<i>Margin of Exposure</i> - Margem de Exposição
PC	Peso Corpóreo
POF	Pesquisa de Orçamentos Familiares
QuEChERS	<i>Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe</i> - Rápido, Fácil, Barato, Eficaz, Robusto e Seguro
SD	<i>Spray Drying</i> - Secagem por Pulverização
UPLC-ESI-MS/MS	Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência acoplada à Espectrometria de Massas com fonte de Ionização por Electrospray

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	<b>8</b>
<b>2 OBJETIVOS</b>	<b>11</b>
2.1 OBJETIVO GERAL	11
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
<b>3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>12</b>
3.1 ACRILAMIDA E SUA EXPOSIÇÃO PARA A POPULAÇÃO	12
3.2 O CAFÉ SOLÚVEL E OS MECANISMOS DE FORMAÇÃO DA ACRILAMIDA	17
<b>3.2.1 Café solúvel</b>	<b>17</b>
<b>3.2.2 O processamento do café solúvel e a formação de acrilamida</b>	<b>19</b>
3.3 PARÂMETROS TOXICOLÓGICOS	24
3.4 MÉTODO DE QuEChERS	25
3.5 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ULTRA EFICIÊNCIA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS (UPLC-ESI-MS/MS)	26
<b>4 METODOLOGIA</b>	<b>30</b>
4.1 PRODUTOS QUÍMICOS	30
4.2 SELEÇÃO E PREPARO DAS AMOSTRAS PARA ANÁLISE DE ACRILAMIDA	30
4.3 QUANTIFICAÇÃO DO TEOR DE ACRILAMIDA POR UPLC-ESI-MS/MS	32
4.4 ANÁLISE DAS AMOSTRAS	33
4.5 COMPILAÇÃO DE DADOS DE CONSUMO A PARTIR DA PESQUISA DE ORÇAMENTO FAMILIARES	33
4.6 CÁLCULO DE EXPOSIÇÃO À ACRILAMIDA PELA DIETA E MARGEM DE EXPOSIÇÃO	33
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÕES</b>	<b>35</b>
5.1 MODIFICAÇÕES NO MÉTODO DE ANÁLISE DE ACRILAMIDA	35
5.2 ANÁLISE DE AMOSTRAS DE CAFÉ INSTANTÂNEO BRASILEIRO	35
5.3 EXPOSIÇÃO DE AA A PARTIR DO CONSUMO DA BEBIDA	37
5.4 AVALIAÇÃO DE RISCO	40
<b>6 CONCLUSÃO</b>	<b>42</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>43</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O café é uma das bebidas mais consumidas no mundo e uma das *commodities* mais comercializadas globalmente. O Brasil é reconhecido como líder na produção e exportação tanto do grão de café quanto do café na sua forma instantânea (FAO, 2023; Brasil, 2023).

A bebida de café é preparada a partir dos seus grãos torrados e moídos, que são as sementes das bagas da planta *Coffea*. As espécies *Coffea arabica* e *Coffea canephora*, também conhecida como robusta, são as de maior importância econômica e industrial. Mesmo com a crise econômica de 2021, intensificada pelas ações mundiais decorrentes do combate à Covid-19, os dados mostram que o grão de café continuou sendo fortemente comercializado (ABRE, 2023; Café que marca, 2023). Segundo a Organização Internacional do Café, mais de 175 milhões de sacas foram consumidas no mundo em 2012-2022 (Deshpande *et al.*, 2019; OIC, 2023).

No Brasil, o café é amplamente apreciado, ocupando o primeiro lugar na preferência de consumo alimentar, seguido pelo arroz e feijão. Essa preferência se estende tanto para os homens quanto para as mulheres, alcançando cerca de 78% da população, de acordo com a Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) realizada em 2017-2018 (IBGE, 2020).

Visando proporcionar praticidade e versatilidade aos consumidores, no ano de 1910 foi desenvolvida uma versão instantânea (solúvel) dessa bebida (El Diario, 2020). Segundo a Associação Brasileira da Indústria de Café Solúvel (ABICS), o café solúvel responde por cerca de 25% de todo o café consumido no varejo globalmente. Além disso, a associação afirma que o consumo de café solúvel cresce em torno de 2% ao ano, indicando o potencial desse segmento (ABICS, 2023).

O café solúvel é produzido principalmente a partir da espécie robusta ou *blends* especiais de cafés selecionados, passando pela etapa de torra e extração dos sólidos solúveis presentes nos grãos, seguido de secagem (Silva; Pasquim, 2018). Durante a etapa de torrefação, que ocorre em temperaturas acima de 180°C, se desenvolvem as características de aromas e sabores. Os grãos de café sofrem extensa desidratação e reações químicas, como a reação de Maillard e a caramelização dos açúcares. No entanto, este processamento térmico também induz a formação de moléculas tóxicas, como é o caso da acrilamida (AA) (Andregheti, 2005; Poisson *et al.*, 2017).

A acrilamida (AA) é uma substância orgânica solúvel em água que pode ser produzida tanto de forma sintética, quanto formada naturalmente em alimentos durante o processamento térmico. Sua descoberta em alimentos tratados termicamente ocorreu no ano de 2002, através de pesquisas realizadas pela Universidade de Estocolmo, em colaboração com a Administração Nacional de Alimentos Sueca (SNFA). Essa descoberta despertou interesse na comunidade científica internacional e motivou a realização de pesquisas em todo o mundo, uma vez que, a acrilamida foi classificada como uma neurotoxina e um provável carcinógeno para os seres humanos pela Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC) (IARC, 1994; FAO/WHO, 2002; SCF, 2002; FDA, 2022).

No contexto alimentar, esse composto é formado a partir da reação de Maillard entre o aminoácido asparagina e açúcares redutores (especialmente glicose e frutose) durante o processamento térmico, como a torrefação, em temperaturas superiores a 120°C e em condições de baixa umidade. Essa reação é conhecida como escurecimento não enzimático, que desempenha um papel fundamental no desenvolvimento das características sensoriais dos alimentos, como cor, aroma e sabor (BRASIL, 2007; FDA, 2009; Zhao; Zhang; Deng, 2022).

Os primeiros estudos quanto a existência de acrilamida em alimentos revelaram que o café torrado, batatas fritas, pães, torradas e biscoitos apresentavam os maiores teores de acrilamida, podendo atingir até 3500 µg/kg, dependendo do tipo de produto (FAO/WHO, 2005). De acordo com o relatório de monitoramento dos níveis de acrilamida nos alimentos da Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos (EFSA) (2011), observou-se uma tendência crescente do teor de acrilamida em café instantâneo por um período de 3 anos, apresentando a segunda maior média de acrilamida em 2009 (584 µg/kg) e a terceira, em 2010 (520 µg/kg) (EFSA, 2012).

Desde a descoberta da acrilamida nos alimentos, inúmeras estratégias para reduzi-la foram desenvolvidas, visto que a EFSA confirmou, com evidências de estudos em animais, que a exposição alimentar à acrilamida aumenta potencialmente o risco de desenvolver câncer para consumidores de todas as faixas etárias. Com base em estimativas de diferentes países, o Comitê de Especialistas em Aditivos Alimentares da FAO/OMS (JECFA) identificaram uma ingestão média de acrilamida para a população em geral de 1 a 4 µg/kg de peso corporal por dia (FAO/WHO, 2006; FDA, 2009).

Visando o crescente consumo e produção do café solúvel brasileiro, o presente trabalho tem como objetivo investigar os níveis de acrilamida de diferentes marcas de café instantâneo nacionais disponíveis no mercado e avaliar o risco de exposição da população a este composto pela ingestão da bebida.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Determinar a quantidade de acrilamida em amostras de café instantâneo brasileiro submetido a diferentes torras, avaliando o possível risco da exposição da população brasileira.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Quantificar a acrilamida das amostras por UPLC-ESI-MS/MS;
- Estimar a ingestão diária e a margem de exposição à acrilamida da população brasileira através do consumo de café instantâneo em amostras de café instantâneo disponíveis comercialmente.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 ACRILAMIDA E SUA EXPOSIÇÃO PARA A POPULAÇÃO

A acrilamida, cuja designação química oficial é 2-propenamida, corresponde a um composto de estrutura vinílica. Com a fórmula molecular  $C_3H_5NO$  (Figura 1) e o peso molecular de 71,09 g/mol (Pundir, Yadav, Chhillar, 2022). A acrilamida é um sólido branco, inodoro, cristalino a temperatura ambiente, altamente solúvel em água e em solventes orgânicos, podendo ser encontrada como uma solução aquosa a 40% (m/v) (FAO/WHO, 2002; Kazantsev; Shirshin, 2004; Mori *et al.*, 2022).

Aproximadamente 90% da acrilamida produzida é usada na síntese de poliacrilamida, que são macromoléculas formadas por reações de polimerização. Estes polímeros estão disponíveis comercialmente desde a década de 50, sendo amplamente utilizados como floculantes para clarificar e purificar a água potável; no tratamento de esgotos e efluentes; no condicionamento do solo para a produção de represas e como agente selante em construções civis. Além de serem utilizadas na indústria de papel, madeira e têxtil, são também adicionadas em cosméticos e artigos de higiene (Ötles; Otles, 2004; Neri, 2004; Lauzurica; Fayos, 2007; Zhao; Zhang; Deng, 2022).

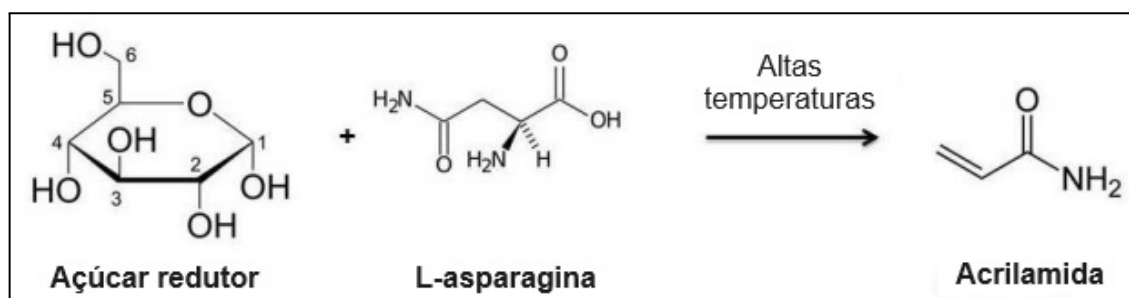
Ademais, a descoberta de acrilamida em alimentos foi realizada após a verificação da sua presença nos glóbulos brancos de pessoas do grupo controle em um estudo de exposição ocupacional à substância. Dessa maneira, sua exposição não provinha do meio de trabalho, mas sim de uma segunda fonte, que era a alimentação. Segundo a Administração Nacional de Alimentos Sueca (SNFA) e pesquisadores suecos, foi constatado a formação do composto em alimentos ricos em carboidratos, principalmente amido, tratados termicamente, como batata frita, batata *chips*, biscoitos, cereais matinais, café, entre outros (FAO/WHO, 2002; SCF, 2002; Soares, 2006; FDA, 2022).

A formação da acrilamida em alimentos é principalmente resultado da reação de Maillard, também conhecida como escurecimento não enzimático. Durante essa reação, compostos carbonílicos de açúcares redutores, especialmente glicose e frutose, reagem irreversivelmente com grupos amino de aminoácidos, formando uma base de Schiff que, posteriormente, passa pelo rearranjo de Amadori. Esses tendem a desidratar e se fragmentar regenerando o aminoácido livre e

formando grupos de compostos altamente reativos que sofrem uma degradação de Strecker gerando cor, como as melanoidinas - pigmento marrom, sabor e aroma, como os aldeídos (Damodaran; Parkin, 2019).

Embora seja uma das principais responsáveis por prover as propriedades sensoriais desejáveis aos alimentos, a reação de Maillard também é capaz de gerar a acrilamida devido à interação entre um aminoácido específico, L-asparagina e os açúcares redutores (Figura 1), sob uma temperatura mínima de 120 °C para alimentos com baixa atividade de água, além disso, essa formação é favorecida em uma faixa de pH entre 4 e 8 (Matthäus; Haase; Vosmann, 2004; Pundir, Yadav, Chhillar, 2022).

**Figura 1** - Reação simplificada de formação de acrilamida em alimentos



Fonte: Skog, 2007 *apud* Cândido, 2015.

A acrilamida é formada principalmente em processos de fritura, torrefação e assamento, sendo os níveis mais altos encontrados em café, batatas fritas e *chips*, produtos de panificação, como pães, torradas e biscoitos (FAO/WHO, 2005; Capuano; Fogliano, 2011).

Segundo a EFSA (2005), cerca de 40% dos alimentos tratados termicamente contêm acrilamida. Entretanto, há uma variabilidade quanto à síntese de acrilamida nos alimentos e isto decorre da diferença nas concentrações de precursores como a L-asparagina livre e os açúcares redutores nas matérias-primas, bem como a composição dos alimentos e condições de processo aplicadas tanto em escala industrial, como no preparo doméstico (Boon *et al.*, 2005; Capuano; Fogliano, 2011). Além disso, dentro de um mesmo item alimentar, pode ocorrer diferentes pontos críticos da concentração, como é o caso do café (Xu *et al.*, 2014).

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, também, pode ser tóxica ao sistema nervoso e reprodutivo de homens e animais em determinadas doses (IARC, 1994).

A toxicidade da acrilamida tem gerado grandes preocupações às organizações encarregadas da segurança alimentar, em razão dos efeitos que pode trazer para a saúde pública ao longo prazo. Em vista disso, a Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO) em parceria com a Organização Mundial de Saúde (OMS), divulgaram inúmeras orientações com o propósito de se obter mais informações e novas pesquisas que levem à compreensão do impacto da ingestão de acrilamida para a saúde humana (Pinho; Ferreira, 2008; Tsutsumiuchi *et al.*, 2011).

Baseado em dados de estudos experimentais com roedores, o JECFA (FAO/WHO, 2005) determinou a maior dose administrada sem efeitos tóxicos, NOEL (Nível Sem Efeito Observado) para acrilamida como sendo:

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

Milhares de amostras de alimentos estão sendo analisadas para a acrilamida desde 2002. Muitos autores têm estimado valores de ingestão diária de acrilamida para diferentes populações e investigado os alimentos ou grupos de alimentos que mais contribuem para a sua ingestão, de acordo com os hábitos alimentares locais e dos métodos de processamento usados (Dybing; Sanner, 2003; Konings *et al.*, 2003; Svensson *et al.*, 2003; Claeys *et al.*, 2010; Mojska *et al.*, 2010; Tran *et al.*, 2010; Hirvonen *et al.*, 2011; Sirot *et al.*, 2012; Cengiz; Gündüz, 2013; Normandin *et al.*, 2013; Jeong *et al.*, 2020; Nematollahi *et al.*, 2020). A Tabela 1 mostra os resultados obtidos em diferentes países:

**Tabela 1.** Ingestão diária de acrilamida em diferentes países

País	Faixa etária	Ingestão de Acrilamida ( $\mu\text{g}/\text{kg pc}/\text{dia}$ )		Referência
		consumidores médios <sup>1</sup>	grandes consumidores <sup>2</sup>	
<b>Bélgica</b>	População 15 anos ou mais	0,35	1,58	Claeys <i>et al.</i> , 2010
<b>Canadá</b>	Adolescentes 10 - 17 anos	0,58	2,85	Normandin <i>et al.</i> , 2013
<b>Coreia do Sul</b>	População mais de 2 anos	0,09	0,30	Jeong <i>et al.</i> , 2020
<b>EUA</b>	População mais de 3 anos	0,44	1,15	Tran <i>et al.</i> , 2010
<b>Finlândia</b>	Adultos 25 - 44 anos (Mulheres)	0,44	1,16	Hirvonen <i>et al.</i> , 2011
	Adultos 25 - 44 anos (Homens)	0,41	0,87	
<b>França</b>	Crianças 3 - 17 anos	0,69	1,80	Sirot <i>et al.</i> , 2012
	Adultos 18 - 79 anos	0,43	1,02	
<b>Holanda</b>	População 1 - 97 anos	0,48	2,70	Konings <i>et al.</i> , 2003
<b>Irã</b>	Crianças 3 - 10 anos	1,81	3,90	Nematollahi <i>et al.</i> , 2020
	Adolescentes 11 - 17 anos	1,02	2,24	
	Adultos 18 - 60 anos	0,61	1,35	
	Idosos 61 - 96 anos	0,53	1,22	
<b>Noruega</b>	Adultos (Mulheres)	0,46	1,45	Dybing; Sanner, 2003
	Adultos (Homens)	0,49	1,62	
<b>Polônia</b>	População 1 - 96 anos	0,43	2,12	Mojska <i>et al.</i> , 2010
<b>Suécia</b>	População 18 - 74 anos	0,44	0,89	Svensson <i>et al.</i> , 2003
<b>Turquia</b>	Crianças 1 - 3 anos	1,43	-	Cengiz; Gündüz, 2013

<sup>1</sup> Ingestão média diária de acrilamida;

<sup>2</sup> Hábitos alimentares que diferem amplamente da média.

Fonte: Autora, 2023.

O JECFA estimou uma ingestão de acrilamida entre 0,2 e 2,0  $\mu\text{g}/\text{kg p.c.}/\text{dia}$  para consumidores médios, considerando dados submetidos por 17 países de todas as regiões, com exceção da América Latina e África, em 2005. Para os grandes consumidores, ou seja, aqueles cujos hábitos diferem amplamente da média, as estimativas de ingestão variaram de 0,6 a 3,5  $\mu\text{g}/\text{kg p.c.}/\text{dia}$ , podendo chegar a até 5,1  $\mu\text{g}/\text{kg p.c.}/\text{dia}$ . Em 2011, as estimativas de ingestão variaram de 0,2 a 1,0  $\mu\text{g}/\text{kg p.c.}/\text{dia}$  para consumidores médios e de 0,6 a 1,8  $\mu\text{g}/\text{kg p.c.}/\text{dia}$  para grandes consumidores, levando em conta os dados de exposição de 8 países, com exceção da África. Tanto em 2005, quanto em 2011, 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. A partir disso, o Comitê concluiu que poderia ser definido um valor de

ingestão de 1 µg/kg p.c./dia de acrilamida (ou 60 g, assumindo-se um peso corpóreo de 60 kg) para representar consumidores médios e de 4 µg/kg p.c./dia de acrilamida (ou 240 g) para representar grandes consumidores (FAO/WHO, 2005; 2011).

Ademais, o Painel CONTAM analisou um total de 43.419 resultados analíticos de produtos alimentares avaliados desde 2010 por 24 países europeus e 6 associações alimentares, estimando uma exposição alimentar média entre 0,4 a 1,9 µg/kg p.c./dia para médios consumidores e 0,6 a 3,4 µg/kg p.c./dia para grandes consumidores, dependendo da pesquisa e da faixa etária (EFSA, 2015).

Os produtos como o café, batata, pão e cereais são as fontes de ingestão de acrilamida mais significativas, principalmente para os adultos. Para as crianças e adolescentes, as bolachas e biscoitos podem constituir uma fonte importante de acrilamida (CAST, 2006). No geral, segundo dados do JECFA, da FDA e da *European Union* (EU), as batatas fritas (16-30%), batatas *chips* (10-22%), café (13-39%), produtos de panificação e bolachas doces (10-20%), e pães e torradas (10-30%) estão entre os produtos que contribuem para uma maior exposição à acrilamida (Stadler; Scholz, 2004; FAO/WHO, 2005; Pavesi; Figueiredo, 2006; EFSA, 2015).

Em alguns casos, foi relatado que o café contribui substancialmente para a ingestão total de acrilamida na dieta, especialmente nos países nórdicos. Na Suécia, estudos mostram que o café representa aproximadamente 25% da ingestão total de acrilamida na dieta (Svensson *et al.*, 2003). Da mesma forma, na Noruega, descobriu-se que o café contribui com 28% da exposição alimentar total à acrilamida (Dybing; Sanner, 2003). Granby e Fagt (2004) forneceram uma estimativa da contribuição do café para a ingestão total de acrilamida na dieta na Dinamarca, mostrando que o café é responsável por 20% da exposição à acrilamida a partir da dieta.

O café é um dos produtos alimentares com maior presença na mesa da população brasileira, sendo o alimento com maior frequência de consumo (78,1%) dentre os 1.593 alimentos citados na Pesquisa de Orçamento Familiares (POF) de 2017-2018, realizado pelo IBGE, ficando na frente de alimentos como o arroz e o feijão, por exemplo. O café também é o alimento com maior consumo diário *per capita* do Brasil, sendo consumido 163,2 g de café (bebida)/dia (IBGE, 2020).

Conforme estudo de avaliação de ingestão da acrilamida no Brasil, valores médios de ingestão foram estimados em 0,14 e 0,42 µg/kg p.c./dia para médios e

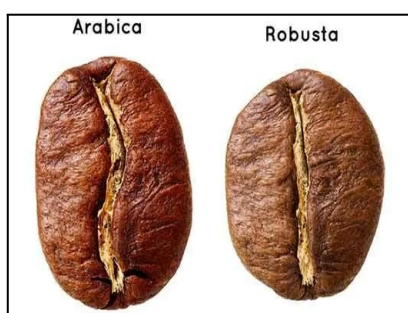
grandes consumidores, respectivamente, sendo inferiores aos níveis reportados em países da Europa e América do Norte. O café foi a segunda mais importante fonte de exposição à acrilamida, representando 14% do total dos alimentos analisados (Arisseto; Toledo, 2008).

## 3.2 O CAFÉ SOLÚVEL E OS MECANISMOS DE FORMAÇÃO DA ACRILAMIDA

### 3.2.1 Café solúvel

O café instantâneo, também conhecido como café solúvel e pó de café, é uma bebida não alcoólica, escura e aromática com boa aceitação sensorial, produzida dos grãos do fruto do cafeeiro, da família *Rubiaceae* do gênero *Coffea*. As duas principais espécies que dominam o comércio mundial são o *Coffea arabica*, conhecida como café arábica, e o *Coffea canephora*, comumente conhecido como café robusta ou conilon (Figura 2). Para a fabricação de café solúvel utiliza-se, preferencialmente, o café robusta, por apresentar rendimentos superiores na extração, pois possui maiores concentrações de sólidos solúveis, ou *blends* dos cafés robusta e arábica (Andregheti, 2005; Ignacio, 2022; History of Coffee, 2023).

**Figura 2.** Grão de café arábica e café conilon (robusta)



Fonte: Grão Gourmet, 2019.

O café solúvel pode ser definido como o produto pronto para o consumo, bastando, para isso, dissolvê-lo em água ou leite quente. Conforme a Resolução 716/2022 do Ministério da Saúde, café solúvel é o produto resultante da desidratação do extrato aquoso de espécies do gênero *Coffea*, obtidos por métodos físicos, utilizando água como único agente extrator (Brasil, 2022).

O primeiro método de produção de café solúvel foi originalmente desenvolvido pelo químico japonês Satori Kato, que residia em Chicago, EUA, em

1901. No entanto, foi o químico inglês George Constant Washington quem implementou o processo em larga escala e lançou a primeira marca comercial em 1910. Durante a primeira guerra mundial, o café instantâneo foi utilizado por soldados que procuravam aumentar sua energia e, ao mesmo tempo, ter um produto fácil de transportar, tornando-se popular. No ano de 1937, uma empresa suíça lançou o café solúvel a pedido do governo brasileiro, a fim de solucionar a crise de superprodução de café. O produto industrializado de café seria uma alternativa de conservação, para diminuir os estoques, mantendo seu aroma e sabor por maiores períodos de tempo (Andregheti, 2005; Cafeicultura, 2006; History of Coffee, 2023; El Diario, 2020).

Em termos de mercado, o Brasil é tradicionalmente o maior produtor e exportador de grãos de café e o segundo maior consumidor de café torrado e moído em nível mundial, sendo também líder global na produção e exportação de café instantâneo (Perfect Daily Grind, 2021; Brasil, 2023). Atualmente, há sete indústrias de café solúvel em operação no Brasil, responsáveis por 99,5% da exportação total do país. Em 2022, o Brasil exportou café solúvel para mais de 100 países, tendo como líder de importação os Estados Unidos, seguido por Argentina, Indonésia, Japão e Polônia, apresentando acréscimo em torno de 25% do faturamento comparado com o ano anterior (ABICS, 2022).

No âmbito do mercado interno, desde 2016 os brasileiros aumentam anualmente o nível consumido de café instantâneo, sendo o volume de 23 milhões de toneladas em 2022, o que equivale a 998.668 sacas de café, implicando no crescimento de 1,4% em relação ao ano anterior. Tal crescimento é proporcionado pela maior percepção da qualidade e versatilidade do café solúvel (ABICS, 2022).

Ademais, o café instantâneo tem diversas vantagens em relação ao café em pó, como a sua praticidade e conveniência, já que não é necessário filtrá-lo. Ele se mantém próprio para o consumo por mais tempo e seu sabor não se altera com facilidade, pois seu processamento consiste em uma etapa adicional, onde prepara-se um concentrado de café do qual a água é removida por aquecimento, atomização ou liofilização, para produzir grânulos ou pó solúveis (ICO, 2023). O café coado ou filtrado, no entanto, passa apenas pelas etapas de torrefação e moagem, mas não é submetido à imersão em água e à secagem, como o café instantâneo (Silva; Pasquim, 2018).

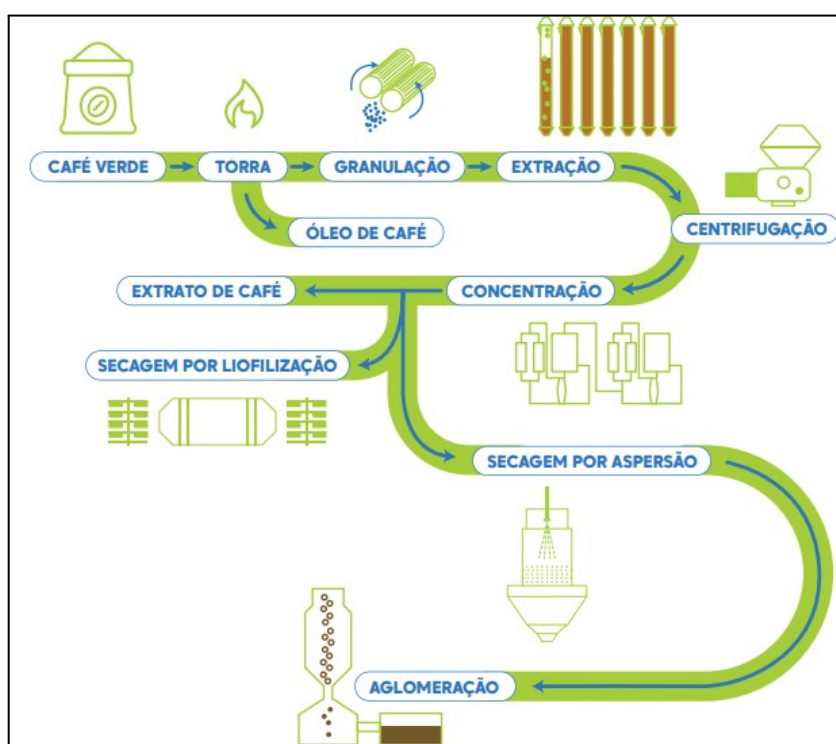
O café solúvel pode ser classificado de acordo com o processo de desidratação e sua forma de apresentação, podendo ser apresentado como pó ou *spray dried*, liofilizado ou *freeze dried*, granulado ou aglomerado. No café *spray dried* o extrato, no estado líquido, é submetido a altas temperaturas e pressão, para através da evaporação da água, formar partículas secas. No café *freeze dried* o extrato, no estado líquido, é congelado e a água é removida por sublimação, formando partículas secas de formas irregulares. No café aglomerado as partículas de café solúvel *spray dried* são fundidas para formar partículas maiores (grânulos) (Brasil, 1999; ABICS, 2022).

Entre os tipos de café solúvel acima citados, o liofilizado apresenta qualidade superior aos demais, uma vez que seu processo de obtenção permite rápida e praticamente completa reidratação, além de conservar características sensoriais originais do produto (Osako, 2012).

### 3.2.2 O processamento do café solúvel e a formação de acrilamida

O processo de produção do café solúvel inclui várias etapas de processamento, conforme apresentado no fluxograma abaixo (Figura 3):

**Figura 3.** Fluxograma das etapas de produção do café solúvel



Fonte: ABICS, 2022.

O café solúvel é fabricado a partir da extração de sólidos solúveis e voláteis usando a água superaquecida a 140-160°C sob pressão (com média de 21 kgf/cm<sup>2</sup>) como solvente. O ponto de partida do processo de produção se dá com a seleção e a limpeza para remover grãos de café defeituosos ou imaturos, pequenas pedras ou pedaços de metais, através de sistemas de peneiras e detectores de metais. A indústria compra a matéria prima levando em consideração o número de defeitos e o padrão de bebida (Relvas; Pinto; Monteiro, 1997; Esteves, 2006; Filho, 2010; Alves *et al.*, 2017).

Posteriormente, são elaborados *blends* de matéria-prima devidamente padronizada, seguido pela etapa de torrefação. O uso de *blends* é uma prática comum na indústria, visto que o país possui condições climáticas favoráveis para produção de diversas espécies e variedades de café, facilitando essa formulação (Dias, 2005; Silva; Pasquim, 2018).

A torrefação é a operação chave para desenvolver a cor, o aroma e o sabor do café. Em geral, a temperatura do grão de café deve exceder 190°C para desencadear as reações químicas típicas da torrefação, como a caramelização de açúcares e reações de Maillard, dando origem a vários produtos químicos aromáticos, além da formação dos compostos chamados melanoidinas, que são pigmentos escuros que auxiliam na formação da coloração característica do café torrado (Shibamoto, 2014; Schenker; Rothgeb, 2017).

Além disso, a torra provoca a desidratação do grão, cuja umidade cai de 11% para 1,5%, e a geração de gases, que levam à sua expansão, com perda de massa (entre 17 a 21%) e aumento do volume (entre 100 a 130%) (Figura 4). Assim, após a torrefação, o grão fica poroso e quebradiço. A quantidade de massa perdida e diversas outras características, como cor (altera de verde-acinzentada para marrom) e aroma (geração de voláteis), dependem do grau de torra, que varia de coloração leve a intensa. Quanto mais clara, mais acentuada é a acidez da bebida e menor será seu amargor e a perda de massa; quanto mais escura, mais intensa e amarga é a bebida obtida (Koblitz, 2011).

**Figura 4.** Evolução do grão de café durante a torrefação



Fonte: Muinhos, 2017.

Normalmente a torra é conduzida em equipamentos operando em batelada, em que os gases da fornalha entram em contato com o café cru, promovendo inicialmente um processo de secagem, no qual os aromas e a coloração do café são desenvolvidos (Sivetz; Desrosier, 1979, Kleinwächter; Bytof; Selmar, 2015).

O processo de torra engloba três fases, que são: secagem, pirólise e resfriamento (Koblitz, 2011). A torrefação do café começa com uma fase de secagem, e a água livre é facilmente evaporada, e em seguida, a temperatura do grão de café aumenta acima de 100°C. Durante as fases iniciais, aminoácidos livres e açúcares redutores são rapidamente consumidos na reação de Maillard (Hamzalioglu; Gökmen, 2020). Uma quantidade significativa de sacarose também é degradada nesta fase (Kocadağlı *et al.* 2012). Por outro lado, ocorre a oxidação lipídica, quebra de ácidos clorogênicos, degradação dos polissacarídeos e desnaturação das proteínas (Poisson *et al.*, 2017).

À medida que a temperatura se eleva, quando ultrapassa 160°C, as reações de caramelização começam a ganhar importância e a sacarose, encontrada na faixa de 4-8% nos grãos de café, é completamente esgotada. Há a liberação de compostos como vapor d'água, monóxido de carbono (CO) e dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) e, com o aumento da pressão interna, o grão se expande e as reações de pirólise começam com o primeiro *crack* (rachadura na semente). Com esta etapa, o perfil aromático do café começa a se desenvolver, e o grau de torra coincide com os níveis de torra leve-média (Fernandes, 2019; Muinhos, 2017; Hamzalioglu; Gökmen, 2020).

À medida que a torrefação continua, as reações se aceleram com o aumento da temperatura, o volume específico do café aumenta e a cor escurece

gradativamente. O segundo *crack*, processo de ruptura da matriz celular, ocorre geralmente em temperaturas próximas a 230°C, o que pode ser notado pela presença de um grão com mais brilho devido a eliminação dos óleos aromáticos, fornecendo o sabor desejado do café torrado escuro (Melo, 2004; Hamzalioglu; Gökmen, 2020).

Quando os grãos torrados atingem uma temperatura de aproximadamente 230°C (dependendo do grau de torra desejado), a torra é interrompida com o corte do fluxo do ar quente e o café é sequencialmente descarregado e resfriado com fluxo de ar a temperatura ambiente (Hamzalioglu; Gökmen, 2020).

Estudos iniciais sobre o café mostraram que a acrilamida é formada nos estágios iniciais da torrefação e, em seguida, acentuadamente declina até o ponto final da torrefação. Esse pico nas fases iniciais coincide com o momento em que a asparagina livre está prestes a ser esgotada, subindo acima de 1000 µg/kg. Após ser esgotada, a concentração de acrilamida é rapidamente reduzida à medida que o processo continua ou a temperatura aumenta (Kocadağlı *et al.* 2012; Hamzalioglu; Gökmen, 2020). De acordo com estudos realizados pela Agência de Controle de Alimentos e Medicamentos (FDA) dos EUA, os cafés torrados escuros contêm quantidades menores de acrilamida (ABT *et al.*, 2019).

Segundo a pesquisa de Schouten *et al.* (2021), evidenciam que os maiores níveis de AA foram alcançados nas amostras analisadas de café Arábica e Robusta no grau de torra leve-médio, com valor de  $730 \pm 30$  µg/kg e  $1130 \pm 10$  µg/g, respectivamente. Com o aumento da torra, o teor de AA diminuiu rapidamente em 85% e 88% para as amostras de café arábica e robusta no grau de torra escura, respectivamente, apresentando teores de AA abaixo no nível de referência de 400 µg/kg, relatado no Regulamento da Comissão (UE) 2017/2158.

Tais resultados, mostram que a tendência geral da formação de AA é dominante no período inicial da torra e diminui com a intensidade do processo térmico (Bertuzzi *et al.*, 2020, Esposito *et al.*, 2020; Schouten *et al.* 2021; Li; Zhao; Cao, 2023). No entanto, até agora, poucos trabalhos de investigação tentaram identificar um mecanismo potencial de evaporação ou degradação da AA durante a torra prolongada.

Pastoriza *et al.* (2012) sugeriram que a diminuição de AA durante a torra poderia ser devido à sua interação química com as melanoidinas do café. Os autores sugeriram que grupos amino nucleofílicos de aminoácidos da estrutura proteica das

melanoidinas do café estão envolvidos na diminuição dos níveis de AA livre durante a torrefação, devido a reações de adição do tipo Michael. Além disso, sabe-se que a adição de outros aminoácidos livres, como glicina, lisina e cisteína, podem reduzir as concentrações de AA em alimentos tratados termicamente (Brathen *et al.*, 2005, Rydberg *et al.*, 2003).

Recentemente, Badoud *et al.* (2020) investigaram o destino do AA durante a torra utilizando AA marcada  $^{14}\text{C}$ -AA e  $^{13}\text{C}_3$ -AA. Os resultados indicaram que, embora cerca de 25% da AA tenha sido perdido por volatilização, os 75% restantes foram detectadas nos produtos finais, mas apenas 50% estavam na forma solúvel livre. No entanto, ainda são necessárias mais pesquisas para determinar os mecanismos exatos da degradação de AA e esclarecer a contribuição da reação para o desenvolvimento de outros compostos tóxicos, que podem ter um impacto negativo na saúde humana.

Após as reações típicas da torrefação, o café é quebrado (etapa de granulação) em partes uniformes a fim de produzir maior superfície de contato entre a água quente e o grão torrado, permitindo a extração apropriada de seus sólidos solúveis (ABICS, 2022).

O processo para a produção do café solúvel se diferencia dos demais tipos a partir da etapa de extração, onde o pó torrado e granulado passa por uma extração sólido-líquido, utilizando água como solvente. Geralmente, as temperaturas de extração são elevadas (100-170°C) e, conseqüentemente, o rendimento de material solúvel é maior. Este processo acontece através de uma bateria de 5 a 10 percoladores cilíndricos de aço inoxidável, onde o café é compactado em leitos fixos e os extratos são obtidos por meio da passagem da água em contracorrente. Nessa etapa, o extrato de café fica rico em sólidos solúveis (cerca de 20%) e em compostos voláteis de sabor e aroma (Brugos; Streit, 2000; Cabral *et al.*, 2007; Andregheti, 2005).

Logo, o extrato de café é concentrado até alcançar 50% de sólidos solúveis, auxiliando no processo posterior de secagem. O método de secagem define o nível de qualidade e custo do produto, podendo ser por *spray drying* (SD) - secagem por pulverização ou *freeze drying* (FD) - liofilização (Andregheti, 2005). Enquanto o SD é estabelecido como o processo mais econômico para produção comercial, o FD fornece produtos com qualidade de aroma superior (Silva; Schmidt, 2022).

No método SD, o extrato concentrado de café é atomizado ao injetá-lo em uma câmara de ar quente na forma de micro gotículas. Em contato com o ar aquecido, a água presente nas gotículas evapora, resultando em um pó como produto final. A temperatura pode chegar em torno de 250 a 300°C e por esse motivo os sabores e odores do café diminuem. Ao fim do processo é obtido um pó solúvel. Essa técnica permite a produção em larga escala e fornece produtos com baixa densidade e boa fluidez. Após a obtenção do café solúvel em pó, em alguns casos, ocorre a etapa de aglomeração para a formação de pequenos grânulos (Brugos; Streit, 2000; Andregheti, 2005).

Já no método FD, o extrato concentrado é congelado na forma de cristais a uma temperatura abaixo de -20°C. Posteriormente, é conduzido a uma câmara de vácuo, em que acontece a desidratação, fazendo com que a água seja removida passando do estado sólido diretamente para o estado gasoso por sublimação. Neste processo não ocorre a aplicação de altas temperaturas, produzindo uma bebida de melhor qualidade pela preservação das características aromáticas (Andregheti, 2005; Gonzalez, 2010; Nóbrega, 2021).

### 3.3 PARÂMETROS TOXICOLÓGICOS

A abordagem da margem de exposição ou *margin of exposure* (MOE), usada pelo JECFA para a avaliação do risco de carcinógenos genotóxicos (FAO/WHO, 2005), pode ser considerada a análise científica mais confiável para gerar estimativas em relação à acrilamida (AA), visto que seu cálculo avalia os níveis de ingestão/exposição e utiliza os dados de estudos sobre a relação dose-resposta (Barlow *et al.*, 2006).

A relação dose-resposta descreve a proporção das respostas individuais em relação à intensidade da dose para um período específico de exposição. O Comitê Científico recomenda a utilização da BMDL<sub>10</sub>. A BMDL<sub>10</sub> é a dose da substância associada a uma baixa incidência de risco de um efeito adverso (normalmente de 1 a 10%), para um intervalo de confiança de 95%, determinada experimentalmente com animais (EFSA, 2005; 2015).

A MOE é definida como a razão do ponto de referência na curva dose-resposta para o efeito crítico, preferencialmente BMDL<sub>10</sub> - *Benchmark Dose Level*, pela exposição à substância, conforme a equação abaixo (SCICOM, 2019):

Equação:

$$MOE = \frac{BMDL_{10}}{Exposição}$$

Derivado do Painel CONTAM da EFSA, segundo o *National Toxicology Program* (NTP) de 2 anos em ratos, a caracterização do risco para efeitos não neoplásicos da AA utiliza o valor BMDL<sub>10</sub> de 0,43 mg/kg de p.c./dia para neurotoxicidade, ou seja, a incidência de degeneração axonal do nervo periférico (ciático) observado em ratos machos expostos a AA na água potável durante esse período (EFSA, 2015; NTP, 2012).

Já para os efeitos neoplásicos da AA, a abordagem MOE para compostos que são genotóxicos e cancerígenos é considerada apropriada utilizando como ponto de referência o BMDL<sub>10</sub> de 0,17 mg/kg de p.c./dia, ou seja, o BMDL<sub>10</sub> mais baixo a partir de dados sobre incidências de adenomas e adenocarcinomas da glândula harderiana em camundongos machos expostos ao AA por 2 anos (EFSA, 2015; NTP, 2012).

Geralmente para compostos não genotóxicos, a MOE acima de 125 é considerada suficiente para concluir que não existe nenhum problema de saúde devido à neurotoxicidade. Já o Comitê Científico da EFSA concluiu que, para substâncias que são simultaneamente genotóxicas e cancerígenas, uma MOE de 10000 ou superior, com base num BMDL<sub>10</sub> de um estudo em animais, seria pouco preocupante do ponto de vista da saúde pública e poderia ser considerado uma prioridade baixa para as ações de gestão dos riscos, enquanto uma MOE abaixo de 10.000 devem ser consideradas de alta preocupação (EFSA, 2005; EFSA, 2015).

### 3.4 MÉTODO DE QuEChERS

O método de QuEChERS (em português, Rápido, Fácil, Barato, Eficaz, Robusto e Seguro) foi introduzido pela primeira vez no Workshop Europeu de Resíduos de Pesticidas (EPRW) 2002 em Roma, publicado em 2003 por Anastassiades *et al.*, e posteriormente validado em 2005 por Lehotay *et al.* A abordagem original foi desenvolvida para recuperar resíduos de pesticidas de frutas

e vegetais, mas rapidamente ganhou popularidade no isolamento abrangente de analitos de diferentes matrizes, incluindo alimentos (Perestrelo *et al.*, 2019).

O QuEChERS é um procedimento de preparação de amostra que envolve uma etapa de extração por solvente e particionamento com auxílio de sais, seguido por uma limpeza do extrato usando extração dispersiva em fase sólida (d-SPE) (Majors, 2007; Perestrelo *et al.*, 2019).

Este método envolve uma etapa de extração usando solventes miscíveis em água (acetonitrila -  $\text{CH}_3\text{CN}$ ) e sais (sulfato de magnésio -  $\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  e cloreto de sódio -  $\text{NaCl}$ ) para criar a separação de fases, atuar como tampões para ajustar o pH, reduzir a solubilidade dos compostos na fase aquosa e a quantidade de água na fase orgânica. A adição de  $\text{NaCl}$  é responsável pelo efeito *salting-out*, que melhora as recuperações dos compostos mais polares (Anastassiades *et al.*, 2003; Arias *et al.*, 2018; Perestrelo *et al.*, 2019; Sigma Aldrich, 2023)

Em seguida, há uma etapa de limpeza com o uso de uma combinação de agentes sorventes para reduzir interferências durante a análise, na qual podem danificar a instrumentação analítica e dificultar a identificação e quantificação de analitos (Anastassiades *et al.*, 2003; Perestrelo *et al.*, 2019; Sigma Aldrich, 2023).

De maneira geral, três agentes sorventes são usados: sulfato de magnésio -  $\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , amina primária secundária - PSA e sílica-octadecil - C18. A função do  $\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  é basicamente remover a água residual, enquanto o PSA e C18 são utilizados para adsorver compostos mais lipofílicos, como ácidos graxos, vitaminas e pigmentos (Majors, 2007; Neto, 2019).

Portanto, o QuEChERS é uma técnica barata, flexível e confiável para o preparo de amostras. Seus principais parâmetros podem ser facilmente alterados e aperfeiçoados para melhorar a eficiência de extração e aumentar sua aplicação para diferentes analitos e matrizes, acarretando em reduções de custo com solventes e de resíduos gerados durante o processo de extração e análise (Rejczak; Tuzimski, 2015; Perestrelo *et al.*, 2019).

### 3.5 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ULTRA EFICIÊNCIA ACOPLADA À ESPECTROMETRIA DE MASSAS (UPLC-ESI-MS/MS)

A cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada à espectrometria de massas (UPLC-ESI-MS/MS) é uma técnica com a capacidade de separar, identificar

e quantificar os compostos que estão presentes numa mistura, com elevado grau de detectabilidade, seletividade, confiabilidade analítica e rapidez na análise. Os equipamentos são constituídos por um cromatógrafo a líquido capaz de suportar altas pressões, uma fonte de ionização e um analisador espectrômetro de massas (Kosjek *et al.*, 2007; Pereira, 2018).

Em cromatografia líquida, a separação das espécies ocorre em função do equilíbrio de partição entre a fase estacionária e a fase móvel dos analitos na coluna cromatográfica. Utiliza-se colunas analíticas com fases estacionárias constituídas de partículas com diâmetros entre 1,7 e 2  $\mu\text{m}$  e equipamentos capazes de suportar pressões elevadas, o que promove um aumento na resolução da separação cromatográfica, permitindo tempos das análises mais curtos (Maldaner; Jardim, 2009; Messina; Grumbach; Diehl, 2014).

Além disso, a espectrometria de massas (MS) é uma técnica analítica voltada para identificação e quantificação de compostos desconhecidos, bem como elucidação da estrutura de moléculas. Ela consiste na ionização das moléculas de interesse com posterior separação destes íons pela diferença entre sua massa/carga ( $m/z$ ), sendo constituídos, basicamente, de fonte de ionização, analisador de massas e detector. Devido à sensibilidade, o método é aplicado no controle de qualidade em alimentos e medicamentos, contaminação e monitoramento ambiental, etc. (Pereira, 2018; Zhang; Zhang; Zhang, 2005).

A fonte de ionização é um dispositivo que promove a ionização dos analitos da amostra antes da sua entrada no analisador de massas. Existe uma grande variedade de técnicas de ionização, cuja escolha deve levar em conta as propriedades físico-químicas do analito e a energia transferida durante o processo de ionização (Diniz, 2011).

Os métodos de ionização por elétrons (EI) e ionização química (CI) são apropriados para analisar somente substâncias voláteis e termicamente estáveis, visto que os íons são formados depois da molécula ser volatilizada. A técnica de bombardeamento por átomos rápidos (FAB, do inglês *Fast Atom Bombardment*) possibilita aplicação para compostos polares, iônicos, termicamente lábeis, energeticamente instáveis e de alto peso molecular, que geralmente não podem ser examinados pelos métodos EI e CI. O método de ionização por dessorção a laser assistida por matriz (MALDI) é baseado na ionização do analito adsorvido em uma substância (matriz) por um feixe de laser. Na técnica de ionização química à pressão

atmosférica (APCI) as moléculas do solvente são transferidas à fase gasosa, sendo então, empregado uma tensão em uma agulha, junto a saída do vaporizador, que gera uma descarga de íons por meio de interações com as moléculas do gás de arraste e do solvente. É um método similar com a CI, entretanto todo o processo acontece sob pressão atmosférica (Diniz, 2011).

Após serem gerados na fonte de ionização, os íons são transferidos para um analisador de massas, que é responsável pela seleção e/ou separação dos mesmos, onde sua razão  $m/z$  é medida. O limite superior de medida da razão  $m/z$ , a transmissão, que é a razão entre o número de íons que alcança o detector e o número de íons produzidos na fonte, e o poder de resolução, que é a habilidade de produzir sinais distintos para dois íons com uma pequena diferença de massa são as principais características de um analisador de massas (Hoffmann; Stroobant, 2007)

Entre os tipos existentes, o quadrupolar (Q) é o analisador de massas mais popular, devido à sua simplicidade, baixo custo e boa linearidade em análises quantitativas. Esse analisador utiliza campos elétricos oscilantes, gerados por quatro barras metálicas (eletrodos), para separar os íons, durante sua passagem pelo centro do quadrupolo, de acordo com suas razões  $m/z$ . O quadrupolar opera como um filtro. Isso permite que os íons de diferentes valores de  $m/z$  cheguem com tempos diferentes ao detector e, desta forma, podem ser diferenciados (Hoffmann; Stroobant, 2007; Lanças, 2013)

Juntamente com o quadrupolar, o analisador *ion trap* (aprisionadores de íons) também é um dos mais populares no momento devido ao seu baixo custo e pequeno tamanho. Esses analisadores atuam por princípio semelhante ao quadrupolo, entretanto os íons não formam uma trajetória através do ambiente quadrupolar, e sim são aprisionados dentro dele. Existe um campo elétrico no interior do *ion trap* que mantém os íons em uma órbita estável em seu interior. Um potencial RF (radio frequência) é aplicado e os íons são então desestabilizados e excretados para fora do analisador, de acordo com seus valores de  $m/z$  (Hoffmann; Stroobant, 2007; Lanças, 2013).

Já os analisadores tempo de voo (TOF) são fundamentados no princípio de que íons com mesma carga têm energias cinéticas idênticas e a velocidade de cada íon será inversamente proporcional à raiz quadrada da sua massa. Logo, se dois íons com mesma carga, mas com massas diferentes, forem acelerados através de um campo elétrico com potencial constante, suas velocidades serão dependentes de

suas massas e eles atingirão o detector com “tempos de vôo” diferentes (Diniz, 2011).

Embora existam outros analisadores de massas para MS, os 3 descritos até o momento, são os mais empregados atualmente no acoplamento LC-MS. Enquanto o quadrupolo e o *ion trap* são compactos, evidenciando preço relativamente baixo, grande simplicidade e facilidade operacional, interpõem como principal restrição a baixa resolução. O TOF, em contrapartida, perde para os dois analisadores nesses requisitos, porém apresenta resolução muito superior (Lanças, 2013).

Ademais, o detector tem a função de detectar e amplificar o sinal da corrente de íons que vem do analisador e transferir o sinal para o sistema de processamento de dados. O detector depende do tipo de analisador: o fotomultiplicador e o multiplicador de elétrons são utilizados com analisadores quadrupolo e *ion trap*, apresentando faixa dinâmica ampla (10<sup>5</sup>-10<sup>8</sup>), enquanto que o *microchannel plate* (MCP) é utilizado com analisadores TOF, correspondendo respostas extremamente rápidas, com alta sensibilidade (Diniz, 2011).

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 PRODUTOS QUÍMICOS

A solução padrão de Acrilamida-D3, o PSA (*Supelclean™ PSA SPE Bulk Packing*), a C18 (*Discovery® DSC-18 SPE Bulk Packing*), o n-hexano ( $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$ , CAS N° 110-54-3) e a acetonitrila ( $\text{CH}_3\text{CN}$ , grau HPLC,  $\geq 99,9\%$ ) foram obtidos da Sigma-Aldrich Brasil Ltda. Por sua vez, a Acrilamida (CAS N° 79-06-1,  $\geq 99\%$ ) foi adquirida da Merck KGaA, Alemanha. O sulfato de magnésio mono-hidratado P.A ( $\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ , 98%) e o cloreto de sódio cristal P.A ACS ( $\text{NaCl}$ , 99%) foram comprados da Êxodo Científica. Todos os demais reagentes utilizados foram de grau analítico.

### 4.2 SELEÇÃO E PREPARO DAS AMOSTRAS PARA ANÁLISE DE ACRILAMIDA

15 amostras de cafés instantâneos foram adquiridas em diversos supermercados do Rio Grande do Sul (Tabela 2), e selecionadas entre as marcas mais populares encontradas no Brasil, com suas diferentes torras e tratamento de secagem (SD e FD). Apenas um lote por marca foi analisado.

**Tabela 2.** Amostras de café solúvel brasileiro analisadas

Amostra	Marca	Torra / Secagem
1	A	Suave
2		Forte
3		Extraforte
4	B	Tradicional
5		Extraforte
6	C	Tradicional
7		Extraforte
8	D	Tradicional
9		Extraforte
10		<i>Gourmet</i> / Liofilizado
11	E	Orgânico / Liofilizado
12	F	Média Intensidade 6
13		Média Intensidade 8
14	G	<i>Classique</i> / Liofilizado
15		<i>Intense</i> / Liofilizado

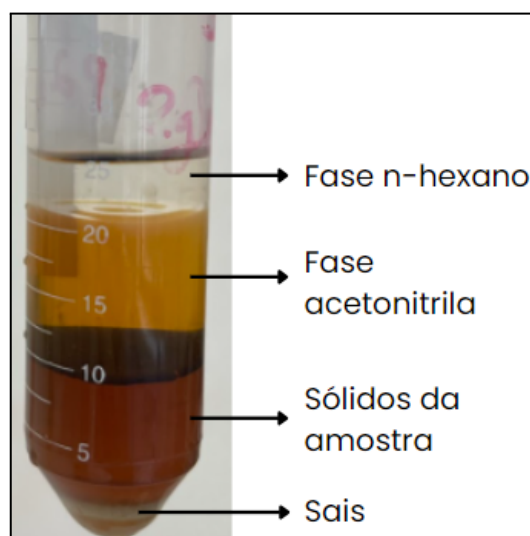
Fonte: Autora, 2023.

A preparação das amostras foi feita seguindo o método QuEChERS (*Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe*). O protocolo foi adaptado da metodologia descrita por Ting *et al.* (2014).

Para a primeira parte da extração, 1g de amostra de café solúvel foi pesada e diluída em 50 mL de água ultra pura. 10 mL dessa diluição foi adicionada em 18 tubos falcon de 50 mL, acrescidos de 450  $\mu$ L da solução 1  $\mu$ g/mL de Acrilamida-D3 como padrão interno (20  $\mu$ L de Acrilamida-D3 em 10 mL de água ultrapura) e da solução 100  $\mu$ g/mL de padrão de acrilamida (0,01 g de acrilamida em 100 mL de água ultrapura) em diferentes concentrações para construir a curva de calibração (50  $\mu$ g/kg, 100  $\mu$ g/kg, 250  $\mu$ g/kg, 500  $\mu$ g/kg e 750  $\mu$ g/kg). Em seguida, adicionou-se 5 mL de n-hexano, 10 mL de acetonitrila e 4,6 g de  $MgSO_4 \cdot H_2O$  e 0,5 g de NaCl à amostra que foi homogeneizada no vórtex por 1 min.

Depois dessa etapa, a amostra foi centrifugada em centrífuga refrigerada (modelo NT815, Novatecnica) a 7°C e 3500 rpm por 5 min. A fase n-hexano foi removida do tubo falcon e 1 mL do sobrenadante (fase acetonitrila) (Figura 5) foi transferido para um tubo eppendorf de 2 mL contendo 0,172 g  $MgSO_4 \cdot H_2O$ , 0,05 g de PSA e 0,05 g de C18. Após homogeneização desses microtubos no vórtex por 30 s, 500  $\mu$ L da solução foi filtrada em membrana para seringa (PVDF, 0,22  $\mu$ m, 13 mm), transferida para o vial e analisada por UPLC-ESI-MS/MS. Todas as amostras foram analisadas, no mínimo, em triplicata.

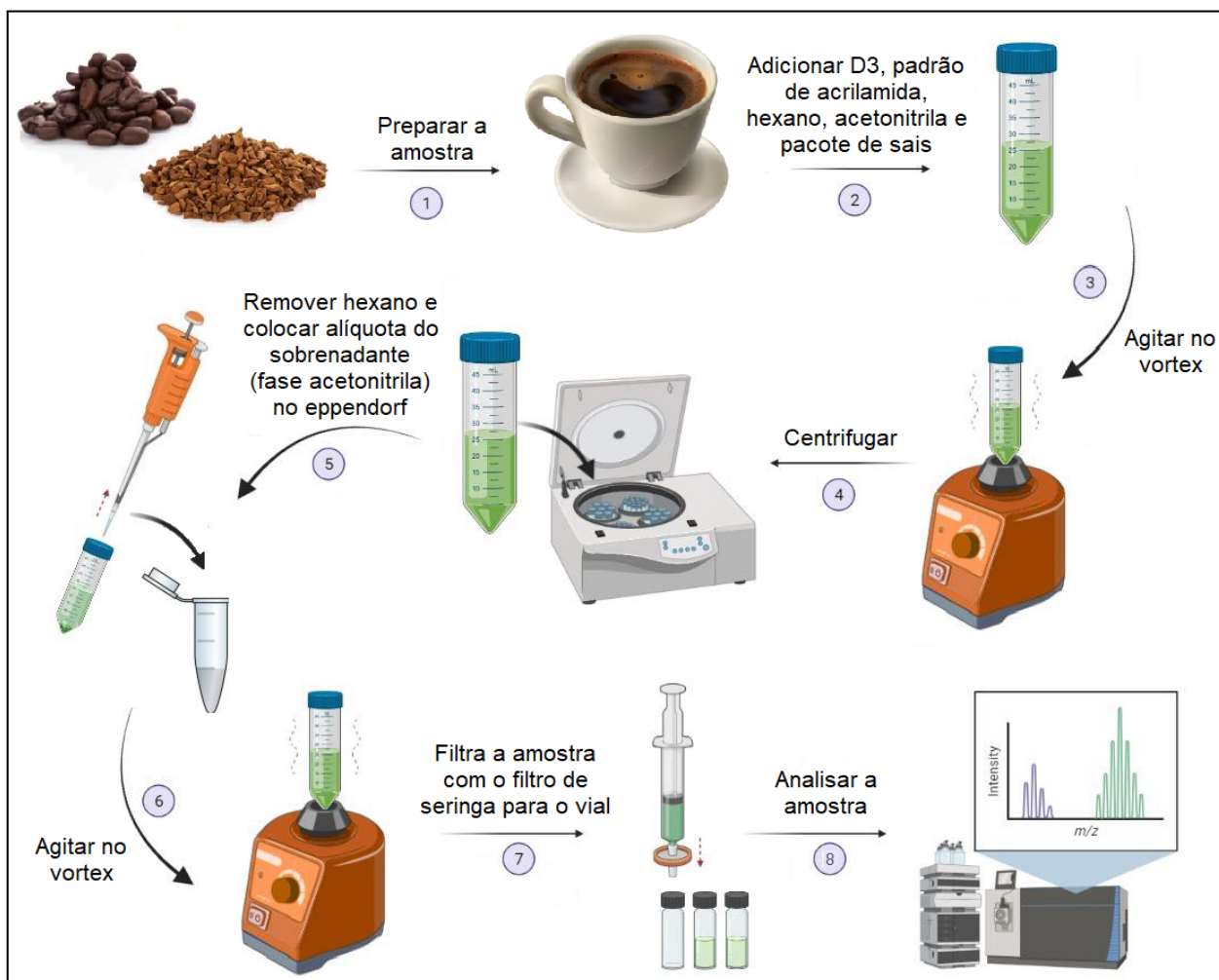
**Figura 5.** Imagem do processo de extração de acrilamida por QuEChERS após a centrifugação.



Fonte: Autora, 2023.

Em suma, o fluxograma na Figura 6 descreve as principais etapas envolvidas na técnica de extração, bem como dos reagentes utilizados no processo.

**Figura 6.** Fluxograma do processo de extração da acrilamida por QuEChERS



Fonte: Autora, 2023.

#### 4.3 QUANTIFICAÇÃO DO TEOR DE ACRILAMIDA POR UPLC-ESI-MS/MS

A quantificação do teor de acrilamida das amostras de café foi realizada por Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência acoplada à Espectrometria de Massas com Ionização por Electro spray (UPLC-ESI-MS/MS) e analisador do tipo quadrupolar. Para separação analítica da acrilamida foi utilizada a coluna cromatográfica Shim-pack GISS C18; 2,1 mm × 100 mm; 1,9 µm com temperatura do forno de 40°C. A fase móvel A foi composta por uma solução aquosa de ácido fórmico 0,1% e a fase móvel B por 1% de metanol com 0,1% de ácido fórmico. Foi usado o modo de eluição por gradiente, com 1% (0 para 2 mL/min), 80% (4 para 4,5 mL/min) e 1% (5

para 15 mL/min), com tempo de retenção de 15 min da fase B, vazão de 0,2 mL/min e volume de injeção de 5 µL.

Referente à espectrometria de massas, utilizou-se eletropulverização da amostra no modo de ionização positiva com voltagem capilar de 3,8 kV e fonte mantida a 200 °C. O nitrogênio foi usado como gás de dessolvatação com uma taxa de fluxo de 2,5 L/min a uma temperatura de 400°C. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

#### 4.4 ANÁLISE DAS AMOSTRAS

Os dados das amostras de café foram analisados utilizando um programa de Excel e expressos em µg/kg. Os resultados do teor de acrilamida foram descritos em valores médio, mínimo e máximo, seguido do desvio padrão. Todas as análises foram realizadas em triplicata, no mínimo.

#### 4.5 COMPILAÇÃO DE DADOS DE CONSUMO A PARTIR DA PESQUISA DE ORÇAMENTO FAMILIARES

Os dados de consumo de café pela população brasileira foram extraídos da Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) de 2017-2018 do IBGE (IBGE, 2020). O consumo em g/dia, por gênero, foram os valores usados para a análise, visto que é um dado essencial para o cálculo de margem de exposição diária à acrilamida.

Além disso, utilizou-se a relação de consumo dos dados da pesquisa de hábitos e preferências dos consumidores de café no Brasil realizada pelo Instituto Axxus para a ABIC em 2019-2023. Esses estudos evidenciam que em torno de 30% dos entrevistados consomem mais de 6 xícaras de café por dia (xícaras de 50 mL), cerca de 300 mL (ABIC, 2023).

#### 4.6 CÁLCULO DE EXPOSIÇÃO À ACRILAMIDA PELA DIETA E MARGEM DE EXPOSIÇÃO

A exposição à acrilamida com base na dieta foi calculada utilizando a equação abaixo:

$$Exposição = \frac{C_{ACR} \times C_A}{pc}$$

Onde:

$C_{ACR}$  = Concentração de acrilamida no alimento em  $\mu\text{g}/\text{kg}$

$C_A$  = Consumo do alimento em  $\text{kg}/\text{dia}$

p.c. = Peso corpóreo em  $\text{kg}$

Para o valor do peso corpóreo considerou-se uma média de pesos entre as idades de 20 a mais de 75 a partir de dados da POF 2008-2009. Neste estudo foi usado o peso médio de 72  $\text{kg}$  para homens e 62  $\text{kg}$  para mulheres (IBGE, 2010). O cálculo de Margem de Exposição (MOE) foi efetuado pela equação abaixo:

$$MOE = \frac{BMDL_{10}}{Exposição}$$

Os valores de referência de MOE para a comparação dos resultados abaixo de 10.000 e 125 podem indicar preocupação para carcinogenicidade e neurotoxicidade, respectivamente. Os valores que correspondem a dose de referência ( $BMDL_{10}$  - *Benchmark Dose Level*) são 430  $\mu\text{g}/\text{kg}$  e 170  $\mu\text{g}/\text{kg}$  para neurotoxicidade e carcinogenicidade, respectivamente.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 5.1 MODIFICAÇÕES NO MÉTODO DE ANÁLISE DE ACRILAMIDA

Muitos métodos analíticos têm sido desenvolvidos para identificação e quantificação da acrilamida (AA) (Arisseto, Toledo, 2007; Surma, 2017).

Neste estudo, tem-se a adaptação do método proposto por Ting *et al.* (2014) para a análise de batata *chips*. Na etapa de preparação, utilizou-se 10 mL da diluição de 1 g de café em 50 mL de água ultrapura. Além disso, o método de QuEChERS foi modificado pela inclusão de uma etapa de limpeza da amostra com C18 para eliminar interferentes de cor que suprimiam ou superestimavam o sinal do composto no equipamento.

### 5.2 ANÁLISE DE AMOSTRAS DE CAFÉ INSTANTÂNEO BRASILEIRO

Os resultados das 15 amostras adquiridas são apresentados na Tabela 3. As concentrações de acrilamida variaram entre  $34,0 \pm 10,4$  µg/kg a  $272,2 \pm 8,3$  µg/kg.

A amostra de café com torra “tradicional” da marca D apresentou o maior teor de AA, de  $272,2 \pm 8,3$  µg/kg. Já a amostra com menor teor de AA foi observada na torra média intensidade 8 da marca F, com  $34,0 \pm 10,4$  µg/kg. De acordo com o estudo de monitoramento feito pela Autoridade Europeia para a Segurança dos Alimentos de 2010, o maior resultado de concentração encontrado é inferior ao valor médio de AA no café instantâneo europeu que é de 520,0 µg/kg, além do mais, não ultrapassou o nível de referência para a presença de AA do Regulamento da União Europeia 2017/2158 de 850,0 µg/kg para esse tipo de alimento (EFSA, 2012). Em relação aos resultados restantes, confirmam-se os valores de outros países (FAO/WHO, 2005).

**Tabela 3.** Concentração de AA das amostras de café solúvel

Marca	Torra/Secagem	Concentração Média de AA ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ )
A	Suave	$177,8 \pm 13,4$
	Forte	$98,9 \pm 0,7$
	Extraforte	$52,1 \pm 17,6$
B	Tradicional	$199,9 \pm 19,3$
	Extraforte	$150,7 \pm 13,8$
C	Tradicional	$213,5 \pm 3,3$
	Extraforte	$112,1 \pm 7,6$
D	Tradicional	$272,2 \pm 8,3$
	Extraforte	$209,0 \pm 11,2$
	<i>Gourmet</i> / Liofilizado	$141,7 \pm 11,9$
E	Orgânico / Liofilizado	$134,8 \pm 6,4$
F	Média Intensidade 6	$68,4 \pm 10,7$
	Média Intensidade 8	$34,0 \pm 10,4$
G	<i>Classique</i>	$51,9 \pm 17,3$
	<i>Intense</i>	$164,2 \pm 12,9$

Fonte: Autora, 2023.

Resultados semelhantes foram obtidos pelo estudo de Surma *et al.* (2017), a partir de uma análise 10 amostras de café instantâneo, cujo teor de acrilamida das amostras variaram de  $96,4 \pm 1,7 \mu\text{g}/\text{kg}$  a  $346,5 \pm 10,9 \mu\text{g}/\text{kg}$ , com média igual a  $166,7 \pm 71,8 \mu\text{g}/\text{kg}$ . Da mesma forma, Şenyuva e Gökmen (2015) relataram uma variação de  $42,0 \mu\text{g}/\text{kg}$  a  $338,0 \mu\text{g}/\text{kg}$ , com base na análise de 3 amostras de café instantâneo. Um estudo realizado em Portugal por Soares, Cunha e Fernandes (2006), 5 amostras de café instantâneo continham em média  $72,4 \mu\text{g}/\text{kg}$  de AA. Já em outra pesquisa feita na Dinamarca por Granby e Fagt (2004), 5 amostras de café instantâneo continham em média  $8,0 \pm 2,0 \mu\text{g}/\text{kg}$  de AA.

Altos teores de AA em café instantâneo foram observados no estudo de Andrzejewski *et al.* (2004), que analisaram 12 marcas de cafés instantâneos do mercado dos Estados Unidos, para os quais o nível de AA variou de  $169,0 \mu\text{g}/\text{kg}$  a  $539,0 \mu\text{g}/\text{kg}$ . Soares (2006) evidenciou uma concentração média de  $318,0 \mu\text{g}/\text{kg}$  de 3 amostras de café solúvel clássico. No estudo feito por Loaëc *et al.* (2014), os teores de AA de 12 cafés instantâneos franceses variaram de  $200,0 \pm 31,0 \mu\text{g}/\text{kg}$  a  $645,0 \pm 36,0 \mu\text{g}/\text{kg}$ , com concentração média de  $472,0 \mu\text{g}/\text{kg}$ .

No Brasil, Ariseto e Toledo (2007) encontraram uma concentração média de AA igual a  $582 \mu\text{g}/\text{kg}$ , referente a análise de 3 amostras de café instantâneo.

Ademais, analisando as concentrações obtidas das amostras em questão, sabe-se que a causa da variação dos níveis de AA entre diferentes torras de café está atribuída pelas diferenças físico-químicas na matéria-prima usada (arábica, robusta ou *blends*), ligadas ao tempo e temperatura de aquecimento, parâmetros de torra, bem como o tempo de armazenamento do produto acabado (Lantz, 2006; Banchemo, Pellegrino, Manna, 2013; Esposito *et al.*, 2020)

Dessa maneira, é possível observar uma tendência de maiores teores de AA em cafés solúveis denominados tradicionais e menores teores de AA em cafés denominados extrafortes, visto que a AA é formada nos estágios iniciais da torrefação, torras claras e médias, e, em seguida, acentuadamente declina até o ponto final da torrefação, torras escuras (Kocadağlı *et al.* 2012; Hamzalıoğlu; Gökmen, 2020).

Contudo, torna-se difícil padronizar tais concentrações com o processo de torra, visto que muitas empresas não especificam no rótulo do produto o ponto de torra (clara, média ou escura) e a espécie de café ou *blend* (proporções da mistura das espécies) utilizada.

### 5.3 EXPOSIÇÃO DE AA A PARTIR DO CONSUMO DA BEBIDA

Com o objetivo de avaliar possíveis riscos à saúde em função do consumo da bebida, devido à exposição à AA, a ingestão de acrilamida foi calculada com base na relação entre o consumo de café e a concentração da AA detectada nas amostras analisadas.

Segundo a Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) de 2017-2018 do IBGE o café é o alimento com maior média de consumo diário *per capita*. O consumo médio diário total de café, tanto torrado e moído, quanto de solúvel, foi de 163,2 g/dia, sendo 172,7 g/dia para homens e 154,5 g/dia para mulheres (IBGE, 2020).

Visto que a POF de 2017-2018 não faz distinção do tipo de café consumido, e que o café solúvel pode ser definido como o produto pronto para o consumo, bastando, para isso, dissolvê-lo em água ou leite quente, utilizou-se também, a relação de consumo de 6 xícaras de café por dia (cerca de 300 mL), dos dados da pesquisa de hábitos e preferências dos consumidores de café no Brasil, entre 2019-2023, realizada pelo Instituto Axxus para a ABIC (ABIC, 2023).

Conforme o Manual de Café Solúvel para Baristas - Técnicas de Processos da ABICS, recomenda-se o uso de 1 colher de chá do produto para 50 mL de água fervente. Entretanto, esta medida pode variar em peso, devido a densidade do pó solúvel – que pode ser de 1 a 2 g por colher de chá (ABICS, 2022).

Sendo assim, considerando a quantidade de pó de café usada, a média de peso corpóreo de 72 kg para homens e 62 kg para mulheres, o consumo diário de café *per capita* da POF 2017-2018, o consumo de mais de 6 xícaras de café por dia (em torno de 300 mL/xícara) da pesquisa de hábitos e preferências pela ABIC, e que a concentração mínima, média e máxima de acrilamida no café solúvel foi de 34,0 µg/kg, 138,8 µg/kg e 272,2 µg/kg, respectivamente, os valores de exposição à AA pelo consumo de café pela população brasileira encontrados neste estudo estão dispostos na Tabela 4.

**Tabela 4.** Exposição à AA em µg/kg p.c./dia pelo consumo de café pela população brasileira

	Exposição em µg/kg p.c./dia		
	Concentração de AA		
<b>Consumo diário <i>per capita</i> - POF 2017-2018</b>	Média	Mínima	Máxima
Homem	0,013	0,003	0,026
Mulher	0,014	0,003	0,027
<b>Consumo pesquisa ABIC 2019-2023</b>			
6 xícaras/dia <sup>1</sup>	Média	Mínima	Máxima
Homem	0,023	0,006	0,045
Mulher	0,027	0,007	0,053

<sup>1</sup> 1 g para 50 mL

Fonte: Autora, 2023

Segundo a Tabela 4, em relação ao cálculo feito pelo consumo diário *per capita* da POF 2017-2018 do IBGE, os resultados apresentaram uma exposição média de AA de 0,013 µg/kg de p.c./dia para homens e 0,014 µg/kg de p.c./dia para mulheres. A partir da concentração máxima de AA encontrada, a exposição encontrada foi de 0,026 µg/kg de p.c./dia para homens e 0,027 µg/kg de p.c./dia para mulheres.

No que se refere às exposições feitas por meio do consumo da pesquisa de hábitos e preferências pela ABIC 2019-2023, o resultado médio encontrado foi de 0,023 µg/kg de p.c./dia para homens e 0,027 µg/kg de p.c./dia para mulheres. Em

relação à exposição máxima de AA, os resultados variaram entre 0,045 µg/kg de p.c./dia e 0,053 µg/kg de p.c./dia para homens e mulheres, respectivamente.

Os resultados encontrados neste estudo foram inferiores aos resultados de exposição média de adultos dinamarqueses encontrados por Granby e Fagt (2004). Nesta pesquisa, homens e mulheres têm consumos elevados de, em média, 1,1 e 0,9 litros de café por dia, respectivamente. Isso equivale a exposições médias de 10,0 µg/dia para homens e 9,0 µg/dia para mulheres pelo consumo de café moído e instantâneo, contribuindo com 20% da exposição total a AA pela dieta.

Uma maior exposição à AA também foi relatada por Svensson *et al.* (2003). A população sueca apresentou uma exposição média de AA pelo consumo de café moído com torra média e pronto para consumo de 12,0 µg/kg de p.c./dia, contribuindo com aproximadamente 40% da exposição média total de AA.

Por outro lado, no estudo de Sirot *et al.* (2012), também foram encontrados valores baixos de exposição alimentar à AA de adultos franceses pelo consumo de café coado e instantâneo, apresentando uma média de exposição de 0,119 e 0,456 µg/kg de p.c./dia.

No Brasil, a média de exposição a partir do café apresentada por Ariseto e Toledo (2008) também é baixa, corroborando com dados encontrados neste estudo. A exposição pelo consumo de café moído foi de 0,0196 e 0,0228 µg/kg de p.c./dia, para teores médios e máximos de AA, respectivamente. Já pelo consumo de café solúvel, a exposição foi de 0,0034 e 0,0040 µg/kg de p.c./dia, para níveis médios e máximos de AA, respectivamente, contribuindo com 14% da ingestão de AA em relação à ingestão total de AA pela dieta.

No entanto, os valores encontrados neste estudo levam em consideração apenas a ingestão de AA pelo consumo de café solúvel, podendo concluir que exposições maiores podem ser encontradas ao se fazer uma relação com todos os alimentos da dieta brasileira. Por meio de dados da POF 2017-2018, observa-se que inúmeros alimentos predispostos à formação de AA estão presentes na mesa dos brasileiros, como a batata, cereais, pães, bolos e biscoitos.

Ademais, a proporção de café a partir de uma colher de chá utilizada para 50 mL pode variar para cada consumidor, aumentando tais resultados de exposição, visto que para essa análise a quantificação de AA foi a partir de 1 g.

## 5.4 AVALIAÇÃO DE RISCO

Os valores de margens de exposição (MOEs) foram calculados para os valores de exposição de AA em  $\mu\text{g}/\text{kg pc}/\text{dia}$  (Tabela 4), podendo ser observados na Tabela 5.

**Tabela 5.** Margem de exposição (MOE)

	MOE					
	Neurotoxicidade			Carcinogenicidade		
	Concentração de AA			Concentração de AA		
	Média	Mínima	Máxima	Média	Mínima	Máxima
<b>Consumo diário <i>per capita</i> - POF 2017-2018</b>						
Homem	32.300	131.972	16.466	12.770	52.175	6.510
Mulher	31.091	127.029	15.849	12.292	50.221	6.266
<b>Consumo pesquisa ABIC 2019-2023</b>						
6 xícaras/dia <sup>1</sup>	Média	Mínima	Máxima	Média	Mínima	Máxima
Homem	18.594	75.972	9.479	7.351	30.035	3.747
Mulher	16.012	65.420	8.162	6.330	25.864	3.227

<sup>1</sup> 1 g para 50 mL

Fonte: Autora, 2023

Para discutir os riscos que os valores de ingestão de acrilamida estimados neste trabalho representam à saúde dos brasileiros, os valores de MOEs calculados foram comparadas as MOEs calculadas pelo Painel CONTAM e pela EFSA, que são MOE abaixo de 125 representa preocupação quanto a neurotoxicidade e MOE abaixo de 10.000 representa preocupação quanto a carcinogenicidade.

A média, mínima e máxima concentrações de AA das amostras de café solúvel apresentaram MOEs acima de 125. Dessa forma, pode-se assumir que não existe problema de saúde relacionado à neurotoxicidade.

Já para os efeitos carcinogênicos, as MOEs calculadas estão abaixo do limiar de 10.000 para substâncias que são genotóxicas e carcinogênicas, podendo indicar há um problema de preocupação de saúde pública quanto aos efeitos neoplásicos, nas médias e máximas concentrações de AA.

Em comparação com os resultados de MOE descritos no estudo de Barón Cortés, Vasquez e Suárez-Mahecha (2021), usando  $\text{BMDL}_{10}$  de  $430,0 \mu\text{g}/\text{kg p.c.}/\text{dia}$  para efeitos não cancerígenos e  $\text{BMDL}_{10}$  de  $170,0 \mu\text{g}/\text{kg p.c.}/\text{dia}$  para efeitos cancerígenos, mostram que, na média de ingestão de acrilamida diária na dieta da

população da Colômbia em geral, a MOE para neurotoxicidade foi de 822, indicando não causar preocupação. Já a MOE para carcinogenicidade foi de 325, demonstrando um valor muito inferior a 10.000, ocasionando preocupação quanto à saúde pública da população.

Ademais, os valores de MOE encontrados no estudo de Sirot *et al.* (2012) para avaliar o risco de AA em adultos, utilizando o BMDL<sub>10</sub> de 180,0 e 310,0 µg/kg p.c./dia, variou de 418 a 721, respectivamente, também inferiores ao valor de 10.000 considerado apropriado para descartar um risco associado a um composto genotóxico.

Já no estudo de Lee e Kim (2020), a MOE calculada para os valores médios de exposição alimentar à AA da população coreana de diversas faixas etárias foram de 2.347 e 4.042 para os valores de BMDL<sub>10</sub> de 180,0 e 310,0 µg/kg p.c./dia, respectivamente. Os valores MOE deste estudo são superiores aos sugeridos pelo Painel CONTAM, porém também permanecem inferiores a MOE crítica de 10.000, podendo ser destacada uma possível preocupação de saúde com os efeitos relacionados.

Em suma, a exposição alimentar à AA pelo consumo de café solúvel foi identificada como uma preocupação em relação aos efeitos neoplásicos, em conformidade com estudos anteriores (MAF, 2012; EFSA, 2015). Todavia, esses valores estimam apenas a ingestão de AA pelo consumo de café solúvel a partir de algumas marcas disponíveis no mercado do Brasil. Dessa maneira, MOEs ainda menores podem ser encontrados ao se fazer uma relação com todos os grupos de alimentos ingeridos pela população brasileira.

## 6 CONCLUSÃO

O café torrado e moído e o instantâneo ocupam posição de destaque entre as bebidas mais populares devido ao seu alto consumo e importância econômica. Todavia, a sua ingestão pode contribuir para a exposição da população à acrilamida (AA).

Os teores de acrilamida encontrados nas 15 amostras de café instantâneo de marcas brasileiras analisadas variaram entre  $34,0 \pm 10,4$   $\mu\text{g}/\text{kg}$  a  $272,2 \pm 8,3$   $\mu\text{g}/\text{kg}$ , com média igual a  $138,8 \pm 11,0$   $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Os resultados de exposição média variaram de  $0,013$   $\mu\text{g}/\text{kg}$  p.c./dia e  $0,014$   $\mu\text{g}/\text{kg}$  p.c./dia para homens e mulheres, respectivamente, através da POF e de  $0,023$   $\mu\text{g}/\text{kg}$  p.c./dia e  $0,027$   $\mu\text{g}/\text{kg}$  p.c./dia para homens e mulheres, respectivamente, através da pesquisa de hábitos e preferências pela ABIC 2019-2023.

Nesse estudo, a ingestão de café solúvel em grande frequência e com altas concentrações de AA apontam uma margem de exposição (MOE) que causam preocupações para a saúde humana em relação aos efeitos de carcinogenicidade.

É desejável que pesquisas sobre o consumo de alimentos sejam conduzidas e que um maior número de amostras e grupos de alimentos sejam analisados quanto à presença de AA, de forma a possibilitar uma avaliação mais realística da exposição a este contaminante pelos brasileiros.

Por fim, como perspectivas futuras, sugere-se a quantificação do teor de acrilamida em outros grãos que são submetidos ao processamento de torra, semelhante ao café, como cacau, amendoim e amêndoas, ainda escasso de estudos. Ademais, propõe-se a criação de um documento de boas práticas para mitigar a formação de AA no processamento de alimentos no Brasil.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABIC - Associação Brasileira de Indústria de Café. Hábitos e preferências dos consumidores de café no Brasil, em 2021, comparados com 2019. Instituto Axxus. Disponível em: <[https://estatisticas.abic.com.br/wp-content/uploads/2021/10/2021\\_09\\_25\\_Pesquisa\\_Cafe%CC%81\\_Ha%CC%81bitos\\_Preferencias\\_do\\_Consumidor.pdf](https://estatisticas.abic.com.br/wp-content/uploads/2021/10/2021_09_25_Pesquisa_Cafe%CC%81_Ha%CC%81bitos_Preferencias_do_Consumidor.pdf)> Acesso em: 08/09/2023.

ABIC - Associação Brasileira de Indústria de Café. Indicadores da Indústria de Café 2022. Disponível em: <<https://estatisticas.abic.com.br/estatisticas/indicadores-da-industria/indicadores-da-industria-de-cafe-2022/>> Acesso em: 08/09/2023.

ABIC - Associação Brasileira de Indústria de Café Solúvel. Relatório do Café Solúvel do Brasil, ano civil de 2022. Publicado em janeiro de 2023.

ABIC - Associação Brasileira de Indústria de Café. Evolução dos hábitos e preferência dos consumidores de café no Brasil, entre 2019 e 2023. Instituto Axxus. Outubro, 2023. Disponível em: <[https://estatisticas.abic.com.br/wp-content/uploads/2023/11/2023\\_10\\_15\\_Pesquisa\\_Caf%C3%A9\\_H%C3%A1bitos\\_Preferencias\\_do\\_Consumidor2023.pdf](https://estatisticas.abic.com.br/wp-content/uploads/2023/11/2023_10_15_Pesquisa_Caf%C3%A9_H%C3%A1bitos_Preferencias_do_Consumidor2023.pdf)> Acesso em: 27/09/2023.

ABICS - Associação Brasileira de Indústria de Café Solúvel. MANUAL DE CAFÉ SOLÚVEL PARA BARISTAS. TÉCNICAS DE PROCESSOS. 2022. Disponível em: <<https://www.abics.com.br/wp-content/uploads/2022/10/manual-do-barista-cafe-soluv-el.pdf>> Acesso em: 02/06/2023.

ABICS - Associação Brasileira de Indústria de Café Solúvel. ABICS explica como seu White Paper e protocolo de análise sensorial podem expandir o consumo de café instantâneo, por Global Coffee Report. Publicação: 24 de março de 2023. Disponível em: <<https://www.abics.com.br/abics-explica-como-seu-white-paper-e-protocolo-de-analise-e-sensorial-podem-expandir-o-consumo-de-cafe-instantaneo/>> Acesso em: 02/06/2023.

ABRE - Associação Brasileira de Embalagem. Brasileiro aumenta consumo e dá preferência aos cafés práticos. Postado em: 08/05/2023. Disponível em <<https://www.abre.org.br/inovacao/brasileiro-aumenta-consumo-e-da-preferencia-aos-cafes-praticos/>> Acesso em: 08/09/2023.

ABT, E.; Robin, L.P.; McGrath, S.; Srinivasan, J.; DiNovi, M.; Adachi, Y.; Chirtel, S. Acrylamide levels and dietary exposure from foods in the United States, an update based on 2011–2015 data. Food Addit Contam Part A-Chem Anal Control Expo Risk Assess, 2019.

Anastassiades, M.; Lehotay, SJ; Stajnbaher, D.; Schenck, FJ. Método multirresíduo rápido e fácil empregando extração/particionamento com acetonitrila e “extração dispersiva em fase sólida” para a determinação de resíduos de pesticidas em produtos agrícolas. J. AOAC Int., 2003

Andregheti, Alessandra Maria Sautieff. Embalagens para produto de elevada higroscopicidade: café solúvel. Centro Universitário do Instituto Mauá de Tecnologia. São Caetano do Sul, 2005.

Andrzejewski, Denis; Roach, John A. G.; Gay, Martha L.; Musser, Steven M. Analysis of Coffee for the Presence of Acrylamide by LC-MS/MS. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2004.

Alves, Rita C.; Rodrigues, Francisca; Nunes, Maria Antónia; Vinha, Ana F.; Oliveira, M. Beatriz P.P. State of the art in coffee processing by-products. University Fernando Pessoa, Porto, Portugal. Elsevier Inc, 2017.

Arias, J. L. et al., Chitosan from shrimp shells: A renewable sorbent applied to the clean-up step of the QuEChERS method in order to determine multi-residues of veterinary drugs in different types of milk. *Food Chemistry*, v. 240, p. 1243-1253, 2018.

Arisseto, Adriana Pavesi; Toledo, Maria Cecília de Figueiredo. Acrilamida em alimentos: ocorrência, métodos analíticos e estimativas de ingestão. Universidade Estadual de Campinas. Campinas – SP, 2007

Arisseto, Adriana Pavesi; Toledo, Maria Cecília de Figueiredo. Estimativa preliminar da ingestão de acrilamida no Brasil. *Revista Brasileira de Toxicologia* 21, 2008.

Badoud, F.; Goeckener, B.; Severin, K.; Ernest, M.; Romero, R.; Alzieu, T.; Glabasnja, A.; Glabasnja, Hamel, J.; Buecking, M.; Delatour, T. Fate of acrylamide during coffee roasting and in vitro digestion assessed with carbon 14-and carbon 13-labeled materials. *Food Chem.*, 320, 2020.

Banchero, Mauro; Pellegrino, Gloria; Manna, Luigi. Supercritical fluid extraction as a potential mitigation strategy for the reduction of acrylamide level in coffee, *Journal of Food Engineering*, Volume 115, Issue 3, 2013.

Barlow, S.; Renwick, A.G.; Kleiner, J.; Bridges, J.W.; Busk, L.; Dybing, E.; Edler, L.; Eisenbrand, G.; Fink-Gremmels, J.; Knaap, A.; Kroes, R.; Liem, D.; Müller, D.J.G.; Page, S.; Rolland, V.; Schlatter, J.; Tritscher, A.; Tueting, W.; Würtzen, G. Risk assessment of substances that are both genotoxic and carcinogenic: Report of an International Conference organized by EFSA and WHO with support of ILSI Europe, *Food and Chemical Toxicology*, Volume 44, Issue 10, 2006.

Barón Cortés, Wilson; Vasquez, Sandra; Suárez-Mahecha, Héctor. Consumption study and margin of exposure of acrylamide in food consumed by the Bogota population in Colombia. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2021.

Bertuzzi et al., T. Bertuzzi, E. Martinelli, A. Mulazzi, S. Rastelli Acrylamide determination during an industrial roasting process of coffee and the influence of asparagine and low molecular weight sugars *Food Chemistry*, 303, 2020.

Boon P.E.; de Mul A.; van der Voet H.; van Donkersgoed G.; Brette M.; van Klaveren J.D. Calculation of dietary exposure to acrylamide. *Mutation Research*, 2005.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Informe Técnico nº 28, de 2 de julho de 2007. Orientações sobre Acrilamida. Disponível em: <[https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/alimentos/informes/copy\\_of\\_28de2007](https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/alimentos/informes/copy_of_28de2007)> Acesso em: 16/04/2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. PORTARIA Nº 130, DE 19 DE FEVEREIRO 1999. Disponível em: <[https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/svs1/1999/prt0130\\_19\\_02\\_1999.html](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/svs1/1999/prt0130_19_02_1999.html)> Acesso em: 06/06/2023.

BRASIL. Ministério da Saúde. RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA - RDC Nº 716, DE 1º JULHO DE 2022. Disponível em: <[https://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/6503628/%281%29RDC\\_716\\_2022\\_COMP.pdf/29dd2f19-7c70-497b-9b6d-686f31ea6e97](https://antigo.anvisa.gov.br/documents/10181/6503628/%281%29RDC_716_2022_COMP.pdf/29dd2f19-7c70-497b-9b6d-686f31ea6e97)> Acesso em: 06/06/2023.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA). Brasil é o maior produtor mundial e o segundo maior consumidor de café. Publicado em 14/04/2023. Disponível em: <<https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/brasil-e-o-maior-produtor-mundial-e-o-segundo-maior-consumidor-de-cafe>> Acesso em: 12/05/2023.

Brathen, E.B.; Kita, A.; Knutsen, S.H.; Wicklund, T. Addition of glycine reduces the content of acrylamide in cereal and potato products *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 2005.

Brugos, Ana Fabrícia; Streit, Fernanda. Produtos alimentícios vegetais - Café Solúvel. UFRGS, setembro de 2000.

Cabral *et al.*, L. Concentração de componentes do aroma do café por evaporação. Rio de Janeiro: Embrapa Agroindústria de Alimentos, 2007.

Cafeicultura. A evolução do cafézinho solúvel, descafeinado, liofilizado e espresso, 2006. Disponível em: <[https://revistacafeicultura.com.br/index.php?tipo=led\\_&mat=5926](https://revistacafeicultura.com.br/index.php?tipo=led_&mat=5926)> Acesso em: 15/05/2023.

Café que marca. Dados de consumo de café em 2022 divulgados pela ABIC (Associação Brasileira da Indústria de Café). Postado em: 15/03/2023. Disponível em: <<https://www.cafequemarca.com.br/dados-de-consumo-de-cafe-em-2022/>> Acesso em: 08/09/2023.

Cândido, Matheus Augusto. Formação de acrilamida em alimentos processados e sua possível ação carcinogênica. Universidade de São Paulo. Escola de Engenharia de Lorena. Lorena, 2015.

Capuano, E.; Fogliano, V. Acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural (HMF): A review on metabolism, toxicity, occurrence in food and mitigation strategies. *LWT- Food Science and Technology*, 2011.

CAST (Council for Agricultural Science and Technology). "Acrylamide in food." Issue paper 32, Ames, Iowa, 2006.

Cengiz, M.F.; Gündüz, C.P.B. Acrylamide exposure among Turkish toddlers from selected cereal-based baby food samples. *Food Chem. Toxicol.* 2013.

Claeys W, Baert K, Mestdagh F, Vercammen J, Daenens P, De Meulenaer B, Maghuin-Rogister G and Huyghebaert A, 2010. Assessment of the acrylamide intake of the Belgian population and the effect of mitigation strategies. *Food Additives and Contaminants Part A-Chemistry Analysis Control Exposure and Risk Assessment*, 27, 1199–1207.

Dados Mundiais. Crescimento da população no Brasil. Disponível em: <<https://www.dadosmundiais.com/america/brasil/crescimento-populacao.php>> Acesso em: 08/09/2023.

Damodaran, Srinivasan; Parkin, Kirk L. *Química de alimentos de Fennema*. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2019.

Deshpande, Sharvari; Singh, Shubhi; Panneerselvam, A.; Rajeswari, V. Devi. *Nutrients in Caffeinated Beverages — An Overview. Caffeinated and Cocoa Based Beverages*. Woodhead Publishing, 2019.

Dias, R. C. E. Discriminação de espécies de café (*Coffea arábica* e *Coffea canéfora*) em diferentes graus de torra. 2005. 106f. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos). Universidade Federal de Londrina, Londrina, 2005.

Diniz, Maria Elisa Romanelli. *Uso da técnica de espectrometria de massas com ionização por eletrospray (ESI-MS) para o estudo do mecanismo de reações orgânicas e avaliação do perfil de fragmentação de bis-hidroxiiminas aromáticas*. Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte, 2011.

Dybing, E.; Farmer, P.B.; Andersen, M.; Fennell, T.R.; Lalljie, S.P.D.; Müller, D.J.G.; Olin, S.; Petersen, B.J.; Schlatter, J.; Scholz, G.; Scimeca, J.A.; Slimani, N.; Törnqvist, M.; Tuijtelaars, S.; Verger, P. Human exposure and internal dose assessments of acrylamide in food, *Food and Chemical Toxicology*, Volume 43, Issue 3, Pages 365-410, 2005.

Dybing, E; Sanner, T. Risk Assessment of Acrylamide in Foods, *Toxicological Sciences*, Volume 75, Issue 1, Pages 7–15, September 2003.

EFSA (European Food Safety Authority). Opinion of the Scientific Committee on a request from EFSA related to A Harmonised Approach for Risk Assessment of Substances Which are both Genotoxic and Carcinogenic. *The EFSA Journal*, 282, 1-31, 2005.

EFSA (European Food Safety Authority). Results on acrylamide levels in food from monitoring years 2007–2009. *EFSA Journal* 2011.

EFSA (European Food Safety Authority). Update on acrylamide levels in food from monitoring years 2007 to 2010. *EFSA Journal* 2012.

EFSA (European Food Safety Authority). Scientific Opinion on acrylamide in food. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). Parma, Italy, *EFSA Journal* 2015. Disponível em:

<<https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2015.4104?src=getfr>>

Acesso em: 10/09/2023

El Diario. De qué está hecho realmente el café instantáneo, por Alba Hernández, 2020. Disponível em:

<<https://eldiarioy.com/2020/10/05/de-que-esta-hecho-verdaderamente-el-cafe-instantaneo/>> Acesso em: 15/05/2023.

Esposito, F.; Fasano, E.; De Vivo, A.; Velotto, S.; Sarghini, F.; Cirillo, T. Processing effects on acrylamide content in roasted coffee production. Food Chemistry, 319, 2020.

Esteves, B. N. Influência do processo de secagem por pulverização mecânica (Spray Dryer) no tamanho de partícula e densidade aparente do café solúvel. Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2006.

FAO/WHO. Health implications of acrylamide in food: report of a joint FAO/WHO consultation, WHO Headquarters, Geneva, Switzerland, 25-27 June 2002.

FAO/WHO. 64th Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) meeting - Food contaminants. Summary and conclusions, Rome, February 2005.

FAO/WHO. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives & World Health Organization. Evaluation of certain food contaminants: sixty-fourth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. World Health Organization, Geneva, 2006.

FAO/WHO. Evaluation of certain contaminants in food: seventy-second report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. World Health Organization, 2011.

FAO. Markets and Trade - Commodities: Coffee. Disponível em: <<https://www.fao.org/markets-and-trade/commodities/coffee/en/>> Acesso em: 01/06/2023.

FDA (Food and Drug Administration). Acrylamide in Food; Request for Comments and for Scientific Data and Information. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES. Federal Register, Vol. 74, No. 164, Wednesday, August 26, 2009.

FDA (Food and Drug Administration). Process Contaminants in Food Acrylamide. 2022. Disponível em: <<https://www.fda.gov/food/process-contaminants-food/acrylamide>> Acesso em: 14/04/2023.

Fernandes, F. Chapter 8 - roasting. A. Farah (Ed.), Coffee: Production, Quality and Chemistry, The Royal Society of Chemistry, 2019.

Filho, Waldemar Gastoni Venturini. Bebidas não alcoólicas: Ciência e tecnologia. 1ª edição. Editora Edgard Blücher Ltda., 2010.

Grão Gourmet. Qual a diferença entre o café arábica e o conilon? 2019. Disponível em:

<<https://www.graogourmet.com/blog/qual-a-diferenca-entre-o-cafe-arabica-e-o-conilon/>> Acesso em: 15/06/2023.

Granby, K; Fagt, S. Analysis of acrylamide in coffee and dietary exposure to acrylamide from coffee. *Analytica Chimica Acta*, 2004.

Gonzalez, R. K. Influência do processo de internacionalização na capacidade tecnológica: o caso da CIA. Iguazu de café solúvel. Departamento de Pós-graduação em Administração da Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

Hamzalioglu, A.; Gökmen, V. 5-Hydroxymethylfurfural accumulation plays a critical role on acrylamide formation in coffee during roasting as confirmed by multiresponse kinetic modelling. *Food Chem*, Article 126467, 2020.

Hirvonen T, Jestoi M, Tapanainen H, Valsta L, Virtanen SM, Sinkko H, Kronberg-Kippila C, Kontto J, Virtamo J, Simell O and Peltonen K, 2011. Dietary acrylamide exposure among Finnish adults and children: the potential effect of reduction measures. *Food Additives and Contaminants Part A: Chemistry Analysis Control Exposure and Risk Assessment*, 28, 1483–1491.

History of Coffee. Origin and History of Instant Coffee. Disponível em: <<http://www.historyofcoffee.net/>> Acesso em: 15/05/2023.

Hoffman, E; Stroobant, V. *Mass Spectrometry: Principles and Applications*. Chichester: John Wiley & Sons Chichester, UK. Third Edition. 2007.

IARC (International Agency for Research on Cancer). *Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans - Some Industrial Chemicals*. World Health Organization, v. 60. França, 1994.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). *Antropometria e Estado Nutricional de Crianças, Adolescentes e Adultos no Brasil 2008 - 2009 (POF)*. Rio de Janeiro, 2010.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). *Pesquisa de Orçamentos Familiares. Análise do Consumo Alimentar Pessoal no Brasil 2017 - 2018 (POF)*. Rio de Janeiro, 2020.

ICO (International Coffee Organization). *About Coffee - Torrefação/Preparação*. Disponível em: <[https://www.ico.org/pt/making\\_coffee\\_p.asp](https://www.ico.org/pt/making_coffee_p.asp)> Acesso em: 02/06/2023.

Ignacio, Alison Henrique da Silva. *Identificação e Quantificação de Acrilamida em Grãos de Café Torrado e Moído por Análise Cromatográfica*. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos. Londrina, 2022.

Jeong, H.; Hwang, S.; Kwon, H. Survey for acrylamide in processed foods from Korean market and individual exposure estimation using a non-parametric probabilistic model. *Food Addit. Contam. Part. A*, 2020.

Kazantsev, O. A.; Shirshin, K. V. Spontaneous polymerization of (meth) acrylamides in concentrated aqueous solutions. *Polymer*, 2004.

Kleinwächter, M., Bytof, G., & Selmar, D. (2015). Coffee Beans and Processing. *Coffee in Health and Disease Prevention*, 73–81.

Koblitz, Maria Gabriela Bello. *Matérias-Primas Alimentícias - Composição e Controle de Qualidade*. Grupo GEN, 2011.

Kocadağlı, Tolgahan; Gökmen, Vural. Formation of acrylamide in coffee. *Current Opinion in Food Science*, Vol. 45, 2022.

Kocadağlı, T.; Göncüoğlu, N.; Hamzalıoğlu, A.; Gökmen, V. In depth study of acrylamide formation in coffee during roasting: role of sucrose decomposition and lipid oxidation. *Food Funct*, 2012.

Konings, E.J.M; Baars, A.J; Van Klaveren, J.D; Spanjer, M.C; Rensen, P.M; Hiemstra, M; Van Kooij, J.A; Peters, P.W.J. Acrylamide exposure from foods of the Dutch population and an assessment of the consequent risks, *Food and Chemical Toxicology*, Volume 41, Issue 11, 2003.

Kosjek, T.; Heath, E.; Petrović, M.; Barceló, D. Mass spectrometry for identifying pharmaceutical biotransformation products in the environment, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, Volume 26, Issue 11, 2007.

Lanças, Fernando M. A cromatografia líquida moderna e a espectrometria de massas: Finalmente “compatíveis”? II. A escolha do analisador de massas. Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo – USP, SP. *Scientia Chromatographica*, 2013.

Lantz I, Ternité R, Wilkens J, Hoenicke K, Guenther H, van der Stegen GH. Studies on acrylamide levels in roasting, storage and brewing of coffee. *Mol Nutr Food Res*. Nov;50(11):1039-46. 2006.

Lauzurica, Lourdes Zubeldia; Fayos, Josefa Gomar. Acrilamida En Patatas Fritas y Productos de Aperitivo Elaborados En La Comunidad Valenciana. *Gaceta Sanitaria*, 2007.

Lee, Sanghee; Kim, Hyun Jung. Dietary Exposure to Acrylamide and Associated Health Risks for the Korean Population. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2020.

Lehotay, SJ; De Kok, A.; Hiemstra, M.; Bodegraven, P. Va. Validação de um método rápido e fácil para determinação de resíduos de 229 pesticidas em frutas e vegetais utilizando cromatografia gasosa e líquida e detecção por espectrometria de massa. *J. AOAC Int.*, 2005..

Li, Z.; Zhao, C.; Cao, C. Production and Inhibition of Acrylamide during Coffee Processing: A Literature Review. *Molecules*, 2023.

Loaëc, Grégory; Jacolot, Philippe; Helou, Cynthia; Niquet-Léridon, Céline; Tessier, Frédéric J. Acrylamide, 5-hydroxymethylfurfural and N $\epsilon$ -carboxymethyl-lysine in coffee substitutes and instant coffees, *Food Additives & Contaminants*, 2014.

MAF. Acrylamide in New Zealand food and updated exposure assessment - MAF Technical Paper N $^{\circ}$ : 2011/19 (2012) Disponível em: <<https://citeseerx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&type=pdf&doi=094a351655d2c3f04f70deee2cc0c6e9284d1749>> Acesso em: 10/09/2023.

Majors, R. QuEChERS – A New Technique for Multiresidue Analysis of Pesticides in Foods and Agricultural Samples. *LCGC Europe*, v. 20, n. 11, 2007.

Maldaner, L; Jardim, ICSF. O estado da arte da cromatografia líquida de ultra eficiência. *Química Nova*, 2009.

Matthäus, Bertrand; Haase, Norbert U.; Vosmann, Klaus. Factors Affecting the Concentration of Acrylamide during Deep-Fat Frying of Potatoes. *European Journal of Lipid Science and Technology* 106, 2004.

Melo, W.L.B. A importância da informação sobre do grau de torra do café e sua influência nas características organolépticas da bebida. São Carlos: EMBRAPA, 2004.

Messina, C. J.; Grumbach, E. S.; Diehl, D. M. A systematic approach towards UHPLC methods development. Waters Corporation, application note, 2014.

Mojska H, Gielecinska I, Szponar L and Oltarzewski M. Estimation of the dietary acrylamide exposure of the Polish population. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 2090–2096, 2010.

Mori, Yurie; Kobayashi, Hatasu; Fujita, Yoshio; Yatagawa, Minami; Kato, Shinya; Kawanishi, Shosuke; Murata, Mariko; Oikawa, Shinji. Mechanism of reactive oxygen species generation and oxidative DNA damage induced by acrylohydroxamic acid, a putative metabolite of acrylamide, *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, Volume 873, 2022.

Muinhos, R. A ciência da torra. Buena Vista Café, 18 de janeiro de 2017. Disponível em: <<https://buenavistacafe.com.br/blog/2017/01/18/a-ciencia-da-torra/>>. Acesso em: 15/06/2023.

Nematollahi, A., Kamankesh, M., Hosseini, H. et al. Acrylamide content of collected food products from Tehran's market: a risk assessment study. *Environ Sci Pollut Res* 27, 30558–30570, 2020.

Neri, Valéria Cristina de Carvalho. Acrilamida em Alimentos: Formação Endógena e Riscos à Saúde. Rio de Janeiro: INCQS/FIOCRUZ, 2004.

Neto, João Donzelli. Aplicação de Metodologia QuEChERS para Análises de Alimentos. Universidade Federal de Uberlândia. Instituto de Química. Uberlândia, MG, 2019.

Nóbrega, Rossana Oliveira da. Classificação de cafés solúveis usando espectroscopia NIR e quimiometria. Universidade Federal da Paraíba. João Pessoa, PB, 2021.

Normandin, L.; Bouchard, M.; Ayotte, P.; Blanchet, C.; Becalski, A.; Bonvalot, Y.; Phaneuf, D.; Lapointe, C.; Gagné, M.; Courteau, M. Dietary exposure to acrylamide in adolescents from a Canadian urban center. *Food Chem. Toxicol.* 2013.

NTP (National Toxicology Program). Technical Report on the Toxicology and Carcinogenesis Studies of Acrylamide (CAS No. 79-06-1) in F344/N rats and B6C3F1 mice (feed and drinking water studies). NTP TR 575. NIH Publication No. 12-5917. National Institutes of Health. Public Health Service. U.S. Department of Health and Human Services. July 2012.

OIC. Organização Internacional do Café. Relatório sobre o mercado de Café. Abril, 2023.

Osako, Priscila F. Estudo e Desenvolvimento de Vitamina de Iogurte e Frutas Liofilizadas. Curso de Engenharia Química, Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

Ötles, Semih; Otles, Serkan. Acrylamide in food. Chemical structure of acrylamide. *Electron. J. Environ. Agr. Food Chem.*, 2004.

Pavesi, Adriana; Figueiredo, Maria Cecília de. Acrilamida em Alimentos: Uma Revisão. *Brazilian Journal of Food Technology*, 2006.

Pereira, Danilo Augusto Alves. Avaliação da técnica de cromatografia líquida de ultra performance acoplada à espectrometria de massas na determinação de substâncias orgânicas indicadoras de potabilidade de águas segundo a Portaria 2914/11. Programa de Pós-Graduação Mestrado Profissional - Tecnologia em Química e Bioquímica. São Paulo, 2018.

Perestrelo, Rosa; Silva, Pedro; Porto-Figueira, Priscilla; Pereira, Jorge A.M.; Silva, Catarina; Medina, Sonia; Câmara, José S. QuEChERS - Fundamentals, relevant improvements, applications and future trends, *Analytica Chimica Acta*, Vol. 1070, 2019.

Perfect Daily Grind. O novo momento do café solúvel no Brasil, 2021. Disponível em: <<https://perfectdailygrind.com/pt/2021/12/09/o-novo-momento-do-cafe-soluvel-no-brasil/>> Acesso em: 12/05/2023.

Pinho, O; Ferreira, I. Contaminantes alimentares resultantes do processamento térmico. *Revista Segurança e Qualidade Alimentar*, 2008.

Poisson, L.; Blank, I.; Dunkel, A.; Hofmann, T. The Chemistry of Roasting-Decoding Flavor Formation. In *The Craft and Science of Coffee*. Elsevier, 2017.

Pundir, Chandra S.; Yadav, Neelam; Chhillar, Anil Kumar. Occurrence, synthesis, toxicity and detection methods for acrylamide determination in processed foods with special reference to biosensors: A review, *Trends in Food Science & Technology*,

Volume 85, 2019.

Rejczak, Tomasz and Tuzimski, Tomasz. "A review of recent developments and trends in the QuEChERS sample preparation approach" *Open Chemistry*, vol. 13, 2015

Relvas, E.; Pinto, M. da C.; Monteiro, C. da R. *Arte e segredos do bom café: café básico*. Brasília: Ed Sebrae/ Rio de Janeiro: ABIC, 1997.

Rydberg, P.; Eriksson, S.; Tareke, E.; Karlsson, P.; Ehrenberg, L.; Törnqvist, M. Investigations of factors that influence the acrylamide content of heated foodstuffs *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 2003.

Schenker, S.; Rothgeb, T. *The Roast - Creating the Beans' Signature*. In *The Craft and Science of Coffee*. Elsevier, 2017.

SCF (Scientific Committee on Food), 2002. European Commission. Opinion of the Scientific Committee on Food on new findings regarding the presence of acrylamide in food. 3 July 2002.

SCICOM, S. C. Use of the 'margin of exposure' (MOE) approach for deriving risk-based action limits for carcinogens unintentionally present in food. n. June, p. 44, 2019.

Schouten, Maria Alessia; Tappi, Silvia; Angeloni, Simone; Cortese, Manuela; Caprioli, Giovanni; Vittori, Sauro; Romani, Santina. Acrylamide formation and antioxidant activity in coffee during roasting – A systematic study, *Food Chemistry*, Volume 343, 2021.

Şenyuva, Hamide Z.; Gökmen, Vural. Study of acrylamide in coffee using an improved liquid chromatography mass spectrometry method: Investigation of colour changes and acrylamide formation in coffee during roasting. *Food Additives & Contaminants*. Vol 22, 2005

Shibamoto, T. Volatile Chemicals from Thermal Degradation of Less Volatile Coffee Components. In *Coffee in Health and Disease Prevention*. Elsevier, 2014.

Sigma Aldrich. Método de preparo de amostras por QuEChERS. Disponível em: <<https://www.sigmaaldrich.com/BR/pt/applications/analytical-chemistry/sample-preparation/quechers#SampleExtraction>> Acesso em 29/10/2023.

Silva, A.C.C. Schmidt, F.C. Intensification of freeze-drying rate of coffee extract by vacuum freezing, *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 2022.

Silva, Maria Izabela de Almeida; Pasquim, Thaís Bruna Sala. *Acoffee - Indústria de Café Solúvel 2018*. Trabalho de Conclusão de Curso 2 (Engenharia Química) – Universidade. Tecnológica Federal do Paraná, Apucarana, 2018.

Sirot, Véronique; Hommet, Frédéric; Tard, Alexandra; Leblanc, Jean-Charles. Dietary acrylamide exposure of the French population: Results of the second French Total Diet Study, Food and Chemical Toxicology, Volume 50, Issues 3 - 4, 2012.

Sivetz, M.; Desrosier, N. W. Coffee technology. Westport, Connecticut: AVI Publishing Company, 1979.

Skoog, D. A.; Holler, F. J.; Nieman, T. A. Princípios de análise instrumental. 5.ed. Porto Alegre: Bookman, 836 p, 2002.

Soares, C. M. D. Determinação dos teores de acrilamida em alimentos. Faculdade de Farmácia. Universidade do Porto. Hig. Aliment, 2006.

Soaes, C; Cunha S; Fernandes, J. Determination of acrylamide in coffee and coffee products by GC-MS using an improved SPE clean-up. Food Addit Contam. 2006.

Stadler, Richard H.; Scholz, Gabriele. Acrylamide: An Update on Current Knowledge in Analysis, Levels in Food, Mechanisms of Formation, and Potential Strategies of Control. Nutr. Rev., 2004.

Surma, Magdalena; Sadowska-Rociek, Anna; Cieślik, Ewa; Sznajder-Katarzyńska, Katarzyna. Optimization of QuEChERS sample preparation method for acrylamide level determination in coffee and coffee substitutes. Microchemical Journal, 2017.

Svensson, K; Abramsson, L; Becker, W; Glynn, A; Hellenäs, K-E; Lind, Y, Rosén, J. Dietary intake of acrylamide in Sweden, Food and Chemical Toxicology, Volume 41, Issue 11, Pages 1581-1586, 2003.

Ting, Zhi Wei Edwin; Chew, Yin Ling; Ng, Jing Cheng; Xing, Jie Xing; Zhan, Zhaoqi. High Sensitivity Analysis of Acrylamide in Potato Chips by LC/MS/MS with Modified QuEChERS Sample Pre-treatment Procedure. Shimadzu (Asia Pacific) Pte Ltd, Singapore and Department of Chemistry, Faculty of Science, National University of Singapore, 2014.

Tran NL, Barraj LM, Murphy MM and Bi X, 2010. Dietary acrylamide exposure and hemoglobin adducts-National Health and Nutrition Examination Survey (2003-04). Food and Chemical Toxicology, 48, 3098–3108.

Tsutsumiuchi, K.; Watanabe, Y.; Watanabe, M.; Hibino, M.; Kambe, M.; Okajima, N.; Negishi, H.; Miwa, J.; Taniguchi, H. Formation of acrylamide from glucans and asparagine. New Biotechnology, 2011.

UE (União Europeia). Regulamento (UE) 2017/2158 da Comissão, de 20 de novembro de 2017, que estabelece medidas de mitigação e níveis de referência para a redução da presença de acrilamida em géneros alimentícios. Jornal Oficial da União Europeia, 2017.

Xu, Yi; Bo Cui, Ran Ran, Ying Liu, Huaping Chen, Guoyin Kai, Jianxin Shi. Risk assessment, formation, and mitigation of dietary acrylamide: Current status and future prospects. Food and Chemical Toxicology, Volume 69, 2014.

Zhang, Y.; Zhang, G.; Zhang, Y. Occurrence and analytical methods of acrylamide in heat-treated foods: Review and recent developments. *Journal of Chromatography A*, v. 1075, n. 1–2, p. 1–21, 2005.

Zhao, Mengyao; Zhang, Boya Zhang; Deng, Linlin. The Mechanism of Acrylamide - Induced Neurotoxicity: Current Status and Future Perspectives. *Front. Nutr.*, 25 March 2022. *Sec. Food Chemistry*, Volume 9, 2022.