

Valéria Cristina de Carvalho Neri

**Acrilamida em Alimentos:
Formação Endógena e Riscos à Saúde**

PPGVS/INCQS

FIOCRUZ

2004

Acrilamida em Alimentos: Formação Endógena e Riscos à Saúde

Valéria Cristina de Carvalho Neri

Programa de Pós-Graduação em Vigilância Sanitária
Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde
Fundação Oswaldo Cruz

Orientadores: William Waissmann
Thomas Manfred Krauss

Rio de Janeiro

2004

Acrilamida em Alimentos: Formação Endógena e Riscos à Saúde

Valéria Cristina de Carvalho Neri

Dissertação submetida à Comissão Examinadora composta pelo corpo docente do Programa de Pós-graduação em Vigilância Sanitária do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde da Fundação Oswaldo Cruz e por professores convidados de outras instituições, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre.

Aprovado:

Profa. _____
Dra. Nelzir Trindade Reis

Prof. _____
Dr. Victor Augustus Marin

Prof. _____
Dr. William Waissmann

Orientadores: _____
Dr. William Waissmann

Dr. Thomas Manfred Krauss

Rio de Janeiro

2004

Ficha Catalográfica

Neri, Valéria Cristina de Carvalho

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

xiv, 72p., il., tab

Dissertação em Vigilância Sanitária, Programa de Pós-graduação em Vigilância Sanitária / INCQS, 2004. Orientadores: William Waissman e Thomas Manfred Krauss.

1. Acrilamida 2. Alimentos 3. Formação 4. Risco

I. Acrilamida em Alimentos: Formação endógena e Riscos à Saúde

Dedicatória

“A meu pai, pelo exemplo de luta pela vida, por sua coragem, superação e esperança até seus últimos dias”.

Epígrafe

*“A fé é a certeza das coisas que se esperam e a
convicção de fatos que não se vêem”.*

Hb 11:1

Agradecimentos

A meu marido pelo seu amor, carinho e apoio que me fizeram prosseguir.

A minha família que alegra os meus dias.

Aos meus orientadores pela compreensão e dedicação dispensada a mim.

A amiga Marize pela contribuição na digitação e qualidade na finalização do trabalho.

Resumo

Em abril de 2002, um grupo de pesquisadores da Suécia reportou a presença de acrilamida em alimentos ricos em carboidratos, quando assados, fritos ou torrados, sendo os cereais, as batatas e o café possivelmente suas maiores fontes de ingestão.

Embora os dados disponíveis sejam limitados na avaliação de risco da acrilamida em induzir tumores na população humana, ela foi classificada como um provável carcinógeno humano, Grupo 2A, em 1994, pela Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC) – França.

A acrilamida é uma molécula reativa e vem sendo produzida comercialmente pela indústria desde 1950, principalmente como monômero para produção de poliacrilamida .

Esta dissertação aborda, dentro de um contexto histórico, a hipótese de formação da acrilamida em alimentos, surgida a partir da investigação de um acidente ambiental e conseqüente exposição á acrilamida dos trabalhadores envolvidos.

São apresentados, adicionalmente, o curso de eventos e decisões de organismos internacionais, que apontaram para a necessidade de incremento de investigações e esclarecimentos nas diferentes áreas de interesse da pesquisa de acrilamida, inclusive: dos mecanismos responsáveis por sua formação no alimento e os possíveis meios de minimizá-la. E de sua toxicidade, tanto a partir de estudos laboratoriais como epidemiológicos, buscando-se evidências de câncer e outras patologias a partir do consumo de alimentos fontes e estimativas de exposição alimentar em diferentes países, incluindo-se a necessidade de aprimoramento das estimativas de ingestão nos países em desenvolvimento.

Abstract

In April 2002, a group of Swedish researchers reported the presence of Acrylamide in foods rich in carbohydrates when baked, deep fried or toasted. Cereals, potatoes and coffee are possibly the main intake sources of Acrylamide.

Although available data are limited regarding Acrylamide risk evaluation in inducing tumors in the human population, in 1994 it has been classified as a probable human carcinogen, group 2A, by the International Agency for Research on Cancer (IARC) – France.

Acrylamide is a reactive molecule and has been produced and commercialized since 1950 principally as monomer for production of polyacrylamide .

This dissertation describes, in a historical context, the hypotheses of the formation of Acrylamide in foods reported in 2002, which emerged after an investigation of an environmental accident and the occupational exposure to Acrylamide.

The events that followed and the decisions taken by International Organizations are reported. These led to the necessity of further investigation in different areas of interest regarding Acrylamide research, such as the mechanisms responsible for the formation of Acrylamide in foods and the means to minimize it, its toxicity, based on laboratorial and epidemiological studies, the evidence of its cancer inducing capacity and the evaluation of the risk related to the daily intake of Acrylamide source foods in different countries, specially in developing ones.

Lista de Abreviaturas

ACL – Acrilonitrila
ACM - Acrilamida
ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
AOAC - Association of Official Analytical Chemists
BaP - Benzo-[a]-pireno
CAS - Chemical Abstracts Service
CCFAC - Codex Committee on Food Additives and Contaminants
CFSAN - Center for Food Safety and Applied Nutrition
CG/EM – Cromatógrafo à gás/espectrômetro de massa
CO₂ – Dióxido de Carbono
CSFII - Continuing Survey of Food Intake for Individuals
DNA – Deoxyribose Nucleic Acid
ECFS - European Commission for Food Safety
EPA – Environmental Protection Agency
EPIC - The European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition
EUA – Estados Unidos da América
FAC - Food Advisory Committee
FAO/WHO – Food and Agriculture Organization/World Health Organization
FDA – Food and Drug Administration
FSA – Food Standart Agency
GCM – Glicidamida
GSH – Glutation
Hb - Hemoglobina
HPAs - Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos
HTA - aminas heterocíclicas
IARC – International Agency for Research on Cancer
IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IFT – Institute for Food Technologists
INCQS/FIOCRUZ – Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde/ Fundação
Oswaldo Cruz
JECFA - Joint Expert Committee on Food Additives
JIFSAN - Joint Institute for Food Safety and Applied Nutrition
Kg - quilograma

LOAEL - Lowest Observed Adverse Effect Level

mc – massa corporal

mg - miligrama

µg - micrograma

MUNLV/NRW – Ministerium für Umwelt und Naturschutz, Landwirtschaft und
Verbraucherschutz/Nordrhein-Westfalen

NCFST - National Center for Food Safety and Technology

NFCS - National Food Consumption Survey

NHANES - National Health and Nutrition Examination Survey

nmol - nanomol

NOAEL – No Observed Effect Level

OMS - Organização Mundial da Saúde

pmol - picomol

POF - Pesquisa de Orçamentos Familiares

SCF - Scientific Committee on Food

SNC - Sistema nervoso central

SNFA – Swedish National Food Administration

TDS – Total Diet Study

Lista das tabelas

	Página
<i>Tabela 1:</i> Solubilidade da acrilamida em diferentes solventes.....	8
<i>Tabela 2:</i> Concentração média, mínima e máxima de acrilamida encontrada em alguns grupos de alimentos selecionados da Suécia.....	16
<i>Tabela 3:</i> Concentração média de acrilamida em alguns alimentos na Noruega.....	19
<i>Tabela 4:</i> Níveis de acrilamida em alimentos analisados pelo MUNLV na Alemanha.....	20
<i>Tabela 5:</i> Níveis de acrilamida em amostras de produtos provenientes das diferentes cestas nos EUA, no ano de 2003.....	22
<i>Tabela 6:</i> Concentração média, mínima e máxima de acrilamida e o número de amostras de alimentos analisados no Canadá.....	23
<i>Tabela 7:</i> Acrilamida produzida por reações entre açúcares e aminoácidos.....	32
<i>Tabela 8:</i> Níveis de asparagina em diferentes vegetais e frutas.	33
<i>Tabela 9:</i> Percentual médio de contribuição de alguns alimentos na ingestão de acrilamida entre a população de 16 - 79 anos da Noruega.	55
<i>Tabela 10:</i> Percentual de contribuição da ingestão de acrilamida entre a população de 18 - 74 anos da Suécia.	56
<i>Tabela 11:</i> Concentração de acrilamida nas porções dos principais alimentos utilizados nas estimativas de exposição nos EUA.	57
<i>Tabela 12:</i> Estimativa de ingestão da acrilamida a partir do consumo percapita diário de alguns alimentos de acordo com a POF 95/96 do IBGE.....	58

Lista das figuras

	Página
<i>Figura 1:</i> Estrutura química da Acrilamida.....	7
<i>Figura 2:</i> Mapa da rocha Hallandsas e o plano de construção da ferrovia de alta velocidade.	10
<i>Figura 3:</i> A construção do túnel em direção ao norte da Suécia.	11
<i>Figura 4:</i> As obras na parte norte do túnel interrompido pelo vazamento.....	11
<i>Figura 5:</i> Reação da acrilamida com N-terminal valina da hemoglobina e formação do CEV.....	14
<i>Figura 6:</i> Principais estágios da reação de Maillard.	28
<i>Figura 7:</i> Degradação Strecker de Aminoácidos.	29
<i>Figura 8 :</i> Semelhança estrutural de asparagina, aldeído de Strecker e acrilamida..	30
<i>Figura 9:</i> Possível mecanismo de formação da acrilamida a partir da asparagina.	30
<i>Figura 10:</i> Formação intermediária de acroleína.....	31
<i>Figura 11:</i> Hipóteses de formação da acrilamida a partir de óleos (1) e compostos nitrogenados (2).....	34
<i>Figura 12:</i> Hipótese de formação da acrilamida a partir da base Schiff descarboxilada.	37
<i>Figura 13:</i> Formação de acrilamida em função da temperatura.	38
<i>Figura 14:</i> Influência da utilização do ácido cítrico na formação de acrilamida em batata frita.	39
<i>Figura 15:</i> Formação da glicidamida a partir da acrilamida.....	45
<i>Figura 16:</i> Percentual de contribuição dos grupos de alimentos relevantes utilizados na estimativa de exposição a acrilamida para a população total da Holanda.	54

Sumário

	Página
I. Introdução	1
II. Objetivos.....	4
II.1 Principal.....	4
II.2 Específicos.....	4
III. Metodologia.....	5
IV. A Hipótese de Formação da ACM em Alimentos.	7
IV.1 ACM: Propriedades e Uso.....	7
IV.2 O Desastre Ambiental na Escandinávia	9
IV.3 Consultoria Prestada por Pesquisadores da Universidade de Estocolmo.....	12
IV.4 Identificação do Alimento como Possível Fonte de ACM	13
V. Ações Governamentais e de Organismos Internacionais.....	17
V.1 Primeiro Encontro de Especialistas Promovido pela Organização Mundial de Saúde.....	17
V.2 Avaliação Inicial pela Comissão Européia.....	18
V.3 A Discussão nos EUA e Iniciativas do FDA.....	20
V.4 Novo Encontro Realizado pela OMS	24
V.5 Opinião do Comitê do Codex de Aditivos e Contaminantes de Alimentos	24
VI. Mecanismos de Formação Propostos da ACM em Alimentos.....	26
VI.1 Possíveis Alterações em Alimentos	26
VI.2 O Envolvimento da Reação de Maillard na Formação de ACM.....	27
VI.3 O Papel da Asparagina.....	29
VI.4 A Importância do Carboidrato.....	35
VI.5 Influência de Fatores Externos na Formação de ACM e Possíveis Meios de Evitá-la.....	38
VI.6 Outra Hipótese da Ocorrência de ACM no Alimento	42
VII. Efeitos Tóxicos da ACM.....	44
VII.1 Absorção, Distribuição, Metabolismo e Excreção.....	44
VII.2 Efeitos Neurotóxicos.....	45
VII.3 Efeitos na Reprodução e Desenvolvimento	46
VII.4 Bioindicadores de Exposição- Formação de Adutos	47

	Página
VII.5 Efeitos Carcinogênicos	48
VII.5.1 Estudos Experimentais	48
VII.5.2 Evidências Epidemiológicas do Risco de Câncer a partir da Exposição a ACM	49
VIII. Exposição alimentar à ACM	53
IX. Discussão	60
X. Conclusão	62
Referências Bibliográficas	63

I. Introdução

Em abril de 2002, um grupo de pesquisadores da Suécia reportou a presença de acrilamida (ACM) em alimentos ricos em carboidratos, quando assados, fritos ou torrados, sendo os cereais, as batatas e o café possivelmente suas maiores fontes de ingestão. (MOTTRAM, 2002; TAREKE, 2002; SVENSSON, 2003)

A ACM é uma molécula reativa e vem sendo produzida comercialmente pela indústria desde 1950. É usada na síntese de poliacrilamida, com grande variedade de uso na indústria de papel, de madeira, têxtil, no tratamento da água, além de cosméticos e artigos de higiene. (CALLEMAN, 1996; WEISS, 2002)

Pesquisas apontam a ACM como sendo neurotóxica ao homem, efeito conhecido há mais de trinta anos, em especial a partir da exposição ocupacional (FAO/WHO, 2002). Pesquisas experimentais, em animais, demonstram possível papel na iniciação do processo cancerígeno. (JOHNSON, 1986)

Embora os dados disponíveis sejam limitados na análise de risco da ACM em induzir tumores na população humana, ela foi classificada como um provável carcinógeno humano, Grupo 2A, em 1994, pela Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC) - França (FAO/WHO, 2002; FDA, 2002 b; SCF, 2002). A agência, órgão da Organização Mundial da Saúde (OMS), é reconhecidamente uma referência internacional na coordenação de pesquisas que avaliam as causas de câncer em humanos, desenvolvendo estratégias para o seu controle.

A hipótese de que a ACM pode ser formada durante o preparo do alimento, tem um contexto histórico que envolve um desastre ambiental, provocado pela construção de túneis para ferrovias de alta velocidade. Tal acidente levou a exposição de trabalhadores que manipularam selantes contendo ACM. (FELSOT, 2002; REYNOLDS, 2002).

Estudando o desastre acima, pesquisadores da Universidade de Estocolmo puderam comparar bioindicadores sangüíneos de exposição à ACM em trabalhadores expostos e em controles não expostos. Os resultados encontrados, para surpresa, não demonstraram diferenças relevantes entre os dois grupos (HAGMAR, 2001)

De início, na busca da compreensão de tal fato, níveis elevados de bioindicadores sangüíneos foram encontrados em animais aos quais foi oferecida dieta com ACM, quando comparados aos controles. Posteriormente, o mesmo grupo de pesquisa mostrou que alimentos ricos em carboidratos, fritos e/ou assados em altas temperaturas, continham níveis apreciáveis de ACM. (TAREKE, 2000; 2002)

As pesquisas levaram a Agência Nacional de Alimentos da Suécia (SNFA) a comunicar, publicamente, o potencial de risco. Algumas vezes criaram polêmica, questionando o governo da Suécia quanto ao alarme desnecessário, já que se tratava de uma substância provavelmente ocorrida naturalmente no preparo de alimentos, e não adicionada intencionalmente. (FAO/WHO, 2002; SCF, 2002; REKSNES, 2003)

Amostras de origem animal e vegetal foram analisadas pelo governo da Suécia. As taxas de ACM variaram consideravelmente entre os grupos de alimentos, porém as batatas chips e batatas fritas apresentaram os maiores níveis. (TORBJORN, 2002)

A mobilização resultante da comunidade científica acabou por impor ações internacionais. A OMS realizou o primeiro encontro público sobre as implicações da presença de ACM em alimentos, em junho de 2002, na Suíça. Posteriormente, foi criado um banco de dados na internet pela OMS, para que os resultados das pesquisas em desenvolvimento fossem compartilhados entre os países.

Os países desenvolvidos procuraram estabelecer uma estimativa de exposição de suas populações, baseada inicialmente nos dados publicados pela Suécia. Mediante a utilização de censos sobre panoramas de consumo alimentar populacional, pôde-se observar que os valores estimados em alguns países foram condizentes com o estimado pela OMS. (FAO/WHO, 2002)

Apesar da discussão em torno da descoberta da ACM em alimentos, ainda há polêmica quanto aos riscos potenciais à saúde humana, por se tratar de um contaminante ocorrido naturalmente, resultante de reações químicas entre nutrientes durante o preparo do alimento. Para Couglin (2003, p.100): *“the information currently available on acrylamide in foods is not sufficient to draw firm conclusions about cancer risk to humans. FDA, the World Health Organization, the European Union, and other bodies have stated that there is no indication at this time that consumers need to change their eating habits in response to the acrylamide findings, but instead advise consumers to follow established dietary guidelines and eat a healthful, balanced diet consisting of a wide variety of foods”*.

Do ponto de vista nutricional, há a preocupação de que alimentos fontes de carboidratos, responsáveis pelo aporte diário de energia ao organismo e componentes indispensáveis na distribuição calórica de uma dieta, sejam também geradores do composto. E quando se pensa em exposição, há que se considerar a maior vulnerabilidade do público infantil, em função do menor índice de massa corporal, já que os níveis de exposição são estimados pela massa corporal.

Em vigência do exposto acima, e face à carência de informações sobre o tema no Brasil, foi elaborado projeto, apoiado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária

(Convênio Projeto 277). Esta dissertação se insere neste projeto, sendo desenvolvida dentro do programa de pós-graduação em Vigilância Sanitária. Ela revisa, dentro de um contexto histórico, a hipótese de formação da ACM em alimentos, surgida a partir da investigação de um desastre ambiental, com posterior comunicação do risco pela Suécia, em 2002. São apresentados, adicionalmente, o curso de eventos e decisões de organismos internacionais, que apontaram para a necessidade de incremento de investigações e esclarecimentos nas diferentes áreas de interesse da pesquisa de ACM, inclusive dos mecanismos responsáveis por sua formação no alimento e os possíveis meios de minimizá-la; e de sua toxicidade, tanto a partir de estudos laboratoriais como epidemiológicos, buscando-se evidências de câncer e outras patologias a partir do consumo de alimentos fontes e estimativas de exposição alimentar em diferentes países (incluindo-se a necessidade de aprimoramento das estimativas de ingestão nos países em desenvolvimento).

II.1 Principal

➤ Revisar a história da descoberta da formação endógena de ACM em alimentos, as iniciativas político-técnicas dela decorrente, os mecanismos de tal formação e os meios de minimizá-los, assim como a toxicidade e as estimativas de exposição pela dieta à ACM.

II.2 Específicos

➤ Revisar o fluxo dos acontecimentos que culminaram com a hipótese da produção endógena de acrilamida em alimentos.

➤ Descrever as ações iniciais tomadas por organismos internacionais e ações governamentais, que inclui dados dos níveis de ACM encontrado em alimentos.

➤ Revisar os mecanismos propostos na formação endógena da ACM em alimentos e os possíveis meios de minimizá-la.

➤ Revisar os efeitos tóxicos da ACM e bioindicadores relacionados a sua exposição.

➤ Apontar evidências epidemiológicas do risco de câncer a partir da exposição ocupacional e pela dieta.

➤ Revisar informações referentes a estimativas de exposição pela dieta apontadas em diferentes países.

III. Metodologia

Foi realizado levantamento bibliográfico de publicações científicas que reunissem informações acerca da presença de ACM em alimentos e possíveis riscos a saúde humana dela decorrente. Utilizaram-se também, publicações em bancos de dados dos EUA (JIFSAN) e Europa (Comissão Européia), além de encontros e comitês organizados por órgãos internacionais que apontam perspectivas de ações e metas de pesquisas em desenvolvimento, desde que, disponíveis na internet.

O Brasil, até o presente conhecimento, não dispõe de dados referentes ao assunto. Portanto, não se pretende tecer discussões pertinentes às ações da Vigilância Sanitária.

O material forneceu subsídios para uma descrição das principais atividades que estão sendo desenvolvidas e propostas nas diferentes áreas de interesse da pesquisa de ACM em alimentos.

Buscou-se desenvolver o trabalho abordando desde o contexto histórico que levou a hipótese de formação da ACM no alimento, até posterior comunicação do risco pela Suécia.

Posteriormente, eventos e decisões iniciais pelos organismos internacionais são apontados em seqüência cronológica dos acontecimentos, após a publicação dos achados. Os níveis detectados de ACM são apontados em alguns países, buscando a confirmação dos dados publicados pela Suécia, onde, os alimentos selecionados fazem parte do grupo de alimentos que apresentaram quantidades apreciáveis de ACM.

Em seguida, os mecanismos de formação da ACM no alimento são revistos a partir de publicações que apontam os possíveis caminhos de reações envolvidas, bem como, a influência de fatores externos (tempo, temperatura, pH), utilizados no processamento e preparo do alimento. Discutem-se ainda, meios que poderiam minimizar os níveis de formação da ACM.

Os efeitos tóxicos da ACM são descritos sucintamente, abordando desde as vias de exposição, a absorção, distribuição, metabolismo e excreção pelo organismo, com apontamentos quanto aos efeitos neurotóxicos e possíveis efeitos carcinogênicos, genotóxicos, reprodutivos e a formação de bioindicadores sanguíneos associados à exposição a ACM.

As evidências epidemiológicas do risco de câncer a partir da exposição a ACM foram revisadas, desde a exposição ocupacional até o consumo de alimentos fontes de ACM,

mostrando a ausência de associações positivas entre o risco de câncer e a exposição a ACM, tanto ocupacional como alimentar, e conseqüente incongruência dos dados.

Por último, reuniram-se informações pertinentes à exposição humana pela dieta, onde alguns países apontam estimativas da ingestão diária da substância pela população, bem como, os níveis de exposição por quilograma de massa corporal ao dia, baseados em pesquisas de padrões do consumo alimentar populacional, junto a contribuição percentual da ingestão dos principais alimentos fontes de ACM.

Convém destacar que o levantamento bibliográfico teve como data limite de aquisição de informações o mês de julho de 2004.

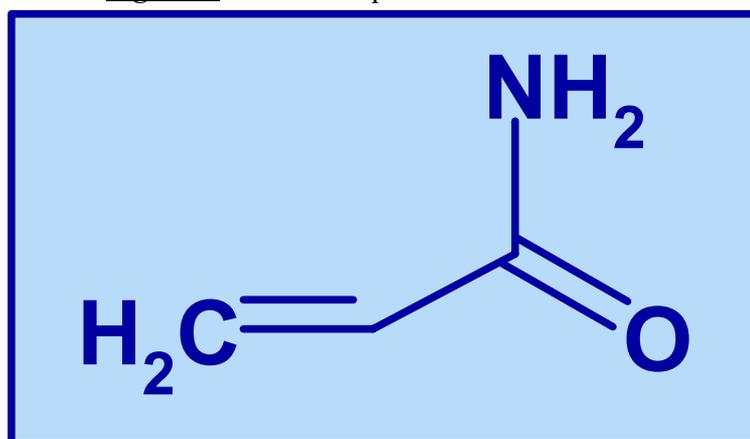
A apresentação dos resultados seguiu uma perspectiva histórica, a partir da qual, cumpriu-se os objetivos da revisão, e a implantação do método no INCQS/FIOCRUZ, para análise de amostras nacionais encontra-se em andamento.

IV. A Hipótese de Formação da ACM em Alimentos.

IV.1 ACM: Propriedades e Uso

A ACM é uma molécula reativa α , β -carbonil insaturada, comumente obtida a partir da hidratação da acrilonitrila (ACL) e vem sendo produzida comercialmente pela indústria desde 1950. Companhias americanas chegaram a produzir quase 50.000 toneladas em 1992. Atualmente, a produção anual é estimada em 250.000 toneladas. A figura 1 mostra sua estrutura química (EPA, 1994 a; EPA, 1994 b; INCHEM, 1997; CALLEMAN, 1996; EHP, 2001; WEISS, 2002). De acordo com o *Chemical Abstract Service*, a ACM tem o seguinte número (CAS No.: 79-06-1). É também conhecida como 2-Propenamida e possui fórmula molecular: C_3H_5ON .

Figura 1: Estrutura química da Acrilamida.



ACM é um monômero sólido, constituído por flocos cristalinos brancos e inodoros, solúvel em água, metanol, etanol, acetona, acetato de etila, benzeno e heptano. Está disponível na forma de pó ou em solução aquosa. A tabela abaixo sumariza a solubilidade da ACM em diferentes solventes. (CALLEMAN, 1996; WEISS, 2002)

Tabela 1: Solubilidade da acrilamida em diferentes solventes.

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

Fonte: UWSF, 2002

É uma substância intermediária na produção de metilacrilamida e usada primariamente na síntese de poliacrilamidas, que são macromoléculas formadas por reações de polimerização. (EPA, 1994 a ; JIFSAN, 2002; FRIEDMAN, 2003)

As poliacrilamidas apresentam grandes variedades de uso. Na química analítica e preparativa, são a base de gel para eletroforese. São utilizadas como flocculantes 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. (KAPP, 2002; PAULSSON, 2002; SCF, 2002)

No intuito de assegurar os riscos referentes à presença do monômero de ACM na água potável, a Agência de Proteção Ambiental (EPA) dos EUA estabeleceu um limite residual de ACM de 0,5 µg/l. Já a União Européia estabelece limite de 0,1 µg/l. Os valores baseiam-se em limites permitidos pela legislação de qualidade da água potável da OMS. No Brasil, a portaria nº 1469, de 29 de dezembro de 2000 do Ministério da Saúde (MS), que estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano, propõe dentro do padrão de potabilidade para substâncias químicas nocivas a saúde, um valor máximo de 0,5 µg/l para ACM. (BRASIL, 2000)

O que parece é que os polímeros são inócuos, enquanto os monômeros de ACM podem causar efeitos tóxicos diferentes, e, devido ao potencial de exposição, os efeitos em células, tecidos, animais e humanos, têm sido estudados extensivamente. (SCF, 2002; FRIEDMAN, 2003)

A fabricação de produtos selantes que contém ACM teve sua produção diminuída em 1970, devido à preocupação dos produtores com o possível risco à saúde humana. Ainda assim, em 1989, os agentes selantes à base de ACM representavam cerca de 43% do total de produtos da mesma espécie. Somente em 1991 a EPA alertou para o risco humano e ambiental do uso de tais produtos. (EPA, 1994 b; WEIDEBORG, 2001)

A União Européia vem fazendo avaliações ambientais sobre o risco da ACM desde 1997. Entretanto, a maioria dos dados de monitoração disponíveis na América e Europa provém de exposição ocupacional. (WEIDEBORG, 2001)

IV.2 O Desastre Ambiental na Escandinávia

A discussão em torno da possível exposição humana a ACM pela dieta surgiu após um grande desastre ambiental, decorrente da construção de túneis para ferrovias de alta velocidade, na Suécia. Trabalhadores envolvidos na construção foram expostos a agentes selantes contendo ACM e a análise sanguínea de tais trabalhadores mostrou a presença de bioindicadores de exposição que foram comparados a grupos controle. (FELSOT, 2002; HAGMAR, 2001; REYNOLDS, 2002)

Por mais de 10 anos, a Administração de ferrovias da Suécia, uma agência do governo central, discutia a modernização do sistema de construção de ferrovias de alta velocidade no país, com o propósito de melhorar a conexão entre regiões da costa ocidental, em particular, Gotemburgo e Malmo, facilitando a comunicação entre a Escandinávia (Suécia; Noruega; Finlândia; Dinamarca e Islândia) e os países europeus vizinhos, permitindo aumentar a competitividade econômica da Europa frente aos Estados Unidos e Japão. A idéia de construção dessas linhas foi inicialmente chamada “*Scanlink*”, e foi aprovada por uma Comissão Européia em 1980, que concluiu ser geologicamente possível a construção do túnel através da rocha Hallandsas. A conexão que facilitaria a comunicação entre os países escandinavos com países vizinhos é mostrada na figura 2. (LOFSTEDT & BOHOLM, 1999; PAIVIO & WALLENTINUS, 2001)

Anos depois, não se imaginava que as condições particulares do solo na Suécia provocariam um escândalo ambiental entre os países da Escandinávia. (LOFSTEDT & BOHOLM, 1999)

Figura 2: Mapa da rocha Hallandsas e o plano de construção da ferrovia de alta velocidade.



Fonte: Paivio & Wallentinus, 2001.

Em 1997, a perfuração que deu início à construção do túnel através da rocha Hallandsas mostrou que a grande montanha rochosa formada há mais de 65 milhões de anos apresentava em sua composição pedra, areia e fendas preenchidas pela água, constituindo uma das maiores reservas de água do lençol freático no sul da Suécia. Nos arredores da região, o clima úmido e a riqueza do solo favorecem o desenvolvimento de práticas agrícolas, e a região é bem conhecida por prósperas fazendas com atividades pecuárias e grandes usinas de leite. (LOFSTEDT & BOHOLM, 1999)

As dificuldades técnicas foram reconhecidas na fase inicial do processo de construção, porém não foram discutidos os efeitos relacionados às perdas de água do lençol. A figura 3 mostra a montanha e a construção do túnel em direção ao norte da Suécia. (PAIVIO & WALLENTINUS, 2001)

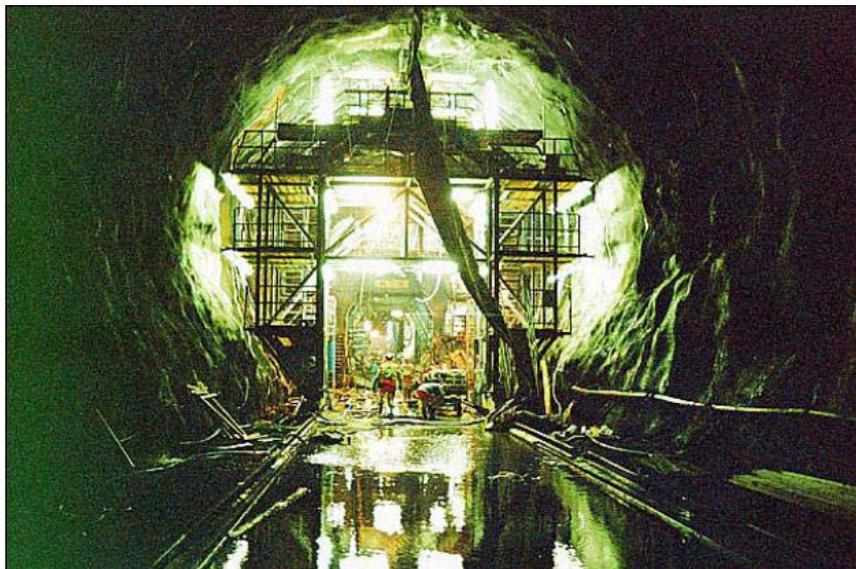
Figura 3: A construção do túnel em direção ao norte da Suécia.



Fonte: Paivio & Wallentinus, 2001.

Durante a construção, no período de março a junho de 1997, várias substâncias foram testadas, porém com pouco sucesso para conter os vazamentos de água provocados pela ruptura da rocha. Optou-se, por fim, por um gel selante composto de ACM e N-metilacrilamida, identificado como rhoca-gil. A partir de agosto o composto passou a ser utilizado em grande escala. A figura 4 mostra o vazamento de água do lençol. (HAGMAR, 2001; REYNOLDS, 2002; WEIDEBORG, 2001)

Figura 4: As obras na parte norte do túnel interrompido pelo vazamento.



Fonte: Paivio & Wallentinus, 2001.

Presume-se que o grande fluxo de água proveniente do lençol tenha dificultado o processo de polimerização da ACM, já que esta é hidrossolúvel, permitindo que altas concentrações vazassem para o ambiente. (HAGMAR, 2001)

Houve grande mobilização por parte de habitantes da região após grande mortalidade de peixes e a paralisia no gado, que consumiu a água com concentrações acima de 92 mg/l de ACM e 342 mg/l de metilacrilamida. As suspeitas voltaram-se para as obras no túnel, e o escândalo surgiu quando ambientalistas descobriram que entre 1400 a 1500 toneladas do gel havia sido injetadas nas paredes em construção que continham os vazamentos. O medo da contaminação e danos à saúde levaram as autoridades da Suécia a banir o uso do leite e derivados, os produtos agrícolas em geral, além do gado que foi abatido. O fato gerou protestos, ações judiciais e demissões no governo sueco. (WEIDEBORG, 2001; REYNOLDS, 2002)

Após tal ocorrência, no final de setembro, a construção do túnel foi imediatamente interrompida, e era esperado que os trabalhadores envolvidos na construção tivessem sido potencialmente expostos à ACM. Por ser uma neurotoxina previamente conhecida, não surpreendeu o relato de sinais clínicos, como dormência e formigamento em membros inferiores e superiores, conseqüentes à exposição. (HAGMAR, 2001)

IV.3 Consultoria Prestada por Pesquisadores da Universidade de Estocolmo

Consultoria realizada por pesquisadores da Universidade de Estocolmo, por solicitação da SNFA, visava o esclarecimento de possíveis efeitos à saúde das pessoas expostas. Para tal, buscava-se identificar associação dose-resposta, através do uso de bioindicadores sanguíneos que permitissem estimar a exposição a ACM. Utilizou-se como bioindicadores adutos (acrilamida-hemoglobina), que são compostos formados por reações covalentes entre contaminantes e macromoléculas, como a hemoglobina, e que podem ser dosados diretamente para estimar a exposição a determinadas substâncias. (FELSOT, 2002; REYNOLDS, 2002)

Aproximadamente 242 trabalhadores foram identificados pelos pesquisadores junto à companhia de construção, e em seguida submetidos a exames de saúde, dos quais 19 não participaram, alegando não terem sido expostos, e 13 se recusaram a doar amostras de sangue. Os 210 restantes tinham idade média de 44 anos. Inicialmente, valores tidos como aceitáveis, de 0,02 - 0,07 nmol/g de hemoglobina (Hb), foram identificados em 47 indivíduos, enquanto os 163 restantes apresentaram níveis elevados, de até 17,7 nmol/g Hb. Além disso, um exame físico completo e a aplicação de um questionário com a história clínica de cada trabalhador foram realizados. Trabalhadores que referiram sintomas relacionados a possível deterioração

do sistema nervoso periférico apresentavam níveis de aduto-Hb em torno de 1 nmol/g Hb. Foram acompanhados, então, os trabalhadores com níveis de 0,3 nmol/g Hb com reexames após seis meses, cuja permanência dos sintomas apontava para reinvestigações entre 12 e 18 meses depois de cessada a exposição. (HAGMAR, 2001)

Houve surpresa, porém, ao se encontrarem níveis elevados de adutos em grupos controle, de pessoas que aparentemente não tinham sofrido nenhum tipo de exposição à substância. (FELSOT, 2002; REYNOLDS, 2002)

Em estudo, já haviam sido encontrados níveis elevados de aduto ACM-Hb em trabalhadores de laboratórios que manipulavam gel de poliacrilamida para eletroforese. O estudo comparou níveis sanguíneos de indivíduos fumantes e não fumantes que lidavam na produção do gel, evidenciando a presença de adutos em ambos os grupos. A média encontrada foi de 116 pmol/g Hb entre o grupo de trabalhadores fumantes, o qual, correlacionou-se ao número de cigarros fumados por dia, e de 54 pmol/g Hb entre o grupo não fumante, cujo resultado superou à média encontrada entre os controles não fumantes (31 pmol/g Hb). Na ocasião, o encontro de tais níveis no grupo controle não era esperado e a origem da presença dos adutos não pôde ser explicada. (BERGMARK, 1997)

IV.4 Identificação do Alimento como Possível Fonte de ACM

Seqüencialmente surgiram hipóteses para tentar identificar a origem da ACM, que, por eliminação das fontes de exposição já conhecidas, como as poliacrilamidas e o aquecimento de matéria orgânica (cigarro), acabaram apontando para o alimento como fonte potencial principal. (FELSOT, 2002; REYNOLDS, 2002)

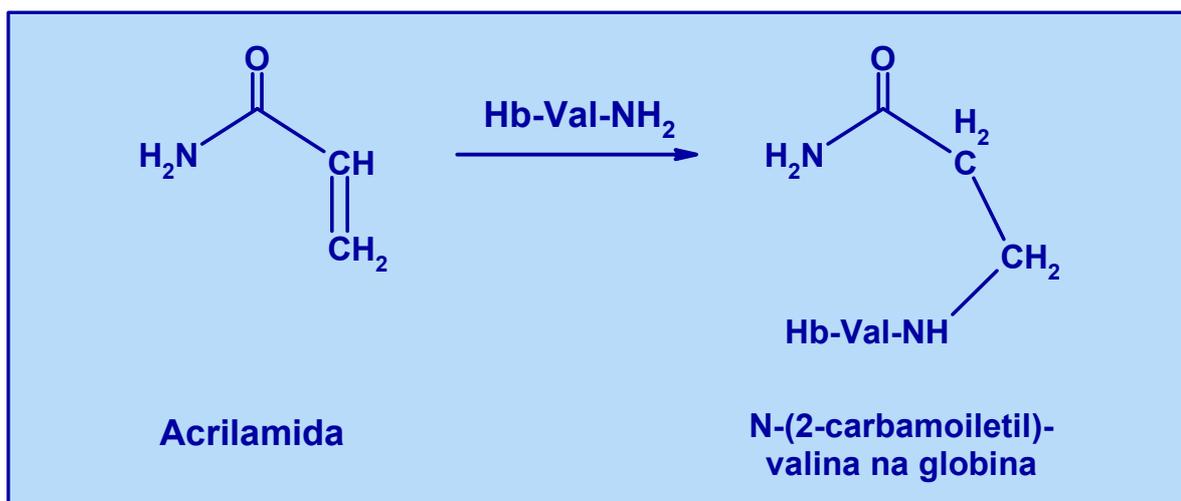
Para testar a hipótese de que a formação de adutos, presentes no sangue de indivíduos não expostos à ACM, era resultado da sua formação endógena no alimento, estudos experimentais utilizando diferentes dietas foram realizados. (JIFSAN/NCFST, 2002 c)

A hipótese foi confirmada em uma pesquisa com dois experimentos. O primeiro foi realizado com ratos machos divididos em dois grupos, que receberam por um a dois meses, respectivamente, uma dieta padrão submetida à fritura e uma dieta sem fritura. No segundo experimento, os animais foram separados em dois grupos pelo sexo, e foram alimentados da mesma forma. Nos dois experimentos os animais foram mantidos sob as mesmas condições externas. Para quantificar a ACM, as preparações foram analisadas previamente por CG/EM. Inicialmente, níveis mais elevados de ACM foram observados na preparação frita, enquanto no alimento não frito os níveis foram abaixo do limite de detecção, 10 µg/Kg. Ao final da pesquisa, o sangue dos animais obtido por punção cardíaca, foi submetido à análise para detecção de adutos ACM-Hb, o qual revelou níveis de 65 a 165 pmol/g Hb entre os ratos

alimentados com o alimento frito, níveis significativamente maiores do que os encontrados entre os controles. (TAREKE, 2000)

Os adutos foram mensurados como N-(2- carbamoiletil) valina (CEV), ou seja, oriundos a partir da reação entre a ACM e o N-terminal da molécula de hemoglobina no sangue, segundo MUHLEND AHL & OTTO, 2003, uma ferramenta de biomonitoração promissora nas avaliações de exposição da população a substâncias químicas. A figura 5 apresenta a reação. (TORNQVIST, 1994; TAREKE, 2000)

Figura 5: Reação da acrilamida com N-terminal valina da hemoglobina e formação do CEV.



Fonte: Tareke, 2000

A observação de que animais em dieta submetida à fritura apresentavam níveis elevados de aduto-ACM-Hb (Tareke, 2000) parece não ter sido valorizada (FRIEDMAN, 2003). Dois anos depois, porém, Tareke et al (2002) demonstraram níveis relativamente altos de ACM em alimentos comerciais, processados industrialmente, e em alimentos cozidos em altas temperaturas, especialmente os ricos em carboidratos.

Os adutos de ACM são regularmente observados em pessoas sem exposição conhecida. Tais adutos detectados na população da Suécia permitiram pressupor estimativas correspondentes à ingestão diária de 100 µg de ACM, supostamente elevada ao longo da vida. Considerando o provável risco de câncer, destacou-se a importância na identificação de suas possíveis fontes na alimentação. (TAREKE et al, 2002)

Nesse estudo, os pesquisadores analisaram grupos de alimentos característicos do padrão alimentar da população sueca. Em geral, alimentos submetidos a temperaturas acima de 160 °C exibiram formação de ACM proporcional ao grau de escurecimento desses alimentos, durante a cocção. Os alimentos ricos em proteínas como as carnes, apresentaram

taxas moderadas de ACM (5 – 50 $\mu\text{g}/\text{Kg}$), enquanto os alimentos ricos em carboidratos, como as batatas, apresentaram maiores taxas sob as mesmas condições de aquecimento (150 – 4000 $\mu\text{g}/\text{Kg}$). Deve-se mencionar que a ACM não foi detectada em alimentos controle, os quais não sofreram preparo. Além disso, alimentos cozidos na água também não mostraram evidências. (TAREKE, 2002)

Segundo Reynolds (2002 p. 876), em entrevista na ocasião, Margareta Tornqvist, coordenadora do grupo de pesquisa, declarou: *“We knew there would be so many questions we couldn't answer about human foodstuffs, and great pressure on our small research group. We didn't want to scare people unnecessarily since we knew too little yet about the problem.”*

Vale ressaltar que os resultados apontaram a necessidade de pesquisas que buscassem esclarecimentos quanto ao processo de formação da ACM durante a cocção. E reforçou-se que o estudo de bioindicadores, através da determinação de adutos, seria uma ferramenta importante na avaliação da ingestão de ACM pela dieta. (TAREKE, 2002)

A SNFA também realizou mensuração de ACM em alimentos (mais de 100 amostras). Entre as amostras incluíam-se pães; massas; arroz; peixes; salsichas; carnes de vaca e de porco; biscoitos; biscoitos doces; cereais; cerveja; produtos derivados de batatas; milho; farinha; além de alguns pratos prontos, como pizza, panqueca, empanados de carne e peixe e vegetais gratinados. As taxas de ACM variaram consideravelmente entre os grupos de alimentos, porém as batatas chips e batatas fritas apresentaram as mais altas taxas. A média encontrada nas batatas chips foi de, aproximadamente, 1000 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ e, nas batatas fritas, em torno de 500 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ (TORBJORN, 2002). A tabela 2 apresenta a concentração média, mínima e máxima de ACM em alguns alimentos na Suécia.

Tabela 2: Concentração média, mínima e máxima de acrilamida encontrada em alguns grupos de alimentos selecionados da Suécia.

Grupos de alimentos	ACM ($\mu\text{g}/\text{Kg}$)		Número de Amostras
	Média	Mín. – Máx.	
Batatas chips	980	330-2300	10
Batatas fritas	410	300-1100	6
Biscoitos e c. crackers	280	<30-640	11
Pães torrados	160	<30-1900	21
Pão	50	<30-160	21
Flocos de milho	150	120-180	3
Cereais matinais	160	<30-1400	15
Outros alimentos (pizza; panqueca; frango e peixe empanados)	40	<30-60	9

Fonte: Torbjorn, 2002

O governo sueco tornou públicas essas informações em abril de 2002. Os questionamentos quanto ao risco da presença de ACM em alimentos têm, desde então, mobilizado a comunidade pública e científica em todo mundo. A discussão aponta para a importância da avaliação de risco à saúde humana. A SNFA enfatizou que alimentos fritos, considerados prejudiciais à saúde, devem ser evitados, enquanto os produtos a base de cereais indispensáveis à dieta saudável como aporte de carboidratos devem continuar sendo consumidos. (FAO/WHO, 2002; SCF, 2002)

Críticos, na ocasião, avaliaram ter sido desnecessária a divulgação dos dados, antes de uma revisão prévia sobre o risco de câncer a partir da ingestão de alimentos fontes, pois o público teria pouco a fazer para evitar o consumo. Foram feitas acusações, contra a agência, de intuídos políticos e vantagens na aquisição de recursos. Ao contrário, toxicologistas do departamento de pesquisas da agência defenderam a decisão de publicarem os resultados, baseados na comprovação da carcinogenicidade da ACM em estudos experimentais, o que, possivelmente, preanunciaria risco à saúde humana, sendo motivo suficiente para alertar o público. (REYNOLDS, 2002)

O fato é que a ACM não se trata de um contaminante intencional que provoque efeito imediato após exposição aguda. É difícil quantificar o risco à saúde a partir de um contaminante fruto de reações entre nutrientes, o qual está sendo ingerido, provavelmente há várias décadas.

V. Ações Governamentais e de Organismos Internacionais

V.1 Primeiro Encontro de Especialistas Promovido pela Organização Mundial de Saúde

Em resposta aos achados, a comunidade científica tem se mobilizado para discutir a presença e avaliação de risco que representa a ingestão de ACM. Conseqüentemente, a Organização para Alimentação e Agricultura e a OMS anunciaram a realização de uma consultoria com especialistas no assunto, em junho de 2002 na Suíça, cujo tema “*Health Implications of Acrylamide in Food*”. (FAO/WHO, 2002; FDA, 2002 a; FS, 2002 a; 2002 b; SCHLUNDT, 2002; SFC, 2002)

A necessidade de futuras pesquisas quanto aos aspectos toxicológicos, especialmente o potencial carcinogênico e neurotóxico; avaliação da exposição pela dieta; desenvolvimento e validação de metodologia analítica de baixo custo; mecanismos de formação endógena no alimento; destino e biodisponibilidade da ACM no organismo humano foram apontados como prioridades. Estimou-se que a ingestão oral média de ACM para a população geral, de países desenvolvidos, deve estar em torno de 0,3 a 0,8 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ de massa corporal (mc), por dia, calculado para um adulto de 70 Kg, valor geralmente usado na avaliação de risco. A maior preocupação foi apontada para o público infantil, pois uma estimativa baseada na massa corporal, possivelmente eleva a ingestão relativa de tal grupo a duas a três vezes os valores encontrados em adultos. (FAO/WHO, 2002)

A OMS, ao final do encontro, reiterou a importância de hábitos alimentares saudáveis, pois a informação sobre os níveis de ACM nos alimentos é ampla e os determinantes de tal variabilidade não são conhecidos. Portanto, esclareceu que embora a magnitude do risco que representa a ingestão de ACM não possa ser quantificada, alguns princípios poderiam ser aplicados para minimizar os riscos existentes, como: não cozinhar excessivamente os alimentos por longo tempo, em altas temperaturas, com exceção das carnes e derivados; viabilizar as possibilidades de redução dos níveis por mudanças no processo de produção, a ser investigado; manter a recomendação da prática de uma dieta balanceada com variedade de frutas e vegetais, diminuindo o consumo de alimentos gordurosos e/ou fritos. (FAO/WHO, 2002)

Uma rede internacional sobre ACM foi estabelecida pela OMS (“*Acrylamide in food network*”), onde informações e pesquisas multicêntricas, oriundas de vários países, são

compartilhadas e podem ser obtidas na internet. Foram criados dois bancos de dados, um sendo operado pelo JIFSAN juntamente com a Universidade de Maryland, e outro operado pela Comissão Europeia, corpo executivo da União Europeia, onde são descritos projetos em diferentes áreas de pesquisa relacionadas à ACM. (FAO/WHO, 2002; ECFS, 2003; FSA, 2003)

V.2 Avaliação Inicial pela Comissão Europeia

O Comitê Científico de Alimentos avaliou a presença de ACM em alimentos, dentro do contexto das implicações de segurança alimentar, a fim de aumentar a base de conhecimento para possíveis medidas a serem tomadas em relação à ACM. O Comitê apontou as incertezas acerca das informações disponíveis sobre as fontes e ocorrência de ACM em alimentos, além da importância na identificação de grupos populacionais com alto risco de exposição. (SFC, 2002)

O Comitê, ainda em 1991, apontava a ACM como um monômero presente em material de embalagem em contato com o alimento e concluiu que tem ação carcinogênica e genotóxica. Os dados dos estudos de avaliação da toxicidade da ACM basearam-se em estudos experimentais e são considerados os mesmos até o momento.

Após os achados na Suécia, em 2002, o Comitê manteve sua conclusão, alertando que, no momento ainda não era possível determinar o risco à saúde humana pela presença de ACM no alimento. O Comitê também concluiu que a exposição pelo alimento deveria ser reduzida o mínimo possível, embora mais dados fossem necessários para auxiliar, principalmente, a indústria de alimentos nas estratégias de redução. (SFC, 2002)

O comitê apontou a neurotoxicidade como efeito da ACM de acordo com estudos realizados em animais e por avaliação de humanos expostos ocupacionalmente, levantou estudos que mostraram comprometimento do sistema reprodutor em ratos e camundongos machos, afetando a fertilidade, ainda que, não haja clareza se este efeito é secundário a neurotoxicidade. Além disso, o Comitê afirmou que os níveis de exposição provenientes da ingestão de ACM pela dieta devem ser, provavelmente, bem menores do que os limites responsáveis pela ação neurotóxica. (SFC, 2002)

Alguns países europeus reconheceram a necessidade de análise dos grupos de alimentos que poderiam contribuir, junto aos resultados publicados pela Suécia, com as avaliações das estimativas de ingestão da ACM pela população.

Autoridades do controle de alimentos da Noruega forneceram um panorama dos resultados analíticos obtidos de alimentos frequentemente consumidos, que contribuíram para

as estimativas de ingestão da ACM. A tabela 3 mostra a quantidade de ACM encontrada em valores médios. (NFCA, 2002)

Tabela 3: Concentração média de acrilamida em alguns alimentos na Noruega.

Alimento	ACM (µg/Kg)
Pão integral	27
Torrada integral	360
Bolo de batata	225
Batata frita	425
Batata chips	1350
Biscoito doce	750
Petiscos, outros	585

Fonte: NFCA, 2002

A Noruega defendeu a necessidade de definição de metas a serem preenchidas, a fim de facilitar as bases de entendimento da avaliação de risco da ACM em alimentos e desenvolver estratégias para reduzir os níveis de exposição. Presumivelmente, assume-se que aproximadamente 30% de todos os casos de câncer sejam atribuídos a fatores nutricionais e a ACM poderia ser responsável por 1% do total de casos relacionados ao consumo de alimentos fontes. (NFCA, 2002)

Na Alemanha, diferentes esferas do governo após a análise de alguns grupos de alimentos, notificaram a presença de ACM direto ao fabricante, solicitando mudanças no processo de produção, o que envolve o tempo de exposição a temperaturas elevadas a que os alimentos são submetidos. O objetivo é à diminuição dos níveis de ACM o quanto possível. Os resultados das análises realizadas pelo Ministério do Meio Ambiente, Agricultura e Proteção do Consumidor do Estado da Renânia do Norte-Westfalia são mostrados na tabela 4, com os respectivos números de amostras analisadas. (MUNLV/NRW, 2002)

Tabela 4: Níveis de acrilamida em alimentos analisados pelo MUNLV na Alemanha.

Alimento	ACM ($\mu\text{g}/\text{Kg}$)	Número de Amostras
Batata pré-frita	nd - 53	4
Batata frita	68 - 626	8
Nuggets congelados	20	1
Nuggets	74	1
Chips de Milho	148 - 503	2
Chips de Batata	523 - 1588	6
Torrada	66	1
Biscoito	nd - 132	5
Pão tipo "Knäcke"	182 - 1465	6

nd = não detectado

Fonte: MUNLV/NRW, 2002

V.3 A Discussão nos EUA e Iniciativas do FDA

A confirmação da ocorrência da ACM na dieta americana foi logo divulgada pela imprensa e fez surgir à primeira discussão pública na América, que ocorreu no encontro anual realizado pelo Instituto de Tecnologia de Alimentos (IFT), em Anaheim, Califórnia. (JIFSAN/NCFST, 2002 a)

Posteriormente, o FDA desenvolveu um esboço com estratégias para o seu plano de ação, que deveria servir como um guia para as ações pertinentes ao controle da ACM na dieta americana, e que contemplava: análises de vários grupos de alimentos; análise da exposição da população, baseada em pesquisas de frequência de consumo de alimentos; informações toxicológicas; metodologia analítica para detecção de ACM, além da realização de encontros e projetos colaborativos. O plano de ação tornou-se público em 30 de setembro de 2002 e vem sendo revisado periodicamente. (FDA, 2002 a; 2002 b; 2002 c; 2002 d; 2002 e; FDA, 2003)

Em outubro de 2002, um "Workshop" em Chicago, reuniu além de representatividades do governo, especialistas no assunto, a indústria de alimentos e a associação do comércio. O evento foi organizado pelo JIFSAN, Universidade de Maryland, College Park, e o NCFST. A discussão foi realizada por grupos de trabalhos pré-estabelecidos para o evento, com o propósito de fomentar a discussão sobre as principais áreas de interesse referente à nova descoberta: mecanismo de formação; metodologia analítica; exposição e bioindicadores; toxicologia e consequências metabólicas e comunicação do risco. (JIFSAN/NCFST, 2002 a)

Vale ressaltar que o Workshop não almejava consenso por parte dos grupos, no que diz respeito à criação de propostas de política de ação para os governos, mas, sim, que se compartilhassem informações, como passo inicial na discussão da formação de ACM, apontando alvos importantes de futuras investigações nas diferentes áreas.

Em fevereiro de 2003, o FDA junto ao CFSAN realizaram um novo evento que trouxe, entre outras, a discussão quanto as possíveis estratégias de redução dos níveis de ACM, destacando a importância da participação da indústria de alimentos na detecção de pontos críticos que são os fatores externos, como tempo, temperatura e pH envolvidos no processamento dos alimentos. O encontro revisou o plano de ação, a fim de que se incluíssem novas atividades de pesquisas. O FDA (2003 p. 6) manteve o aviso de que “ *The consumers should have a balanced diet, selecting low trans and saturated fat foods, rich in fibers, fruits and vegetables*”.

O FDA conta com um programa de monitoramento, o “Total Diet Study” , cujas estimativas de ingestão de contaminantes químicos são fornecidas anualmente. O programa tem sido conduzido desde 1960 e é um componente importante para a prática de segurança alimentar do governo, onde o foco direciona-se à presença de resíduos de pesticidas, químicos industriais e radionuclídeos. Quatro cestas de alimentos são obtidas de mercearias, restaurantes e fast-food, a cada ano, das quatro regiões geográficas do país, onde, para cada cesta 286 produtos são submetidos a análises. A partir de 2003, o programa incluiu a ACM para identificar sua ocorrência no suprimento da dieta americana, porém os dados são considerados exploratórios e, segundo o FDA, não devem ser um indicador para escolha de determinados produtos em detrimento de outros, pelo consumidor (FDA, 2002 f; FDA, 2004 a; FDA 2004 b). A tabela 5 mostra uma síntese dos resultados obtidos dos principais alimentos envolvidos entre as quatro cestas analisadas, no programa de 2003.

Tabela 5: Níveis de acrilamida em amostras de produtos provenientes das diferentes cestas de alimentos, do programa governamental “Total Diet Study”, nos EUA, no ano de 2003.

Descrição do Produto	Cesta I ACM (ppb)	Cesta II ACM (ppb)	Cesta III ACM (ppb)	Cesta IV ACM (ppb)
Biscoito doce	246	161	267	105
Biscoitos para bebês	166	147	235	128
Sopa de legumes	67	44	27	23
Macarrão com carne	53	30	24	17
Arroz com carne de peru	10	28	14	47
Cereais de aveia	ND	ND	X	X
Chicken nuggets, Fast Food	26	23	22	22
Pão integral	34	24	39	59
Corn Flakes cereal	71	59	54	56
Cream-Crackers	552	211	647	555
Batata assada	32	17	22	29
Batata frita, Fast Food	381	432	416	450
Batata chips	467	264	536	292
Azeitona Preta	424	123	162	204
Suco de ameixa (garrafa)	160	185	202	53
Pipoca	150	352	97	146
Café, pó	ND	ND	12	ND

ND= não detectado ; X= indica que o alimento não foi analisado para ACM

Fonte: FDA, 2004 b

Importante ressaltar que na revisão e atualização do plano de ação, em março de 2004, cientistas americanos afirmaram que a formação de ACM não era suficientemente conhecida para justificar mudanças práticas nas técnicas de produção dos alimentos que pudessem permitir sua redução. Apontaram a importância de se identificar todos os caminhos envolvidos no mecanismo de formação, para então, buscar as estratégias de redução da ACM. (FDA, 2004 a)

O governo do Canadá conduziu preliminarmente estudos analíticos voltados a confirmar os achados da Suécia. As análises foram realizadas, inicialmente, nos alimentos que mostraram os maiores índices de ACM, de acordo com os dados publicados na Suécia, as

batatas, biscoitos, cereais processados e pão. Após confirmação dos resultados, condizentes com os de outros países, o Canadá realizou análises em outros alimentos, igualmente submetidos a altas temperaturas como o café e amêndoas torradas. Cientistas apontaram a variabilidade encontrada nos níveis de ACM entre uma amostra e outra, e ainda em produtos do mesmo fabricante. Além disso, concentraram esforços em pesquisas de evidências do mecanismo de formação, cuja descoberta e publicação ocorreram posteriormente, no mesmo ano. A tabela 6 mostra as concentrações médias de ACM e o número de amostras analisadas. (HC, 2002 a; HC, 2002 b)

Tabela 6: Concentração média, mínima e máxima de acrilamida e o número de amostras de alimentos analisados no Canadá.

Alimento	Nº Amostra	Média (ppb)	Mín. (ppb)	Máx. (ppb)
Cerveja	5	< 6	< 6	< 6
Pão	10	27	14	47
Pão (torrado)	2	159	28	290
Cereais	3	130	100	170
Produtos de chocolate	8	< 50	< 2	190
Café	11	27	4	150
Batata frita	8	679	59	1900
Batata chips	10	1271	430	3700
Batata cozida e amassada	1	< 4		
Batata chips doce	1	260		
Manteiga de amendoim	1	53		
Nuts tostadas, sementes e legumes	5	87	25	260
Hamburger (fast food)	1	< 3		

Fonte: HC, 2002 a; HC, 2002 b

O desenvolvimento metodológico para identificação de ACM é uma das metas estabelecidas pela OMS e o SCF, pois os métodos existentes podem apresentar problemas técnicos, são considerados de alto custo, e acabam sendo utilizados métodos de acordo com a escolha de cada país. Destaca-se a necessidade de desenvolvimento de método de baixo custo que possa ser utilizado de rotina na análise de ACM em maior número de alimentos possíveis, inclusive podendo ser adotado por países em desenvolvimento, a fim de que se aprimorem as estimativas de ingestão da ACM pela dieta.

Até o momento, ainda são poucos os métodos divulgados, mesmo considerando-se as diferentes matrizes em que a ACM pode ocorrer. Talvez, a característica mais significativa na comparabilidade dos resultados de diferentes métodos esteja na falta de harmonização dos protocolos para preparação das amostras. Há numerosas diferenças nos procedimentos de extração, além da composição da solução usada para extração, o tempo e a temperatura utilizada. (ROSÉN, 2002; WENZL, 2003)

V.4 Novo Encontro Realizado pela OMS

Em março de 2003, a OMS organizou um novo seminário que foi realizado na Tanzânia, onde se priorizou a discussão levantada em torno da comunicação de risco pela Suécia.

Entre as apresentações, a Ministra da Agricultura da Noruega relatou que o impacto da ACM não tem sido tão grande quanto se esperava e atribuiu isto ao fato da ACM parecer um fenômeno seminatural, tendo sua formação influenciada pelos diferentes tipos de processamentos dos alimentos. Segundo ela, as pessoas tendem a aceitar melhor os riscos causados naturalmente do que aqueles provocados pelo homem. Embora algumas vezes tenham entendido que houve alarme desnecessário causado pelas autoridades da Suécia, a ministra frizou que o governo da Noruega não compartilhava da mesma opinião, pois a SNFA comunicou os fatos, as incertezas e opiniões referentes à ACM em alimentos, em um diálogo franco e aberto, o que contribuiria para aumentar a responsabilidade das futuras análises de risco relacionadas à ACM. (REKNES, 2003)

Vale ressaltar, que o “The Norwegian Food Research Institute” também organizou um “workshop” na ocasião, com representatividades do governo, da indústria, além de pesquisadores e consumidores. O foco do encontro foi à discussão quanto às estratégias para reduzir os níveis de ACM. (REKNES, 2003)

V.5 Opinião do Comitê do Codex de Aditivos e Contaminantes de Alimentos

Em sua trigésima quinta sessão, o Comitê do Codex de Aditivos e Contaminantes de Alimentos (CCFAC) acordou para o fato de que os EUA; Reino Unido; Austrália; Irlanda; Japão; Suíça; União Européia e a OMS, poderiam preparar um documento que abordasse a discussão sobre a ACM, e que, posteriormente, servisse de base para circulação entre países, reunindo propostas e atividades a serem discutidas na próxima sessão. (CODEX, 2004)

Na trigésima sexta sessão, o Comitê apontou as dificuldades encontradas pelos países em desenvolvimento, com respeito à metodologia de análise para ACM e outros contaminantes. Levantou a questão da exposição infantil, como parte da população que consome maior quantidade dos alimentos fontes do composto. Além disso, declarou que a assistência prestada pela FAO/WHO foi necessária para que se alcançasse maior capacidade de construção nessa área, particularmente nos países subdesenvolvidos. O CCFAC colocou a ACM como prioridade na lista de substâncias para avaliação de risco pelo Comitê da FAO/WHO de aditivos de alimentos (JECFA), o qual, agendou seu próximo encontro para fevereiro de 2005. (CODEX, 2004)

O CCFAC relata que persistem as incertezas quanto à questão do impacto da ACM na saúde pública. As pessoas vêm consumindo alimentos fontes da substância por décadas, por ser a ACM fruto de reações que ocorrem durante a exposição do alimento ao calor, particularmente alimentos ricos em carboidratos, como as batatas; os cereais, além do café. (CODEX, 2004)

Estudos a identificam como uma substância capaz de induzir o câncer em experimentos, e como resultado a consideram um potencial carcinógeno humano. No entanto, não está claro se a ACM é responsável pelo processo cancerígeno no homem, principalmente, a partir dos menores níveis de exposição pelos alimentos. Alguns estudos epidemiológicos de pessoas expostas em locais de trabalho e através da dieta vem sendo realizado, porém não há associações do aumento de câncer a partir da exposição ocupacional ou alimentar. De fato, esses estudos têm poder limitado para detectar este tipo de efeito, mas isso não isenta o risco da presença da ACM em alimentos. (CODEX, 2004)

No momento, o Codex fomenta a discussão de que a formação da ACM não é suficientemente conhecida para justificar mudanças práticas e efetivas nas técnicas de preparo e produção de alimentos, que possam permitir minimizar seus níveis. Portanto, é imprescindível a identificação dos diferentes caminhos esclarecedores da ocorrência de ACM em alimentos, que ofereçam subsídios para chegar às estratégias de redução e/ou prevenção da sua formação, durante o processo de cocção dos alimentos. (CODEX, 2004)

VI. Mecanismos de Formação Propostos da ACM em Alimentos

VI.1 Possíveis Alterações em Alimentos

Os alimentos, qualquer que seja a sua origem e estado (inerte, como matéria-prima, em forma de preparação ou produto alimentício), estão sujeitos a alterações. Estas podem ser favorecidas por condições e características do próprio alimento, sua origem, valor nutritivo, estrutura, constituição química e estado físico. Aquelas alterações favorecidas por agentes desencadeantes como a presença microbiana, atividade enzimática ou outras de natureza química ou física, ação de insetos e roedores, e outros agentes de diferentes origens, constituem as mais importantes causas de alterações em alimentos. (EVANGELISTA, 1992)

Final da década de 60 e início da década de 70 surgiram os primeiros estudos de compostos químicos que são gerados no preparo do alimento (JIFSAN, 2002). Os Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), em especial o benzo-[a]-pireno (BaP), aparece em carnes grelhadas e em alimentos defumados com maior frequência. Os compostos N-nitrosos foram apontados inicialmente no final da década de 50 na Noruega, e têm sido encontrados freqüentemente em carnes curadas e defumadas, alimentos embutidos, além de bebidas à base de malte. Numerosos estudos epidemiológicos têm tentado mostrar uma associação entre a exposição a tais compostos e o risco de câncer. (MIDIO, 2000)

A investigação da presença de ACM em alimentos ocorreu devido ao link da descoberta de aminas heterocíclicas (HTA) em carnes, também na década de 70. Tais compostos considerados mutagênicos foram identificados por pesquisadores japoneses e serviu de base para os suecos, fomentar a hipótese de que a ACM também poderia ser formada pelo processo de cocção do alimento. (ERICKSON, 2004)

Os avanços nas análises quantitativa e qualitativa de tais compostos foram possíveis, devido às técnicas de cromatografia e espectrometria de massas. Embora, ainda seja grande o desafio de estabelecer a correlação da exposição a tais contaminantes alimentares, com a incidência de diferentes tipos de tumores. (JIFSAN/NCFST, 2002 b)

No Final dos anos 90 a ACM foi identificada como um contaminante que alcança a cadeia alimentar não por fontes ambientais, mas como resultado de métodos tradicionais de cocção. Assim, alimentos fritos, assados e torrados por reações químicas entre nutrientes, favorecem sua formação (FDA, 2002 a; 2002 e; FDA, 2003; FSA, 2002 c). Sendo pouco

provável que embalagens plásticas que contém poliacrilamida na composição, sejam responsáveis por sua migração para o alimento. (FSA, 2002 a)

VI.2 O Envolvimento da Reação de Maillard na Formação de ACM

O conhecimento dos caminhos esclarecedores do mecanismo de formação da ACM pode ajudar a identificar aqueles que, possivelmente contribuem com as maiores taxas de ingestão da substância. No momento, sabe-se, com certeza, que é necessária a presença de um precursor que contenha nitrogênio. (JIFSAN/NCFST, 2002 a)

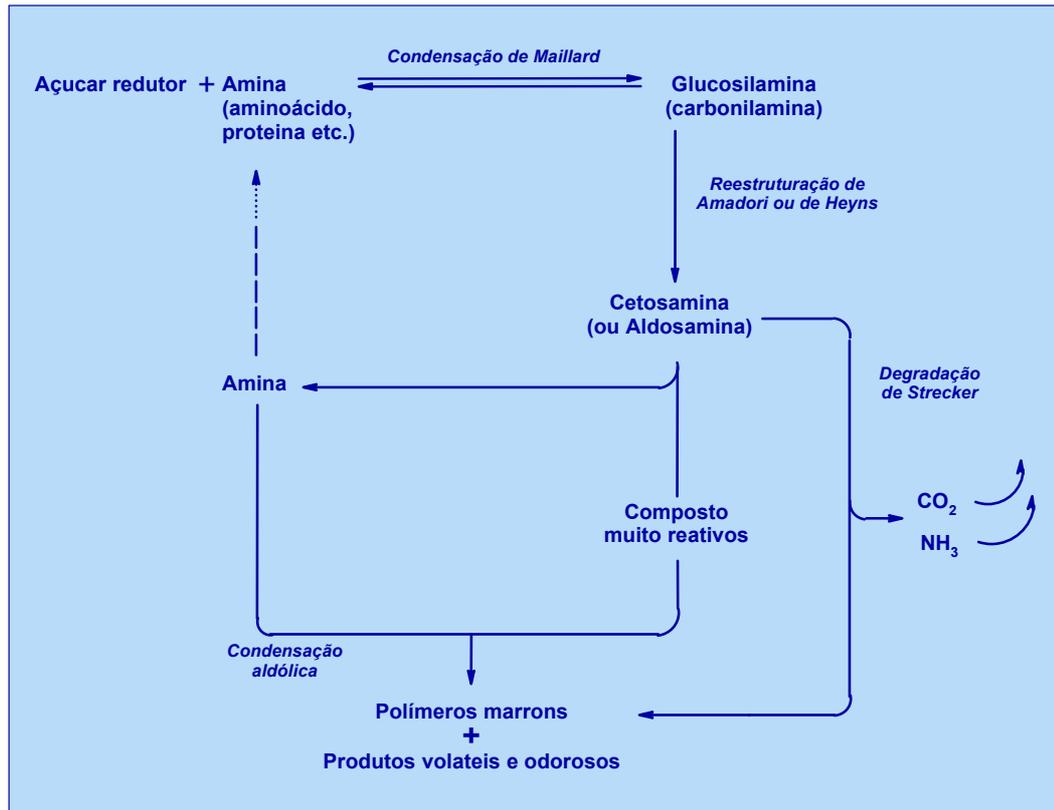
No final de setembro de 2002, pesquisadores da Inglaterra, Alemanha, Austrália e Canadá apontaram um possível mecanismo de formação da ACM a partir de reações de Maillard, que são responsáveis, em sua maioria, pela cor e o sabor adquirido pelo alimento nos processos de cocção. (FDA, 2002 a; FS, 2002 c; JIFSAN/NCFST, 2002 a; LASZLO, 1986)

Segundo Sharp (2003, p. 361) “em 1912 Louis Camille Maillard descreveu a reação de condensação entre proteínas e carboidratos que tem sido, desde então, quase uma especialidade da química orgânica”.

O escurecimento não enzimático ou browning químico (reação de Maillard) é um tipo de alteração provocada por causas químicas. A pigmentação marron produzida por substâncias polimerizadas é dada pela melanoidina. A reação acontece quando o grupo amino de aminoácidos e compostos carbonilas de açúcares redutores, em especial glicose; frutose; maltose e lactose reagem entre si quando aquecidos. A reação abrange uma série de segmentos onde ocorrem combinações, rearranjos e fragmentação de moléculas, tendo como produto final as melanoidinas (pigmento marron), o qual tem grande influência na qualidade de alimentos processados. (ASHOOR & ZENT, 1984; CHEFTEL, 1992; EVANGELISTA, 1992;)

O início da reação de Maillard se dá com a união dos grupos amino e carbonila. A partir dessa reação, se verifica o rearranjo conhecido como de Amadori, que é a isomerização da glicosilamina; a formação da base de Schiff; a degradação de Strecker e algumas reações intermediárias, de onde surge o hidroximetil furfural, cuja polimerização dará origem à melanoidina, conforme esquema da figura 6. (EVANGELISTA, 1992; CHEFTEL, 1992)

Figura 6: Principais estágios da reação de Maillard.



Fonte: Cheftel, 1992

Há que se considerar que a reação de Maillard pode originar efeitos indesejáveis, provocando odor e sabor desagradáveis em certos alimentos submetidos à pasteurização, como o leite e sucos de fruta, além de perda do valor nutritivo, por tornar indisponíveis os nutrientes envolvidos na reação. Por outro lado, numerosos alimentos se beneficiam com as reações de escurecimento não enzimático, sendo necessárias, na maioria das vezes, para melhoria das características sensoriais dos alimentos. (CHEFTEL, 1992)

O fato é que a reação de Maillard poderia indicar concentrações altas de ACM observada em certos alimentos, pois açúcares redutores e aminoácidos livres, são também precursores das características de sabor e o escurecimento do alimento durante seu preparo, o qual, ocorreria paralelamente à formação da ACM.

Embora os trabalhos apontem a reação de Maillard como principal caminho para esclarecer a formação da ACM, há que se verificar que não se trata de uma simples reação onde $A + B = C$. No momento, pouco se conhece sobre as fontes de ACM no alimento. A reação de Maillard envolve uma cascata de reações e estudos têm testado hipóteses que buscam esclarecer os principais estágios da reação, que possam ser responsável pela maior geração de ACM.

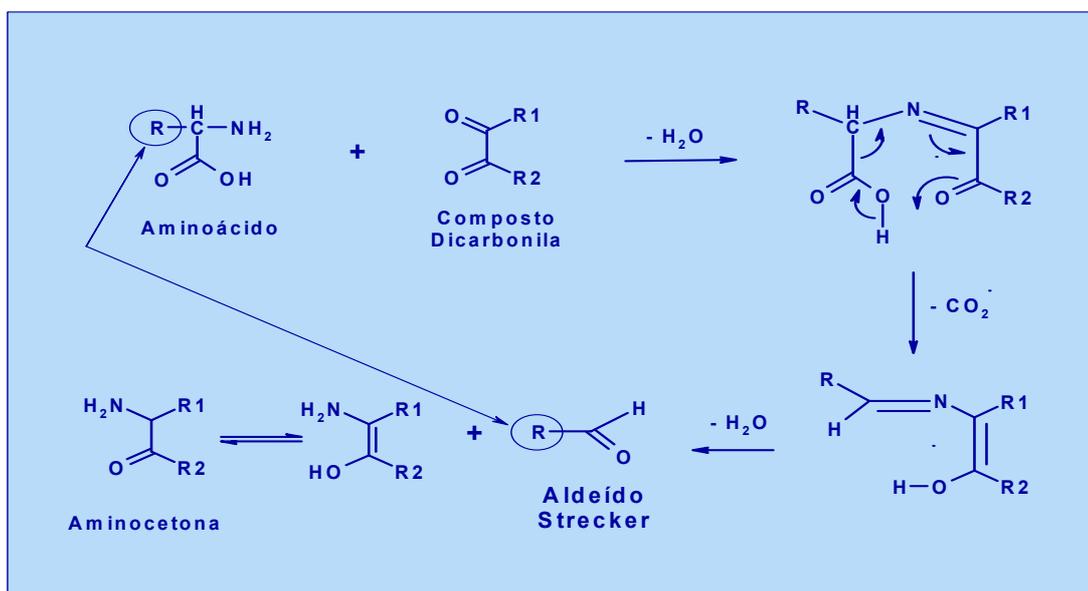
VI.3 O Papel da Asparagina

A importância da asparagina no mecanismo de formação da ACM foi relatado inicialmente no encontro anual da “Association of Official Analytical Chemists” (AOAC), em setembro de 2002, potencializando a discussão que contribuiu, posteriormente, para publicação de numerosos estudos.

A reação de Maillard envolvendo aminoácidos, em especial a asparagina, pode produzir ACM, o que poderia explicar concentrações elevadas da substância em determinados alimentos após a cocção. Mottram (2002) reconheceu a importância da asparagina como um dos reagentes, além de compostos dicarbonilas que seriam necessários como co-reagentes na degradação de Strecker.

O esquema na figura 7 mostra a degradação Strecker de aminoácidos, onde o grupamento R do aminoácido determina a formação do aldeído Strecker, depois de reagir com compostos dicarbonilas. Conseqüentemente, ocorre a formação de aminocetonas que são compostos responsáveis pelas características do odor exalado pelo alimento durante seu preparo. (JIFSAN/NCFST, 2002 a)

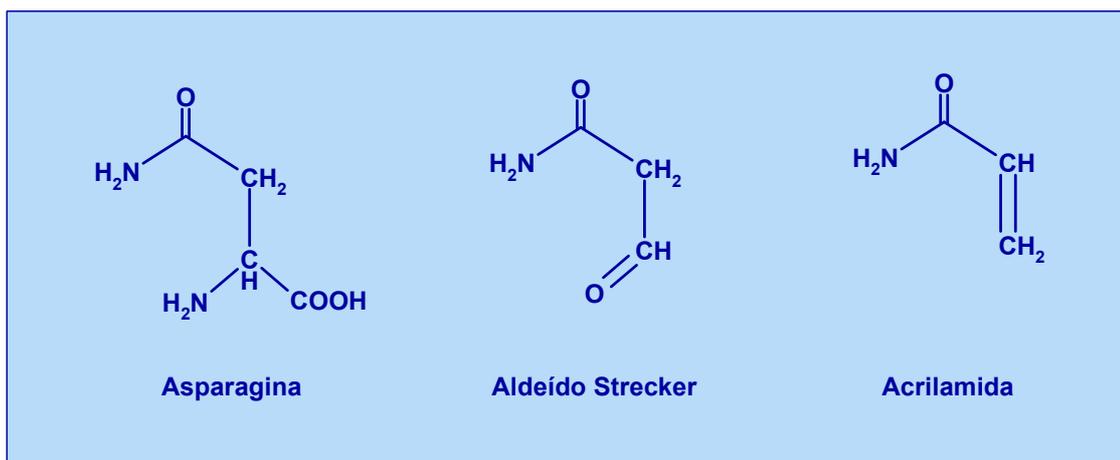
Figura 7: Degradação Strecker de Aminoácidos



Fonte: JIFSAN/NCFST, 2002 a

A asparagina aparece, em seguida, como possível precursora na reação de Maillard, pois a degradação Strecker poderia gerar um aldeído com três átomos de carbono, incluindo um grupo amida, conforme a figura 8. Tais reações poderiam explicar a possível rota de formação da ACM. (JIFSAN/NCFST, 2002 a)

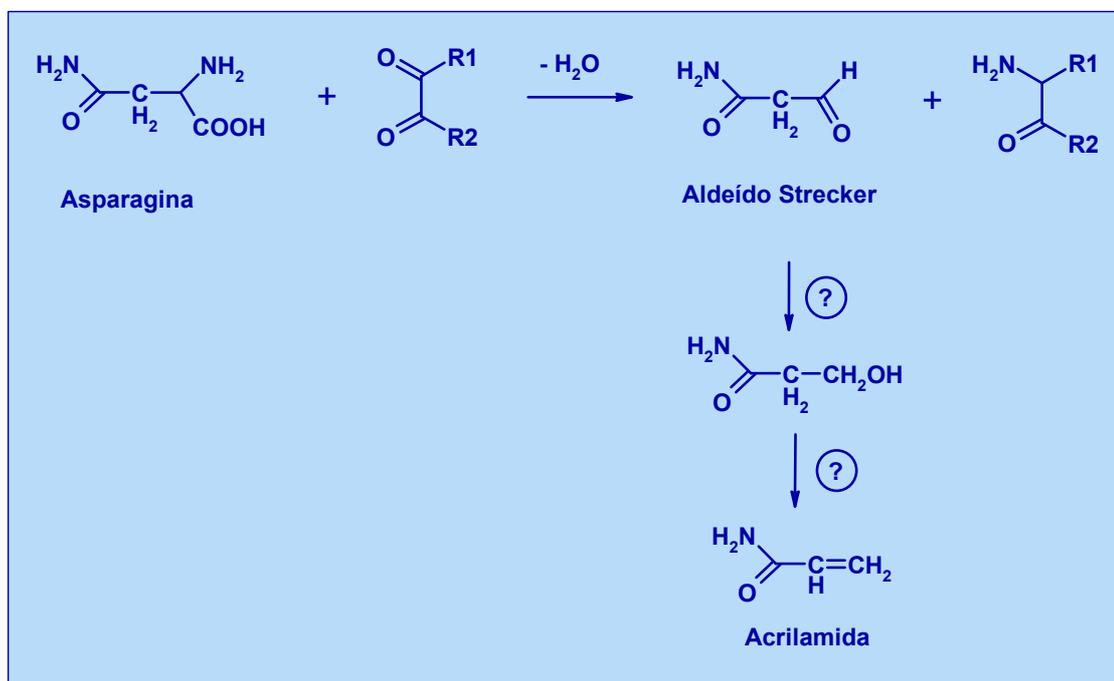
Figura 8 : Semelhança estrutural de asparagina, aldeído de Strecker e acrilamida.



Fonte: JIFSAN/NCFST, 2002 a

A partir da formação do aldeído de Strecker, após reação da asparagina com compostos dicarbonilas, há possível formação de compostos intermediários, não identificados, e, então de ACM, conforme mostra a figura 9.

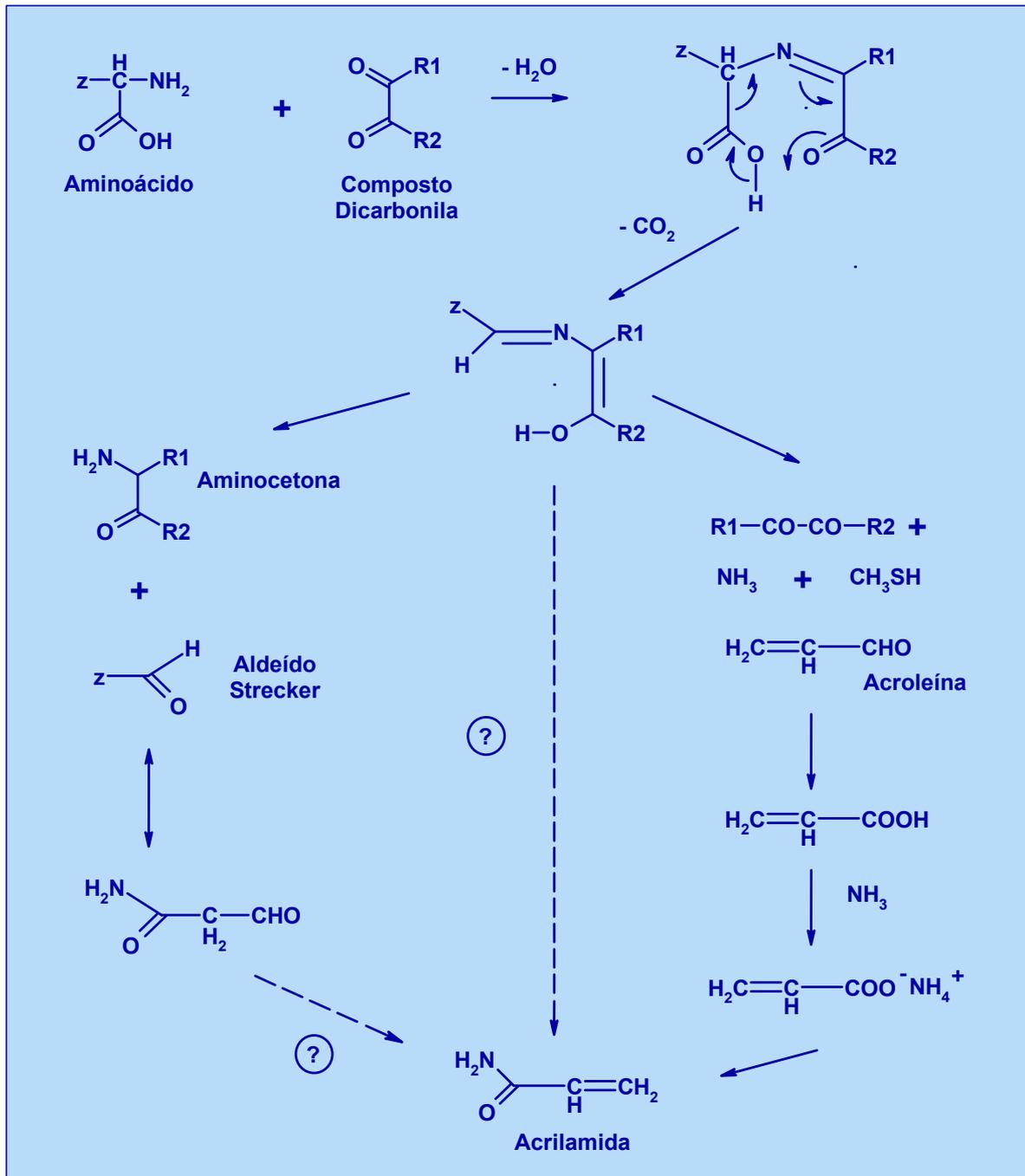
Figura 9: Possível mecanismo de formação da acrilamida a partir da asparagina.



Fonte: JIFSAN/NCFST, 2002 a

Aponta-se a presença da acroleína na figura 10 que poderia aparecer como substância intermediária no processo de formação da ACM, cuja participação é discutida mais adiante.

Figura 10: Formação intermediária de acroleína.



Fonte: JIFSAN/NCFST, 2002 a

Posteriormente, outras investigações buscaram caminhos esclarecedores do mecanismo de formação da ACM. Pesquisadores do Centro de Pesquisa da Nestlé, na Suíça, também tentaram identificar a presença de ACM, a partir do aquecimento de diferentes aminoácidos como asparagina; glutamina; metionina e cisteína, com quantia equimolar de açúcares como frutose; galactose; lactose e sacarose. A presença de quantidades significativas de ACM se deu a partir da formação inicial de N-glicosídeos, produto da reação entre açúcares e a asparagina. Porém, as reações entre tais açúcares com outros aminoácidos

formaram quantidades traço de ACM. Além disso, a ACM não foi detectada quando açúcares e/ou aminoácidos foram aquecidos sozinhos, conforme mostra a tabela 7. (STADLER, 2002)

Tabela 7: Acrilamida produzida por reações entre açúcares e aminoácidos

Aminoácido	ACM (mg/mol)	
	Com água	seco
Asparagina	221	25
Metionina	nd	5
Glicina	nd	nd
Cisteína	nd	nd
Glutamina	tr	tr
Ácido aspártico	tr	nd
Asparagina aquecida sozinha	nd	nd

Nd = não detectado ; tr = traços

Fonte: Stadler, 2002

Portanto, as evidências apontam a asparagina como principal aminoácido envolvido na reação de Maillard e um dos precursores chave no mecanismo de formação da ACM.

Vale ressaltar, que há carência de informações e tabelas que apresentem dados da análise do teor de aminoácidos livres ou açúcares, nos alimentos de forma geral. Isso mantém o desafio na identificação dos alimentos cuja composição revele a presença de precursores chave, responsáveis pela formação da ACM.

A tabela 8 mostra as concentrações de asparagina em alguns alimentos de acordo com dados compilados de Friedman (2003), que chama atenção quanto a possíveis variações nos níveis de asparagina a partir das condições de estocagem, exposição ao calor e outras condições de processamento de alimentos.

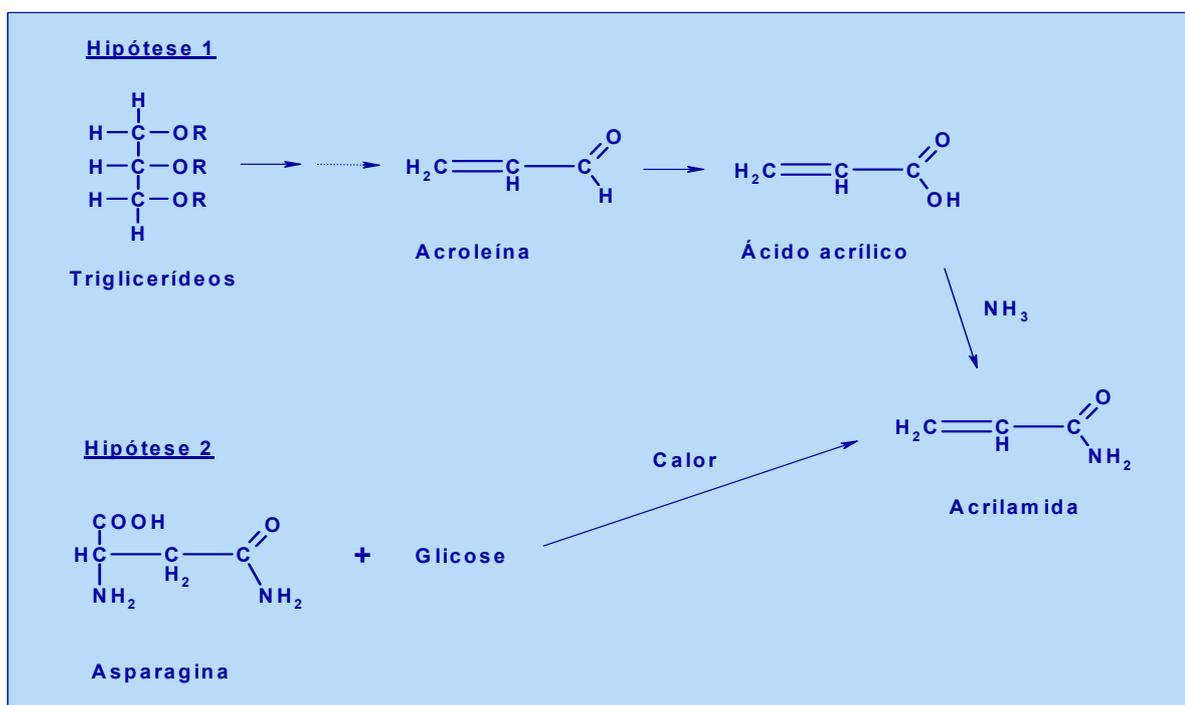
Tabela 8: Níveis de asparagina em diferentes vegetais e frutas.

Alimento	Asparagina (mg/Kg)	Alimento	Asparagina (mg/Kg)
Aspargo, seco	11000-94000	Maçãs	315-588
Amêndoas	980-6410	Brocoli fresco	578
Lentilha, seca	1900-6200	Suco de maçã	323
Batata fresca	2500-3500	Chocolate em pó	309
Feijão	3840	Suco de abacaxi	247
Batata, seca	580-3300	Suco de uva	4
Trigo	1540	Vinho	0.67-27
Espinafre, seco	460-1470	Carne de boi	0.4
Couve-flor fresca	54-1060	-	-

Fonte: Friedman, 2003

Pesquisadores no Canadá testaram duas hipóteses que poderiam ser responsáveis pela produção de ACM: a primeira hipótese se refere à ACM ser formada a partir de óleos e compostos contendo nitrogênio, presentes no alimento (figura 11 – Hipótese 1). O esquema mais plausível envolveria a formação de acroleína a partir da degradação térmica do glicerol; a oxidação da acroleína a ácido acrílico, e finalmente a reação do ácido acrílico com a amônia, que poderia ser gerada potencialmente pela pirólise dos compostos contendo nitrogênio. A segunda hipótese é que a ACM poderia ser formada sozinha, por rearranjos entre compostos contendo nitrogênio e açúcares (figura 11 – Hipótese 2). (BECALSKI, 2003)

Figura 11: Hipóteses de formação da acrilamida a partir de óleos (1) e compostos nitrogenados (2)



Fonte: Becalski, 2003

Primeiramente, os autores afirmaram que a análise dos níveis de ACM encontrados em alimentos comerciais no Canadá, como batatas chips, batatas fritas, cereais e pães, foram similares aos dados relatados pela Suécia. Por exemplo, os valores em batatas chips (330-2300 µg/Kg) e batatas fritas (300-1100 µg/Kg), na Suécia, se assemelhavam aos do Canadá, de 530-3700 µg/Kg e 200-1900 µg/Kg, respectivamente. Baseados em misturas de glicose e aminoácidos comumente presentes em batatas, (asparagina, ácido aspártico, glutamina, ácido glutâmico, valina), além da lisina que foi incluída por ser um aminoácido ativo na reação de Maillard, os pesquisadores criaram um modelo de reações, onde a asparagina pareceu ser o principal precursor na formação de ACM. (BECALSKI, 2003)

Vale ressaltar, que fatias de batatas após preparo em laboratório foram fritas em diferentes tipos de óleos, inclusive óleo de parafina que não contém triglicerídeos, cuja decomposição origina acroleína. Os resultados mostraram níveis semelhantes de ACM. A adição de carbonato de amônia que se decompôs em gás de amônia, durante a fritura, também não promoveu alterações significativas nos níveis de ACM. Portanto, a acroleína não pareceu ser a principal via de formação da ACM. (BECALSKI, 2003)

A reutilização de óleos no preparo de batatas, em relação ao óleo fresco, também não implicou em maior formação da ACM, conforme relatado no encontro do “Food Advisory Committee” (FAC), em fevereiro de 2003. Não houve variação significativa nos níveis de

ACM, quando se utilizou óleo oxidado e/ou envelhecido, e óleo fresco para o preparo de batatas, o qual, desmistificou o processo de formação da ACM atribuída somente às técnicas de preparo do alimento submerso em óleos para fritura.

De fato, há que se apontar que tais investigações são fruto de resultados iniciais, na busca dos principais componentes envolvidos nas reações que dão origem a ACM.

Em sistemas modelares de escurecimento, a asparagina quando aquecida sozinha, produziu ACM via degradação térmica em níveis de 0,99 µg/g de asparagina. Quando aquecida com trioleína, o que levou à formação de acroleína, os níveis de ACM alcançaram 88,6 µg/g de asparagina. Por outro lado, quando a acroleína foi aquecida com glutamina, sob as mesmas condições, somente traços de ACM foram detectados (0,18 µg/g de glutamina). Níveis elevados de ACM também foram obtidos a partir do aquecimento da amônia com acroleína a 180 °C. A reação do ácido acrílico que é produto de oxidação da acroleína e amônia promoveu níveis elevados de ACM, que alcançou valores de 190.000 µg/g de amônia, apontando a relevância da amônia e a acroleína como precursores, em alimentos ricos em lipídios. Portanto, apesar da ACM possivelmente, poder ser gerada a partir da degradação térmica da asparagina, os compostos carbonílicos, como acroleína parecem promover sua formação via reação de escurecimento. (YASUHARA, 2003)

VI.4 A Importância do Carboidrato

Níveis elevados de ACM têm sido encontrados em batatas (*Sollanum tuberosum*), cuja justificativa é dada pelo seu teor de aminoácidos livres, em especial a asparagina, o principal aminoácido envolvido. Porém, dependendo das condições de armazenagem, esse vegetal rico em carboidrato, se mantido em temperaturas baixas por algumas semanas, pode proporcionar o desdobramento do amido, liberando quantidades significativas de glicose livre que a partir de grupos carbonílicos, reage com aminoácidos. (JIFSAN/NCFST, 2002 a)

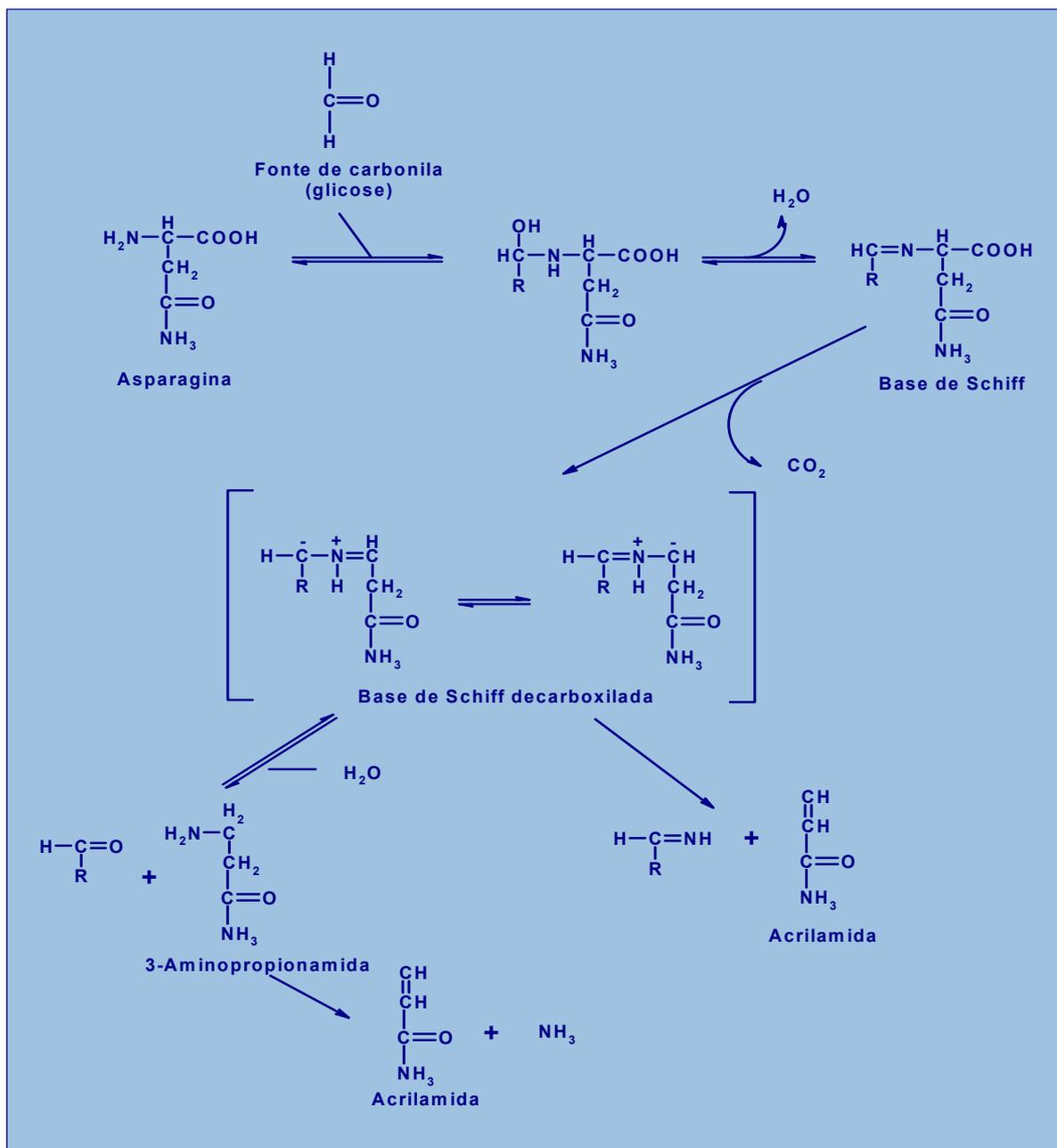
Na perspectiva de identificar o potencial de formação da ACM em função da composição de diferentes cultivares de batata, pesquisadores na Suíça elaboraram um estudo que pudesse analisar a quantidade de glicose, frutose, sacarose, asparagina e glutamina, em amostras de 17 tipos de cultivares, procedentes de diferentes regiões do país. Os cultivares apresentaram diferenças no potencial de formação da ACM, o qual, primariamente, pareceu estar relacionado com o teor de açúcares livres dos vegetais, pois os níveis de asparagina não variaram. Os dados foram obtidos a partir da garantia no controle de qualidade das amostras, envolvendo as técnicas de cultivo, condições de colheita e estocagem do material, sendo a análise feita mediante o preparo da batata em forno pré-aquecido e detectada por CG/EM. (AMREIN, 2003)

Como os diferentes tipos de batatas não mostraram entre si, variações no teor de asparagina, ao contrário dos açúcares livres, os pesquisadores consideraram a importância na quantidade de tais açúcares presentes nos vegetais, e sua relação com o potencial de formação da ACM. (AMREIN, 2003)

Um estudo que utilizou o banco de dados do JIFSAN descreve, a partir de sistemas modelares de reações químicas, o envolvimento do carboidrato como base para formação da ACM. A asparagina poderia ser convertida à ACM por reações de desaminação e descarboxilação, tendo como produto intermediário a maleimida, por reação de ciclização intramolecular. Porém, a importância da presença de açúcares redutores reside na origem da base Schiff que se forma mediante um produto Amadori descarboxilado, a partir da asparagina. (YAYLAYAN, 2003)

Um outro mecanismo proposto mostra a presença do α -amino grupo da asparagina reagindo com a fonte carbonila da glicose, formando uma base Schiff que sob condições de aquecimento pode sofrer descarboxilação, e formar um produto intermediário que pode ser hidrolizado a 3-aminopropionamida. Esta pode ser degradada via eliminação de amônia para formar ACM, ou alternativamente, a própria base Schiff descarboxilada poderia se decompor diretamente para formar ACM via eliminação de uma amina. O mecanismo mais provável da ocorrência endógena de ACM em alimentos envolve a reação da asparagina com carbonilas reativas que, através de compostos intermediários, como a base de Schiff, a base de Schiff descarboxilada e o 3-aminopropionamida favorecem sua formação, conforme mostra a figura 12. (ZYZAK, 2003)

Figura 12: Hipótese de formação da acrilamida a partir da base Schiff descarboxilada.



Fonte: Zyzak, 2003

Becalski (2004), na expectativa de compreender a relação entre açúcares redutores (glicose, frutose e sacarose) com aminoácidos na formação de ACM, amostras de batatas foram selecionadas e preparadas para fritura, simulando um processamento industrial. Os vegetais apresentaram grande variabilidade na composição de tais açúcares, que representam mais de 90% de todos os carboidratos contidos em tubérculos como a batata. Os resultados confirmaram os achados referentes à presença de precursores, como asparagina e açúcares no processo de formação da ACM e apontaram que o controle no uso da matéria-prima com

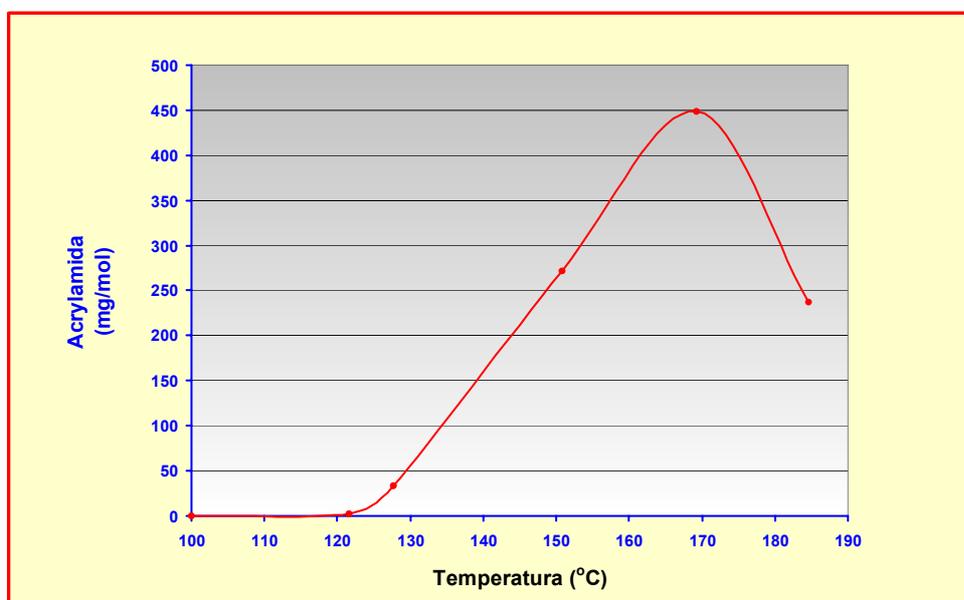
baixos teores de açúcares redutores em sua composição pode ser um caminho para minimizar sua formação.

VI.5 Influência de Fatores Externos na Formação de ACM e Possíveis Meios de Evitá-la

As informações pertinentes aos parâmetros envolvidos no preparo de alimentos, influenciando o processo de formação da ACM e os possíveis meios de minimizá-la são ainda limitadas. Porém, a dependência de tais fatores como tempo, temperatura, pH, associados à sua formação, tem despertado interesse de pesquisadores, pela possibilidade de identificação dos pontos críticos responsáveis por sua maior geração.

Mottram (2002) demonstrou que a temperatura é relevante entre a possível influência de fatores externos ligados ao mecanismo de formação. No estudo, a ACM foi detectada quando misturas equimolares de asparagina e glicose reagiram a 185 °C com um sistema tampão fosfato em tubo de ensaio fechado. Em reações similares entre a glicose com outros aminoácidos, como a glicina, cisteína ou metionina a 185 °C, a ACM não foi detectada. Com a glutamina e o ácido aspártico apareceram quantidades traço. A figura 13 mostra o início da reação ocorrendo em temperaturas a partir de 120 °C.

Figura 13: Formação de acrilamida em função da temperatura.

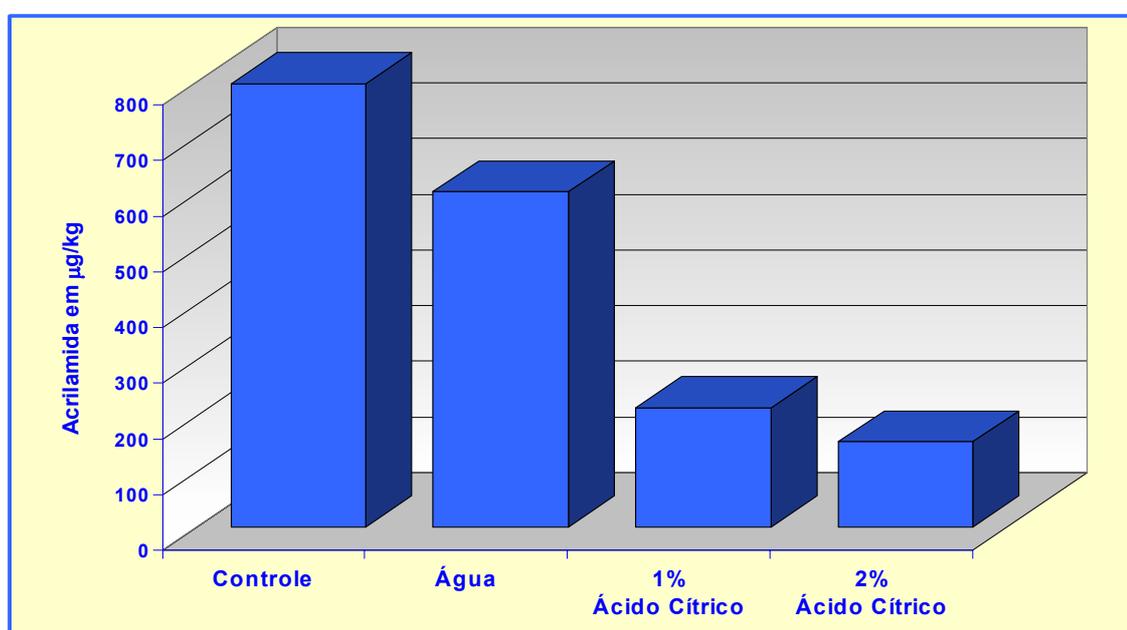


Fonte: Mottram, 2002

A primeira investigação de uma possível estratégia para limitar os níveis de ACM baseou-se em efeitos obtidos pela alteração do pH, através do uso de acidulantes (ácido

cítrico) em amostras de batatas para frituras. As amostras foram mergulhadas em água destilada e solução de 1 e 2% de ácido cítrico, 1 hora antes da fritura. Os valores de pH foram obtidos após espremer e obter o suco das amostras, e corresponderam a 6,2; 6,2; 5,2 e 4,9, para o controle, amostras em água destilada, solução de 1 e 2%, respectivamente. Posteriormente, foram submetidas à fritura em óleo de milho a 190°C por 6 minutos e meio. Os níveis de ACM foram comparativamente maiores entre as amostras sem a adição do ácido, conforme esquema na figura 14. Ressalta-se que não houve diferenças significativas quanto ao grau de escurecimento, sugerindo que a quantidade de ACM não está diretamente relacionada ao escurecimento, porém a solução a 2%, tornou o sabor mais ácido com perda da textura do alimento. (JUNG, 2003)

Figura 14: Influência da utilização do ácido cítrico na formação de acrilamida em batata frita.



Fonte: Jung, 2003

Um estudo conduzido na Alemanha investigou o impacto da temperatura, juntamente com o tempo de aquecimento, os níveis de escurecimento e a área de superfície exposta na geração de ACM em batatas fritas. As amostras tiveram tamanhos diferentes em relação ao volume e superfície de contato. A ACM não foi detectada em amostra crua, tendo como limite de detecção 10 µg/Kg. No entanto, as concentrações de ACM foram superiores a 1000 µg/Kg, quando se utilizaram temperaturas acima de 120 °C, e paralelamente, os maiores níveis de formação ocorreram em amostras que foram raladas (máx. 18.000 µg/Kg), ou seja, com maior área de superfície exposta, e cortadas em formato menor (máx. 12.000 µg/Kg), quando comparadas as de formato maior (máx. 2.500 µg/Kg). Porém, o estudo aponta que altas

temperaturas e o longo tempo de processamento do alimento estão associados à diminuição dos níveis de ACM, possivelmente por um processo de degradação. (TAUBERT, 2004)

Os autores ainda apontaram a relação do grau de escurecimento, correspondente a um padrão próprio para consumo humano, com os níveis encontrados de ACM. Todavia, os dados são limitados para estabelecer uma correlação entre o escurecimento do alimento e formação de ACM, indicando que tal parâmetro isoladamente pode não ser confiável em relação ao teor de ACM e maior área de superfície exposta do alimento. (TAUBERT, 2004)

Na tentativa de caracterizar os parâmetros que influenciam as reações, incluindo condições de temperatura, tempo de exposição, pH e concentrações dos componentes do alimento, os pesquisadores suecos que identificaram inicialmente a presença de ACM, também elaboraram experimentos simples com análise de variedades de batatas frescas, sendo submetidas ao aquecimento em forno pré-programado. Para avaliação dos efeitos sofridos pela influência da adição de outros compostos, as amostras de batatas foram submetidas à mistura de alimentos ricos em proteínas, como peixe e carne; adição de aminoácidos isoladamente; carboidratos; ácido cítrico e antioxidantes. (RYDBERG, 2003)

A influência da temperatura, também foi relevante. Embora ocorra diminuição nos níveis de ACM após exposição excessiva do alimento ao calor. A frutose mostrou ser um precursor mais eficiente do que a glicose, já a presença de proteínas e aminoácidos como glicina, alanina, lisina, glutamina e ácido glutâmico, com exceção da asparagina, diminuíram os níveis de formação da ACM, podendo refletir reações de competição ou degradação envolvendo proteínas, ou até mesmo um efeito protetor exercido pela proteína, que eliminaria a ACM formada, através de reações com grupos nucleofílicos (-SH, NH₂) de aminoácidos. O ácido cítrico promoveu menor formação de ACM que alcançou maiores níveis com pH em torno de 8. Além disso, os achados ainda propõe que aditivos que tenham capacidade de unir-se a água, podem reduzir a formação de ACM. Nesse contexto a influência da quantidade inicial de água nas amostras parece relevante, já que as reações de pirólise são inibidas na presença de água. (RYDBERG, 2003)

Um outro modelo de estudo com batatas aponta o processo de formação da ACM como um fenômeno não oxidativo e que pode ser reduzido por efeitos protetores da presença de proteínas presentes na pasta de grão de bico, segundo autores, largamente apreciada entre os povos da Índia. Inicialmente, é descrito o preparo da amostra previamente tratada com antioxidantes fenólicos, provenientes da uva-do-monte e orégano. Os níveis de formação da ACM não foram menores após a fritura, enquanto a utilização da pasta de grão de bico antes da fritura mostrou níveis comparativamente menores de formação, os quais, poderiam ser explicados pela presença de uma barreira térmica dada pela cobertura da pasta, resultando em

menor formação de produtos da reação de Maillard, ou o próprio efeito protetor da proteína, presente na leguminosa. (VATTEM & SHETTY, 2003)

O processo de formação da ACM ilustra a complexidade de reações envolvidas no aquecimento do alimento. Outros estudos têm sido desenvolvidos para investigar o processo de formação em outras matrizes como o pão.

Surdyk (2004) adicionaram asparagina e frutose à massa que contém farinha de trigo (com baixos teores de asparagina e açúcares), fermento, sal e água. A adição de asparagina aumentou substancialmente a quantidade de ACM, encontrada principalmente na casca do pão, representando mais de 99% e alcançando níveis entre 600 e 6000 $\mu\text{g}/\text{Kg}$. Já a presença da frutose não influenciou os níveis de ACM. Quanto à avaliação de fatores como tempo e temperatura, no ato de assar as massas, as temperaturas superiores a 200 °C aumentaram o teor de ACM, mas o tempo de exposição ao calor também contribuiu com maiores taxas, entre 10 e 1900 $\mu\text{g}/\text{Kg}$, indicando a interação entre tais fatores. Destaca-se ainda, a relação da ACM com o grau de escurecimento da massa, onde, sob diferentes condições de aquecimento, as massas com os mesmos ingredientes mostraram uma relação significativa entre a cor marron e a quantidade de ACM ($p < 0,001$). Porém, a adição de asparagina não acentuou a cor, a qual, pode estar atribuída a outros aminoácidos também envolvidos nas reações de escurecimento.

A influência dos ingredientes, aditivos e as condições de processamento na formação de ACM foram investigadas em pães tipo panetone. Principalmente, Alemanha e Holanda têm alto consumo de tal produto, onde os níveis variaram entre (20 e 8000 $\mu\text{g}/\text{Kg}$) com média de 481 $\mu\text{g}/\text{Kg}$, na Alemanha e (260 e 1410 $\mu\text{g}/\text{Kg}$) com média de 890 $\mu\text{g}/\text{Kg}$, na Holanda. Para investigar a influência de alguns agentes na confecção da massa, quantidades diferentes de carbonato hidrogênio de amônia foram adicionados. O aditivo é usado freqüentemente em países da Europa (quantidade normal 0,8g/100g massa). Houve forte influência na formação da ACM, e na ausência do aditivo, somente níveis inferiores a 10 $\mu\text{g}/\text{Kg}$ foram detectados. Contudo, o autor aponta a importância do aditivo para obtenção do escurecimento adequado da massa, pois seu uso eleva o pH (faixa ideal 6,9), favorecendo as reações de escurecimento. Porém, descreve que seu átomo de nitrogênio não é incorporado a ACM, conferindo-o, conseqüentemente, um efeito promotor indireto na formação de ACM. (AMREIN, 2004)

Amrein (2004) estudou a utilização alternativa de aditivos como carbonato hidrogênio de sódio, que diminuiu significativamente os níveis de ACM. Porém, o aumento do pH na faixa de 8,2 a 8,8 conferiu ao produto sabor alcalino, o qual necessitaria a adição de acidulantes (ácido cítrico ou tartárico), cuja ação, possivelmente reduz a formação de ACM, promoveria o escurecimento adequado, contribuindo com as características sensoriais do alimento. O autor, ainda, refere à influência da asparagina adicionada à massa, cuja presença

resultou em quantidades quatro vezes maior de ACM. Com suposta decomposição da asparagina durante o aquecimento, os níveis de ACM reduziriam, permitindo testar a hipótese da adição de asparaginase, uma enzima capaz de hidrolisar o aminoácido. Porém, a hidrólise não foi completa e a análise da massa ainda conteve asparagina livre.

Futuras pesquisas são necessárias para o alcance de combinações adequadas entre ingredientes e aditivos alimentares, juntamente com as condições de tempo e temperatura usados durante o processamento dos pães, além de outras matrizes, já identificadas com a presença de ACM. Trata-se de uma investigação contínua em diferentes matrizes, onde os resultados sejam esclarecedores dos meios de garantir a qualidade do produto final, com menores índices, ou nenhuma ACM formada.

VI.6 Outra Hipótese da Ocorrência de ACM no Alimento

Outras fontes possíveis de ocorrência da ACM em alimentos foram apontadas a partir da degradação da poliacrilamida, utilizada como surfactante, frequentemente encontrada na composição de misturas de herbicidas utilizados na agricultura. (CODEX, 2004)

Há indício de que a ACM possa ser liberada para o ambiente, a partir da interação da formulação de glifosato, um herbicida, com a poliacrilamida, cuja ação seria desencadeada pela exposição à luz e ao calor. Cummins (2002) entende que a maior solubilidade do polímero na presença do glifosato, que é largamente utilizado na agricultura de vegetais e na preparação do solo, poderia facilitar a contaminação dos alimentos durante seu preparo.

Pesquisadores do Reino Unido investigaram se a despolimerização da poliacrilamida, utilizada na composição de herbicidas, é responsável pela presença da acrilamida durante o preparo do alimento. Os resultados não mostraram a ocorrência de ACM a partir do aquecimento de poliacrilamida a 175 °C por 15 e 30 min respectivamente. Concluíram que, mesmo havendo contaminação da colheita com poliacrilamida, fato pouco provável, não há indícios de que o polímero possa sofrer despolimerização durante o preparo dos vegetais. (AHN & CASTLE, 2003)

O processo de formação endógena da ACM ilustra a complexidade de reações envolvidas no aquecimento do alimento. O desenvolvimento de um modelo que exemplifique a formação de ACM, usando sistemas simples pode conter limitações, as quais são inerentes à complexidade da matriz do alimento, onde muitos fatores estão envolvidos e interagindo. Em geral, as investigações apontadas até o momento, basearam-se em modelos de reações propostos a partir de experimentos simples, em uma única matriz. Portanto, enquanto avanços significativos nas pesquisas de formação da ACM têm acontecido, a expectativa de resultados

de estudos que apontem possíveis estratégias de redução dos seus níveis assume o papel essencial para minimizar a exposição humana.

Há que se considerar, além da detecção de ACM em alimentos submetidos ao processamento industrial, o preparo do alimento em ambiente domiciliar, possivelmente de controle mais difícil. Muitos alimentos suscetíveis a sua formação representam importantes fontes nutricionais, sendo consumidos diariamente, e acredita-se que contribuam com grande parte do percentual de calorias, quando se planeja a dieta no âmbito individual.

VII.1 Absorção, Distribuição, Metabolismo e Excreção

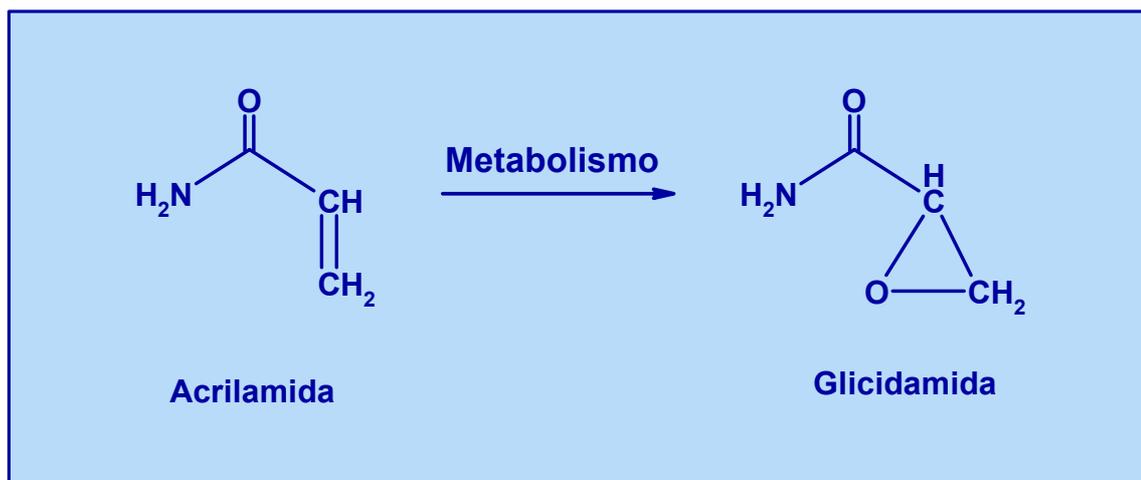
A quantidade de uma substância química absorvida e que está disponível para a interação com os receptores biológicos é conhecida como dose interna. Uma vez absorvida, a substância passa por processo de biotransformação, distribuição, podendo ocorrer armazenamento, e excreção. Entretanto, os dados referentes a toxicocinética da ACM são limitados, especialmente, em humanos. (GDCh, 1992; TREVISAN & ZAMBRONE, 2002)

A ACM é absorvida a partir das vias dérmica; respiratória e digestória. Na exposição oral, a absorção é considerada rápida e completa pelo tubo digestório. (PAULSSON, 2002; MUHLEND AHL, K., E. & OTTO, M., 2003)

Independente da via de absorção, a ACM parece ser distribuída rapidamente pelos tecidos e no leite. Após diferentes doses de administração oral de ACM em ratos (1; 10; 100mg/Kg), maiores percentuais de concentração foram observados no músculo (48%); pele (15%); sangue (12%) e fígado (7%). Embora, a ACM seja uma neurotoxina, menos de 1% da dose foi localizada no cérebro, medula espinhal ou nervo ciático. (MILLER, 1982)

A ACM é metabolizada principalmente pela conjugação com o glutation (GSH), maior rota de detoxificação da ACM do organismo, sendo catalisada pela glutation-S-transferase (GST), ou, também, pode ser metabolizada por enzimas do citocromo P450, uma família de enzimas responsáveis, em sua maioria, pela maior parte das reações oxidativas, e conseqüente depuração dos metabólitos tóxicos. O principal metabólito da exposição a ACM é a glicidamida (GCM) (figura 15) que assume o potencial genotóxico, pois em contraste com a ACM, a GCM parece formar adutos estáveis com o DNA, provocando danos que, a princípio, podem desencadear a iniciação do processo cancerígeno. (DIXIT, 1980; MILLER, 1982; CALLEMAN, 1990; SCF, 2002)

Figura 15: Formação da glicidamida a partir da acrilamida.



A concentração de glutation no fígado humano é alta, correspondendo a 3 - 5 $\mu\text{mol/g}$ do peso úmido do fígado. Algumas condições podem diminuir os níveis de GSH e favorecer o aumento da toxicidade da ACM. Tais condições envolvem: 1) a má nutrição associada ao baixo consumo de aminoácidos sulfurados como cisteína e metionina, necessários a síntese do GSH; 2) o stress oxidativo, o qual pode resultar em maior oxidação do GSH; e 3) danos ao fígado associado ao alcoolismo, hepatite, cirrose e outras desordens hepáticas. (FRIEDMAN, 2003)

A eliminação da ACM e GCM ocorre em torno de duas horas em animais experimentais, no homem sua meia-vida é estimada entre 4-6 hs. Após a metabolização pelos sistemas de conjugação com a GSH, a ACM é excretada via urinária como ácido mercaptúrico (N-acetyl-S-(2 carbamoiletil-cisteína), detectado principalmente na urina de trabalhadores expostos ocupacionalmente, além de pequenas quantidades eliminadas nas fezes e CO₂ exalado. (CALLEMAN, 1996; FAO/WHO, 2002; SCF, 2002; JIFSAN/NCFST, 2002 d; FRIEDMAN, 2003)

VII.2 Efeitos Neurotóxicos

A ação neurotóxica da ACM é uma área de investigação que tem recebido atenção especial há mais de trinta anos. (FAO/WHO, 2002; SCF, 2002; JIFSAN/NCFST, 2002 d)

Apesar dos efeitos neurotóxicos demonstrados em animais, pouco se conhece sobre as lesões causadas no sistema nervoso central (SNC). Estudos sugerem que a dose de efeito adverso não observado (NOAEL) é de 0,5 mg/Kg mc/ dia. (FAO/WHO, 2002; TORBJORN, 2002)

Um estudo realizado na China com trabalhadores expostos a misturas de ACM e ACL, apontou a relação entre bioindicadores de exposição e os efeitos neurológicos. Os trabalhadores foram submetidos a exames neurológicos e forneceram amostras de sangue e urina para determinação dos indicadores. Entre o grupo de expostos, os sinais e sintomas indicaram uma neuropatia periférica com frequência estatisticamente maior quando comparados aos controles da mesma cidade. Exames de eletroneuromiografia, um index para efeitos neurotóxicos, específico para a neuropatia periférica induzida pela ACM, foi desenhado, cujos resultados apontaram adequadamente a correlação do diagnóstico, com níveis elevados de ácido mercaptúrico em urina de 24 hs e adutos ACM-Hb. (CALLEMAN, 1994)

Em resposta à preocupação crescente da ação neurotóxica da ACM, uma revisão recente foi realizada com administração de duas doses diferentes de ACM em ratos, 50mg/Kg/dia e 21mg/Kg/dia. Os resultados mostraram que a intoxicação pela ACM ocorreu rapidamente, com degeneração progressiva das terminações nervosas em todas as regiões do SNC, sendo os efeitos neurotóxicos caracterizados por ataxia e paresia do músculo esquelético. (LoPACHIN, 2003)

A ACM parece agir diretamente nos sítios terminais do nervo, causando disfunção das sinapses com degeneração eventual. Os danos ao SNP e SNC são provocados por déficit motor, sensorial e autônomo que caracterizam os efeitos neurotóxicos da ACM. (LoPACHIN, 2004)

VII.3 Efeitos na Reprodução e Desenvolvimento

A ACM em baixas doses reduz o tamanho da ninhada, com sensibilidade maior em ratos do que em camundongos. Em doses maiores, alterações na morfologia do espermatozóide e efeitos neurotóxicos são identificados. Os mecanismos de ação tóxica da ACM parecem estar relacionados a três fatores: a união da ACM ou GCM a protaminas da espermátide, causando uma letalidade dominante e afetando a morfologia do espermatozóide; a ACM unindo-se a proteínas motoras, levando uma axonopatia distal com efeitos de paresia e dormência em membros; ou a GCM unindo-se diretamente ao DNA, induzindo mutações que parecem desencadear toxicidade neurológica e ao sistema reprodutor. (TYL & FRIEDMAN, 2003)

A toxicidade no desenvolvimento de ratos e camundongos tem sido avaliada através da utilização de ACM durante a gestação. Os dados concluem que a ACM é tóxica para o desenvolvimento fetal, pois leva à diminuição no peso dos filhotes, cujas mães receberam no período gestacional a ACM em água potável por sonda oral. As doses estabelecidas como de

menor efeito adverso observado (LOAEL) foram aproximadamente de 4 – 5 mg/Kg mc/dia em ratos. Já em camundongos, os valores que refletiram a alteração do peso da ninhada chegaram a 45 mg/Kg mc/dia. Quanto à toxicidade ao sistema reprodutor, os efeitos são mais expressivos em ratos e camundongos machos que parecem ter diminuição da espermatogênese, da motilidade do espermatozóide, além de alterações na morfologia, que levam à diminuição no tamanho da ninhada por problemas na nidação. A LOAEL foi estabelecida entre 5 – 8 mg/Kg mc/dia para ratos e 7 – 14 mg/Kg mc/dia para camundongos. (NTP-CERHR, 2004)

No momento, não há evidências epidemiológicas de efeitos tóxicos da ACM no aparelho reprodutor humano, porém os dados experimentais são relevantes para que se considerem possíveis efeitos.

VII.4 Bioindicadores de Exposição- Formação de Adutos

A mensuração de bioindicadores de exposição à ACM parece um caminho alternativo para estimar sua ingestão através da dieta. Estudos têm sido realizados em animais com categorias de bioindicadores que incluem adutos-Hb de ACM e GCM; adutos ACM-DNA; ACM no plasma; metabólitos urinários e adutos ACM-proteínas. A formação de adutos com ligação no N-terminal valina da Hb tem sido usada como um bioindicador *in vivo* de exposição a ACM. A detecção dos adutos Hb-GCM confirmam a formação desse metabólito *in vivo* e pode ser relevante na ação tóxica da GCM aos tecidos. (CODEX, 2004)

A determinação de adutos com Hb também foi utilizada para monitorar a exposição ocupacional a ACM e a ACL. Quarenta e um trabalhadores envolvidos na síntese de ACM pela hidratação da ACL e manufatura de poliacrilamida, em uma fábrica na China, foram estudados mediante amostras sanguíneas. Dez indivíduos não expostos na mesma cidade serviram como controles. Os níveis de adutos nos trabalhadores expostos variaram entre 0,3 - 34 nmol/g Hb para ACM e 0,02 - 66 nmol/g Hb para ACL, sendo identificados por CG/EM. Quanto à GCM, os adutos foram detectados em indivíduos expostos em níveis de 1,6 - 32 nmol/g Hb. Os resultados sugeriram que a ACM é metabolizada a GCM em humanos como também em animais. Além disso, níveis elevados de adutos ACM em pessoas expostas, quando comparados às concentrações de ACM estimadas no ar, indicam que não só a inalação, mas também a exposição dérmica pode contribuir significativamente para o total da exposição à ACM. (BERGMARK, 1993)

Uma das dificuldades em relacionar a formação de adutos Hb com a exposição, deve-se ao tempo de vida das hemácias e, portanto, da presença destes adutos no sangue. Como a meia-vida das hemácias é de 120 dias, as estimativas requerem tempo de exposição superior a

tal período. Além disso, a exposição ocupacional pode ocorrer via derme ou por inalação, mas a monitoração é conduzida somente pela amostragem do ar, não tendo quantificação dos níveis de absorção pela pele. (JIFSAN/NCFST, 2002 c)

Um estudo piloto recente avaliou a exposição transplacentária de neonatos à ACM. Através da investigação de adutos Hb com a formação do CEV no sangue de gestantes em trabalho de parto, 1 fumante e 10 não fumantes, pôde-se correlacionar a presença de adutos Hb no sangue do cordão umbilical em neonatos. O CEV foi determinado em todas as amostras de sangue materno, média de 21 pmol/g globina, enquanto no sangue do cordão de neonatos, a média foi de 10pmol/g globina. O estudo chamou atenção para o fato de somente a mãe fumante apresentar a formação de aduto-ACL, específico da exposição ao cigarro (185 pmol/g globina), e concluiu que devido à alta replicação celular no desenvolvimento fetal, a exposição transplacentária de neonatos a ACM pode ser preocupante, além do que, filhos de mães fumantes estariam mais expostos a ACM e outros agentes químicos que aqueles de mães não fumantes. (SCHETTGEN, 2004)

Em geral, os estudos de adutos focam principalmente os adutos Hb e adutos DNA. Os adutos Hb são identificados mais facilmente do que adutos DNA, porém os adutos DNA são usados para avaliar a relação entre a exposição a ACM e doenças. Importante ressaltar que os adutos não determinam qual a fonte de exposição à ACM.

A ACM e GCM estão sendo monitoradas pelo “National Health and Nutrition Examination Survey” (NHANES). Tal monitoração deverá estar concluída no final de 2004 e os resultados deverão fornecer dados de exposição à ACM a partir de todas as fontes, com amostra representativa nacionalmente. (JIFSAN/NCFST, 2004)

VII.5 Efeitos Carcinogênicos

VII.5.1 Estudos Experimentais

A ACM age como um carcinógeno em estudos experimentais com ratos, similarmente a outros carcinógenos encontrados em alimentos. Estudos mostram que quando administrada através da água potável, há um aumento na incidência de feocromocitomas e mesoteliomas em ratos machos. Além disso, adenomas de hipófise e adenocarcinomas de mama; papilomas de cavidade oral; e adenocarcinoma uterino aparecem em fêmeas, já os adenomas foliculares da tiróide apareceram em ambos os sexos. (FRIEDMAN, 1995)

Um outro estudo com durabilidade de dois anos, no qual a ACM também foi administrada através da água potável em ratos, comprovou sua toxicidade crônica com efeitos carcinogênicos. Neoplasia de testículo, conhecida como mesotelioma escrotal, e neoplasia de mama em fêmeas foram elevadas quando comparadas ao grupo controle. (JOHNSON, 1986)

Vale ressaltar, que tais estudos são pouco significativos para humanos, pois a maioria das neoplasias é rara. Todavia, foi com base no estudo supracitado que se apontaram evidências da genotoxicidade da ACM, ou seja, que é capaz de produzir mutações e/ou aberrações cromossômicas, motivo que levou a IARC, EPA e OMS a considerar a ACM como provável carcinógeno humano. (FELSOT, 2002)

A classificação da IARC é a principal referência internacional e a mais utilizada pela comunidade científica. Os critérios definidos pela agência são estabelecidos dentro de um programa de monografias que representa o mais amplo e abrangente esforço de revisão sistemática dos dados de substâncias cancerígenas. De acordo com os critérios da agência, as substâncias classificam-se em grupos 1; 2A; 2B; 3 e 4, para agentes carcinogênicos em humanos; provável carcinogênico em humanos; possível carcinogênico em humanos; não classificável em relação a carcinogenicidade em humanos; e não provável carcinogênico, respectivamente. Segundo a agência, a ACM foi classificada como provável carcinógeno humano, grupo 2A, em 1994, por não ter evidências epidemiológicas suficientes, até o momento, de que cause câncer.

De modo geral, as organizações internacionais consideram a ACM, em função da GCM, uma substância com potencial genotóxico, por causar aberrações cromossômicas, mutações genéticas e danos ao DNA. (DEARFIELD, 1995; FAO/WHO, 2002)

Besaratinia & Pfeifer (2003), avaliaram a habilidade da ACM em induzir danos ao DNA de células mamárias. Embora o metabólito da ACM, a GCM demonstre um potencial genotóxico em experimentos, o mesmo efeito em células humanas ainda não foi determinado. Portanto, ACM e GCM parecem ter um impacto relativamente pequeno no panorama do risco de câncer para o homem.

VII.5.2 Evidências Epidemiológicas do Risco de Câncer a partir da Exposição a ACM

Um princípio básico da toxicologia de alimentos reside em definir os limites e condições de exposição seguras na ingestão de alimentos que apresentam um certo grau de contaminação, ou seja, o quanto é segura essa exposição e em que circunstâncias podem ocorrer para o homem. (MIDIO, 2000)

Ainda há incertezas quanto ao impacto da ACM na saúde humana. Para melhor avaliação dos riscos referentes à ACM em alimentos, mais informações são necessárias considerando as diferentes categorias de alimentos em que ela se forma, seus níveis, a exposição pela dieta, bem como sua biodisponibilidade e potencial cancerígeno.

Inicialmente, foram conduzidos estudos epidemiológicos que avaliaram a exposição ocupacional, na tentativa de estabelecer associações entre a exposição a ACM nos locais de trabalho e o risco de câncer. Tais estudos se basearam em informações obtidas em diferentes setores da indústria manufatureira do monômero de ACM, onde os indivíduos são expostos diretamente. (CODEX, 2004)

Um estudo investigou a mortalidade por câncer entre 8.854 trabalhadores, dos quais 2.293 indivíduos foram diretamente expostos ao polímero e ao monômero de ACM, durante o período de 1925-1976. Em 1983, uma avaliação do estudo revelou não haver dados estatísticos significativos para apontar uma associação da exposição à ACM com o aparecimento de câncer em determinados órgãos. (COLLINS, 1989)

Os dados de tal estudo foram atualizados subsequentemente para o período entre 1984 -1994, onde de 8.508 trabalhadores, incluíram-se 2.004 trabalhadores diretamente expostos. No total, quatro fábricas foram avaliadas, três nos EUA e uma na Holanda. As taxas de mortalidade foram comparadas aos índices de mortalidade esperados nos EUA e Holanda. Novamente, não houve uma associação estatisticamente significativa nas causas de mortalidade por determinados tipos de câncer, quando comparados com as taxas esperadas. O aumento dos casos de câncer de pulmão se manteve durante o período de seguimento, sendo, a princípio, associado à exposição ao ácido muriático. (MARSH, 1999)

Os resultados de uma análise-resposta da exposição indicaram um aumento da mortalidade por câncer pancreático entre os trabalhadores que se mantiveram expostos à ACM em ambientes com concentrações acima de $0.30 \text{ mg/m}^3/\text{ano}$. Embora os autores tenham apontado que a história de tabagismo do trabalhador não foi abordada, e o fumo é um fator de risco para o câncer de pâncreas. Quanto a determinados tipos de câncer como esôfago, colorretal e rim, também não foi encontrada correlação com a exposição, o que levou o autor a concluir que os resultados forneceram pouca evidência da relação entre a exposição ocupacional à ACM e mortalidade por câncer. (MARSH, 1999)

O primeiro estudo epidemiológico que tentou estabelecer uma associação entre a exposição à ACM, pela dieta, e risco de câncer foi conduzido na Suécia, logo após os achados da presença de ACM em alimentos. O estudo caso-controle acompanhou homens e mulheres entre 51 e 77 anos de idade, onde se destacaram 591 casos de tumores colorretais; 263 casos de câncer de bexiga e 133 casos de tumores renais, comparados a 538 controles. A exposição

à ACM foi estimada mediante os padrões de consumo alimentar, obtidos previamente através de questionário de frequência de consumo de alimentos. Não foi encontrada associação positiva entre a exposição a alimentos fontes de ACM e a incidência de tais tumores. Houve críticas ao estudo quanto à omissão de alimentos que não constavam no questionário, como o café, que parece ser importante fonte. Além disso, os níveis baixos de exposição entre a população estudada poderiam ser justificados pelo menor consumo de alimentos contendo maiores níveis de ACM, como as batatas fritas e batatas chips. (MUCCI, 2003)

Devido ao poder estatístico limitado de alguns desses estudos epidemiológicos em detectar associações entre risco de câncer e carcinógenos na alimentação, os autores, subseqüentemente, fizeram uma reanálise dos dados do estudo anterior, conformado em estudo caso-controle para o risco de câncer de células renais. O risco foi avaliado pela ingestão diária de alimentos com níveis elevados de ACM, incluindo o café, atentando-se para o confundimento devido ao sexo, idade, fumo e IMC. Os resultados sugeriram que não há associação entre a ingestão de ACM na dieta e o risco de câncer de células renais. (MUCCI, 2004)

Na tentativa de estabelecer uma associação entre o consumo específico de batatas fritas e risco de câncer, estudos caso-controle conduzidos na Itália e Suíça entre 1991 e 2000 foram utilizados para analisar tal relação. Os sítios de câncer considerados foram cavidade oral e faringe (749 casos e 1772 controles); esôfago (395 casos e 1066 controles); laringe (527 casos e 1297 controles); intestino grosso (1225 casos de cólon, 728 de reto e 4154 controles); mama (2569 casos e 2588 controles) e ovário (1031 casos e 2411 controles). Os casos de câncer foram histologicamente confirmados e os controles, com condições não-neoplásicas, foram admitidos na mesma rede de hospitais. As odds-ratio calculadas variaram entre 0,8 – 1,1 e houve pouca evidência entre o consumo de batatas fritas e risco de algum tipo de tumor. (PELUCCHI, 2003)

Paralelamente, sabe-se que a laringe é diretamente exposta a carcinógenos voláteis, especialmente do fumo. E apesar do consumo de álcool e fumo serem reconhecidamente fatores de risco, a dieta tem sido associada com o câncer de laringe. No entanto, os dados do potencial carcinogênico dos alimentos fritos, como carnes e outros alimentos, com referência ao câncer de laringe são insuficientes. Em uma outra análise, de estudo caso-controle baseado na mesma rede de hospitais acima, Bosetti (2002), investigou a possível relação entre o consumo de alimentos fritos e câncer de laringe. Foram 527 casos e 1297 controles. Aumentos significativos foram encontrados para o maior consumo de carnes fritas, peixes, ovos e batatas, com odds-ratios de 1,6; 3,1; 1,9 e 1,9 respectivamente.

Para cientistas da Nova Zelândia, avaliar os riscos da ACM presentes em alimentos é importante. Porém, baseados em comparações entre a NOAEL de 0,1 mg/Kg, em experimentos para incidência de tumores, e estimativas de exposição da população, em torno de 0,3 µg/Kg, consideram a ingestão relativamente baixa e, portanto, representando um baixo risco para câncer. (SHAW & THOMSON, 2003)

Em debate público entre especialistas sobre a avaliação do risco de câncer da ACM, o confronto é aparente e divide opiniões. Para um lado, a conclusão é de que a ACM não é carcinogênica para o homem nem animais, para outro, a ACM mostra o potencial cancerígeno em experimentos e é provável carcinógeno para o homem. De fato, a epidemiologia é uma ciência predominantemente observacional, cujos dados de exposição à ACM, que indiquem aumento na incidência de câncer são limitados. A ocorrência de doenças ao longo da vida depende da influência de múltiplos fatores, como as inúmeras exposições diárias, aspectos genéticos, o comportamento humano, além dos fatores relacionados ao estilo de vida de cada ser. Muitas vezes, tais fatores inter-relacionam-se e possuem forte poder de confundimento. (RUDÉN, 2004)

É importante ressaltar que a ausência de resultados epidemiológicos positivos não deve ser interpretada como prova que ACM não possa induzir e/ou contribuir, junto a outros carcinógenos presentes em alimentos, para o desenvolvimento de câncer em humanos.

VIII. Exposição alimentar à ACM

As estimativas de exposição à ACM pela dieta tem-se baseado em dados dos padrões de consumo de alimentos fornecidos por vários países. Dentre eles, Austrália; EUA; Noruega e países europeus envolvidos em um grande estudo epidemiológico de consumo de alimentos. Um estudo relevante foi o “The European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition” (EPIC), conduzido pela IARC e iniciado em 1992. Esse estudo foi revisado e posteriormente utilizado nas estimativas de exposição. (JIFSAN/NCFST, 2002 c; SCF, 2002)

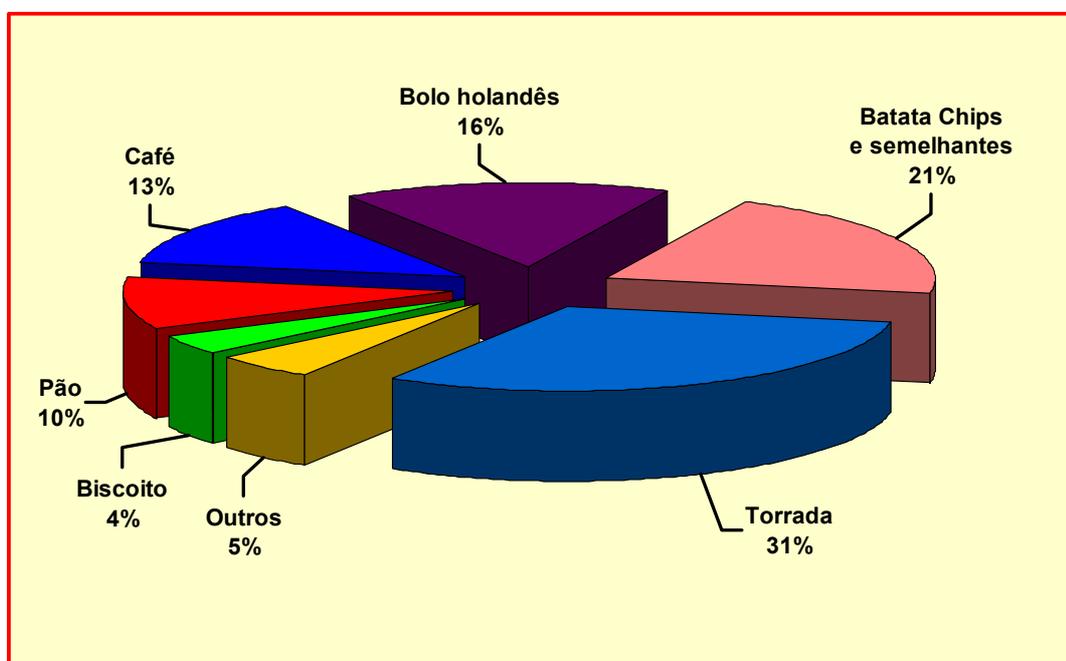
O EPIC abrangeu 520.000 pessoas em dez países: Dinamarca, França, Itália, Alemanha, Grécia, Holanda, Noruega, Espanha, Suécia e Reino Unido. As informações detalhadas da dieta e do estilo de vida das pessoas foram obtidas a partir de um questionário. A exposição à ACM foi estimada usando a correlação dos dados de consumo alimentar dos diferentes países com as taxas de ACM encontrada, inicialmente, nos alimentos na Suécia. Foram estimativas preliminares, pois se basearam em dados limitados de algumas amostras de alimentos, porém, foram consistentes com os dados referenciados pelo encontro da FAO/WHO em junho de 2002. Os valores foram em torno de 0,2 - 0,4 $\mu\text{g}/\text{Kg mc}/\text{dia}$, tendo sido adotada a faixa superior para Holanda e Reino Unido. (SCF, 2002; JIFSAN/NCFST, 2002 c)

A França, segundo o SCF (2002), baseada no seu padrão de consumo de alimentos e dados analíticos iniciais da Suécia, estimou para indivíduos acima de 15 anos a ingestão média de ACM em 0,5 $\mu\text{g}/\text{Kg mc}/\text{dia}$, com percentil 95 de 1,1 $\mu\text{g}/\text{Kg mc}/\text{dia}$, e para crianças entre 2 - 14 anos 1,4 $\mu\text{g}/\text{Kg mc}/\text{dia}$, com percentil 95 de 2,9 $\mu\text{g}/\text{Kg mc}/\text{dia}$.

Um estudo recente realizado com a população da Holanda em diferentes faixas etárias atualizou os dados de exposição à ACM, com os resultados obtidos a partir de consumidores que participaram da pesquisa do “National Food Consumption Survey” (NFCS) em 1998, correspondendo a 6.250 participantes. Foram analisados 344 alimentos, com níveis de ACM que variaram de < 30 a 3.100 $\mu\text{g}/\text{Kg}$. Através de aproximação probabilística, a média de exposição a ACM foi de 0,48 $\mu\text{g}/\text{Kg mc}/\text{dia}$, com o percentil 95 de 0,6 $\mu\text{g}/\text{Kg mc}/\text{dia}$ entre a população de 1 - 97 anos. A figura 16 mostra os grupos de alimentos mais importantes que contribuíram para o total de exposição a ACM na população total. Utilizando dados da toxicidade em animais com neuropatia periférica, onde se observou a LOAEL de 2 $\text{mg}/\text{Kg mc}/\text{dia}$ e a NOAEL de 0,5 $\text{mg}/\text{Kg mc}/\text{dia}$, concluiu-se que a neurotoxicidade a partir da

ingestão de alimentos fonte de ACM é insignificante, porém o risco de câncer pode não ser. (KONINGS, 2003)

Figura16: Percentual de contribuição dos grupos de alimentos relevantes utilizados na estimativa de exposição a acrilamida para a população total da Holanda.



Fontes: Konings et al., 2003.

Para a população da Noruega os dados foram obtidos a partir do “The National Food Survey- NORKOST” conduzido em 1997, envolvendo 1.291 homens e 1.381 mulheres com idade entre 16 - 79 anos. A ingestão média de ACM foi estimada em 38 $\mu\text{g}/\text{dia}$ para homens e 29 $\mu\text{g}/\text{dia}$ para mulheres, correspondendo a 0,49 $\mu\text{g}/\text{Kg mc}/\text{dia}$ e 0,46 $\mu\text{g}/\text{Kg mc}/\text{dia}$ respectivamente. O café contribuiu com o maior percentual de ingestão (28%), seguido pela batata chips com quase 20% da ingestão de ACM, conforme mostra a tabela 9. (DYBING & SANNER, 2003)

Tabela 9: Percentual de contribuição de alguns alimentos na ingestão de acrilamida entre a população de 16 - 79 anos da Noruega.

Alimento	Homens (38 µg/dia)	Mulheres (29 µg/dia)
Pão forma	13%	11,9%
Pão (outros)	7,7%	12,2%
Biscoito	5,0%	5,9%
Produtos de Batatas	7,5%	6,3%
Batata frita	8,0%	6,3%
Batata chips	17,6%	17,4%
Petiscos (outros)	5,0%	4,6%
Café	28,0%	28,6%
Outros	8,2%	6,8%

Fonte: Dybing& Sanner, 2003

Ressalta-se que crianças e adolescentes entre 9 - 13 anos mostraram maior consumo de batata chips, biscoito amanteigado e biscoito doce, correspondendo a aproximadamente 55 – 65% do total de ingestão da ACM. A média estimada de exposição para meninos e meninas de 9 anos foi de 0,36 e 0,32 µg/Kg mc/dia, enquanto para meninos e meninas de 13 anos foi de 0,52 e 0,49 µg/Kg mc/dia, respectivamente. (DYBING & SANNER, 2003)

A Suécia utilizou padrões do consumo alimentar que permitiram traçar estimativas de exposição entre 9,1; 27 e 62 µg/pessoa/dia para os percentis 5, 50 e 95 respectivamente. A média de consumo ficou em torno de 35 µg/dia de ACM, correspondendo a aproximadamente 0,5 µg/Kg mc/dia (para um adulto de 70 Kg). Adultos jovens entre (18 - 34 anos) mostraram maior consumo de petiscos a base de batatas que adultos mais velhos, cujo “Riksmaten” (pesquisa de frequência de consumo alimentar) conduzido entre 1997 - 1998 apontou que 10% dessa população jovem consome 90% de tais produtos. A tabela 10 mostra o percentual de contribuição da ingestão de ACM entre a população de 18 - 74 anos, usando valores médios. (SVENSSON, 2003)

Tabela 10: Percentual médio de contribuição da ingestão de acrilamida entre a população de 18 - 74 anos da Suécia.

Alimento	Percentual médio
Batata chips	9
Batata frita	16
Produtos de Batata	11
Biscoito/Wafers	5
Torrada	6
Pão	11
Cereais matinais	2
Tortilla	< 1
Pipoca	1
Café	39

Fonte: Svensson, 2003

Somando-se o percentual de batatas e produtos de batatas, a ingestão de ACM chega a 36%, sendo possivelmente essas as principais fontes. O café apresenta uma contribuição considerável, porém, relativamente alta quando comparada aos níveis de ACM encontrados em outros países. Até o momento, só a Noruega tem demonstrado níveis elevados no café. (SVENSSON, 2003)

Vale ressaltar, que há carência de informações do consumo entre a população menor de 18 anos. Crianças e adolescentes tem menor massa corporal, quando comparados a um adulto de 70 Kg, massa corporal utilizada nas avaliações de risco. Isso implica em maior exposição e vulnerabilidade entre tais grupos etários. Foram analisados os grupos de alimentos com níveis de ACM entre < 30 – 2.300 µg/Kg. Os alimentos no qual a ACM não foi detectada foram excluídos das estimativas. Considerando a contribuição dos alimentos, deve-se enfatizar que os cálculos para avaliação da exposição são apenas estimativos, pois muitos grupos de alimentos não foram ainda analisados e, dentro de uma mesma categoria de alimentos, os valores detectados de ACM variaram consideravelmente. (SVENSSON, 2003)

Nos EUA, por exemplo, os padrões de consumo de alimentos obtidos do “Continuing Survey of Food Intake for Individuals” (CSFII), conduzido em 1994, 1996, e 1998, foram analisados para fornecer possíveis estimativas de exposição à ACM. Alimentos como cereais, batata frita, batata chips, biscoito doce e salgado, salgados, bolos, oleaginosas e café, entre

outros, apresentaram quantidades significativas de ACM, contribuindo com 1/3 do total da ingestão de calorias diárias, ou seja, aproximadamente 600 calorias em uma dieta de 1.900 calorias. Foi realizado o cômputo de tais alimentos, quanto às proteínas, lipídios e fibras, onde a ingestão total de proteínas presentes nestes alimentos representou quase 20 g. (FDA, 2002 a; JIFSAN/NCFST, 2002 c)

Estimativas recentes de exposição dietética da população americana tem sido apresentadas por cientistas do FDA, baseadas nos níveis de ACM determinados experimentalmente, em alimentos mais frequentemente consumidos, utilizando as mesmas pesquisas de consumo supracitado. Mediante um processo interativo entre níveis encontrados, frequência de consumo e número de consumidores, utilizando equações simplificadas para calcular a exposição, pôde-se estimar, para a população geral acima de dois anos, uma média de 0,43 $\mu\text{g}/\text{Kg mc}/\text{dia}$, com percentil 90 de 0,92 $\mu\text{g}/\text{Kg mc}/\text{dia}$. Enquanto para crianças entre 2 - 5 anos, os valores alcançaram uma média de 1,06 $\mu\text{g}/\text{Kg mc}/\text{dia}$, com percentil 90 de 2,31 $\mu\text{g}/\text{Kg mc}/\text{dia}$. (JIFSAN/NCFST, 2004)

A tabela 11 mostra uma lista dos oito alimentos com os maiores níveis de ACM, utilizados nas estimativas, incluindo a concentração de ACM por porção de alimento.

Tabela 11: Concentração de acrilamida nas porções dos principais alimentos utilizados nas estimativas de exposição nos EUA.

Alimento	ACM ($\mu\text{g}/\text{Kg}$)	Porção (g)	ACM (μg) porção
Cereal matinal	131	55	7,3
Café pronto	8,5	240	3,2
“Postum” (bebida a base de trigo)	93	240	22,3
Batata frita (restaurantes)	333,7	70	23,3
Batata frita (redes de “Fast Food”)	697,8	70	48,8
Batata chips	545,9	30	16,4
Azeitona preta	550	15	8,2
Suco de ameixa (garrafa)	174	140	24,4

Fonte: (JIFSAN/NCFST, 2004)

Observam-se concentrações de ACM apreciáveis em azeitonas pretas, suco de ameixa e “Postum”, o qual, aparentemente não se justificariam conhecendo os mecanismos de formação propostos na geração de ACM.

Importante ressaltar que os dados experimentais, referentes a número de amostras analisadas, variabilidade nos níveis de ACM entre as diferentes marcas de alimentos, e entre a mesma marca, bem como os alimentos preparados em restaurantes e em ambientes domésticos, foram relevantes e apontados como fatores limitantes para as estimativas.

As evidências apontam para a necessidade real de obtenção de dados dos principais grupos de alimentos consumidos em países subdesenvolvidos, a fim de que se aprimorem as estimativas de exposição à substância pela dieta. (TORBJORN, 2002)

Utilizando os mesmos dados da análise de ACM na Suécia, poderia se estimar a ingestão da ACM no Brasil, ainda que grosseira, a partir da média do consumo alimentar per capita de alguns alimentos considerados fontes de ACM, obtidos na pesquisa de orçamentos familiares (POF) – 95/96 do IBGE. A pesquisa reúne dados do consumo per capita anual domiciliar nas principais regiões metropolitanas do país (Belém; Fortaleza; Recife; Salvador; Belo Horizonte; Rio de Janeiro; São Paulo; Curitiba; Porto Alegre; Brasília-DF e Goiânia). A tabela 12 sumariza os resultados da estimativa de ingestão da acrilamida a partir do consumo percapita diário de alguns alimentos de acordo com a Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) 95/96 do IBGE.

Tabela 12: Estimativa de ingestão da acrilamida a partir do consumo per capita diário de alguns alimentos de acordo com a POF 95/96 do IBGE.

Alimento	Cons. percapita médio anual (Kg)	Cons. Percapita médio diário (g)	Quantidade de ACM (µg/Kg)	Ingestão diária de ACM (µg/dia)
Batata inglesa	9,2	25	410	10,25
Biscoitos	3,9	10,6	280	2,9
Pão	21,0	57	50	2,85
Flocos de milho	0,36	0,9	150	0,135
Massa (panqueca, pizza)	0,395	1,0	40	0,04
Café (moído + solúvel)	2,3	6,3	8,5	0,05

Nota: Considerando a média de consumo per capita anual em Kg entre os estados, destaca-se o consumo diário de tais alimentos em gramas, que multiplicado aos valores de ACM estabelecidos, poderiam pressupor os teores de ingestão diária de ACM.

Fica claro que os dados são apenas pressuposições, pois o consumo de batata, por exemplo, refere-se ao vegetal “in natura”, portanto, não especifica o tipo de preparo do vegetal, e os níveis de ACM são reconhecidamente elevados em batatas fritas. Quanto aos pães, a POF considera a média de consumo de variados tipos de pães, incluindo pão francês, pão doce e pão de forma. Neste caso, questiona-se o tipo de pão e o processamento empregado na confecção dos pães (tempo, temperatura, aditivos à massa e condições de pH)

no exterior, em relação aos nossos. Da mesma forma, para o café, a POF estabelece a média de consumo entre o café moído e solúvel, enquanto os valores de ACM foram obtidos a partir do café pronto, segundo a tabela 10. Porém, ainda assim, a estimativa da soma do consumo diário de ACM a partir desses alimentos se situaria em torno de 16 µg/dia.

Importante ressaltar que é possível aprimorar as estimativas de ingestão da ACM em países subdesenvolvidos, ainda que as pesquisas de frequência de consumo têm sido mais precisas nos países desenvolvidos. Mediante a análise de ACM em amostras nacionais, as estimativas poderiam tornar-se melhores, principalmente a partir de um método que pudesse ser empregado de rotina em diferentes estados, onde, além dos alimentos já conhecidos como fontes de ACM, outros alimentos mais frequentemente consumidos fariam parte dos que deveriam ser analisados.

Apesar dos dados disponíveis que caracterizam as vias de exposição a ACM serem limitados. Em síntese, o homem pode estar exposto à ACM de várias formas: pelo contato da pele com materiais que contém resíduos do monômero, como os cosméticos e outros produtos de higiene pessoal. Ocupacionalmente a exposição é pela inalação de vapores ou partículas, além do contato com a pele nas manipulações. O fumo também é importante fonte de exposição, pois a queima de um cigarro gera aproximadamente 1 – 2 µg de ACM. A água comumente é tratada com o polímero, onde se estima que esta prática produza concentrações menores que 0,5 µg/L de ACM, pois os teores de ACM livre seriam menores que 0,05 % w/w, sendo a exposição estimada em 0,01 µg/Kg mc/dia para o consumo de 2 litros de água por dia. (NTP-CERHR, 2004)

Presume-se que, para melhor avaliação dos riscos referentes à ACM em alimentos, mais informações sejam necessárias considerando as diferentes categorias de alimentos em que ela se forma, a variabilidade dos níveis encontrados, o aprimoramento das estimativas de exposição pela dieta, bem como sua biodisponibilidade a partir do alimento e o potencial de desenvolver efeitos tóxicos.

Ainda que haja incertezas quanto ao impacto da ACM na saúde humana, quando se reporta a alta concentração encontrada em alimentos freqüentemente consumidos, o total de exposição da população à ACM parece significativo. Assumindo que a relação entre a exposição ao longo da vida e o efeito carcinogênico existe, então a contribuição da ACM na incidência total de câncer na população pode ser importante (GRANATH & TORNQVIST, 2003). Presumivelmente, o risco de câncer ao longo da vida, associado à exposição diária de ACM na dieta em torno de 0,4 - 0,5 µg/Kg mc/dia, para homens de 70 anos, foi calculada ser $0,6 \times 10^{-3}$, ou seja, 6 de cada 10.000 indivíduos podem desenvolver câncer devido a ACM. (DYBING & SANNER, 2003)

A discussão da presença de ACM em alimentos, portanto, divide opiniões, principalmente entre toxicologistas e epidemiologistas.

Quanto à avaliação dos dados epidemiológicos, alguns autores tecem considerações quanto ao baixo risco na incidência de câncer, a partir da exposição a ACM. Os resultados dos estudos epidemiológicos iniciais que avaliaram a exposição ocupacional a ACM não revelaram aumento excepcional no número de casos de câncer. Posteriormente, os estudos

que buscaram relações entre o consumo de alimentos fontes de ACM com o risco de câncer também falharam em mostrar alguma associação. Os autores ainda consideram as avaliações do potencial de risco, de órgãos como EPA, “exagerada”. (ERDREICH & FRIEDMAN, 2004)

Além disso, acredita-se que os estudos epidemiológicos tenham um poder limitado em detectar aumento de tipos específicos de tumores, associados à alimentação. Como apontado anteriormente, a ocorrência de doenças ao longo da vida depende da influência de múltiplos fatores. Porém, assume-se hoje que a alimentação corresponda a pelo menos, 30% do total de casos de câncer. Portanto, a ausência de resultados epidemiológicos positivos, entre o consumo de alimentos que contém ACM e risco de câncer, não deve ser interpretada como prova que ACM não possa induzir e/ou contribuir, junto a outros carcinógenos presentes em alimentos, para a iniciação do processo cancerígeno no homem.

A ACM encontra-se em grupos de alimentos que variam desde os alimentos considerados dispensáveis à alimentação balanceada, até os que são fontes importantes de carboidratos, indispensáveis no cômputo de calorias diárias. Destaca-se a maior vulnerabilidade da criança, quando se pensa em exposição por Kg de massa corpórea, e o adolescente quando se pensa em hábitos alimentares, onde há provavelmente, maior frequência de consumo de alimentos fontes de ACM.

Ficou claro que as estimativas de exposição pela dieta estão sendo aprimoradas em diferentes países, como previsto pela OMS. E é importante que países em desenvolvimento não fiquem fora desse contexto. Para tal, é relevante que se procure desenvolver metodologias analíticas que permitam avaliar o maior número de alimentos possíveis, com procedimentos que possam ser desenvolvidos e utilizados por diferentes laboratórios, como é o caso do Brasil, em que tal fato permitirá o preparo do país a ações da Vigilância Sanitária bem estruturadas.

É necessário que se estimulem pesquisas relacionadas às diferentes áreas de interesse que envolvem a presença de ACM em alimentos e seu impacto sobre saúde humana.

X. Conclusão

São muitos os questionamentos a cerca da ocorrência de ACM em alimentos, onde os dados a partir dos mecanismos responsáveis por sua formação endógena e a exposição alimentar, somado aos possíveis efeitos tóxicos a saúde humana, dividem opiniões.

Todavia, quando se atenta para a definição de alimento, entende-se que alimento é toda e qualquer substância ou mistura de substâncias capazes de fornecer nutrientes plásticos, energéticos e biorreguladores para a manutenção da vida. A partir dessa definição, pressupõe-se que os alimentos são destinados a produzir efeitos benéficos aos organismos vivos.

Considerando que os alimentos cozidos são à base da alimentação humana desde o advento do fogo, nossa exposição à ACM é antiga e, a princípio, inevitável, o que não diminui a importância do problema. Ao contrário, a OMS não descartou o possível potencial tóxico da ACM em alimentos, estabelecendo metas nas diferentes áreas de interesse da pesquisa de ACM. Inclusive a necessidade da participação dos países em desenvolvimento no aprimoramento das estimativas de consumo da substância pela dieta.

Em conclusão, para se compreender melhor o risco da ACM, mais informações são necessárias, considerando o processo de formação endógena no alimento; a análise nos diversos grupos de alimentos; a exposição pela dieta e seu potencial cancerígeno; sua biodisponibilidade no alimento; estudo de bioindicadores específicos de exposição; o seu potencial mutagênico, além dos efeitos neurotóxicos. Portanto, é necessário que se estimulem pesquisas relacionadas às diferentes áreas de interesse que envolvem a presença de ACM em alimentos e seu impacto sobre saúde humana.

- AHN, J., S., & CASTLE, L. Tests for the Depolymerization of Polyacrylamides as a Potential Source of Acrylamide in Heated Foods. **J. Agric. Food Chem**, v. 51, p. 6715-6718, 2003.
- AMREIN, T., M., et al. Potential of Acrylamide Formation, Sugars, and Free Asparagine in Potatoes: A Comparison of Cultivars and Farming Systems. **J. Agric. Food Chem**, v. 51, p. 5556-5560, 2003.
- AMREIN, T., M., et al. Acrylamide in Gingerbread: Critical Factors for Formation and Possible Ways for Reduction. **J. Agric. Food Chem**, v. 52, p. 4282-4288, 2004.
- ASHOOR, S., H., & ZENT, J., B. Maillard Browning of Common Amino Acids and Sugars. **Journal of Food Science**, v. 49, p. 1206-1207, 1984.
- BECALSKI, A., et al. Acrylamide in Foods: Occurrence, Sources, and Modeling. **J. Agric. Food Chem**, v. 51, p. 802-808, 2003.
- BECALSKI, A., et al. Acrylamide in French Fries: Influence of Free Amino Acids and Sugars. **J. Agric. Food Chem**, v. 52, p. 3801-3806, 2004.
- BERGMARK, E. et al. Determination of Hemoglobin Adducts in Humans Occupationally Exposed to Acrylamide. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 120, p. 45-54, 1993.
- BERGMARK, E. Hemoglobin Adducts of Acrylamide and Acrylonitrile in Laboratory Workers, Smokers and Nonsmokers. **Chemical Research Toxicology**, v. 10, n. 1, p. 78-84, 1997.
- BESARATINIA, A., & PFEIFER, G., P. Weak Yet Distinct Mutagenicity of Acrylamide in Mammalian Cells. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 95, n. 12, p. 889-896, 2003.
- BOSETTI, C., et al. Fried Foods: a risk factor for laryngeal cancer. **British Journal of Cancer**, n. 87, p. 1230-1233, 2002.
- BRASIL. Portaria nº1469 de 29 de dezembro de 2000. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências. Republicada por ter saído

- com incorreção no Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, p. 26, 10 jan. 2001. Seção 1.
- CALLEMAN, C. J., et al. Acrylamide is Metabolized to Glicidamide in the Rats: evidence from hemoglobin adduct formation. **Chem Res Toxicol**, v. 3, n. 5, p. 406-12, 1990.
- CALLEMAN, C. J., et al. Relationships between Biomarkers of Exposure and Neurological Effects in a Group of Workers Exposed to Acrylamide. **Toxicol Appl. Pharmacol**, v.126, p. 361-711, 1994.
- CALLEMAN, C. J. The Metabolism and Pharmacokinetics of Acrylamide: Implications for Mechanisms of Toxicity and Human Risk Estimation. **Drug Metabolism Reviews**, v. 28, n. 4, p. 527-590, 1996.
- CHEFTEL, J., C., & CHEFTEL, H. **Introduccion a la Bioquimica y Tecnologia de los Alimentos**. v. 1. 1992. 293p.
- CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION. Discussion Paper on Acrylamide, trigésima Sexta sessão. 2004. Roterdan. Disponível em: ftp://ftp.fao.org/codex/ccfac36/fa36_34e.pdf. Acesso em: 04 fev. 2004.
- COLLINS, J., et al. Mortality Patterns Among Workers Exposed to Acrylamide. **J. Occup. Med.**, v. 31, n. 7, p. 614-17, 1989.
- COUGHLIN, J. Acrylamide: What We Have Learned So Far. **Food Technology**, v. 57, n. 2, p. 100, 2003.
- CUMMINS, J. 2002. Acrylamide in Cooked Foods: The Glyphosate Connection. Institute of Science in Society. 2002. Disponível em: <http://www.i-sis.org.uk/acrylamide>. Acesso em: 13 jul. 2003.
- DEARFIELD, K. L. et al. Acrylamide: A Review of its Genotoxicity and an Assessment of Heritable Genetic Risk. **Mutation Research**, v. 330, p. 71-99, 1995.
- DIXIT, R., H., et al. Binding of Acrylamide with Glutathione –S-transferases. **Chem. Biol. Interact**, v. 32, n. 3, p. 353-391, 1980.
- DYBING, E., & SANNER, T. Risk Assessment of Acrylamide in Foods (Forum). **Toxicological Sciences**, v. 75, p. 7-15, 2003.

- ECFS (European Commission Food Safety: from the farm to the fork). Acrylamide in Food-Database of Activities in the EU. 2003. Disponível em: [http:// europa.eu.int/](http://europa.eu.int/). Acesso em: 15 abr. 2003.
- EHP (Environmental Health Perspectives), Acrylamide, 9th Report on Carcinogens Revised 2001. Disponível em: <http://ehp.niehs.nih.gov/roc/ninth/rahc/acrylamide.pdf>. Acesso em: 26 dez. 2002.
- EPA (Environmental Protection Agency) 1994 a. Chemical Summary for Acrylamide – prepared by Office of Pollution Prevention and Toxics. 1994. Disponível em: <http://www.epa.gov/docs>. Acesso em 28 out. 2003.
- EPA (Environmental Protection Agency) 1994 b. Chemicals in the Environment: Acrylamide (CAS N° 79-06-1) - prepared by Office of Pollution Prevention and Toxics. 1994. Disponível em: <http://www.epa.gov/docs>. Acesso em 28 out. 2003.
- ERICKSON, B., E. How Swedish Researchers Discovered a Probable Carcinogen in Food. **Analytical Chemistry**, v. 76, p. 247-248, 2004.
- ERDREICH, L., S., & FRIEDMAN, M., A. Epidemiologic evidence for assessing the carcinogenicity of Acrylamide. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v. 39, p. 150-157, 2004.
- EVANGELISTA, J. **Alimentos: Um estudo abrangente**. São Paulo: Atheneu, 1992.
- FAO (Food and Agriculture Organization), WHO (World Health Organization). FAO/WHO Consultation on the Health Implications of Acrylamide in Food. Summary Report, p.25-27 Junho de 2002. Geneva: WHO. Disponível em: <http://www.who.int/fsf/Acrylamide>. Acesso em: 20 set. 2002.
- FDA (Food and Drug Administration), 2002 a. FDA Draft Action Plan for Acrylamide in Food. Summary, updated 2003. Disponível em: <http://www.cfsan.fda.gov>. Acesso em: 24 jun. 2003.
- FDA (Food and Drug Administration), 2002 b. Public Meeting: Assessing Acrylamide in the U.S. Food Supply, 2002. Disponível em: <http://www.cfsan.fda.gov>. Acesso em: 15 dez. 2002.
- FDA (Food and Drug Administration), 2002 c. Detection and Quantitation of Acrylamide in Foods, updated 2003. Disponível em: <http://www.cfsan.fda.gov>. Acesso em: 17 mai. 2003.

- FDA (Food and Drug Administration), 2002 d. Exploratory Data on Acrylamide in Foods. updated 2003. Disponível em: <http://www.cfsan.fda.gov>. Acesso em: 24 mai. 2003.
- FDA (Food and Drug Administration), 2002 e. A Meeting of the Subcommittee on Contaminants and Natural Toxicants of the FDA Food Advisory Committee. 2002. Disponível em: <http://www.cfsan.fda.gov>. Acesso em: 28 jan. 2003.
- FDA (Food and Drug Administration), 2002 f. FDA's Total Diet Study: Monitoring U.S. Food Supply Safety. 2002. Disponível em: <http://www.cfsan.fda.gov/>. Acesso em: 10 mar. 2003.
- FDA (Food and Drug Administration), 2003. Meeting Acrylamide. Food Advisory Committee. 2003. Disponível em: <http://www.cfsan.fda.gov/>. Acesso em: 10 mai. 2003.
- FDA (Food and Drug Administration), 2004 a. FDA Draft Action Plan for Acrylamide in Food. Summary. updated 2004. Disponível em: <http://www.cfsan.fda.gov/>. Acesso em: 15 abr. 2004.
- FDA (Food and Drug Administration), 2004 b. Exploratory Data on Acrylamide in Food FY 2003 Total Diet Study Results. updated 2004. Disponível em: <http://www.cfsan.fda.gov/>. Acesso em: 10 jun. 2004.
- FELSOT, A, S. Acrylamide Angst, 2002. Disponível em: <http://www.envirofacts.org/Acrylamide%20angst.pdf>. Acesso em: 10 nov. 2002.
- FRIEDMAN, M. A. et al. A Lifetime Oncogenicity Study in Rats with Acrylamide. **Fundamental and Applied Toxicology**, v. 27, p. 95-105, 1995.
- FRIEDMAN, M. Chemistry, Biochemistry and safety of Acrylamide. A Review. **J. Agric. Food Chem**, v. 51, p. 4504-4526, 2003.
- FS (Food Standards - Australia New Zealand), 2002 a. Acrylamide and Food. 2002. Disponível em: <http://www.anzfa.gov.au>. Acesso em: 27 ago. 2002.
- FS (Food Standards - Australia New Zealand), 2002 b. Acrylamide and Food. Updated 2002. Disponível em: <http://www.foodstandards.gov.au>. Acesso em: 10 set. 2002.
- FS (Food Standards - Australia New Zealand), 2002 c. Acrylamide and Food. Updated 2002. Disponível em: <http://www.foodstandards.gov.au>. Acesso em: 11 nov. 2002.

- FSA (Food Standards Agency), 2002 a. Paper and Board Packaging: Not Likely to be a Source of Acrylamide in Food. 2002. Disponível em: <http://www.food.gov.uk/science/surveillance>. Acesso em: 10 set. 2002.
- FSA (Food Standards Agency), 2002 b. Study Confirms Acrylamide in Food, 2002. Disponível em: <http://www.foodstandards.gov.uk/newsarchive/65268>. Acesso em: 27 ago. 2002.
- FSA (Food Standards Agency), 2002 c. Food Standards Agency Study Shows Acrylamide in Food. 2002. Disponível em: <http://www.foodstandards.gov.uk/news>. Acesso em: 27 ago. 2002.
- FSA (Food Standards Agency), 2003. Summary of Known Activity on Acrylamide in Food. 20 February 2003. Disponível em: <http://www.foodstandards.gov.uk/>. Acesso em: 30 abr. 2003.
- GDCh - Advisory Committee on Existing Chemicals of Environmental Relevance. **Acrylamide**. Stuttgart: GDCh, 1992.
- GRANATH, F. & TORNQVIST, M. Who Knows Whether Acrylamide in Food Is Hazardous to Humans? **Journal of the National Cancer Institute**, v. 95, n. 12, p. 842-843, 2003.
- HAGMAR, L. et al. Health Effects of Occupational Exposure to Acrylamide using Hemoglobin Adducts as Biomarkers of Internal Dose. **Scand J Work Environ Health**, v. 27, n. 4, p. 219-226, 2001.
- HC (Health Canada), 2002 a. Acrylamide and Food. Questions e Answers. (Updated March 2003). Disponível em: <http://www.hc-sc.gc.ca/food-aliment/cs-ipc/chha-edpcs/eacrylamide>. Acesso em: 5 mar 2003.
- HC (Health Canada), 2002 b. Acrylamide and Food. Questions e Answers. (Updated October 2003). Disponível em: <http://www.hc-sc.gc.ca/food-aliment/cs-ipc/chha-edpcs/eacrylamide>. Acesso em: 5 jan 2004.
- INCHEM, 1997. International Agency for Research on Cancer (IARC). Summaries & Evaluations. Acrylamide (Group 2A). Disponível em: <http://www.inchem.org/documents>. Acesso em: 20 set. 2003.
- JIFSAN (Joint Institute for Food Safety and Applied Nutrition)/ NCFST (National Center for Food Safety Technology). Mechanism of Formation of Acrylamide in Food. Acrylamide in food Workshop: scientific issues, uncertainties, and research strategies. 28-30 Outubro,

- Chicago. 2002 a. Disponível em: <http://www.jifsan.umd.edu/Acrylamide/INDEX.html>. Acesso em: 16 dez. 2002.
- JIFSAN/NCFST. Analytical Methods. Acrylamide in food Workshop: scientific issues, uncertainties, and research strategies. 28-30 Outubro, Chicago. 2002 b. Disponível em: <http://www.jifsan.umd.edu/Acrylamide/INDEX.html>. Acesso em: 16 dez. 2002.
- JIFSAN/NCFST. Exposure and Biomarkers. Acrylamide in food Workshop: scientific issues, uncertainties, and research strategies. 28-30 Outubro, Chicago. 2002 c. Disponível em: <http://www.jifsan.umd.edu/Acrylamide/INDEX.html>. Acesso em: 16 dez. 2002.
- JIFSAN/NCFST. Toxicology and Metabolic Consequences. Acrylamide in food Workshop: Scientific Issues, Uncertainties, and Research Strategies. 28-30 Outubro, Chicago. 2002 d. Disponível em: <http://www.jifsan.umd.edu/Acrylamide/INDEX.html>. Acesso em: 16 dez. 2002.
- JIFSAN/NCFST. Acrylamide in food Workshop: Update- Scientific Issues, Uncertainties, and Research Strategies. 13 - 15 Abril, Chicago. 2004 Disponível em: <http://www.jifsan.umd.edu/Acrylamide/INDEX.html>. Acesso em: 10 out. 2004.
- JOHNSON, K. A. et al. Chronic Toxicity and Oncogenicity Study on Acrylamide Incorporated in the Drinking Water of Fisher 344 Rats. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 85, p. 154-168, 1986.
- JUNG, M., Y., et al. A Novel Technique for Limitation of Acrylamide Formation in Fried and Baked Corn Chips and in French Fries. **Food Chemistry and Toxicology**, v. 68, n. 4, p. 1287-1290, 2003.
- KAPP, C. WHO urges more research into acrylamide in food. **The Lancet**, v. 360, p. 64, 2002.
- KONINGS, E. J. M. et al. Acrylamide Exposure from Foods of the Dutch Population and an Assessment of the Consequent Risks. **Food and Chemical Toxicology**, v. 41, p. 1569-1579, 2003.
- LASZLO, H. et al. **Química de Alimentos - Alterações dos Componentes Orgânicos**. São Paulo: Nobel. 1986.
- LOFSTEDT, R. E. & BOHOLM, A.. Off Track in Sweden. **Environment**, v. 41, n. 4; p. 16-25, 1999.

- LOFSTEDT, R. E. Science Communication and the Swedish Acrylamide “Alarm”. **Journal of Health Communication**, v. 8, p. 407-432, 2003.
- LoPACHIN, R., M., et al. Acrylamide Axonopathy Revisited. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 188, p. 135-153, 2003.
- LoPACHIN, R., M. The Changing View of Acrylamide Neurotoxicity. **Neurotoxicology**, v. 25, n. 4, p. 617-630, 2004.
- MARSH G. M. et al. Mortality Patterns Among Workers Exposed to Acrylamide: 1994 follow up. **Occupational and Environmental Medicine**, v. 56, p. 181-190, 1999.
- MENDES, R., **Patologia do Trabalho** (Atualizada e Ampliada). 2 ed. São Paulo: Atheneu.. 2003. vol 2.
- MIDIO, F. et al. **Toxicología de Alimentos**. São Paulo: Varela. 2000.
- MILLER, M. J. et al. Pharmacokinetics of Acrylamide in Fisher-344 Rats. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 63, p. 36-44, 1982.
- MOTTRAM, D. S., et al. Acrylamide is Formed in the Maillard Reaction. **Nature**, v. 419, n. 6906, p. 448-449, 2002.
- MUNLV/NRW -Ministerium für Umwelt und Naturschutz, Landwirtschaft und Verbraucherschutz des Landes Nordrhein-Westfalen, Untersuchungsergebnisse aus NRW zu Acrylamid in Lebensmitteln, 2002. Disponível em: http://www.bgvv.de/cm/208/untersuchungsergebnisse_aus_nrw_zu_acrylamid_in_lebensmitteln.pdf. Acesso em: 17 abr. 2003.
- MUCCI, L., A., et al. Dietary Acrylamide and Cancer of the Large Bowel, Kidney and Bladder: Absence of an Association in a Population-based Study in Sweden. **British Journal of Cancer**, v. 88, p. 84-89, 2003.
- MUCCI, L., A., et al. Dietary Acrylamide and Risk of Renal Cell Cancer. **Int. J. Cancer**, v. 109, p. 774-776, 2004.
- MUHLEND AHL, K., E. & OTTO, M. Acrylamide: More than just another Food Toxicant? **Eur J. Pediatr**, v. 162, p. 447-448, 2003.
- NEWSROOM, 2002. New Tests Confirm Acrylamide in American Foods, 2002. Disponível em: <http://www.cspinet.org/new>. Acesso em: 10 set. 2002.

- NFCA, 2002. Risk Assessment of Acrylamide Intake from Foods with Special Emphasis on Cancer Risk. Report from the Scientific Committee of the Norwegian Food Control Authority, Oslo, 2002. Disponível em: <http://www.snt.no>. Acesso em: 13 nov. 2002.
- NTP-CERHR (National Toxicology Program-Center for the Evaluation of Risks to Human Reproduction), 2004. Expert Panel Report on the Reproductive and Developmental Toxicity of Acrylamide. 2004 . Disponível em: <http://ntp.niehs.nih.gov>. Acesso em: 10 jul. 2004.
- O GLOBO**, 2002. Descoberta uma reação cancerígena na comida. O GLOBO, Rio de Janeiro, 1 out., Caderno 1, p. 34.
- PAIVIO, J & WALLENTINUS, H-G, 2001. The Hallandsas Railway Tunnel Project. Swedish EIA Centre. 2001. Disponível em: <http://www-mkb.slu.se>. Acesso em: 5 jul. 2003.
- PAULSSON, B. et al. The Multiplicative Model for Cancer Risk Assessment: Applicability to Acrylamide. **Carcinogenesis**, v. 22, n. 5, p. 817-819, 2002.
- PELUCCHI, C. et al. Fried Potatoes and Human Cancer. **Int. J. Cancer**, v. 105, p. 558-560, 2003.
- REKSNES, H.O., 2003. Acrylamide and Risk Communication. FAO/WHO Seminar on Acrylamide in Food. Tanzânia, 2003. Disponível em: <http://www.fao.org/es/ESN/jecfa/acrylamide>. Acesso em: 6 ago. 2003
- REYNOLDS T. Acrylamide and Cancer: Tunnel Leak in Sweden Prompted Studies. **Journal of National Cancer Institute**, v. 94, n. 12, p. 876-878, 2002.
- ROSÉN, J. Analysis of Acrylamide in Cooked Foods by Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry. **The Analyst**, v. 127, p. 880-882, 2002.
- ROSSI, R., J. **Metodologia Científica para a Área de Saúde**. São Paulo: Pancast, 1990.
- RUDÉN, C. Acrylamide and Cancer Risk: Expert Risk Assessments and the Public Debate. **Food and Chemical Toxicology**, v. 42, p. 335-349, 2004.
- RYDBERG, P., et al. Investigations of Factors that Influence the Acrylamide Content of Heated Foodstuffs. **J. Agric. Food Chem**, v. 51 p. 7012-7018, 2003.
- 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. 2002. Disponível em: <http://www.europa.eu.int>. Acesso em: 8 set. 2002

- SCHETTGEN, T., et al. Trans-placental Exposure of Neonates to Acrylamide-a Pilot Study. **Int Arch Occup Environ Health**, v.77, p. 213-216, 2004.
- SCHLUNDT, J. Acrylamide in Food. **Weekly Epidemiological Record**, v. 20, p. 166-167, 2002.
- SHARP, D. Acrylamide in Food. **The Lancet**, v. 361, n.1, p. 361-362, 2003.
- SHAW, I & THOMSON, B. Acrylamide Food Risk. **The Lancet**, v. 361, p. 434, 2003.
- STADLER, R. H., et al. Acrylamide from Maillard Reaction Products. **Nature**, v. 419, n. 6906, p. 449-450, 2002.
- SURDYK, N., et al. Effects of Asparagine, Fructose, and Baking Conditions on Acrylamide Content in Yeast-Leavened Wheat Bread. **J. Agric. Food Chem**, v. 52, p. 2047-2051, 2004.
- SVENSSON, K. et al. Dietary Intake of Acrylamide in Sweden. **Food and Chemical Toxicology**, v. 41, p. 1581-1586, 2003.
- TAREKE, E. et al. Acrylamide: A Cooking Carcinogen? **Chemical Research Toxicology**, v. 13, n. 6, p. 517-522, 2000.
- TAREKE, E. et al. Analysis of Acrylamide, a Carcinogen formed in Heated Foodstuffs. **J. Agric. Food Chem**, v. 50, p. 4998-5006, 2002.
- TAUBERT, D. et al. Influence of Processing Parameters on Acrylamide Formation during Frying of Potatoes. **J. Agric. Food Chem**, v. 52, p. 2735-2739, 2004.
- TORNQVIST, M. Epoxide Adducts to N-terminal Valine of Hemoglobin. **Methods in Enzimology**, v. 231, p. 650-657, 1994.
- TORBJORN, A., 2002. Acrylamide is Formed During the Preparation of Food and Occurs in Many Foodstuffs, 2002. Disponível em: <http://www.slv.se>. Acesso em: 5 set. 2002
- TREVISAN, R. M., S., & ZAMBRONE, F., A., D. **Regulamentação do Registro de Agrotóxicos: Abordagem da Avaliação da Exposição e do Risco Toxicológico Ocupacional**. São Paulo: ILSI, 2002.
- TYL, R., W., & FRIEDMAN, M., A. Effects of Acrylamide on Rodent Reproductive Performance. **Reproductive Toxicology**, v. 17, p. 1-13, 2003

- UWSF – Umweltwissenschaften und Schadstoff-Forschung,. Lebensmittelsicherheit: Acrylamid. **Z Umweltchem Ökotox**, v. 14, n. 4, p. 266 – 267, 2002.
- VATTEM, D., A. & SHETTY, K. Acrylamide in Food: A Model for Mechanism of Formation and its Reduction. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, v. 4, p. 331-338, 2003.
- VIEGAS, W. **Fundamentos da Metodologia Científica**. Universidade de Brasília. 1999.
- WEISS, G. Acrylamide in food: Uncharted Territory. **Science**, v. 297, p. 27, 2002.
- WEIDEBORG, M. et al. Environmental Risk of Acrylamide and Methyloacrylamide from a Grouting Agent used in the Tunnel Construction of Romeriksporten, Norway. **Water Research**, v. 35, n. 11, p. 2645-2652, 2001.
- WENZL, T. et al. Analytical Methods for the Determination of Acrylamide in Food Products: a Review. **Food Additives and Contaminants**, v. 20, n. 10, p. 885-902, 2003.
- YASUHARA, A., et al. Gas Chromatographic Investigation of Acrylamide Formation in Browning Model Systems. **J. Agric. Food Chem**, v. 51, p. 3999-4003, 2003.
- YAYLAYAN, V., A., et al. Why Asparagine Needs Carbohydrates to Generate Acrylamide. **J. Agric. Food Chem**, v. 5, n. 6, p. 1753-1757, 2003.
- ZYZAK, D., V., et al. Acrylamide Formation Mechanism in Heated Foods. **J. Agric. Food Chem**, v. 51, p. 4782-4787, 2003.