



Programa de Pós-Graduação  
em Tecnologia de Alimentos

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS  
CAMPUS LONDRINA – PR**

ALISON HENRIQUE DA SILVA IGNACIO

**IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ACRILAMIDA EM GRÃOS  
DE CAFÉ TORRADO E MOÍDO POR ANÁLISE CROMATOGRÁFICA**

LONDRINA  
2022

ALISON HENRIQUE DA SILVA IGNACIO

**IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ACRILAMIDA EM GRÃOS  
DE CAFÉ TORRADO E MOÍDO POR ANÁLISE CROMATOGRÁFICA**

**IDENTIFICATION AND QUANTIFICATION OF ACRYLAMIDE IN  
ROASTED AND GROUND COFFEE BEANS BY  
CHROMATOGRAPHIC ANALYSIS**

Dissertação apresentada ao programa de Mestrado Profissional em Tecnologia de Alimentos, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, campus Londrina, como requisito para obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Alimentos.

Área de Concentração: Tecnologia de produtos de origem vegetal

Linha de Pesquisa: Produtos de origem vegetal

Orientadora: Prof(a). Dr(a). Isabel Craveiro Moreira Andrei.

LONDRINA  
2022



[4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Esta licença permite que outros remixem, adaptem e criem a partir do trabalho para fins não comerciais, desde que atribuam o devido crédito e que licenciem as novas criações sob termos idênticos.

Conteúdos elaborados por terceiros, citados e referenciados nesta obra não são cobertos pela licença.



ALISON HENRIQUE DA SILVA IGNACIO

**IDENTIFICAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE ACRILAMIDA EM GRÃOS DE CAFÉ TORRADO E MOÍDO POR ANÁLISE CROMATOGRÁFICA**

Trabalho de pesquisa de mestrado apresentado como requisito para obtenção do título de Mestre Em Tecnologia De Alimentos da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR). Área de concentração: Tecnologia De Alimentos.

Data de aprovação: 04 de Março de 2022

Prof.a Isabel Craveiro Moreira Andrei, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof.a Lucia Felicidade Dias, Doutorado - Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof Pedro Renato Anizelli, Doutorado - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná (Ifpr)

Documento gerado pelo Sistema Acadêmico da UTFPR a partir dos dados da Ata de Defesa em 04/03/2022.

Dedico em primeiro lugar a Deus que me deu discernimento, sabedoria e força para finalizar este trabalho. Dedico também a esposa mais dedicada, amorosa, paciente, amiga e incentivadora que tenho: Bárbara Thaís Renzi.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente agradeço a Deus pela saúde e força para superar as dificuldades e atingir os meus objetivos. Agradeço ao meu amigo Mr. Cleber Luiz de Moura que me instigou com a ideia me motivando a iniciar este desafio e ajudando no desenvolvimento deste projeto. A minha orientadora Dr.<sup>a</sup> Isabel Craveiro Moreira Andrei pela paciência, dedicação e por acompanhar e orientar todo o desenvolvimento deste trabalho.

Agradeço a professora Dr.<sup>a</sup> Amélia Elena Terrile pela disponibilidade e prestatividade em ajudar na aplicação das Análises de Componentes Principais (ACP).

A todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos - PPGTAL por todos os ensinamentos durante o período letivo e aos meus colegas de turma que também me ajudaram nesta jornada acadêmica.

À Companhia Cacique de Café Solúvel pelo fornecimento das amostras de café e por acreditar na importância deste trabalho e a Universidade Tecnológica Federal do Paraná, pela estrutura disponibilizada, que contribuiu para o sucesso deste trabalho.

Aos meus pais pelo apoio e suporte nesta jornada, e por todos os ensinamentos e conselhos durante minha vida, e aos demais familiares que de alguma forma apoiaram.

A minha esposa Barbara pela paciência, cooperação, conselhos e por sempre estar ao meu lado me ajudando, incentivando a estudar e buscar sempre o melhor.

A meus amigos Bruno, Jaime, Ulisses, Silvio, Murilo pela ajuda no decorrer do trabalho e as minhas amigas Giselle Silva e Renata Sonottka por terem me auxiliado nas técnicas instrumentais aplicadas neste trabalho e pela disponibilidade para quando precisei de outras informações.

Enfim, a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desta pesquisa

A mudança não virá se esperarmos por outra pessoa ou outros tempos. Nós somos aqueles por quem estávamos esperando. Nós somos a mudança que procuramos. (OBAMA, Barack, 2015)

IGNACIO, Alison Henrique da Silva. **Identificação e Quantificação de Acrilamida em Grãos de Café Torrado e Moído por Análise Cromatográfica**. 2022. 62 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Cidade Londrina, 2022.

## RESUMO

O café é um dos produtos mais consumidos no mundo, seu grão é produzido do fruto do cafeeiro que passando por processos industriais pode-se fabricar vários tipos de bebidas com aromas e sabores agradáveis. Na composição química do grão são encontrados glicídios, proteínas, lipídios e minerais, na qual como todo produto natural pode ocorrer algumas alterações na sua composição química dependendo do processamento e armazenamento que foram submetidos. A acrilamida é um monômero sólido, inodoro, solúvel em água, esta substância começou a chamar a atenção em 2002 por apresentar características carcinogênicas, sua formação ocorre durante a reação de Maillard em alimentos ricos em aminoácidos e carboidratos que passaram por processos utilizando altas temperatura. Com a descoberta motivaram inúmeros estudos internacionais sobre a formação e ocorrência da substância, bem como o desenvolvimento de medidas para redução de seus níveis. Desta forma este trabalho teve como objetivo identificar e quantificar acrilamida em amostras das duas principais espécies de café comercializadas no país: *Coffea arábica* e *Coffea canephora*, aplicando diferentes graus de torra com monitoramento do tempo: 2, 4, 6 e 8 minutos após atingir 200 °C. Os resultados encontrados de acrilamida utilizando GC-MS foram de 179,99 ppb a 893,39 ppb para café arábica e 144,91 ppb a 445,40 ppb para café conilon. Já para concentrações de acrilamida utilizando UPLC-MS/MS foram de 100,33 ppb a 144,97 ppb para café arábica e de 100,33 ppb a 246,00 ppb para café conilon. Também foi obtido resultados das análises de cores com maiores resultados encontrados nos tratamentos de café conilon e carboidratos com maiores valores encontrados nos tratamentos de café arábica. Devido à grande quantidade de dados e de forma a entender melhor a variâncias entre os dados foi aplicado Análise de Componentes Principais (ACP) análise de componentes principais foi aplicado. Analisando os escores dos parâmetros o café arábica apresentou maiores teores de glicose e frutose, já o tratamento de torra aplicado em café conilon geraram maior teor de acrilamida durante a reação de Maillard e maiores valores de cor L\* a e b.

**Palavras-chave:** Grau de Torra. Carcinogênico. Asparagina. Carboidratos redutores.

IGNACIO, Alison Henrique da Silva. **Identification and Quantification of Acrylamide in Roasted and Ground Coffee Beans by Chromatographic Analysis.** 2022. 62 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Alimentos) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Cidade Londrina, 2022.

## **ABSTRACT**

Coffee is one of the most consumed products in the world, its bean is produced from the fruit of the coffee tree that, going through industrial processes, can manufacture various types of drinks with pleasant aromas and flavors. In the chemical composition of the grain, glycosides, proteins, lipids and minerals are found, in which, like any natural product, there may be some changes in its chemical composition depending on the processing and storage that were submitted. Acrylamide is a solid, odorless, water-soluble monomer, this substance began to draw attention in 2002 for presenting carcinogenic characteristics, its formation occurs during the Maillard reaction in foods rich in amino acids and carbohydrates that have undergone processes using high temperatures. The discovery motivated numerous international studies on the formation and occurrence of the substance, as well as the development of measures to reduce its levels. Thus, this work aimed to identify and quantify acrylamide in samples of the two main coffee species commercialized in the country: *Coffea arabica* and *Coffea canephora*, applying different degrees of roasting with monitoring of time: 2, 4, 6 and 8 minutes after reaching 200 °C. The results found for acrylamide using GC-MS were 179.99 ppb to 893.39 ppb for arabica coffee and 144.91 ppb to 445.40 ppb for conilon coffee. As for acrylamide concentrations using UPLC-MS/MS, they were from 100.33 ppb to 144.97 ppb for arabica coffee and from 100.33 ppb to 246.00 ppb for conilon coffee. Color analysis results were also obtained with higher results found in conilon coffee treatments and carbohydrates with higher values found in arabica coffee treatments. Due to the large amount of data and in order to better understand the variances between the data, Principal Component Analysis (PCA) was applied. Analyzing the parameter scores, arabica coffee presented higher levels of glucose and fructose, while the roasting treatment applied to conilon coffee generated higher acrylamide content during the Maillard reaction and higher L\* a and b color values.

**Keywords:** Roasting Grade, Carcinogenic, Asparagine, reducing carbohydrates.

## LISTAS DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Valores de cor considerando parâmetros L* a b para café arábica e conilon com diferentes graus de torra.....	41
<b>Tabela 2</b> – Resultados de carboidratos para café arábica e conilon .....	43
<b>Tabela 3</b> - Resultado da concentração de acrilamida em amostras de café arábica e conilon utilizando CG-EM .....	46
<b>Tabela 4</b> - Resultados da concentração de acrilamida utilizando CLUE/EM-EM.....	50

## LISTAS DE QUADROS

<b>Quadro 1</b> - Composição dos grãos de café verde em base seca da espécie arábica e conilon .....	14
<b>Quadro 2</b> - Identificação e codificação das amostras de café conilon e arábica com diferentes tempos de torra após 200°C .....	28
<b>Quadro 3</b> - Etapas de preparo da amostra - análise de carboidratos .....	31
<b>Quadro 4</b> – Parâmetros de injeção do equipamento Dionex Integrion .....	32
<b>Quadro 5</b> - Fragmentos recomendados pela ISO 18862 para monitoramento dos íons para cromatografia gasosa .....	35
<b>Quadro 6</b> – Parâmetros do cromatografo gasoso acoplado a espectrometria de massa .....	35
<b>Quadro 7</b> - Parâmetros de injeção UPLC-MS/MS Xevo TQ-S micro .....	38

## LISTAS DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Processo e beneficiamento de grãos de café .....	15
<b>Figura 2</b> - Níveis de referência para a presença de acrilamida nos géneros alimentícios referidos no artigo 1º, nº 1 da Comissão Europeia ...	18
<b>Figura 3</b> - Molécula de acrilamida .....	19
<b>Figura 4</b> - Mecanismo de formação da acrilamida pela reação de Maillard.....	21
<b>Figura 5</b> - O número de amostras de acrilamida no conjunto de dados final de 25 países europeus durante o período de monitoramento (2007 a 2010) .....	23
<b>Figura 6</b> - Curva do processo de torra aplicado ao café arábica utilizando equipamento IKAWA ProV3 com monitoramento de 2 minutos após 200 °C .....	29
<b>Figura 7</b> - Curva do processo de torra aplicado ao café conilon utilizando equipamento IKAWA Pro como monitoramento de 2 minutos após 200 °C .....	29
<b>Figura 8</b> - Amostras de café arabica torrados nos tempos de 2, 4, 6 e 8 minutos e moídos para análise de cor .....	30
<b>Figura 9</b> - Amostras de café conilon torrados nos tempos de 2, 4, 6 e 8 minutos e moídos para análise de cor .....	30
<b>Figure 10</b> - Fluxograma do processo de extração de acrilamida para CG-EM.	34
<b>Figure 21</b> - Fluxograma do processo de da análise de acrilamida por cromatografia líquida .....	37
<b>Figura 12</b> – Valores das médias de cor de torra para café arábica - L* a b.....	42
<b>Figura 13</b> - Valores das médias de cor de torra para café conilon - L* a b.....	42
<b>Figura 14</b> - Media dos valores de carboidratos para glicose e frutose café arábica.....	44
<b>Figura 15</b> – Media dos valores de carboidratos para glicose e frutose café conilon.....	45
<b>Figura 16</b> – Cromatograma do padrão de acrilamida com concentração de 1500 ppb .....	48
<b>Figura 17</b> – Cromatograma do padrão de acrilamida com concentração de 1500 ppb.....	48

<b>Figura 18</b> - Cromatograma do tratamento de café arábica coletado após 2 minutos de torra acima de 200 °C .....	49
<b>Figura 19</b> – Resultado da média da concentração de acrilamida para café arábica e café conilon após torra acima de 200 °C .....	51
<b>Figura 20a</b> - Gráfico dos escores para (a) os cafés e para (b) os parâmetros analisados .....	53
<b>Figura 20b</b> - Gráfico dos escores dos parâmetros analisados .....	53

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ABIC	Associação Brasileira da Indústria do Café
ANVISA	Agencia Nacional de Vigilância Sanitária
CONAB	Companhia Nacional de Abastecimento
EFSA	Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar
EMBRAPA	Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FAO	Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura
GC/MS	Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas
HPLC/MS	Cromatografia Líquida Acoplada à Espectrometria de Massas
JECFA	Comitê Misto FAO/OMS de Especialistas em Aditivos Alimentares
IARC	Agência Internacional de Pesquisa sobre Câncer
ISO	Organização Internacional de Normatização
OMS	Organização Mundial da Saúde
USDA	Departamento de Agricultura dos Estados Unidos

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>10</b>
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	<b>12</b>
2.1.1 Objetivos específicos.....	12
<b>3 CAFÉ</b> .....	<b>13</b>
3.1 BENEFICIAMENTO E PROCESSAMENTO DOS GRÃOS DE CAFÉ .....	14
3.2 DESCOBERTA DA ACRILAMIDA: ESTRATÉGIA TOMADA PELOS ÓRGÃOS REGULAMENTADORES .....	16
3.2.1 Acrilamida em alimentos, mecanismo de reação e suas fontes de exposição alimentar.....	19
3.3 MÉTODOS ANÁLITICOS.....	24
<b>4 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS</b> .....	<b>27</b>
4.1 MATERIAL .....	27
4.2 TRATAMENTO DOS GRÃOS DE CAFÉ VERDE .....	27
4.3 TORRA DOS GRÃOS DE CAFÉ VERDE E PREPARO DAS AMOSTRAS .....	28
4.4 ANÁLISE DE COR .....	30
4.5 ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DE CARBOIDRATOS .....	31
4.6 ANÁLISE CROMATOGRÁFICAS DE ACRILAMIDA.....	32
4.6.1 Análise de acrilamida por cromatografia gasosa acoplado a espectrometria de massa (CG-EM) .....	33
4.6.2 Análise de acrilamida por cromatografia líquida de ultra eficiência acoplado a espectrometria de massas (CLUE/EM-EM).....	36
4.7 TRATAMENTO DE DADOS.....	39
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	<b>40</b>
5.1 ANÁLISE DE COR EM AMOSTRAS DE CAFÉ TORRADOS E MOÍDOS UTILIZANDO ESPECTROFOTÔMETRO.....	40

5.2 ANÁLISE DE CARBOIDRATOS UTILIZANDO CROMATOGRAFIA DE ÍONS DE ALTA PRESSÃO - CIAP .....	43
5.3 ANÁLISE DE ACRILAMIDA POR CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADO A ESPECTROMETRIA DE MASSAS (CG-EM) .....	46
5.3.1 Fatores que influenciaram na quantificação de acrilamida utilizando CG-EM .....	47
5.4 ANÁLISE DE CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ULTRA EFICIÊNCIA ACOPLADO A ESPECTROMETRIA DE MASSAS (CLUE/EM-EM) .....	49
5.5 ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (ACP) .....	52
<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	<b>54</b>
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>55</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Atualmente o grão de café é um importante *commodity* exportado pelo Brasil e consumido em vários países do mundo. É produzido por grãos do fruto do cafeeiro da família Rubiaceae do gênero *Coffea*, que ao passar por distintos graus de torra é capaz de gerar diferentes bebidas, apreciadas pelos sabores, aromas, acidez e corpo, além de possuir propriedades estimulantes e antioxidantes (VIGOLI; BASSOLI; BENASSI, 2011).

Hoje as duas principais espécies cultivadas no Brasil tradicionalmente conhecidas são o *Coffea arábica* (café arábica) e *Coffea canephora* (café conilon ou robusta), que apresentam diferenças nas concentrações de compostos químicos, em compostos voláteis e não voláteis como, ácidos, aldeídos, cetonas, proteínas, aminoácidos, açúcares, ácidos graxos, cafeína, lipídios, compostos fenólicos e trigonelina (MONTEIRO; TRUGO, 2005; FARINHOTO, 2012).

Conforme levantamento da safra cafeeira realizado pela Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2021) há estimativa que o país atinja uma produção menor de sacas de café beneficiado para ano de 2021 devido a bialidade produtiva negativa na maioria das regiões do país, sinalizando uma redução expressiva em comparação com a safra do ano anterior que foi considerada um recorde, obtendo uma produção de 63,08 milhões de sacas de café beneficiadas sendo, 48,77 milhões de sacas de café arábica e 14,31 milhões de sacas café conilon.

Nos últimos anos a preocupação com a saúde e alimentação vem crescendo, principalmente questões relacionadas com a segurança alimentar e ao consumo elevado de alimentos processados. Por esse motivo, são realizadas pesquisas referentes a formação de compostos tóxicos, os quais podem ser formados através de reações químicas que ocorrem entre substâncias presentes ou adicionadas durante as etapas de fabricação de alimentos.

Podemos citar como exemplo os grãos de café torrados, que ao passarem por diferentes etapas de processo sofrem complexas reações nas quais algumas não são completamente entendidas, podendo formar tanto compostos desejáveis que alteram o sabor, corpo e aroma da bebida como substâncias indesejáveis. Uma dessas substâncias que vem instigando a busca de conhecimento na sua formação e toxicidade é a acrilamida, uma vez que se forma em grupos de alimentos com

potencial elevado de consumo, como o caso de produtos de panificação, batatas, cacau e café (SOARES, 2006; SERÔDIO, 2015).

A acrilamida é uma substância sólida a temperatura ambiente, inodora, solúvel em água e em alguns solventes orgânicos como metanol, etanol, acetona, acetato de etila, insolúvel em benzeno e heptano (SOARES, 2006). Sua descoberta foi comunicada por pesquisadores suecos em 2002 (ARISSETO, 2007), desde então grupos de pesquisas e indústrias de alimentos, principalmente nos Estados Unidos e Europa como é o caso da EFSA (Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar) têm se dedicado ao estudo desta substância.

Segundo a Agência Internacional de Pesquisa sobre Câncer (IARC, 2019) a acrilamida é considerada um carcinógeno provável, podendo causar alterações graves nos seres humanos. Esta substância forma-se durante o aquecimento do alimento em temperaturas geralmente acima de 120 °C, principalmente pela reação de um aminoácido com um açúcar redutor como parte da reação de Maillard (ANVISA, 2019).

Para a maioria dos ensaios de acrilamida são utilizados métodos de alta precisão como técnicas cromatográficas. A ISO 18862 vem propondo vários métodos para a quantificação da substância, nos quais as principais metodologias envolvem a cromatografia em fase líquida e gasosa. Vários autores quantificaram acrilamida em churros, batata frita, pães, biscoitos, água e café utilizando cromatografia líquida de alta eficiência acoplado a espectrometria de massas (HPLC/MS-MS) (GHFAR et al. 2014; ANDRZEJEWSKI et al., 2002). Já outros utilizaram cromatografia gasosa acoplado a espectrometria de massas (CG/MS-MS) para determinar acrilamida em amostras de cacau, café, malte e melão (HOENICKE et al., 2004; DIAS et al., 2018). Os ensaios realizados em cromatografia líquida acabam sendo mais vantajosos, pois na maioria das vezes não necessita de etapas adicionais como o caso da derivatização.

Considerando o café um dos importantes *commodity* do país, sendo sua bebida consumida mundialmente e pelas reações que ocorrem durante todo seu processo tornando-o um interessante objeto de pesquisa, viu-se a importância da investigação dos níveis de acrilamida nos grãos de café torrados e moídos com diferentes parâmetros de torra.

## 2 OBJETIVOS

Identificar e quantificar acrilamida utilizando técnicas cromatográficas em amostras de *Coffea arábica* e *Coffea canephora* com diferentes graus de torra.

### 2.1.1 Objetivos específicos

- Realizar a torra dos grãos de duas espécies de café com diferentes graus de torra.
  - Efetuar medidas de cor da torra dos grãos após sua moagem.
  - Analisar e quantificar carboidratos utilizando cromatografia de íons.
  - Quantificar acrilamida utilizando técnicas cromatográficas em amostras de café das duas diferentes espécies.
- Identificar etapas de maior formação de acrilamida nos diferentes parâmetros de tempo e temperatura de torra de cada espécie de café.
  - Comparar dados obtidos com a literatura.
  - Realizar tratamento estatístico
  - Correlacionar os dados encontrados nas análises como parâmetros de formação de acrilamida.

### 3 CAFÉ

O café é uma bebida escura, aromática com boa aceitação sensorial além de possuir propriedades estimulantes, produzida a partir de grãos do fruto do cafeeiro, tradicionalmente servido a quente podendo também ser consumido gelado. Conforme a classificação botânica, o café pertence à família *Rubiaceae* do gênero *Coffea*, sendo duas principais espécies dominam o comércio mundial, o *Coffea arábica*, conhecida como café arábica e o *Coffea canephora* comumente conhecido como café robusta ou conilon (FAO, 2019).

O café é originário da África, em específico da Etiópia, de acordo com a Lenda de Kaldi, após o pastor observar que suas cabras ficavam alegres e cheias de energia após mastigarem os frutos dos arbustos do campo, esses foram levados para o monastério, onde os monges quando consumiam o fruto puderam observar que os ajudavam nas rezas e vigias noturnas. Anos depois a Europa foi responsável por difundir o consumo da bebida por todo o mundo, já no Brasil as mudas foram trazidas da Guiana Francesa e plantadas no Pará, onde hoje o país é o maior produtor mundial de grãos de café beneficiado (ABIC, 2019).

Conforme primeiro levantamento de 2021 da safra cafeeira realizado pela Companhia Nacional de Abastecimento (CONAB, 2021) estima-se que o país atinja uma produção de 49,59 milhões de sacas de café beneficiado, sinalizando uma redução de até 30,5% em comparação com a safra do ano anterior, isso se deu devido a bienalidade negativa em quase todas as regiões do país. Apesar da queda na produção, segundo a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA, 2020), o Brasil é o maior produtor e exportador mundial de sacas de grãos de café de 60 kg, além de estar entre os maiores consumidores da bebida o país contribui de forma significativa no consumo mundial, com estimativa de crescimento global de consumo de 0,3% no período de 2019/2020 em relação ao ano anterior.

A boa qualidade de um café está relacionada a somatória de atributos físicos dos grãos crus como sua cor, forma e composição química, como glicídios, proteínas, lipídios e minerais, a maioria dos estudos referente a qualidade do café está relacionado com a análise de compostos como cafeína e ácidos clorogênicos, podendo esses se diferenciar conforme a espécie, tipo de beneficiamento e processo aplicado. No quadro 1 resume em termos gerais a composição de grãos de café arábica e conilon.

**Quadro 1** - Composição dos grãos de café verde em base seca da espécie arábica e conilon

COMPONENTES	CAFÉ ARÁBICA	CAFÉ CONILON
Cafeína	1,2	2,2
Trigonelina	1,0	0,7
Cinzas	4,2	4,4
Ácidos:		
Clorogênicos	6,5	10,0
Alifáticos	1,0	1,0
Químicos	0,4	0,4
Açúcares:		
Sacarose	8,0	4,0
Redutores	0,1	0,4
Polissacarídeos	44,0	48,0
Lignina	3,0	3,0
Pectina	2,0	2,0
Proteína	11,0	11,0
Aminoácidos livres	0,5	0,8
Lipídeos	16,0	10,0

**Fonte:** Farinhoto (2012).

Alguns compostos químicos entre as espécies de café possuem distintas características contribuindo na produção de diferentes bebidas. O café arábica produz bebidas mais suave, aromática, acidez elevada, menor amargor e menores concentrações de cafeína quando comparado ao café conilon, que apresenta bebidas com características mais neutras, maior amargor assim como teores de sacarose e polifenóis como ácidos clorogênicos. Apesar das diferenças entre as espécies ambos são capazes de produzir bebidas de excelente qualidade (FARINHOTO, 2012).

### 3.1 BENEFICIAMENTO E PROCESSAMENTO DOS GRÃOS DE CAFÉ

O fruto de café necessita passar por diferentes operações industriais que atendam padrões comerciais para chegar no tão desejável “cafezinho”, nas quais, envolvem etapas fundamentais para manutenção da qualidade do produto e principalmente para a obtenção de uma bebida de excelente qualidade.

A colheita dos grãos é realizada quando a maioria dos frutos tenham atingido um completo amadurecimento, após essa etapa ocorre a separação e pré

limpeza, onde a escolha dos próximos processos vão de acordo com a finalidade econômica do produto. Hoje as duas principais técnicas de despulpamento utilizadas para beneficiamento do café no Brasil são as de via úmida, mais aplicada em café arábica e à de via seca para cafés conilon (MESQUITA et al. 2016). No processamento por via úmida ocorre a remoção total das camadas exteriores dos frutos aplicando descascamento mecânico obtendo no final “café pergaminho e/ou cereja desmucilado” ou seja café maduro, enquanto a via seca obtém-se “café tipo coco”, esses submetidos a etapa de secagem sem retirada da polpa e casca, sendo está a mais predominante no país. Outras etapas importantes são os processos de pré-secagem, secagem, descascamento e armazenamento (MESQUITA et al., 2016; EMBRAPA, 2015).

**Figura 1** - Processo e beneficiamento de grãos de café



Fonte: EMBRAPA (2015)

A combinação de centenas de compostos produzidos por diversas reações físicas e químicas ocorrem durante o processo de torrefação. É nesta etapa que mais ocorrem alterações, como a perda inicial de umidade, expansão e rupturas da estrutura interna dos grãos, redução de compostos fenólicos, liberação de gás

carbônico, reações de Maillard, geração de compostos orgânicos, aumento de tamanho, diminuição de proteínas e aminoácidos (DIAS, 2010; FARINHOTO, 2012; SILVA; MORELI; JOAQUIM, 2015; GUIMARÃES, 2018). Neste processo três variáveis são parâmetros fundamentais de controle: tempo de torra, temperatura do produto e perda de massa (SILVA; MORELI; JOAQUIM, 2015). Um ótimo controle destas variáveis são benéficas para alcançar um ótimo controle de qualidade e como um dos principais fatores comumente medidos nas indústrias como parâmetros de torra é obter uma cor (clara, média ou escura) desejável nos grãos de café.

Após a torra os grãos são removidos do torrador e imediatamente resfriados para paralisar as reações de pirólise e perda da qualidade sensorial. Etapas como granulação, envase e armazenamento são as últimas operações aplicadas para a obtenção final de um café torrado e moído.

### 3.2 DESCOBERTA DA ACRILAMIDA: ESTRATÉGIA TOMADA PELOS ÓRGÃOS REGULAMENTADORES

Nas últimas décadas a exigência e preocupação com a saúde vem aumentando, estando em discussão temas que tratam de aspectos como segurança alimentar, sustentabilidade, meio ambiente e principalmente a formação e/ou adição de compostos tóxicos presente nos alimentos. O aumento acelerado da globalização e do comércio, alterações nas composições e hábitos alimentares ressaltam cada vez mais esses cuidados com produtos considerados inseguros para consumo.

Várias operações podem ser aplicadas no processamento de alimentos, desde altas temperaturas a processos fermentativos, podendo formar compostos benéficos ou nocivos à saúde (MARQUES et al. 2009). A Organização Mundial da saúde (OMS, 2008) descreve várias substâncias que podem causar danos à saúde, decorrente de reações de degradação de lipídios, defumação e pirólise (MARQUES et al, 2009). Dentre as substâncias tóxicas formadas em alimentos encontra-se a acrilamida, composto este pertencente ao grupo 2A que inclui os carcinógenos prováveis (IARC, 2019).

A acrilamida foi descoberta em consequência de uma contaminação ambiental provocada na construção de um túnel no sudoeste da Suécia. Para minimizar problemas de infiltração foi utilizado um produto a base de acrilamida que acabou contaminando a água do rio adjacente matando bovinos e peixes. Após o

ocorrido, foram encontrados traços de acrilamida em trabalhadores expostos a substância, dando início a investigações pela Organização das Nações Unidas para Alimentação e a Agricultura (FAO - Food and Agriculture Organization) e a Organização Mundial da Saúde (OMS) sobre a formação do composto em alimentos e suas possíveis consequências a saúde humana (FAO/OMS, 2002; SOARES, 2006).

Os primeiros resultados foram divulgados pela Administração Nacional da Alimentação Sueca em abril de 2002 (TAREKE, 2002; TAEYMANS et. al, 2004) e confirmadas por agências internacionais como a World Health Organization (WHO, 2002), a FAO (FAO, 2019) e o Comitê Misto FAO/OMS de Especialistas em Aditivos Alimentares (JECFA) que publicou um relatório alertando que a acrilamida pode ser prejudicial à saúde pública, visto que causa câncer em animais, solicitando assim, ações de redução do composto (JECFA, 2005; WANG et al., 2010). Aras et al. (2017) em estudo *in vivo* com oócitos de camundongos a exposição a acrilamida por meio do metabólito glicidamida, acredita que a exposição ao composto deve ser levada em consideração e uma ingestão diária tolerável deve ser estimada. Diferentes doses diárias foram consideradas por diferentes estudos seja 40 µg/kg-pc/dia para evitar a neurotoxicidade e 2,6 µg/kg-pc/dia para ter efeitos carcinogênicos (TARDIFF et al, 2010). Todos estes dados ajudaram a desencadear mais investigações sobre a presença de acrilamida em alimentos, que passam por aquecimento e sofrem reação de Maillard, a fim de verificar possível risco a saúde humana (TAEYMANS et al, 2004).

Em 2015 a Autoridade Europeia para a Segurança Alimentar (EFSA) também publicou dados coletados na Europa sobre alimentos que contem acrilamida e seus riscos para a saúde humana, divulgando uma primeira avaliação sobre o composto e seus efeitos (EFSA, 2015). Após a divulgação a EFSA solicitou a Comissão Europeia que medidas obrigatórias fossem adotadas para redução dos níveis de acrilamida em alimentos, com a ideia de que a União Europeia estabelecesse níveis máximos aceitáveis ao composto. Após passar pelo Parlamento e Conselho Europeu, em 2017 foi publicado pela Comissão Europeia medidas de mitigações e níveis de referência para a redução de acrilamida em alimentos (Figura 2), visando garantir condições de segurança dos alimentos aos consumidores (REGULAMENTO (UE), 2017; FOOD SAFETY BRAZIL, 2021). Na Califórnia nos Estados Unidos já existe legislação sobre acrilamida, que define que

valores acima de 275 ppb para cereais, chips, tortilhas, snacks, pipoca e biscoitos devem aparecer no rótulo que o produto contém acrilamida (FOOD SAFETY BRAZIL, 2021).

**Figura 10** - Níveis de referência para a presença de acrilamida nos gêneros alimentícios referidos no artigo 1º, nº 1 da Comissão Europeia.

Gênero alimentício	Nível de referência [µg/kg]
Batatas fritas (prontas a comer)	500
Batatas fritas de pacote fabricadas com batatas frescas e com massa de batata Bolachas salgadas à base de batata Outros produtos de batata à base de massa de batata	750
Pão fresco	
a) Pão à base de trigo	50
b) Pão fresco excluindo pão à base de trigo	100
Cereais para pequeno-almoço (exceto papas)	
— produtos à base de farelo e cereais integrais, grãos tufados pelo processo de <i>gun puffing</i>	300
— produtos à base de trigo e de centeio <sup>(1)</sup>	300
— produtos à base de milho, aveia, espelta, cevada e arroz <sup>(1)</sup>	150
Bolachas e wafers	350
Bolachas salgadas com exceção das bolachas à base de batata	400
Pão estaladiço ( <i>knäckebrot</i> )	350
Pão-de-espécie	800
Produtos semelhantes aos outros produtos desta categoria	300
Café torrado	400
Café instantâneo (solúvel)	850
Sucedâneos do café	
a) Sucedâneos do café exclusivamente a partir de cereais	500
b) Sucedâneos do café obtidos a partir de uma mistura de cereais e chicória <sup>(2)</sup>	( <sup>(2)</sup> )
c) Sucedâneos do café obtidos exclusivamente a partir de chicória	4 000
Alimentos para bebés, alimentos à base de cereais transformados destinados a lactentes e crianças pequenas, exceto bolachas e tostas <sup>(3)</sup>	40
Bolachas e tostas para lactentes e crianças pequenas <sup>(3)</sup>	150

<sup>(1)</sup> Cereais não integrais e/ou não à base de farelo. O cereal presente em maior quantidade determina a categoria.

<sup>(2)</sup> O nível de referência a aplicar aos sucedâneos do café obtidos a partir de uma mistura de cereais e chicória tem em conta a proporção relativa destes ingredientes no produto final.

<sup>(3)</sup> Conforme definidos no Regulamento (UE) n.º 609/2013.

**Fonte:** Regulamento Europeu (2017)

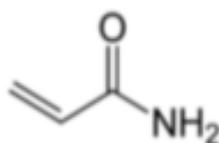
Apesar de todos os relatos muitos órgãos internacionais ainda não definiram limites para o composto, alegando que mais estudos são necessários para definir regras obrigatórias, porém, medidas de orientação e monitoramento estão sendo publicadas como é o caso do Guidance for Industry: Acrylamide in Food da

Administração de Alimentos e Medicamentos (FOOD AND DRUG ADMINISTRATION - FDA, 2016), da Revised Exposure Assesmente of Acrylamide in Food da Agência de Saúde do Canadá (HEALTH CANADA'S, 2021), das novas regras da Agência Espanhola de Consumo, Segurança Alimentar e Nutrição (AECOSAN, 2018) e do Informe Técnico nº 28 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2021). Em vista da incerteza e informações ainda não totalmente esclarecidas a FAO e a OMS também recomenda precauções no preparo de alimentos (LUTZOW, 2019).

### 3.2.1 Acrilamida em alimentos, mecanismo de reação e suas fontes de exposição alimentar

A acrilamida é um sólido branco, inodoro, cristalino a temperatura ambiente, com nomenclatura oficial 2-propenamida, é uma amida  $\alpha\beta$ -insaturada com forma molecular  $C_3H_5NO$ , eletrolítica muito hidrossolúvel de ponto de fusão de  $84,5\text{ }^\circ\text{C}$ , é um composto de estrutura vinílica de origem sintética podendo ser produzida através da conversão direta da solução aquosa de acetonitrila quando passada por uma camada de cobre metálico a  $200\text{ }^\circ\text{C}$  (SOARES, 2006; MORALES; MESÍAS; ANDRADE, 2018). Este composto por possuir um grupo amida e uma dupla ligação vinílica acaba se tornando favorável a um grande conjunto de reações e variações de uso, sendo utilizada em diversas produções industriais por ser um precursor na produção de vários polímeros como poliacrilamida, com aplicações na fabricação de cosméticos, colas, tratamento de água e esgoto, processamento de celulose e em métodos de biologia molecular (TAEYMANS et al., 2004; SERÔDIO, 2015).

**Figura 3** - Molécula de acrilamida



**Fonte:** SOARES (2006).

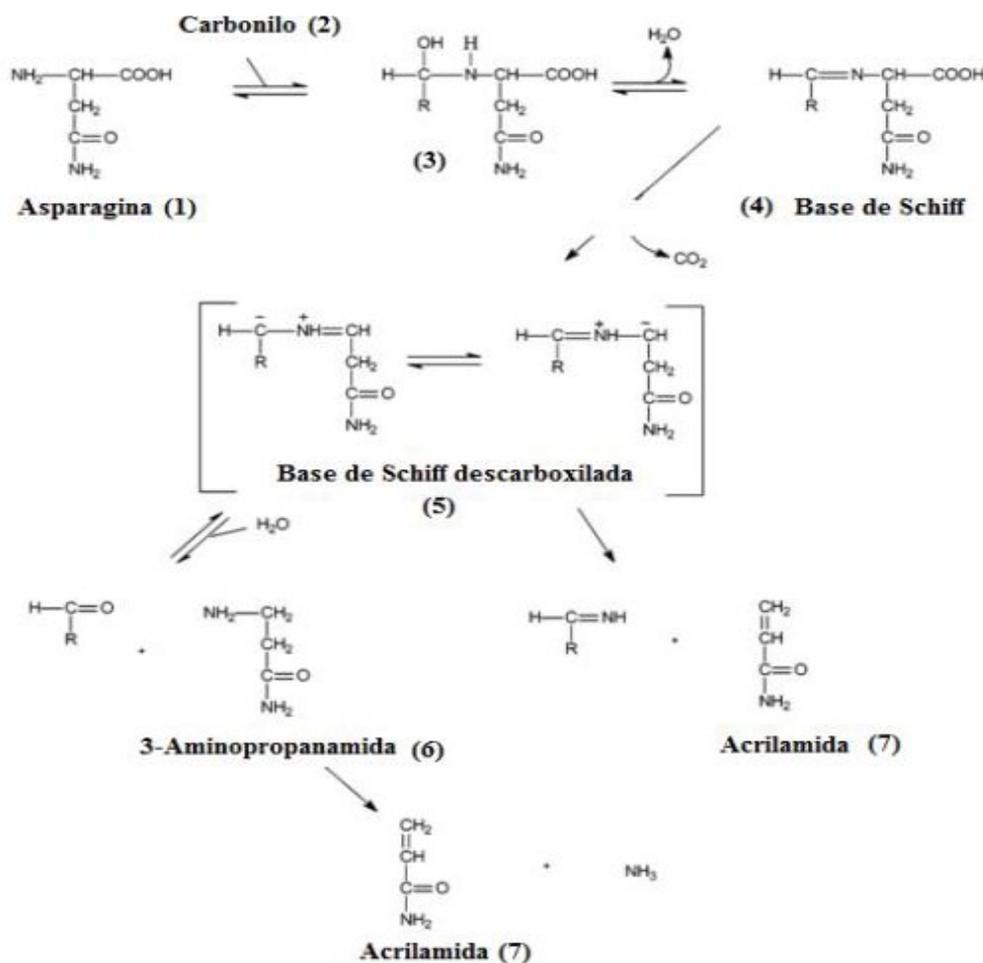
Antes destes estudos acreditava-se que as fontes de exposição a acrilamida estavam relacionadas ao cigarro e a água potável, mas com a descoberta em alimentos induziu a realização de diversos estudos para entender seu mecanismo de formação, toxicidade e seus níveis de produção. Segundo Soares (2006) e Gökmen (2016) este composto não existe naturalmente nos alimentos crus, sendo formado durante o aquecimento do alimento em temperaturas geralmente acima de 120 °C, principalmente pela reação entre um aminoácido com um açúcar redutor como parte da reação de Maillard (ANVISA, 2019), sendo esta última de grande importância no ponto de vista sensorial, contribuindo para formação de compostos aromáticos, sabor e cor nos alimentos. Kocadağlı et al (2012) comenta que o café é um dos produtos ricos no aminoácido asparagina principal precursor da acrilamida e no glicídio sacarose, este último quando passa pelo processo de torra forma monossacarídeos como a glicose e frutose que possuem grande influência para formação acrilamida.

Em estudo realizado em batatas Matthäus, Haase e Vosmann (2004) descrevem que o tempo de exposição ao calor é um fator chave para formação de acrilamida quando aplicado temperaturas de fritura igual ou superior a 175 °C, havendo um aumento rápido entre 180–190 °C em comparação com temperaturas entre 150 °C e 175 °C. Balagiannis et al (2019) relatam que a presença de mono ou dissacarídeos como glicose, frutose e sacarose junto com a asparagina contribuem de forma positiva para a formação de acrilamida, onde, a frutose por contém dois grupos  $\alpha$ - hidroxílicos em vez de um, como é o caso da glicose pode aumentar a concentração de acrilamida em até duas vezes quando comparado com a glicose que possui somente um grupo  $\alpha$ - hidroxílicos (ERIKSSON, 2005). Já Passos et al. (2018) e Laroque et al. (2008) demonstram que o comprimento da cadeia de carbono dos açúcares influencia nas concentrações de acrilamida, onde cadeias de carbono mais curtas têm contribuído mais para formação do composto do que cadeias mais longas.

Os glicídios possuem a capacidade de reduzir outros compostos devido sua reatividade da dupla ligação do oxigênio junto principalmente com o aminoácido asparagina por meio da reação de Maillard. Está é uma das primeiras vias químicas viáveis estudadas embora existam outras vias de formação, são os principais precursores para formação de acrilamida em alimentos, com altos níveis encontrados principalmente em batatas, pães, biscoito, cacau e café torrado. Porém

outras reações incluindo compostos como acroleína e ácido acrílico também são citados como potenciais precursores, já que as concentrações nos alimentos variam de acordo com a disponibilidade destes precursores e das operações empregadas (Gonzalez, 2021; TAVARES, 2015; BACKE; YINGLING; JOHNSON, 2014; BERMUDO et al,2006; SOARES, 2006; TAEYMANS et al. 2004). Sendo uma principal proposta de mecanismo da formação de acrilamida por meio da reação de Maillard estando presentes asparagina e açúcares redutores onde estes compostos reagem gerando a base Schiff pela remoção de água e posteriormente sobre descarboxilação formando oxazolidina-5-ona. Com o produto descarboxilado forma-se a acrilamida através da remoção de imina ou após a hidrólise para formar 3-aminopropanamida conforme Figura 4 (ZYZAK D. V et al, 2003).

**Figura 4 - Mecanismo de formação da acrilamida pela reação de Maillard**



Fonte: ZYZAK D. V et al. (2003).

As principais fontes de exposição alimentar com acrilamida encontram-se na maioria das matrizes de alto consumo como batatas, pães, biscoitos, salgadinhos, cerveja e café para diferentes faixas etárias. Segundo Cengiz e Gündüz (2013) a exposição à acrilamida para os jovens são mais elevados do que a população em geral para alimentos à base de cereais, esta relevância é por terem o hábito de maior consumo para esta classe alimentar. Eles também relatam que bebês e crianças são mais suscetíveis aos efeitos de compostos tóxicos ressaltando a importância da ampliação de estudos por parte dos cientistas para minimizar a exposição a acrilamida.

Em 2012 a EFSA publicou resultados do monitoramento dos anos de 2007 a 2010 de 25 países sobre acrilamida (Figura 5), apresentando 10 categorias principais de alimentos e mais 26 subcategorias, os limites médios variaram de 31 µg/kg para "outros alimentos à base de cereais processados" a 1.350 µg/kg para "substitutos do café". A tendência dos valores foi de uma diminuição nos níveis de acrilamida comparando com o passar dos anos para alimentos à base de cereais processados principalmente para bebês e crianças pequenas e um aumento para café. Já para alimentos considerados das subcategorias como salgadinhos e biscoitos também foram observadas diminuições no decorrer do monitoramento, porém um aumento para pão crocante e batatas fritas. Em adultos as batatas fritas, salgadinhos, café, cerveja, biscoitos, pão e hambúrgueres fritos ou assados são os que mais os expõem ao composto.

**Figura 5** - O número de amostras de alimentos estudadas para a acrilamida de 25 países europeus no período de 2007 a 2010.

<b>Food category</b>	2007	2008	2009	2010	Total
<b>French fries, sold as ready-to-eat</b>	648	563	501	256	1968
French fries from fresh potatoes	204	301	158	196	871
French fries from potato dough	0	1	0	1	2
Unspecified French fries	444	261	343	59	1112
<b>Potato crisps</b>	293	532	414	242	1481
Potato crisps from fresh potatoes	100	104	132	173	515
Potato crisps from potatoes dough	26	39	23	19	107
Unspecified potato crisps	167	389	259	50	875
<b>Pre-cooked french fries/potato products for home cooking</b>	137	254	249	117	757
Fries baked in the oven (oven fries)	8	121	71	28	228
Deep fried fries	32	34	44	64	177
Unspecified pre-cooked french fries/potato products for home cooking	97	99	134	25	358
<b>Soft bread</b>	176	259	182	150	767
Unspecified bread	4	0	19	0	23
<b>Breakfast cereals</b>	144	166	191	174	675
<b>Biscuits, crackers, crisp bread and similar</b>	938	898	964	462	3262
Crackers	27	22	39	64	152
Crisp bread	198	93	161	54	515
Wafers	33	48	85	37	203
Ginger bread	458	395	326	207	1390
Other biscuit, crackers, crisp bread and similar	222	340	353	100	1038
<b>Coffee and coffee substitutes</b>	312	443	279	151	1185
Roast coffee (dry)	175	280	187	103	756
Instant (soluble) coffee	52	42	51	15	174
Coffee substitutes	50	76	32	24	182
Unspecified coffee	32	45	9	9	96
<b>Baby foods</b>	93	149	128	55	425
<b>Processed cereal based foods for infants and Young children</b>	170	194	153	128	645
Biscuits and rusks	79	106	70	46	307
Other processed cereal based foods	65	69	55	82	284
Unspecified processed cereal based food for infants and Young children	26	19	28	0	74
<b>Others foods</b>	432	431	329	336	1528
Muesli and porridge	47	26	72	14	159
Pasties and cakes	63	98	31	81	273
Non-potato savoury snacks	63	33	66	80	243
Unspecified Other products	259	274	160	161	898
<b>Total</b>	<b>3347</b>	<b>3889</b>	<b>3409</b>	<b>2071</b>	<b>12716</b>

Fonte: EFSA (2012)

Estudo realizado com 111 amostras de alimentos em 19 categorias de produtos comercializados no Brasil encontrou concentração de acrilamida que variaram de 20 a 2528  $\mu\text{g kg}^{-1}$  (ARISSETO et al, 2007). Segundo pesquisa realizada por Arisseto e Toledo (2008) estima-se que os alimentos que mais contribuem para a

exposição a acrilamida são a batata frita 57% e o café 14%, este último contém os principais precursores para formação de acrilamida, que é formada durante o processo de torra. Outros dados relatados por Valenzuela e Ronco (2007) revelam que a acrilamida está presente em diversos alimentos conforme seu preparo, origem e composição com destaque para os pães, massas, arroz, molhos, carnes, biscoitos, cereais, cerveja, pizza e produtos à base de batata, milho e farinha onde a exposição dos consumidores está relacionada com a quantidade consumida e a disponibilidade do composto no alimento. Os mesmos autores também relataram que em estudo realizado com 1200 pessoas entre 17 a 70 anos de idade durante uma semana, registrou uma estimativa a exposição à acrilamida de 25 µg/dia.

Vale ressaltar que a formação de acrilamida também ocorreu durante o processo de preparo de alimentos nos lares quando aplicado temperaturas acima de 120°C e na presença de açúcares e proteínas (GONZALEZ, 2021). No entanto a ANVISA devido à incerteza do composto ser um possível carcinogênico não estipula limites para a quantidade de acrilamida em alimentos no país, existe diretrizes apenas para a qualidade em água (ANVISA, 2019).

### 3.3 MÉTODOS ANALÍTICOS

A identificação e quantificação de compostos em matrizes complexas de alimentos dependem em grande parte de métodos analíticos sofisticados, sendo de grande importância que estes sejam sensíveis e robustos, de modo a fornecerem resultados confiáveis dentre as diferentes categorias de alimentos existentes. De um modo geral se utiliza métodos cromatográficos e diversas etapas prévias são necessárias para isolar o composto de interesse.

A quantificação da acrilamida pode ser efetuada por cromatografia gasosa (CG) ou líquida (CL), acoplada a espectrometria de massa (EM), sendo um dos sistemas mais apropriado para a identificação do composto, já que a molécula possui característica de baixa massa molecular e elevada polaridade e de difícil detecção em detectores mais utilizados, principalmente em amostras de café, devido interferentes que co-eluem com o analito (SOARES, 2006). Métodos utilizando CG-EM são na maioria das vezes aplicadas etapas de derivatização enquanto métodos utilizando CL-EM são mais diretos, requerendo menos etapas de análises. Outros métodos também são usados com menos frequência como: cromatografia líquida

utilizando detectores de UV-Vis e eletroforese capilar acoplado a espectrometria de massas e bioensaios (BERMUDO et al., 2006; VARGAS et al. 2014).

Nos métodos (CG-EM) se aplica derivatização com a finalidade de reduzir a polaridade de acrilamida, alterando seu tempo de retenção, contribuindo na otimização dos parâmetros. Com base na bromação da amostra adicionando água ácida de bromo e KBr com seu excesso removido com tiosulfato de sódio ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ), ocorre a conversão de 2,3-dibromopropenamida em 2-bromopropenamida tornando a acrilamida menos polar, possibilitando a extração com solventes orgânicos como hexano utilizando ao final tratamento com trietilamida, evitando o risco da desidrobrominação no injetor ou na fonte de íons do EM, assim não impactando de forma significativa na seletividade ou sensibilidade do método, possibilitando o monitoramento mais preciso dos íons do composto (ISO, 2016; MASTOVSKA, LEHOTAY, 2006; ZHANG YU, ZHANG GENYI, ZHANG YING, 2005; Gökmen, S,enyuva, 2006; LAGANTE, FELTER, 2004)

Os diferentes métodos variam sobretudo nas técnicas usadas na preparação das amostras: homogeneização, centrifugação, extração, purificação dos extratos, precipitação seletiva, derivatização, evaporação e quantificação (SOARES, 2006). Solventes orgânicos ou água são aplicados nas etapas de extração, esta última pode diminuir a extração de compostos indesejáveis que podem interferir na detecção cromatográfica como proteínas, carboidratos e sais além de reduzir a solubilidade de compostos hidrofóbicos. Para a eliminação de compostos lipídicos os solventes orgânicos como diclorometano, hexano e éter de petróleo são mais aplicados, visto que estes podem levar a picos sobrepostos de acrilamida (ELBASHIR et al., 2014). Já para etapas de desproteínização podem ser realizadas com metanol, acetona, acetonitrila ou reagentes de Carrez com posterior processo de centrifugação (NIELSEN et al. 2006; SOARES, 2006).

Independentemente do método aplicado a adição de padrão interno nos ensaios são cruciais para recuperação de acrilamida, ajudando na exatidão, precisão e problemas quantitativos das análises (ZHU et al., 2008). As aplicações dos métodos e análises aplicadas foram possíveis graças ao uso de isótopos marcados que permitiram obter materiais de referência e padrões internos adequados possibilitando assim a validação dos mesmos pelos laboratórios (VALENZUELA; RONCO, 2007).

Os métodos publicados até agora para determinar a presença de acrilamida em café e derivados baseiam-se principalmente em CL-EM/EM com variações nas técnicas de purificação empregues, há no entanto uma falta de metodologias sensíveis e seletivas baseadas em CG-EM (ISO, 2016).

## 4 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

O presente estudo terá uma abordagem qualitativa e quantitativa, onde foi avaliado a presença de acrilamida aplicando técnicas cromatográficas em grãos de café torrado e moído das duas principais espécies comercializadas no país: *Coffea arabica* (café arábica - ARA) e *Coffea Canephora* (café conilon - CON). Também foram realizadas análises de cor e carboidratos, todas as análises foram realizadas no laboratório central da empresa.

### 4.1 MATERIAL

As amostras de grãos de café verde foram obtidas de diferentes lotes de café beneficiados das safras de 2019 e 2020, fornecidos pela empresa Cia Cacique de Café Solúvel situada em Londrina – Pr.

### 4.2 TRATAMENTO DOS GRÃOS DE CAFÉ VERDE

As amostras coletadas de cada espécie foram classificadas conforme Instrução Normativa nº 8 de 11 de junho de 2003 do MAPA por um especialista do laboratório de análises sensoriais da empresa e posteriormente armazenadas em local com ventilação controlada em dois sacos de polietileno com capacidade de 1 Kg, para cada espécie de café. Antes da aplicação da torra, todas as amostras foram homogeneizadas, identificadas e divididas em 4 porções de aproximadamente 250 g para cada espécie.

**Quadro 2** - Identificação e codificação das amostras de café conilon e arábica com diferentes tempos de torra após 200°C

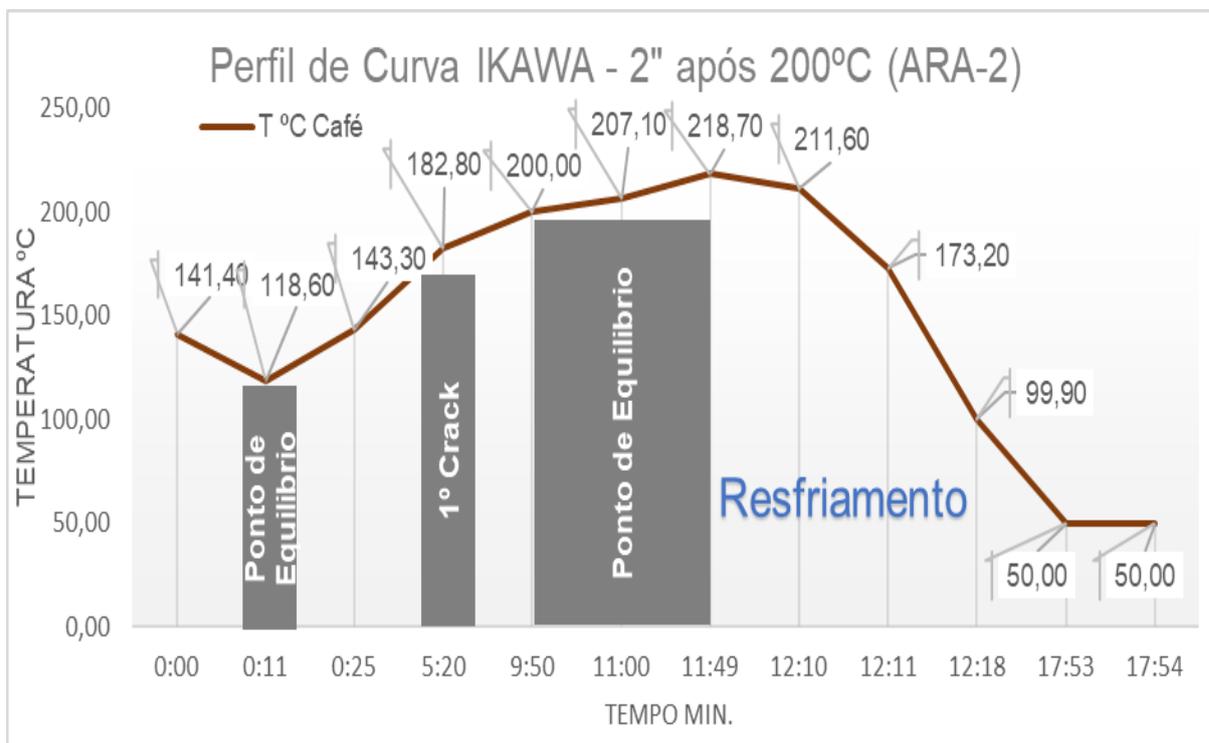
<b>Espécies de café</b>	<b>Tempo (min.) de torra após 200 °C</b>	<b>Codificação da amostra</b>
Café Conilon	2	CON-2
	4	CON-4
	6	CON-6
	8	CON-8
Café Arábica	2	ARA-2
	4	ARA-4
	6	ARA-6
	8	ARA-8

**Fonte:** O autor (2020)

#### 4.3 TORRA DOS GRÃOS DE CAFÉ VERDE E PREPARO DAS AMOSTRAS

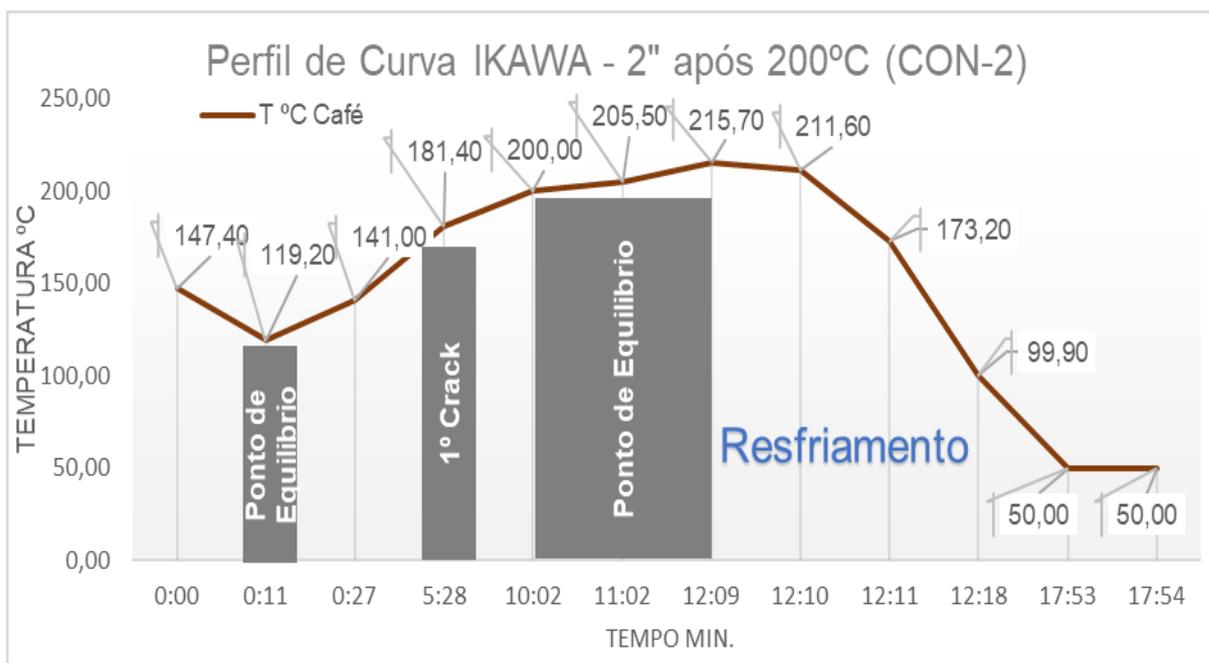
As amostras devidamente identificadas foram submetidas ao processo de torra utilizando equipamento portátil de torrefação Ikawa ProV3. Os parâmetros iniciais da curva de torra inserida no torrador foram as mesmas para as quatro amostras de cada espécie, a diferença foi o monitoramento realizado após os grãos atingirem temperatura de 200 °C, onde foram determinados os tempos de permanência após esta temperatura em 2, 4, 6 e 8 minutos e assim encerrado o processo de torrefação. Após torradas as amostras foram moídas em moinho de facas Ika modelo A11, peneiradas em peneira Brozinox de 500 µm de abertura e armazenadas em WIRL PACK em freezer a -8 °C até o momento das análises.

**Figura 11** - Curva do processo de torra aplicado ao café arábica utilizando equipamento IKAWA ProV3 com monitoramento de 2 minutos após 200 °C



Fonte: O autor (2020)

**Figura 12** - Curva do processo de torra aplicado ao café conilon utilizando equipamento IKAWA Pro como monitoramento de 2 minutos após 200 °C



Fonte: O autor (2020)

#### 4.4 ANÁLISE DE COR

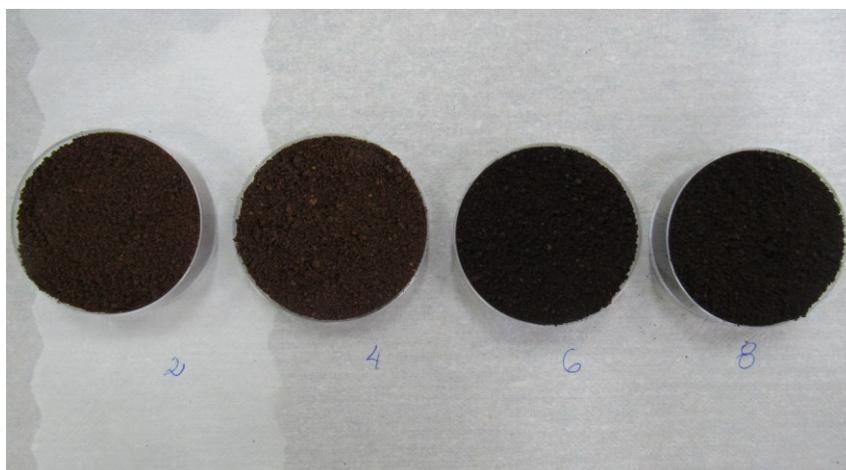
Para análise de cor nos grãos torrados e moídos foi utilizado espectrofotômetro ColorFlex EZ obtendo resultados de leitura dos parâmetros L\* a b. Para cada amostra devidamente codificadas foram transferidas para uma placa de petri de poliestireno 60 x 15 mm com auxílio de um suporte metálico com funil de forma a preencher totalmente a placa, em seguida foi ajustado o equipamento e realizado a leitura da amostra (Figura 8 e 9). Todas as leituras foram realizadas com cinco repetições de cada amostra.

**Figura 13** - Amostras de café arábica torrados nos tempos de 2, 4, 6 e 8 minutos e moídos para análise de cor



Fonte: O autor (2020)

**Figura 14** - Amostras de café conilon torrados nos tempos de 2, 4, 6 e 8 minutos e moídos para análise de cor



Fonte: O autor (2020)

#### 4.5 ANÁLISE CROMATOGRÁFICA DE CARBOIDRATOS

Para análise de carboidratos foram determinados oito compostos: manitol, sacarose, arabinose, galactose, glicose, xilose, manose e frutose conforme método ISO 11292:1997 adaptado.

Foi pesado aproximadamente  $0,30 \text{ g} \pm 0,001 \text{ g}$  para cada amostra em erlenmeyer de 250 mL, posteriormente adicionado 10 mL de solução de ácido clorídrico  $1 \text{ mol/L}^{-1}$ , fechado com papel alumínio e levando para banho maria a  $80 \text{ }^\circ\text{C}$  por aproximadamente 2h50min, realizando agitação a cada 30 minutos. Ao término da hidrólise a amostra foi resfriada em temperatura ambiente, em seguida toda a amostra do erlenmeyer foi transferido para balão volumétrico de 100 mL e completado com água ultrapura. Posteriormente realizou-se uma filtração com papel filtro faixa branca para um béquer, uma nova alíquota de 10 mL foi coletada e transferida para balão de 100 mL onde se completou o volume com água ultrapura. Coletou-se uma alíquota, a mesma foi transferida para seringa de plástico acoplada em um cartucho Dionex OnGuard II AG / H, esta alíquota foi transferida novamente para seringa e filtrada em filtro  $0,22 \text{ }\mu\text{m}$  descartando as primeiras gotas e transferido para vial de 5 mL. Ao final realizou-se a injeção em cromatografo de íons Dionex Integrion HPIC da marca Thermo Scientific.

**Quadro 3** - Etapas de preparo da amostra - análise de carboidratos

				
Pesagem da amostra	Hidrólise ácida em banho-maria	Filtração da amostra	Vial de injeção após filtração com filtro de seringa $0,22 \text{ }\mu\text{m}$	Solução estoque para preparo da curva

**Fonte:** O autor (2020)

Para Curva de calibração foram utilizados padrões procedentes da marca Sigma-Aldrich com alto grau de pureza. Para a quantificação dos carboidratos nas

amostras, preparou-se uma solução padrão diluídos em água ultrapura com os padrões: manitol, sacarose, arabinose, galactose, glicose, xilose, manose e frutose em balão volumétrico de 100 mL  $\pm$  0,10 mL, esta amostra foi definida como solução estoque. Sonificou-se a solução por 5 min em banho ultrassônico. Para obtenção do padrão analítico e curva de calibração com suas devidas concentrações, realizou-se uma diluição da solução estoque coletando alíquotas para balão de 100 mL, transferiu-se para seringa de plástico de 5 mL onde foi filtrado em filtro 0,22  $\mu$ m direto para o vial de 5 mL.

Os parâmetros do sistema do cromatografo estão descritos no quadro 4.

**Quadro 4** – Parâmetros de injeção do equipamento Dionex Integrion

<b>Condições do Dionex HPIC Integrion</b>	
Coluna:	Dionex Carbopac SA10-4 $\mu$ m analítica, 4 x 250; CarboPac SA10-4 $\mu$ m Guarda 4 x 50
Temperatura da Coluna:	40 °C
Temperatura do compartimento:	30 °C
Vazão:	1,5 mL / min.
Eluente:	KOH a 1 mM
Eletrodo de trabalho:	Ouro em PTFE descartável
Eletroquímica junta celular:	62 mil Eletrodo
Eletrodo de referência:	Ag / AgCl
Temperatura da bandeja do amostrador:	4 °C
Volume de injeção:	0,4 $\mu$ m (push modo completo usando injeção de 4 portas da válvula)
Condições de eluição:	Isocrática
Fonte do eluente:	Thermo Scientific Dionex EGC 500 KOH Cartucho Gerador de eluente Dionex CR-600 ATC continuamente regeneradas
Programa:	Thermo Scientific Dionex Chromeleon

**Fonte:** O autor (2020)

#### 4.6 ANÁLISE CROMATOGRÁFICAS DE ACRILAMIDA

O método utilizado neste projeto englobou análise de acrilamida em amostras de café torrado e moído de duas espécies (arábica e conilon) com

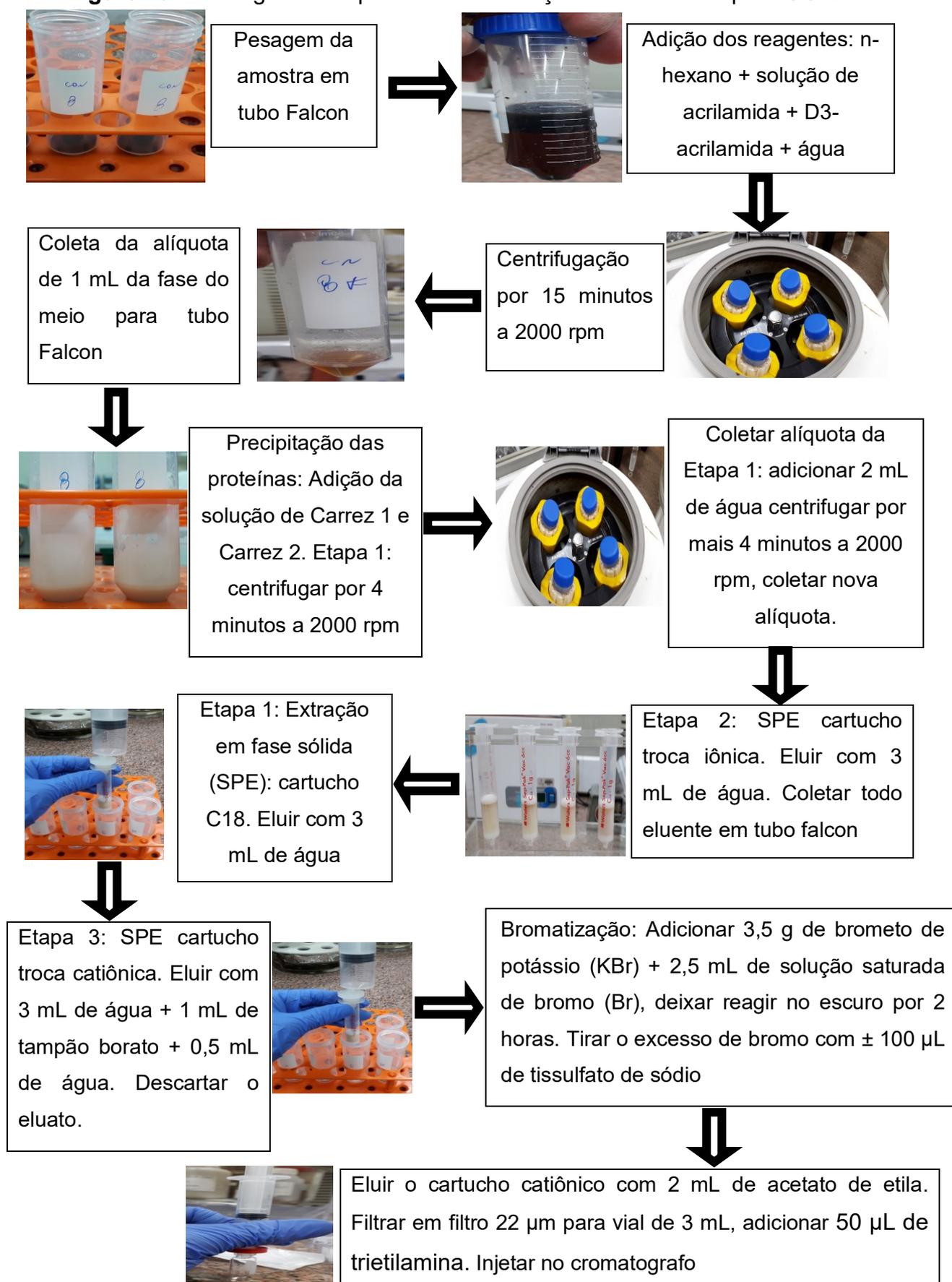
diferentes graus de torra utilizando as técnicas de cromatografia gasosa (LQ 75 µg/kg e líquida (LQ 50 µg/kg) acoplada a espectrometria de massas conforme metodologia descrita pela ISO 18862 (2016) adaptada.

#### 4.6.1 Análise de acrilamida por cromatografia gasosa acoplado a espectrometria de massa (CG-EM)

As amostras foram devidamente homogeneizadas e identificadas antes do início das análises, após este processo pesou-se aproximadamente 2 g da amostra em tubo falcon de 50 mL, adicionou-se 2 mL de n-hexano e agitou, em seguida adicionou-se 100 µL do padrão de acrilamida e acrilamida adulterada (D3-Acrilamida) mais 20 mL de água ultrapura, agitou-se e sonificou-se por 15 minutos com temperatura de 40 °C. Em seguida realizou-se uma centrifugação por 15 min a 2000 rpm. Observou-se uma separação de três fases no tubo Falcon, onde coletou-se com auxílio de uma pipeta automática uma alíquota de 1 mL da fase do meio do tubo, se atentando para não arrastar as demais fases. Transferiu-se para novo tubo dando início a uma nova etapa de precipitação das proteínas. Nesta etapa utilizou-se 1000 µL de solução Carrez I, agitou-se, adicionou-se mais 1000 µL de Carrez II e levou para centrifugar por 4 minutos a 2000 rpm, recolheu o sobrenadante em novo tubo, adicionou 2 mL de água no precipitado e levou para nova centrifugação nas mesmas condições citadas anteriormente, recolheu novamente o sobrenadante combinando-o com a solução anterior.

A próxima etapa consistiu-se na extração do composto de interesse utilizando cartuchos de extração em fase sólida (EFS). Primeiramente passou a solução pelo cartucho C18 eluiu-se com 3 mL de água, em seguida passou-se em cartucho de troca iônica eluiu-se com mais 3 mL de água. Todo eluato foi coletado em novo tubo, adicionou-se 3,5 g de brometo de potássio (KBr) e 2,5 mL de solução saturada de bromo (Br), deixou reagir no escuro por aproximadamente 2 horas. Em seguida tirou-se o excesso de bromo com aproximadamente 100 µL de tiosulfato de sódio. Uma nova etapa de extração foi aplicada passando todo eluato em cartucho EFS com propriedade de troca catiônica eluindo o mesmo com 3 mL de água, em seguida com 1 mL de tampão de borato e ao final mais 0,5 mL de água. Eluiu-se o cartucho com 2 mL de acetato de etila onde foi filtrado em filtro de 0,22 µm para vial de 3 mL, adicionou-se 50 µL de trietilamina antes da injeção no cromatografo.

**Figure 10** – Fluxograma do processo de extração de acrilamida para CG-EM



**Fonte:** O autor (2021)

Após todo processo de preparo as amostras foram analisadas em cromatógrafo gasoso acoplado a espectrometria de massas (modelo GC 6890N e detector MS 5973N) utilizando coluna Supelcowax 10 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm), com injetor *splitless*, gás de arraste Hélio ultra puro com fluxo constante de 1 mL/min., onde foi injetado 2 µL da amostra com sistema operando em modo SIM utilizando como base os fragmentos recomendados pela ISO 18862.

**Quadro 5** - Fragmentos recomendados pela ISO 18862 para monitoramento dos íons para cromatografia gasosa

<b>Bromopropenamida</b>	
Íon quantificador	m/z = 149 [C <sub>3</sub> H <sub>4</sub> <sup>79</sup> BrON] +
Íon qualificador	m/z = 106 [C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> <sup>79</sup> Br] +
<b>Bromopropenamida-D2</b>	
Íon quantificador	m/z = 153 [C <sub>3</sub> <sup>2</sup> H <sub>2</sub> <sup>1</sup> H <sub>2</sub> <sup>81</sup> BrON] <sup>+</sup>
Íon qualificador	m/z = 110 [C <sub>3</sub> <sup>2</sup> H <sub>2</sub> <sup>1</sup> H <sub>2</sub> <sup>81</sup> Br] <sup>+</sup>

**Fonte:** ISO 18862 (2016)

Já os dados foram analisados utilizando o software MSD Chemstation acoplado com a biblioteca de espectros de massa NIST/2008. Os demais parâmetros estão descritos no Quadro 6 - Parâmetros do cromatógrafo gasoso acoplado a espectrometria de massa

**Quadro 6** – Parâmetros do cromatógrafo gasoso acoplado a espectrometria de massa

<b>Parâmetros do GC</b>	
Gás de arraste:	He
Temperatura:	250 °C
Fluxo Total:	38,1 mL / min.
Pressão:	7,6 psi
Purga do Septo:	3 mL / min.
Modo de injeção:	Splitless pulsado
Pulso de pressão:	25 psi
Tempo do pulso de pressão:	0,5
Fluxo na saída do divisor:	35 mL / min.
Fluxo de economia de gás:	20 mL / min.
Tempo do economizador de gás:	2 min.

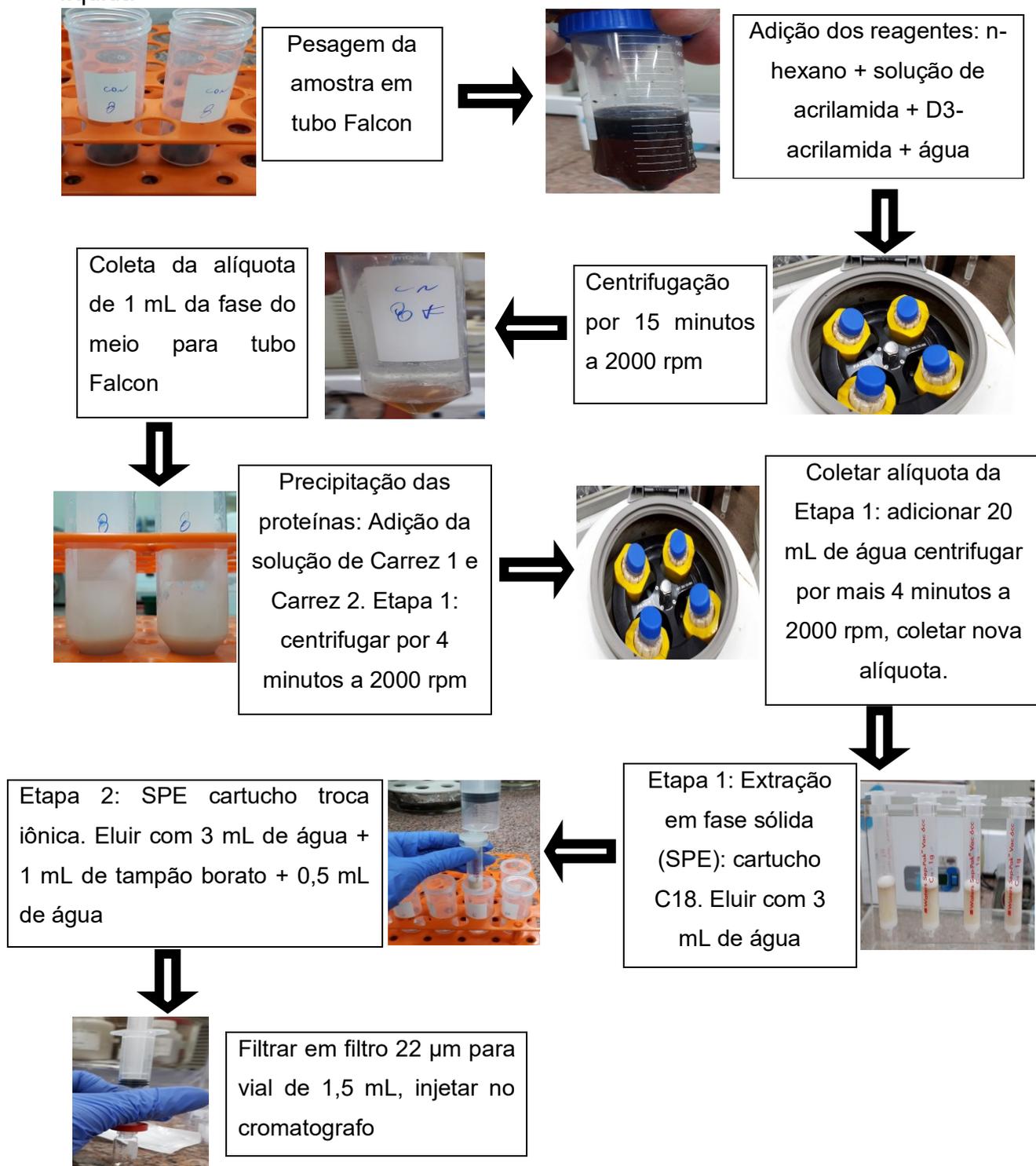
<b>Parâmetros da Coluna</b>	
Coluna:	Supelcowax 10 (30 m x 0,25 mm x 0,25 um)
Fluxo da coluna:	Fluxo constante 1,0 mL / min.
Velocidade Liner do gás de arraste:	36 cm / seg.
<b>Parâmetros do forno</b>	
Temperatura:	50 °C (1 min) 15 °C min. 240 °C (11 min.)
Tempo de corrida:	24,667 min.
Tempo de equilíbrio:	0,5 min.
Temperatura máxima do forno:	270 °C
Temperatura da interface:	250 °C
<b>Parâmetros do MS</b>	
Temperatura da fonte de íons:	230 °C
Temperatura do quadrupolo:	150 °C
Tune utilizado:	Autotune
Voltagem da multiplicadora:	1447 V
Fator de ganho:	5
Voltagem com ajuste de ganho:	1775 V
Modo de aquisição:	SIM
Massa monitorada:	149, 106, 153, 110
Dwell time:	100 ms

**Fonte:** O autor (2020)

#### 4.6.2 Análise de acrilamida por cromatografia líquida de ultra eficiência acoplado a espectrometria de massas (CLUE/EM-EM)

Para análise em cromatografia líquida seguiu-se as mesmas condições iniciais utilizadas no ensaio para cromatografia gasosa mas sem aplicação das etapas de derivatização, onde após a etapa de clean-up utilizando filtro cartucho de troca iônica eluiu-se o mesmo com 3 mL de água, 1 mL de tampão de borato e ao final mais 0,5 mL de água foi filtrado em filtro de 0,22 µm e transferido uma alíquota para vial de 1,5 mL, posteriormente realizou-se a injeção no cromatografo devidamente ajustado conforme Quadro 7.

**Figura 11:** Fluxograma do processo da análise de acrilamida por cromatografia líquida



Fonte: O autor (2021)

**Quadro 7** - Parâmetros de injeção UPLC-MS/MS Xevo TQ-S micro

Equipamento	Xevo TQ-S micro	
Coluna	UPLC HSS T3	
Dimensão	100 x 2.1mm 1.8 mm	
Fase móvel		
A1	H <sub>2</sub> O + 0,1% FA	
A2	MeOH + 0,1% FA	
Vazão	0,5 ml/min	
Tempo de corrida	7 min.	
Gradiente:	Fluxo mL/min: 0,250	
Tempo	% Solvente A	%Solvente B
Inicial	99,9	0,1
0,50	99,9	0,1
3,00	90	10
3,01	10	90
4,00	10	90
4,01	99,9	0,1
7,00	99,9	0,1
Controle de Temperatura		
Coluna	30 °C	
Amostra	10 °C	
Solvente de lavagem	MeOH	
Solvente de purga	H <sub>2</sub> O + 0,1% FA	
Lavagem Pré-injeção	0 sec.	
Lavagem Pós-injeção	6 sec	
Modo ionização	ES+	
Span	0,1	
Massa monitorada: acrilamida	71,9 - 26,9; 71,9 - 54,9	
Massa monitorada: acrilamida D3	75,0-57,90	
Dwell	0,11	
Cone (V): 15	Colisão: 13 e 9	
Janela de retenção		
Start	1.4	
End	3	

**Fonte:** O autor (2021)

#### 4.7 TRATAMENTO DE DADOS

Os resultados obtidos foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey com nível de 5% de significância. Os ensaios experimentais para análise de acrilamida em grãos de cafés torrados e moídos utilizando técnica de cromatografia líquida foram submetidos a análise de componentes principais (ACP) aplicando-se os Software Statistica 8.0.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A seguir serão discutidos os resultados adquiridos das análises realizadas nos grãos de café torrado e moídos por diferentes grãos de torra.

### 5.1 ANÁLISE DE COR EM AMOSTRAS DE CAFÉ TORRADOS E MOÍDOS UTILIZANDO ESPECTROFOTÔMETRO

A análise de cor em amostras de café é um parâmetro muito utilizado para avaliar o grau de torra de amostras quando aplicado o processo de torrefação. Neste trabalho foram realizadas análises de cor das amostras de cafés arábica e conilon depois de terem passado por diferentes graus de torra, onde foram coletados valores dos parâmetros de “L” (luminosidade), “a” e “b” (coordenadas de cromaticidade) conforme apresentado na Tabela 1. Ao analisar os valores de luminosidade (L) é importante se atentar na interpretação dos resultados, onde “L” indica valores da luminosidade sendo 0 representa cor totalmente preto e 100 totalmente branco, já para as coordenadas “a” e “b”, estas que estão relacionadas com as direções que a cor pode assumir no processo de torra sendo +“a” indica cor vermelho e -“a” cor verde e para +“b” amarelo e -“b” azul.

**Tabela 1** - Valores de cor considerando parâmetros L\* a b para café arábica e conilon com diferentes graus de torra

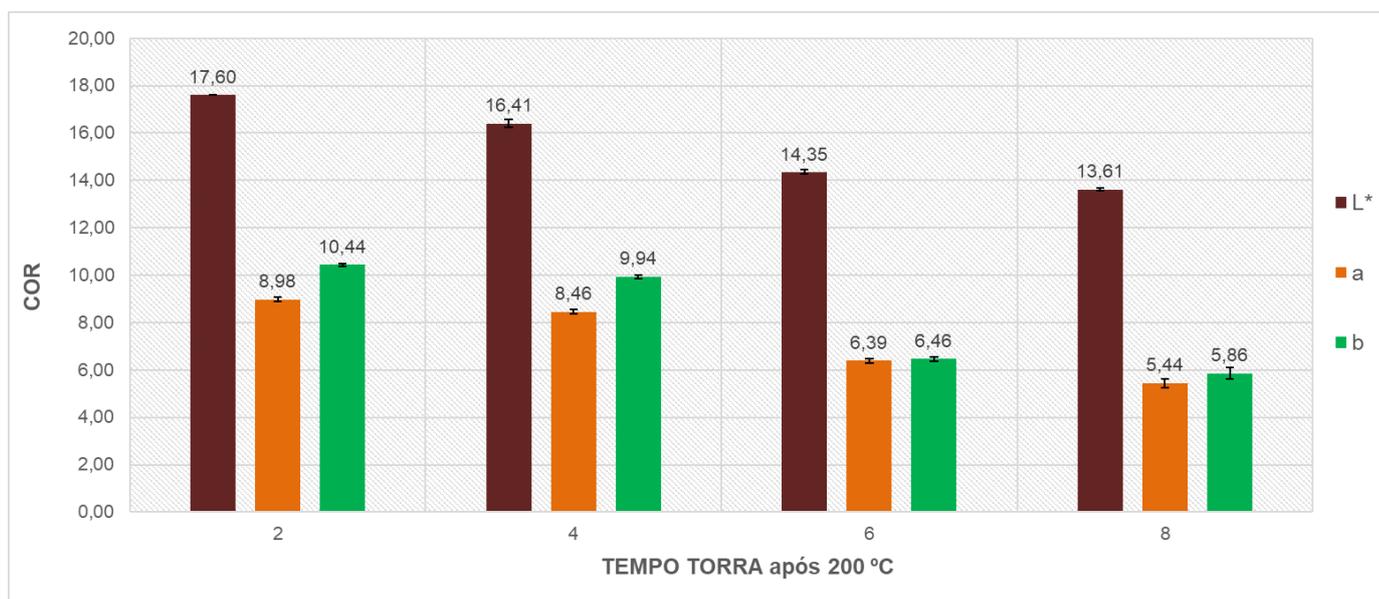
Amostra	Tempo Total de torra (min.)	Temperatura máxima de torra (°C)	Parâmetros de cor		
			L*	a	b
ARA-2	11:49	218,70	17,60 ± 0,15 <sup>a</sup>	8,98 ± 0,10 <sup>i</sup>	10,44 ± 0,06 <sup>r</sup>
ARA-4	12:36	219,90	16,41 ± 0,09 <sup>b</sup>	8,46 ± 0,08 <sup>j</sup>	9,94 ± 0,07 <sup>s</sup>
ARA-6	12:39	221,10	14,35 ± 0,05 <sup>c</sup>	6,39 ± 0,09 <sup>k</sup>	6,46 ± 0,10 <sup>t</sup>
ARA-8	13:40	222,30	13,61 ± 0,19 <sup>d</sup>	5,44 ± 0,19 <sup>l</sup>	5,86 ± 0,25 <sup>u</sup>
CON-2	12:09	215,70	18,42 ± 0,12 <sup>e</sup>	9,04 ± 0,12 <sup>m</sup>	10,99 ± 0,08 <sup>v</sup>
CON-4	12:39	218,30	18,05 ± 0,04 <sup>f</sup>	8,86 ± 0,04 <sup>n</sup>	10,79 ± 0,05 <sup>x</sup>
CON-6	13:39	221,10	12,19 ± 0,18 <sup>g</sup>	5,46 ± 0,13 <sup>o</sup>	6,14 ± 0,08 <sup>z</sup>
CON-8	14:00	223,10	11,82 ± 0,09 <sup>h</sup>	5,22 ± 0,07 <sup>p</sup>	5,90 ± 0,11 <sup>y</sup>

**Nota:** ARA: café arábica; CON: café conilon; número na frente de cada codificação representa o tempo de torra após 200°C; média de 5 repetições ± desvio padrão; médias seguida por letras diferentes na mesma coluna dentro do mesmo grupo de cor indicam diferença significativa ao nível de 5% de significância pelo Teste de Tukey.

**Fonte:** O autor (2021)

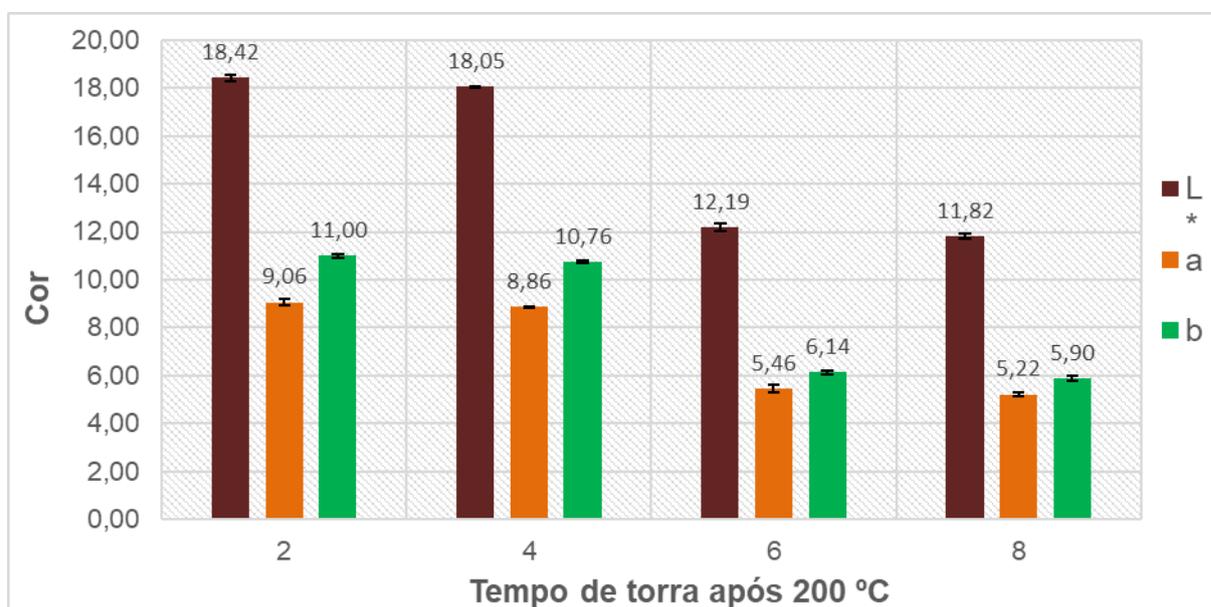
Pode-se observar que a variação dos resultados de cor de torra para o componente L\* foram diminuindo à medida que houve um aumento no tempo e temperatura de torra para ambos os tipos de café e que em todos os casos houve diferença significativa para todos os tratamentos com nível de significância de 5%. Esta relação também pode ser observada nos componentes a e b, onde os resultados encontrados para ARA-6 e ARA-8 atingiram cores mais escuras com relação ao ARA-2 e ARA-4 (Figura 12), o mesmo ocorreram com os tratamentos aplicados com os resultados encontrados para café conilon com cores mais escuras nos tratamentos CON-8 e CON-6 (Figura 13) respectivamente.

**Figura 12** – Valores das médias de cor de torra para café arábica - L\* a b



Fonte: O autor (2021)

**Figura 13** – Valores das médias de cor de torra para café conilon - L\* a b



Fonte: O autor (2021)

De acordo com Rabelo et al. (2015) e Couto et al. (2019), valores de L\* acima de 35 determinam cor de torra clara, L\* entre 35 e 30 com cor de torra média e abaixo de 25 cor de torra escura. Baseada nesta definição os valores encontrados neste estudo podem ser definidos como cor de torra escura.

Alessandrini et. al (2008) em trabalho realizado com amostras de diversas regiões de cafés torrados com tempo de torra de 6,5 minutos, encontrou valores médios para parâmetros de L\* entre 17,07 e 18,71 para cafés arábica e de 19,37 e 19,57 para cafés conilon, valores estes foram semelhantes aos encontrados para amostras de ARA-2 e próximos aos observados no CON-2, mas com tempo de torra inferiores aos aplicados neste trabalho que pode ter influenciado nas diferenças encontradas. O mesmo autor ainda relatou que a cor dos cafés mudou da zona verde-amarela para a laranja vermelha e ao final para a zona marrom. Já Conti e Prudencio (2011) em trabalho realizado com diferentes categorias de cafés entre eles cafés exóticos, encontraram valores de L\* entre 11,64 a 15,96 estando esses próximos dos valores encontrados para ARA-6, ARA-8, CON-6 e CON-8.

## 5.2 ANÁLISE DE CARBOIDRATOS UTILIZANDO CROMATOGRAFIA DE ÍONS DE ALTA PRESSÃO - CIAP

Os resultados encontrados das análises de carboidratos nas amostras de café arábica e conilon estão apresentados na Tabela 2.

**Tabela 2** – Resultados das médias de carboidratos para café arábica e conilon

Amostra	Manitol	Sacarose	Arabinose	Galactose	Glicose	Xilose	Manose	Frutose
ARA-2	ND	ND	2,855 ± 0,009 <sup>a</sup>	3,597 ± 0,027 <sup>e</sup>	0,105 ± 0,000 <sup>dk</sup>	0,621 ± 0,038 <sup>n</sup>	3,536 ± 0,010 <sup>l</sup>	0,328 ± 0,089 <sup>i</sup>
ARA-4	ND	ND	2,894 ± 0,011 <sup>a</sup>	3,274 ± 0,017 <sup>f</sup>	0,114 ± 0,004 <sup>d</sup>	0,596 ± 0,016 <sup>n</sup>	2,956 ± 0,010 <sup>l</sup>	0,328 ± 0,051 <sup>i</sup>
ARA-6	ND	ND	1,860 ± 0,005 <sup>bc</sup>	3,486 ± 0,010 <sup>g</sup>	0,096 ± 0,004 <sup>k</sup>	0,467 ± 0,016 <sup>o</sup>	4,224 ± 0,028 <sup>m</sup>	0,072 ± 0,000 <sup>j</sup>
ARA-8	ND	ND	1,824 ± 0,005 <sup>bc</sup>	3,724 ± 0,025 <sup>h</sup>	0,103 ± 0,008 <sup>dk</sup>	0,488 ± 0,005 <sup>o</sup>	4,779 ± 0,445 <sup>m</sup>	ND
CON-2	ND	ND	2,190 ± 0,005 <sup>p</sup>	3,311 ± 0,006 <sup>u</sup>	0,089 ± 0,004 <sup>wy</sup>	0,528 ± 0,005 <sup>¥</sup>	4,200 ± 0,028 <sup>ß</sup>	0,209 ± 0,059 <sup>t</sup>
CON-4	ND	ND	2,229 ± 0,014 <sup>q</sup>	3,076 ± 0,015 <sup>v</sup>	0,091 ± 0,00 <sup>w</sup>	0,534 ± 0,011 <sup>¥</sup>	3,668 ± 0,036 <sup>α</sup>	0,209 ± 0,078 <sup>t</sup>
CON-6	ND	ND	2,123 ± 0,000 <sup>r</sup>	3,365 ± 0,00 <sup>x</sup>	0,080 ± 0,004 <sup>y</sup>	0,528 ± 0,019 <sup>¥</sup>	4,641 ± 0,028 <sup>ε</sup>	0,226 ± 0,000 <sup>t</sup>
CON-8	ND	ND	1,729 ± 0,009 <sup>s</sup>	2,589 ± 0,000 <sup>z</sup>	0,059 ± 0,004 <sup>*</sup>	0,427 ± 0,021 <sup>µ</sup>	3,874 ± 0,021 <sup>£</sup>	0,123 ± 0,000 <sup>t</sup>

**Nota:** ARA: café arábica; CON: café conilon; número na frente de cada codificação representa o tempo de torra após 200°C; média de 3 repetições ± desvio padrão; médias seguida por letras ou símbolos iguais na mesma coluna dentro do mesmo grupo indica que não existe diferença significativa ao nível de 5% de significância pelo Teste de Tukey; ND – não detectado; para os compostos manitol e sacarose não foram detectados valores significativos.

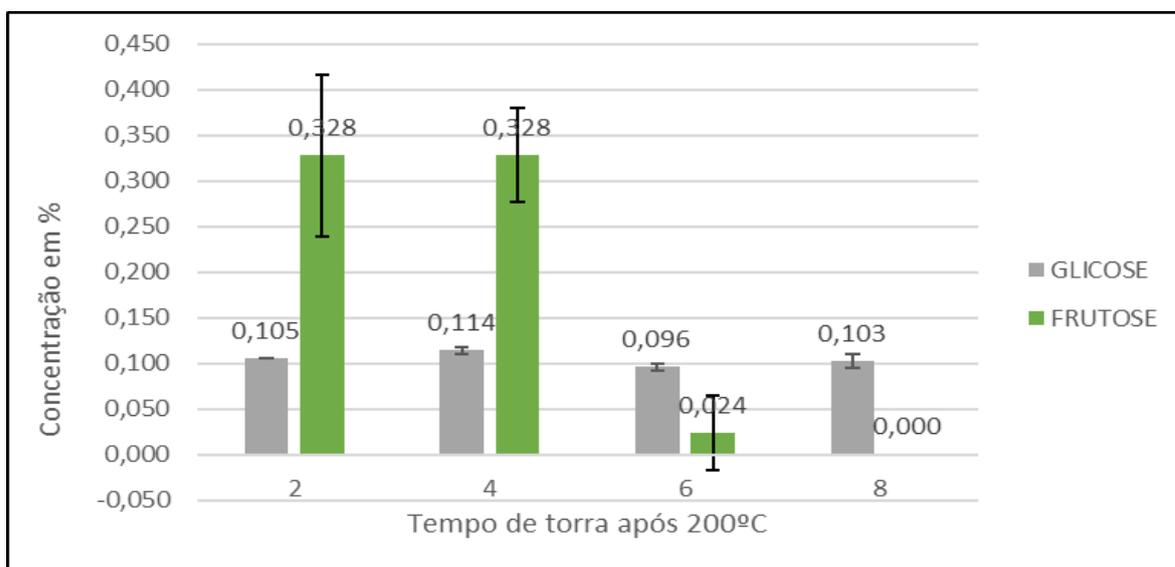
**Fonte:** O autor (2021)

**Legenda:** Todas as concentrações das análises de carboidratos foram encontradas em porcentagem (%).

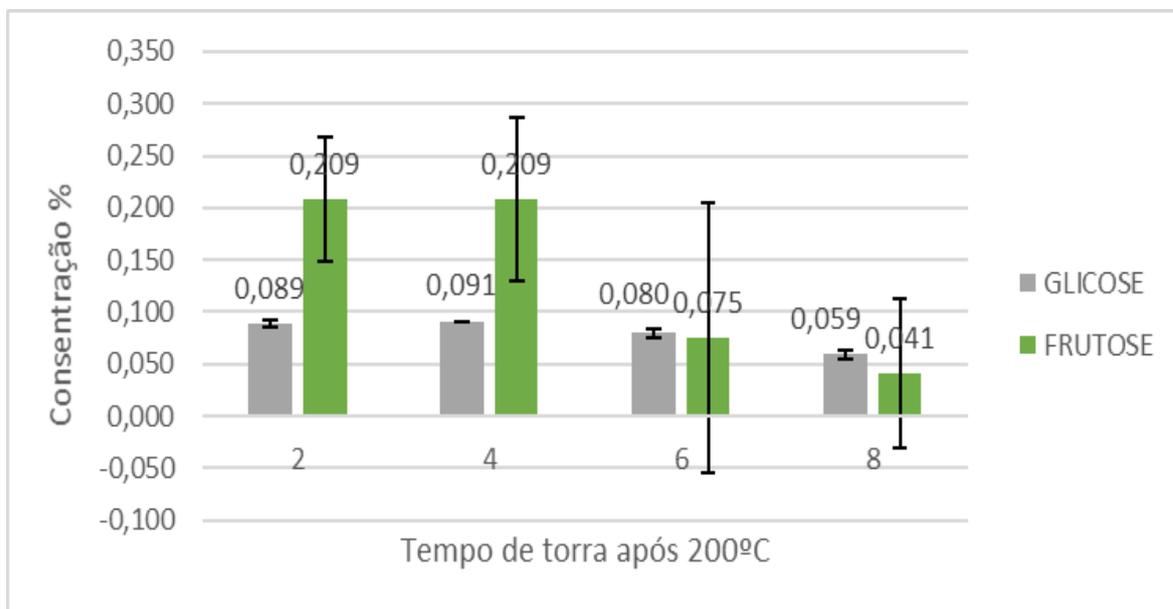
Os açúcares estão diretamente ligados as características e reações que ocorrem nos grãos de café durante o processo de torrefação, contribuindo para qualidade do produto final. Pode-se observar nos resultados apresentados neste trabalho que em todas as amostras das duas espécies para os compostos manitol e sacarose não foram detectados, estes podem ser consumidos durante o processo de torra para formação de outras substâncias que contribuem com a formação de aromas e sabores. Oliveira (2006) relata que ao aplicar torras mais escuras nos grãos de café a sacarose reage completamente para gerar compostos como monossacarídeos, precursores de ácidos e aldeídos responsáveis pelo flavour.

Com relação aos compostos considerados principais precursores de acrilamida como a glicose e frutose (Figuras 14 e 15), a glicose apresentou diferença significativa para as amostras de cafés arábicas entre os tratamentos ARA-4 e ARA-6, para os demais tratamentos não houve diferença significativa, já para frutose houve diferença significativa para os demais tratamentos a amostra ARA-6, onde não foi detectado concentrações de fruto no tratamento ARA-8. Nos tratamentos para café conilon considerando o composto glicose houve diferença significativa entre os tratamentos CON-4, CON-6 e CON-8, onde a amostra CON-8 se diferenciou com nível de significância de 5% de todos os demais tratamentos. Já o composto frutose não apresentou diferença significativa para as amostras de café conilon.

**Figura 14** – Media dos valores de carboidratos para glicose e frutose café arábica



Fonte: O autor (2021)

**Figura 15** – Media dos valores de carboidratos para glicose e frutose café conilon

**Fonte:** O autor (2021)

Em estudo realizado por Blanc et al. (1989) com café arábica torrado utilizando HPLC-UV-VIS, mostra teores de carboidratos que variaram em % entre 1,29-2,00 para glicose; 0,08-0,14 para xilose; 3,19-20,93 para galactose; 1,03-6,29 para arabinose; 5,91-19,50 para manose. Os valores encontrados neste trabalho se assemelharam somente para o composto galactose, esta diferença nos resultados dos demais compostos podem ser justificadas devido a diferença das condições de tempo e temperatura aplicados nas amostras. Ruiz-Matute et al (2006) encontraram valores de carboidratos em amostras de cafés torrados e comerciais de: manitol 0,03-0,25; frutose 0,10-0,48; galactose 0,00-0,02; glicose 0,18-0,82 e sacarose 0,21-0,46. Neste trabalho os principais carboidratos redutores como a frutose, foram próximos dos encontrados para as amostras ARA-2, ARA-4, CON-2, CON-2 e CON-6, já para os demais compostos não houve semelhança. Ao comparar os valores encontrados em cafés verdes pelos mesmos autores: frutose (0,34 – 0,04), glicose (0,34 – 0,04) e sacarose (29,19 – 8,10) pode observar que houve uma total hidrólise da sacarose para todos os tratamentos, podendo este, ter contribuído para formação de compostos como glicose e frutose.

### 5.3 ANÁLISE DE ACRILAMIDA POR CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADO A ESPECTROMETRIA DE MASSAS (CG-EM)

Os ensaios que utilizam técnicas de cromatografia gasosa são baseados em grande parte na bromação do analito ou na análise sem derivatização. Neste trabalho a derivatização foi aplicada a matriz trabalhada, esta etapa auxilia na melhoria de parâmetros como seletividade, sensibilidade, aumento da volatilidade e na diminuição de potenciais interferentes na amostra, além de permitir a formação de compostos mais voláteis, menos polares e com maior massa molecular, facilitando a detecção de acrilamida principalmente em matrizes mais complexas como o café.

Na Tabela 3 estão os resultados encontrados para análises de acrilamida nas amostras de café das duas espécies. Nos valores encontrados para café arábica houve diferença significativa apenas na amostra ARA-6 comparado com os demais tratamentos, já para o café conilon houve diferença apenas entre os tratamentos CON-2 e CON-8. Não foram detectadas concentrações de acrilamida para as amostras ARA-8 e CON-6.

**Tabela 3** - Resultado da concentração de acrilamida em amostras de café arábica e conilon utilizando CG-EM

Amostra	Tempo Total de torra (min.)	Temperatura máxima de torra °C	Concentração de acrilamida (ppb)
ARA-2	11:49	218,70	187,24 ± 77,56 <sup>a</sup>
ARA-4	12:36	219,90	179,99 ± 49,15 <sup>a</sup>
ARA-6	12:39	221,10	893,39 ± 47,24 <sup>b</sup>
ARA-8	13:40	222,30	ND
CON-2	12:09	215,70	445,40 ± 75,45 <sup>c</sup>
CON-4	13:59	218,30	358,03 ± 149,36 <sup>cd</sup>
CON-6	11:59	221,90	ND
CON-8	14:00	223,10	144,91 ± 22,00 <sup>d</sup>

**Nota:** ARA: café arábica; CON: café conilon; número na frente de cada codificação representa o tempo de torra após 200°C; média de 3 repetições ± desvio padrão; médias seguida por letras iguais na mesma coluna dentro do mesmo grupo de cor não indicam diferença significativa ao nível de 5% de significância pelo Teste de Tukey; ND – não detectado

**Fonte:** O autor (2020)

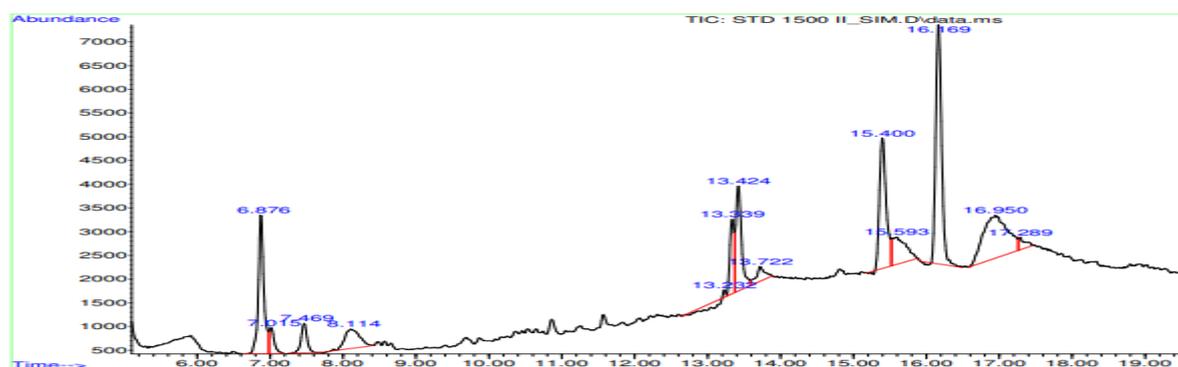
Os valores encontrados nos tratamentos apresentaram baixa repetibilidade nos resultados, tendo como relação os parâmetros de torras aplicados. Muitos autores relatam a dificuldade em analisar acrilamida em matrizes complexas principalmente devido a necessidade da aplicação de diversas etapas prévias para separação do analito de interesse, como é o caso do café (DELATOUR et. al, 2004; ANDRZEJEWSKI et. al, 2004), onde vários interferentes podem comprometer os resultados analíticos os quais foram notados neste trabalho e comentados abaixo.

### 5.3.1 Fatores que influenciaram na quantificação de acrilamida utilizando CG-EM

Além da complexidade da matriz que envolvem a própria substância como baixa massa molecular, elevada polaridade, difícil extração em matrizes aquosas e más propriedades cromatográficas, outros fatores foram observados no decorrer do ensaio, como a co-extração de compostos que contribuíram na formação de espuma e forte coloração, mesmo após a aplicação das etapas de clean-up e purificação utilizando colunas de extração em fase sólida (EFS). Como exemplo foi observado nas etapas de agitação alta formação de espuma provocando contaminações nos equipamentos e perdas de amostras. Também se observou a influência da forte coloração que contribuiu na perda de analitos saturando o cartucho EFS contribuindo na coloração final já que alguns compostos corados eram solúveis no solvente orgânico utilizado, também foi notado dificuldade na etapa de derivatização, uma vez que a solução de bromo, devido sua coloração ficava disfarçada na solução.

A aplicação de mais de um cartucho EFS C18 foi testado, mais não mostrou melhoras significativas na eliminação da coloração além de aumentar o custo de forma significativa do ensaio. O insucesso do método nas primeiras análises contribuiu em problemas analíticos e a necessidade de trocas constantes do liner e limpezas no sistema conforme cromatograma da Figura 16.

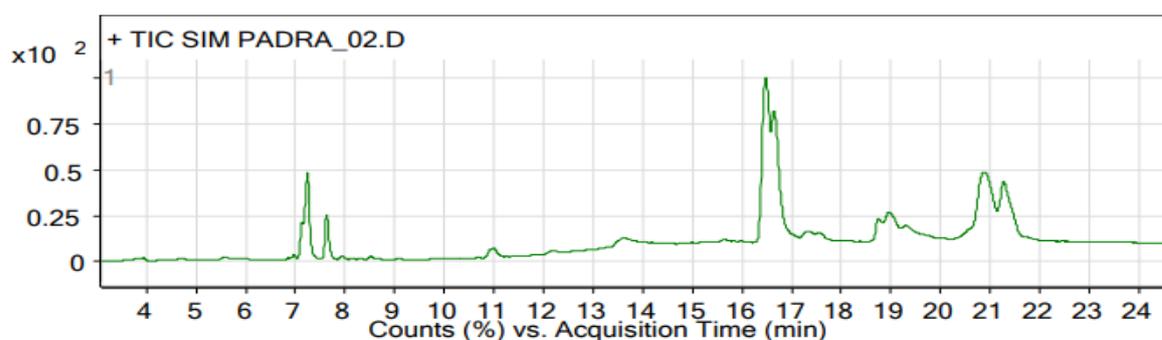
**Figura 16** – Cromatograma do padrão de acrilamida com concentração de 1500 ppb



Fonte: O autor (2020)

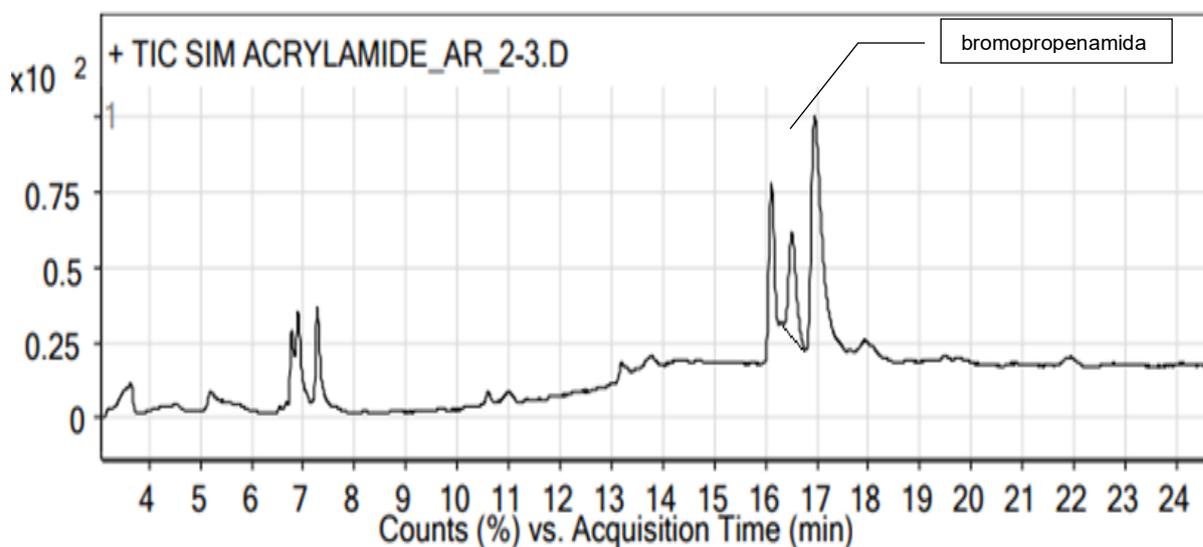
Visto os vários problemas relatados várias tratativas foram aplicadas como etapas adicionais de purificação com cartuchos EFS, aumento no tempo de centrifugação nos processos iniciais de separação e precipitação de proteína, mais a alternativa que obteve melhores resultados foi a diminuição do volume da alíquota coletada da primeira etapa de extração (remoção de lipídios), coletando 1 mL da amostra em vez de 10 mL conforme descrito na metodologia descrita na ISO 18862-2016. Com a diminuição do volume pode-se observar uma melhor eficiência de extração nas etapas purificação utilizando EFS, como também na eliminação de espuma e na coloração marrom vista nos testes anteriores. Os resultados foram mais satisfatórios porem interferentes ainda foram observados nos resultados encontrados conforme cromatogramas da Figura 17 e Figura 18.

**Figura 17** – Cromatograma do padrão de acrilamida com concentração de 1500 ppb



Fonte: O autor (2020)

**Figura 18** - Cromatograma do tratamento de café arábica coletado após 2 minutos de torra acima de 200 °C



**Fonte:** O autor (2020)

Conforme pode-se observar os picos apresentaram problemas nas injeções dos padrões e nas amostras, justificando a dificuldade encontrada durante todo o ensaio. Esses resultados foram semelhantes para todos os demais tratamentos. Outros problemas como baixa seletividade, repetibilidade e recuperação foram encontradas durante as análises mesmo aplicando várias tratativas como: inspeções gerais no equipamento e trocas de consumíveis. Visto isso resolveu-se confirmar os resultados utilizando cromatografia líquida acoplado a espectrometria de massa para quantificação dos resultados.

#### 5.4 ANÁLISE DE CROMATOGRÁFIA LÍQUIDA DE ULTRA EFICIÊNCIA ACOPLADO A ESPECTROMETRIA DE MASSAS (CLUE/EM-EM)

Uma das técnicas mais aplicadas para identificação de compostos em diversas matrizes é a técnica de cromatografia líquida. Para as análises neste estudo foi utilizado um CLUE/EM-EM.

**Tabela 4** - Resultados da concentração de acrilamida utilizando CLUE/EM-EM

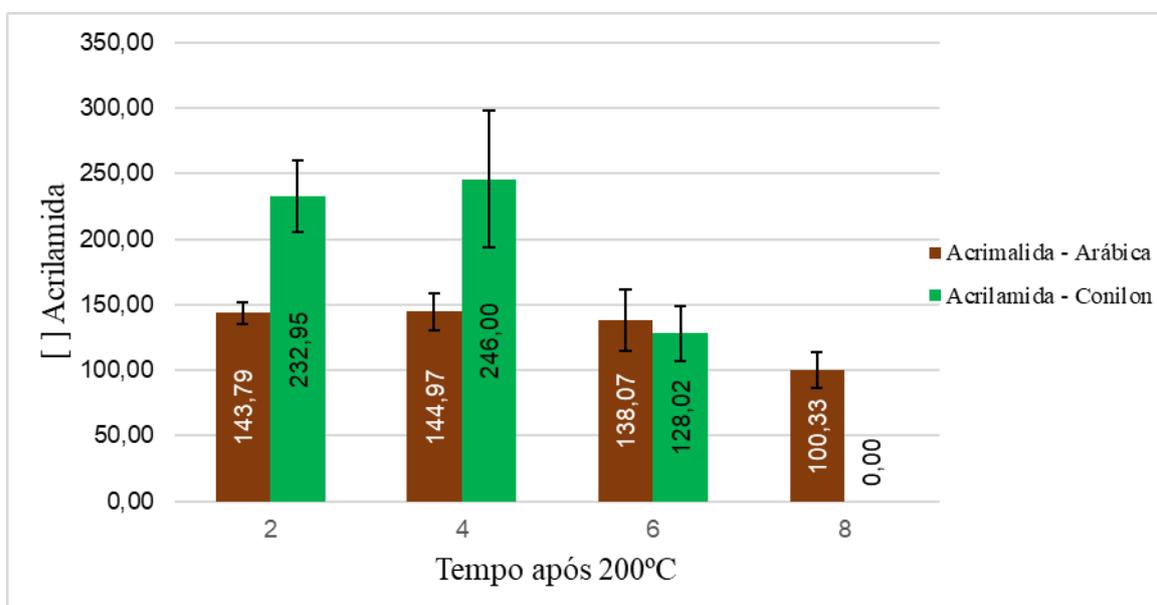
<b>Amostra</b>	<b>Tempo Total de torra (min.)</b>	<b>Temperatura máxima de torra °C</b>	<b>Concentração de acrilamida (ppb)</b>
ARA-2	11:49	218,70	143,79 ± 8,47 <sup>a</sup>
ARA-4	12:36	219,90	144,97 ± 14,06 <sup>a</sup>
ARA-6	12:39	221,10	138,07 ± 23,36 <sup>a</sup>
ARA-8	13:40	222,30	100,33 ± 39,79 <sup>b</sup>
CON-2	12:09	215,70	232,95 ± 27,28 <sup>c</sup>
CON-4	13:59	218,30	246,00 ± 52,54 <sup>c</sup>
CON-6	11:59	221,90	128,02 ± 20,91 <sup>d</sup>
CON-8	14:00	223,10	ND

**Nota:** ARA: café arábica; CON: café conilon; número na frente de cada codificação representa o tempo de torra após 200°C; média de 3 repetições ± desvio padrão; médias seguidas por letras iguais na mesma coluna dentro do mesmo grupo de cor não indicam diferença significativa ao nível de 5% de significância pelo Teste de Tukey; ND – não detectado

**Fonte:** O autor (2021)

Para as amostras de café arábica houve diferença significativa com relação aos demais tratamentos apenas na amostra ARA-8 onde encontrou-se a menor concentração do composto. Já para as amostras de café conilon o tratamento CON-8 apresentou diferença significativa comparando com os tratamentos CON-2 e CON-4, não foram detectados valores para a amostra de CON-8. Foram observados que conforme o aumento do tempo de torra a concentração de acrilamida em ambas as espécies de café foram diminuindo, podendo-se dizer que quando maior o tempo de torra após a temperatura de 200 °C menores foram os valores da concentração de acrilamida havendo uma total degradação do composto na amostra CON-8 (Figura 19). Foi observado que para ambas as espécies de café o tempo que favoreceu a maior formação de acrilamida foram encontrados no tempo de torra de 4 minutos após 200 °C, podendo dizer que com este tempo e temperatura foram favoráveis para formação do composto conforme Figura 19.

**Figura 19** – Resultado da média da concentração de acrilamida para café arábica e café conilon após torra acima de 200 °C



**Fonte:** O autor (2021)

Valores encontrados em amostras de café e outros grupos de alimentos em 24 países foram relatados pela JECFA e pela FAO/OMS, onde os resultados apresentados para café ficaram entre 200 µg/kg a 230 µg/kg e 288 µg/kg a 1291 µg/kg respectivamente, já valores apresentados por Arisseto et al (2007) utilizando LC-MS/MS em cafés brasileiros obteve concentrações entre 128 a 202 µg/kg, estes valores estão próximos dos obtidos neste trabalho.

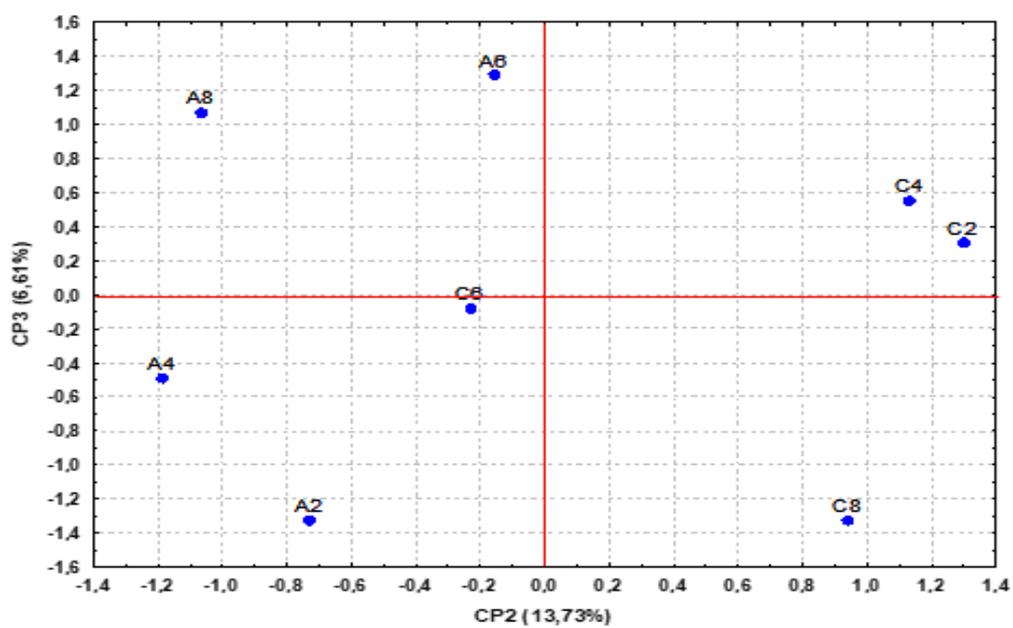
Bagdonaite, Derler e Murkovic (2008) quantificaram acrilamida em amostras de cafés arábica e conilon de 220 a 260°C entre 5 a 15 minutos encontraram valores 77 ng/g (µg/kg) a 762 ng/g (µg/kg) estando alguns valores semelhantes a este trabalho. Diferentes níveis de acrilamida foram encontrados em vinte e duas amostras de café coletadas em supermercados de diferentes países e analisadas por Pugajeva, Jaunbergs e Bartkevics (2015), estando os valores entre 117 µg/kg a 503 µg/kg para café conilon e 87 µg/kg a 453 µg/kg para café arábica, estando estes resultados entre os valores adquiridos neste trabalho. Já Mencin et al. (2020) utilizando LC/MS/MS analisou várias amostras de café coletadas na região da Eslovênia encontrando valores entre 151,4 a 237,7 µg/kg estando estes valores próximos dos tratamentos ARA-2, ARA-4, ARA-6 e CON-2 e CON-4.

## 5.5 ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS (ACP)

A análise de componentes principais foi aplicada devido a grande quantidade de dados analisados, possibilitando o estudo destes, além de permitir a investigação das medidas responsáveis pelas maiores variâncias e de ter a finalidade de analisar um conjunto de variáveis numéricas correlacionadas por um conjunto de variáveis não correlacionadas.

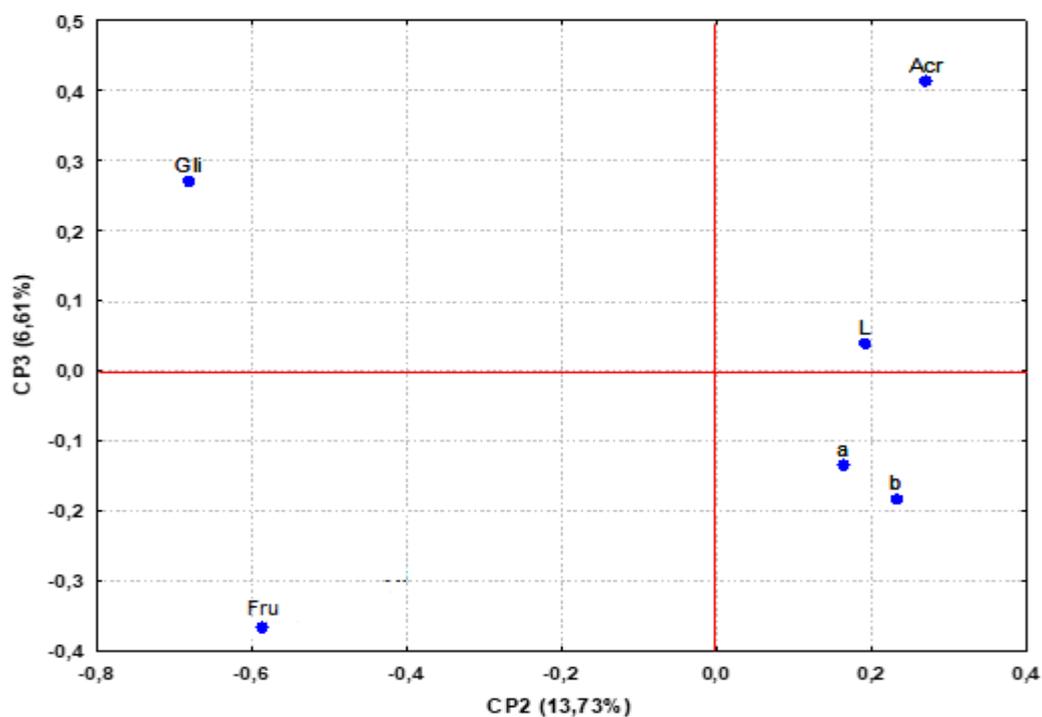
Com isso visando verificar se há diferença entre os tipos de café e seus tempos de torra, os valores dos teores de glicose e de frutose remanescentes pós torra, o teor de acrilamida formada e os parâmetros de cor  $L^*$ ,  $a$  e  $b$  foram submetidos à Análise das Componentes Principais (ACP). As três primeiras componentes principais, CP1, CP2 e CP3 explicam 76,34 %, 13,73 % e 6,61 % da variância total contida nos dados. A melhor discriminação dos cafés e seus tempos de torra foi verificada na projeção da CP2 e CP3. A Figura 20 apresenta os gráficos dos escores relacionados aos cafés torrados e os seus tempos de torra (a) e aos parâmetros analisados (b). Na Figura 20 (a), observa-se que o café arábica e os seus diferentes tratamentos de torra agrupam-se nos escores negativos da CP2. Já o café conillon e os seus tratamentos de torra encontram-se nos escores positivos desta componente. Apenas o tratamento C6 próximo do zero da CP3. Analisando o gráfico dos escores dos parâmetros analisados (Figura 20-b), observa-se que o café arábica apresenta maior teor residual de glicose e frutose pós torra, ambas localizadas nos escores negativos da CP2. Isto pode ser explicado devido ao maior teor de açúcares que este café tem quando comparado com o conillon. Pode se observar também que os tratamentos de torra do café conillon geraram maior teor de acrilamida durante a reação de Maillard e conseqüentemente, maiores valores dos parâmetros de cor  $L$ ,  $a$  e  $b$ .

**Figura 20a** - Gráfico dos escores para (a) os cafés e para (b) os parâmetros analisados



Fonte: O autor (2021)

**Figura 20b** - Gráfico dos escores dos parâmetros analisados



Fonte: O autor (2021)

## 6 CONCLUSÃO

A presente pesquisa teve como objetivo geral monitorar os níveis de acrilamida nas duas principais espécies de cafés comercializadas no Brasil aplicando parâmetros de torra similares aos utilizados nas indústrias de café.

Para identificação e quantificação de acrilamida foram utilizadas técnicas de cromatografia líquida e gasosa acoplado a espectrometria de massas. Para os demais ensaios foram utilizados vários equipamentos sofisticados de modo a coletar dados robustos.

No decorrer do trabalho constatou que o processo de torrefação considerando seus principais parâmetros tempo e temperatura de torra, possuem grande importância para com o início de reações que contribuem para formação de acrilamida, como pode-se citar a reação de Maillard. As concentrações de acrilamida para as duas espécies apresentou teor mais elevado para tratamento ARA-6 (893,39 ppb) para café arábica e CON-2 (445,40 ppb) para café conilon utilizando GC-MS, já para concentrações do composto utilizando UPLC-MS/MS os teores mais elevados foram para ARA-4 (144,97 ppb) para café arábica e CON-4 (246,00 ppb) para café conilon. Também foi de grande interesse verificar as concentrações atuais dos carboidratos presentes nas amostras e das cores adquiridas, podendo estes contribuir para trabalhos futuros.

Levando em consideração os valores de acrilamida encontrados neste estudo e sem a exigência de limites máximos exigidos pelas legislações até o momento, espera-se que esta pesquisa contribua para futuros estudos sobre a formação e concentração de acrilamida em amostras de cafés torrados e moídos, visando contribuir com ações corretivas nas etapas de processo para fabricação de café.

## REFERÊNCIAS

- ALESSANDRINI, L., ROMANI, S., Pinnavaia, G., & Rosa, M. D. Near infrared spectroscopy: **An analytical tool to predict coffee roasting degree**. *Analytica Chimica Acta*, v.1, n. 625, p. 95-102, jul. 2008. doi:10.1016/j.aca.2008.07.013
- ANDRZEJEWSKI, Denis et. al. Analysis of Coffee for the presence of Acrylamide by LC-MS/MS. / **Agr. Food Chem.**, v. 52, n. 7, out. 2004.
- ARISSETO, Adriana Pavesi; TOLEDO, Maria Cecilia de Figueiredo. **Estimativa preliminar da ingestão de acrilamida no Brasil**. *Ver. Bras. Toxicol.* v. 21, n.1, p. 914, 2008.
- ARISSETO, Adriana Pavesi et al. Determination of acrylamide levels in selected foods in Brazil. **Food Additives and Contaminants**, London, v. 24, n. 3, p. 236-241, fev. 2007.
- ARISSETO, Adriana Pavesi. **Acrilamida em alimentos: Ocorrência, métodos analíticos e estimativas de ingestão**. 2007. 145f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2007.
- ARISSETO, A. P.; TOLEDO, M. C. F. Acrilamida em alimentos: uma revisão. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 9, n. 2, p.123-134, abr./jun. 2006.
- ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE CAFÉ. **História**. 2019. Disponível em: <http://abic.com.br/cafe-com/historia/>. Acesso em: 23 out. 2019.
- BACKE, W. J.; YINGLING, V.; JOHNSON, T. The determination of acrylamide in environmental and drinking waters by large-volume injection: hydrophilic-interaction liquid chromatography and tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 1334, p. 72-78, fev. 2014.
- BAGDONAITE, Kristina; Derler, Karin; Murkovic, Michael. Determination of Acrylamide during Roasting of Coffee. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, n. 15, p. 6081–6086. jul. 2008. doi:10.1021/jf073051p.
- BALAGIANNIS, D. P., MOTTRAM, D. S., HIGLEY, J., SMITH, G., WEDZICHA, B. L. and PARKER, J. K.. Kinetic modelling of acrylamide formation during the finish-frying of french fries with variable maltose content. *Science Direct: Food Chemistry*. Reino Unido, v. 284, p. 236–244, jun. 2019.
- B. VALENZUELA, Rodrigo; M. RONCO Ana Maria. Acrilamida em los Alimentos. **Revista Chilena de Nutrición**, Santiago, v. 34, n. 1, mar. 2007. Disponível em: [https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0717-75182007000100001](https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182007000100001). Acesso em: 10 fev. 2021.

BERMUDO E., NUÑEZ O., PUIGNOU L., GALCERAN M. T. Analysis of acrylamide in food samples by capillary zone electrophoresis. Science Direct: **Journal of Chromatography A**. Barcelona, v. 1120, p. 199-204, 7 jul. 2006.

BERMUDO, E. et al. Determination of acrylamide in foodstuffs by liquid chromatography ion-trap tandem mass-spectrometry using an improved clean-up procedure. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 559, n. 2, p. 207-214, feb. 2006.

BICHO, N. C.; LEITAO, A. E.; RAMALHO, J. C.; LIDON, F. C. Use of colour parameters for roasted coffee assessment. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 32, n. 3, p. 436-442, jul./set. 2012.

BLANC et al. Chromatographic Profile of Carbohydrates in Commercial Soluble Coffees. **J. Agric. Food Chem.** v. 37, n. 4, p. 926-930, ago.1989.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Informe técnico nº 28**, de 2 de julho de 2007. 2019. Disponível em: [encurtador.com.br/uyKR6](http://encurtador.com.br/uyKR6). Acesso em: 25 out. 2020

BRASIL, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa N.º 8 de 11 de junho de 2003.

Bertuzzi, T., Rastelli, S., Mulazzi, A., & Pietri, A. Survey on acrylamide in roasted coffee and barley and in potato crisps sold in Italy by a LC–MS/MS method. **Food Additives and Contaminants: Part B**, v. 10, n. 4, p. 292–299, jul. 2017.

CENGİZ MF, GÜNDÜZ CPB. Acrylamide exposure among Turkish toddlers from selected cereal-based baby food samples. Science Direct: **Food Chem Toxicol**. Turquia, v. 60, p. 514-519, out. 2013.

CONAB. Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira**, v. 5 - Safra 2020, n. 6 - Quarto levantamento, Brasília, p. 1-45, dezembro 2020. ISSN 2318-7913.

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento. **Acompanhamento da safra brasileira**, v. 8 - Safra 2021, n. 1 - Primeiro levantamento, Brasília, p. 1-71, janeiro 2021. ISSN 2318-7913.

CONTI, Mary Carmen Maté Durek de, PRUDENCIO Sandra Helena. 2011. Avaliação Física, Química e Sensorial de Cafés Torrados e Moídos, de Diferentes Categorias e Marcas Comerciais. Trabalho apresentado no **Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, 2011**. Anais Brasília, D.F: Embrapa - Café, 2011. Araxá, MG, jul. 2011.

COUTO, J. M. F. de A.; RESSUTTE, J. B.; BELLUCO, C. Z.; NASCIMENTO, M. G.; MADRONA, G. S.; **XI EPCC Encontro Internacional de Produção Científica**, Maringá, Brasil, 2019.

DELATOUR, Thierry et. al. Improved Sample Preparation to Determine Acrylamide in Difficult Matrixes Such as Chocolate Powder, Cocoa, and Coffee by Liquid

Chromatography Tandem Mass Spectrometry. **J. Agr. Food Chem.**, v. 52, 15, p.4625-4631, jul. 2004.

DIAS, Eduardo Carvalho. **Efeito do processamento de frutos imaturos e da torração na ocorrência e na formação de compostos relevantes para a qualidade e segurança em café arábica**. 2010. 130f. Tese (Programa de Pós-graduação em Ciências de Alimentos) Universidade Federal de Lavras. Lavras, 2010.

DIAS, Eduardo Carvalho et al. Determinação dos níveis de acrilamida em cafés verdes obtidos por diferentes processamentos. In: **VI Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil**. Lavras. Disponível em: [encurtador.com.br/moqNZ](http://encurtador.com.br/moqNZ). Acesso em: 22 out. 2019

ELBASHIR Abdalla A. et. al. Acrylamide analysis in food by liquid chromatographic and gas chromatographic methods. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 44, n. 2, p. 107–141, jan. 2014.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA. **Consumo mundial de café deve ultrapassar 168 milhões de sacas no ano-cafeeiro 2019-2020**. 2020. Disponível em: [encurtador.com.br/oOQR7](http://encurtador.com.br/oOQR7). Acesso em: 08 jan 2021.

\_\_\_\_\_. **Beneficiamento de grãos de café**, 2015. Projeto de referência - Série Centros Comunitários de Produção, 1ª edição, Rio de Janeiro, p. 1-61, 2015.

ERIKSSON, Sune. **Acrylamide in Food Products: Identification, Formation and Analytical Methodology**. Stockholm: Institutionen för miljökemii. p. 91, 2005.

ESPAÑA. Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social. Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición. **Acrilamida en los alimentos: Nuevas normas y recomendaciones por tu salud**. Madrid, 08 nov. 2018. Disponível em: [http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/noticias/2018/CUADRIPTICO\\_ACRILAMIDA\\_AECOSAN.PDF](http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/noticias/2018/CUADRIPTICO_ACRILAMIDA_AECOSAN.PDF). Acesso em: 02 mai. 2021.

European Food Safety Authority. **Update on acrylamide levels in food from monitoring years. 2007 to 2010**. EFSA J 2012; 10: 2938-2976

EU. European Food Safety Authority (EFSA). **Acrylamide in food**. 2015. Disponível em: [https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/corporate\\_publications/files/acrylamide\\_150604.pdf](https://www.efsa.europa.eu/sites/default/files/corporate_publications/files/acrylamide_150604.pdf). Acesso em: 23 jan. 2021

FARINHOTO, Rute Judite Camelo da Rocha. **Análise física e química de cafés verdes com diferentes origens geográficas**. 2012. 80 f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia e Segurança Alimentar) – Faculdade de Ciência e Tecnologia, Universidade Nova de Lisboa, 2012.

FDA - U.S. Food and Drug Administration - Guidance for Industry: **Acrylamide in Foods**, 2016. Disponível em: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/guidance-industry-acrylamide-foods>. Acesso em: 29 out 2020

FOOD SAFETY BRASIL. **União Europeia deverá estabelecer limites para acrilamida em 2018**. Disponível em: <https://foodsafetybrazil.org/114034-2/>. Acesso em: 02 fev 2020.

GHFAR, Ayman Abedel; ALSOHAIMI, Ibrahim Hotan. Determination of acrylamide in foodstuffs using UPLC-MS. **ResearchGate**. Capítulo 13, p. 333-358, 2014. doi:10.1201/b16670-14.

Gökmen V. Formação de Acrilamida em Alimentos: Papel de Composição e Processamento. In: **Food Engineering Series**. Springer. Nova York. p. 67-80, 2016.

GÖKMEN, Vural; ŞENYUVA, Hamide Z.. A generic method for the determination of acrylamide in thermally processed foods. **Journal of Chromatography A**, v. 1120, n. 1-2, p. 194–198, feb. 2006. doi:10.1016/j.chroma.2006.01.084

GONZÁLEZ, Valeria; NAVARRO, Carolina; RONCO, Ana María. Acrilamida em los Alimentos: Valores de referencia, recomendaciones y acciones de mitigación. **Revista Chilena de Nutrición**, Santiago, v. 48, n. 1, feb. 2021. Disponível em: [https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?pid=S0717-75182021000100109&script=sci\\_arttext&tlng=p#B2](https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?pid=S0717-75182021000100109&script=sci_arttext&tlng=p#B2) Acesso em: 10 mai. 2021

GOMES, Teresa Sofia Ferreira. **Monitorização dos níveis de acrilamida durante o processo de maltagem de cevada**. 2016. 67f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Alimentar) – Faculdade de Ciências, Universidade do Porto. Porto, 2016.

GUIMARÃES, Debora de Almeida Bauer. **Influência de extratos de café submetidos a diferentes níveis de torra em linhagem celular humana de adenocarcinoma de próstata**. 2018, 81f. Dissertação (Pós-graduação em Alimentos e Nutrição) - Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2018.

**Health Implications of Acrylamide in Food**. 2002. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/42563>. Acesso em: 10 de out. 2019.

Health Canada's Revised Exposure Assessment of Acrylamide in Food. 2021. Disponível em: [encurtador.com.br/cpyRS](http://encurtador.com.br/cpyRS). Acesso em: 10 de out. 2020

HOENICKE, K. et al. Analysis of acrylamide in different foodstuffs using liquid chromatography-tandem mass spectrometry and gas chromatography-tandem mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, Amsterdam, v. 520, n. 1/2, p. 207-215, ago. 2004.

Implicações da Acrilamida nos Alimentos para a Saúde: **Relatório de uma Consulta Conjunta FAO / OMS, Sede da OMS**, Genebra 2002. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42635/9243562185.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em:

INTERNATIONAL STANDARD. **Coffee and coffee products – Determination of acrylamide – Methods using HPLC/MS/MS and GC-MS after derivatization.** 2016.

INTERNATIONAL STANDARD. **Instant coffee – Determination of free and total carbohydrate contents – Method using high-performance anion-exchange chromatography.** 1997.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER. IARC. **O grupo de trabalho da acrilamida.** 2019. Disponível em: <http://epic.iarc.fr/research/acrylamide.php>. Acesso em: 22 out. 2019.

KRISHNAKUMAR, T. e VISVANATHAN, R.. Acrylamide in food products: a review. **Journal of Food Processing & Technology** , v. 5, n. 7, p. 1, 2014.

KOCODAGLI, Tolgahan; GÖNCÜOĞLU, Neslihan; HAMZALIOĞLU, Aytül; GÖKMEN, Vural. In depth study of acrylamide formation in coffee during roasting: role of sucrose decomposition and lipid oxidation. Royal Society of Chemistry: **Food & Function**, v. 3, n. 9, p. 970–975, jul. 2012.

LAGALANTE Anthony; FELTER Matthew A. Silylation of acrylamide for analysis by solid-phase microextraction/gas chromatography/ion-trap mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 52, n. 12, p. 3744–3748, mai. 2004 doi:10.1021/jf049759a

LAROQUE, D.; INISAN, C.; BERGER, C.; VOULAND, É.; DUFOSSÉ, L. AND GUÉRARD, F. KINETIC. Study on the Maillard reaction. Consideration of sugar reactivity. **Food Chemistry**, v. 111, n. 4, p. 1032–1042, 2008.

LÜTZOW, Manfred. **Acrylamide in food.** 2019. Disponível em: <http://www.fao.org/3/Y4267M/y4267m10.htm>. Acesso em 30 out. 2019.

MARQUES et al. Formação de toxinas durante o processamento de alimentos e as possíveis consequências para o organismo humano. **Revista de Nutrição**, v. 22, n. 2, Campinas, mar/abr. 2009.

MASTOVSKA Katerina; LEHOTAY Steven J. Rapid sample preparation method for LC– MS/MS or GC– MS analysis of acrylamide in various food matrices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 19, p. 7001–7008, ago. 2006.

MATTHÄUS Bertrand, Haase Norbert U, Vosmann Klaus. Factors affecting the concentration of acrylamide during deepfat frying of potatoes. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 106, n. 11, p. 793–801, nov.2004.

MESQUITA, Carlos Magno de et al. **Manual do café: colheita e preparo (Coffea arábica L.).** 2016. Belo Horizonte: EMATER-MG, 2016.

MENCIN, M., ABRAMOVIČ, H., VIDRIH, R., e SCHREINER, M. (2020). Acrylamide levels in food products on the Slovenian market. **Food Control**, v. 114, mar. 2020. doi:10.1016/j.foodcont.2020.107267.

MORALES, Francisco J.; MESÍAS, Marta; ANDRADE, Cristina Delgado. **Acrilamida em alimentos: uma visão desde la investigación científica**. 2018. ACTA/CL, Palencia, abr. 2018.

MONTEIRO, Mariana C.; TRUGO, Luiz C. Determinação de Compostos Bioativos em amostras comerciais de café torrado. **Quím. nova**, v. 28, n. 4, p.637-641, ago. 2005.

MUTUA, Joackim. **Post harvest handling and processing of coffee in african countries**. 2000. Disponível em: <http://www.fao.org/3/X6939E/X6939e01.htm>. Acesso em: 20 out. 2019.

Murkovic, M. Acrylamide in Austrian foods. **Journal of Biochemical and Biophysical Methods**, V. 61, n.1–2, p. 161–167, out. 2004.

NIELSEN Nikoline J.; GRANBY Kit; HEDEGAARD Rikke V.; SKIBSTED Leif H. A liquid chromatography - tandem mass spectrometry method for simultaneous analysis of acrylamide and the precursors, asparagine and reducing sugars in bread. **Analytica Chimica Acta**, v. 557, n. 1-2, p. 211–220, set. 2006. doi:10.1016/j.aca.2005.09.077

OLIVEIRA, G. S. de. **Comparação química dos grãos de café (Coffea arabica), sadio e seus grãos PVA (pretos, verdes, ardidos) oriundos do Sul de Minas e do Cerrado Mineiro, submetidos a diferentes graus de torrefação**. 2006, 101 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, 2006.

PASSOS, C. P.; FERREIRA, S. S.; SERÔDIO, A. et al. Pectic polysaccharides as an acrylamide mitigation strategy - competition between reducing sugars and sugar acids. **Food Hydrocolloids**, v. 81, p. 113–119, ago. 2018.

PUGAJEVA, I., JAUNBERGS, J., & BARTKEVICS, V. Development of a sensitive method for the determination of acrylamide in coffee using high-performance liquid chromatography coupled to a hybrid quadrupole Orbitrap mass spectrometer. **Food Additives & Contaminants: Part A**, v. 32, n. 2, p. 170–179, dez. 2014. doi:10.1080/19440049.2014.1000979.

PROGRAMA INTERNACIONAL DE SEGURANÇA QUÍMICA. **Substâncias químicas perigosas à saúde e ao ambiente/Organização Mundial da Saúde, Programa Internacional de Segurança Química**.2008. São Paulo: Cultura Acadêmica, 2008.

RABELO, M. H. S.; RIBEIRO, D. E.; MIRANDA, F. M.; ALVEZ, A. P. DE C.; LIMA, R. R.; PINHEIRO, A. C. M.; BORÉM, F. M.; PEREIRA, R. G. F. A.; **IX Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil**, Curitiba, Brasil, 2015.

RUIZ-MATUTE, A. I. et al. A GC method for simultaneous analysis of bornesitol, other polyalcohols and sugars in coffee and its substitutes. **Journal of Separation Science**, v. 30, n. 4, p. 557–562, nov. 2006. doi:10.1002/jssc.200600381

- SERÔDIO, António Pedro Fischer de Almeida. **Acrilamida em bolachas: ocorrência, análise e estratégias de mitigação**. 2015, 89f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Universidade de Aveiro. Aveiro 2015.
- SILVA, L. C.; MORELI, A. P.; JOAQUIM, T. N. M. **Café: Beneficiamento e Industrialização**. 2015. Disponível em: [encurtador.com.br/klrK7](http://encurtador.com.br/klrK7). Acesso em: 09 abr. 2021.
- SOARES, Cristina Maria Dias. **Determinação dos teores de acrilamida em alimentos**. 2006, 184f. Dissertação (Mestrado em Bromatologia) - Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto. Porto 2006.
- TAREKE, E.; RYDBERG, P.; KARLSSON, P.; ERIKSSON, S.; TÖRNQVIST, M.. Acrylamide: a cooking carcinogen. **Chemical Research in Toxicology**; v. 13, p. 517-522, 2000.
- TAREKE, E.; RYDBERG, P.; KARLSSON, P.; ERIKSSON, S.; TÖRNQVIST, M.. Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated foodstuffs. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**; v. 50, n. 17, p. 4998-5006, set. 2002.
- TAVARES, Elisângela de Fátima Lisboa. **Identificação e quantificação de acrilamida em alimentos por métodos voltamétricos e espectroscópicos na região do infravermelho**. 2015. 115f. Tese (Doutorado em Agroquímica) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG, 2015.
- TARDIFF, Robert G et al. (2010). Estimation of safe dietary intake levels of acrylamide for humans. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, n. 2, p. 658–667, 2010.
- VARGAS, Lasso J. J. et al. Acrylamide determination in the sugar cane juice process by the liquid chromatography technique. **Cienc en Desarro**. v. 5, n. 2, p. 99-105, 2014.
- VIGOLI, J. A.; BASSOLI, D. G.; BENASSI M. T. Antioxidant activity, polyphenols, caffeine and melanoidins in soluble coffee: The influence of processing conditions and raw material. **Food Chemistry**. Reino Unido, v. 124, n. 3, p. 863-868, fev. 2011.
- WENZL, T.; de La Calle, M.; Beatriz & ANKLAM, E. Analytical methods for the determination of acrylamide in food products: A review. **J Food Addit Contam**. V. 20, n. 10, p. 885-902, out. 2003.
- Wang H. et al. Reproductive toxicity of acrylamide-treated male rats. **Reprod Toxicol**, v. 29, n. 2, p. 225-230, 2010.
- ZHANG, Yu; ZHANG, Genyl; ZHANG, Ying. Occurrence and analytical methods of acrylamide in heat-treated foods: review and recent developments. **Journal of Chromatography A**, v. 1075, n. 1-2, p. 1–21, mar. 2005.  
doi:10.1016/j.chroma.2005.03.123

ZHU Yonghong et al. Application of the standard addition method for the determination of acrylamide in heat-processed starchy foods by gas chromatography with electron capture detector. **Food Chemistry**, v. 109, n. 4, p. 899–908, jan. 2008.

ZYZAK D. V. et al. Acrylamide formation mechanism in heated foods. **J Agric Food Chem.**: v. 51, n. 16, p. 4782-4787, jun. 2003.