

27 A 29 DE OUTUBRO DE 2020



ON LINE

7º Simpósio de
Segurança Alimentar

Inovação com sustentabilidade

ACRILAMIDA EM AÇÚCAR NÃO CENTRIFUGADO (RAPADURA): UM PROBLEMA DE SAÚDE PÚBLICA NA AMÉRICA LATINA?

S.J. Henao¹, M.H. Petrarca¹, P.A.C. Braga¹, A.P. Ariseto¹

1- Departamento de Ciência de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP, Rua Monteiro Lobato, 80, 13083-862, Campinas, SP, Brazil – e-mail: (pavesi@unicamp.br)

RESUMO - O açúcar não centrifugado (ANC), também chamado de rapadura no Brasil, é tradicionalmente consumido como doce e/ou adoçante nas regiões que cultivam cana de açúcar. Além do tratamento térmico (120-132 °C) como uma das etapas de produção, o caldo extraído da cana contém açúcares redutores e aminoácidos na composição, os quais favorecem a reação de Maillard resultando na formação de acrilamida, um composto potencialmente carcinogênico e genotóxico. Assim, o objetivo do trabalho foi avaliar os níveis de acrilamida em amostras de ANC comercializadas em diferentes países da América Latina através de um método analítico baseado no preparo de amostra QuEChERS e LC-MS/MS. Das 76 amostras de ANC analisadas, acrilamida foi detectada em 73 (96,1%), cujos níveis variaram entre < 20 e 1414 µg kg⁻¹, indicando a prevalência desse contaminante de processamento nas amostras de ANC comercializadas na América Latina.

ABSTRACT – Non-centrifugal sugar (NCS), known as rapadura (Brazil), is traditionally consumed as a sweet and/or sweetener in the regions that cultivate sugarcane. In addition to heat treatment (120-132 °C) as one of the production steps, the juice extracted from sugarcane contains amino acids and reducing sugars in the composition, factors that favor the Maillard reaction resulting in the formation of acrylamide, a potentially carcinogenic and genotoxic compound. The objective of the work was to evaluate the levels of acrylamide in NCS samples sold in different Latin America countries using an analytical method based on the sample preparation QuEChERS and LC-MS/MS. Of the 76 NCS samples analyzed, acrylamide was detected in 73 (96.1%), whose levels ranged from < 20 to 1414 µg kg⁻¹, indicating the prevalence of this processing contaminant in NCS samples marketed in Latin America.

PALAVRAS-CHAVE: Contaminante de processamento; reação de Maillard; rapadura; LC-MS/MS.

KEYWORDS: Processing contaminant; Maillard reaction; rapadura; LC-MS/MS.

1. INTRODUÇÃO

Açúcar não centrifugado (ANC) é o produto sólido obtido a partir da evaporação, concentração e cristalização do caldo de cana de açúcar (*Saccharum officinarum* L.) até uma concentração maior que 90°Brix. Seu processo de elaboração pode variar de país para país, sendo que o mesmo não inclui a etapa de centrifugação onde são separados os cristais de sacarose dos outros componentes do caldo, ao contrário do que acontece na produção de açúcar refinado. O ANC é conhecido por diferentes nomes como rapadura (Brasil), *jaggery* (Sul de Ásia), *panela* (Colômbia e Equador), *muscovado* (Filipinas) e *kokuto* (Japão) e tem sido consumido, tradicionalmente, como doce ou adoçante nas regiões produtoras de cana de açúcar e comercializado em forma de bloco ou granulado (Jaffé, 2013).

A cana de açúcar apresenta diferentes compostos nitrogenados em sua composição, incluindo aminoácidos, amidas, oligopeptídeos e proteínas em menor proporção, sendo os aminoácidos livres, em destaque

REALIZAÇÃO



ORGANIZAÇÃO



www.officeeventos.com.br



a asparagina, os que permanecem no caldo de cana. Também, destacam-se os açúcares redutores glicose e frutose, cuja concentração pode aumentar significativamente durante a preparação do ANC devido à hidrólise da sacarose (INS, 2012). Conseqüentemente, a elevada concentração de açúcares redutores e a presença de aminoácidos como a asparagina, em condições de processamento sob temperaturas acima de 120 °C, podem levar à formação de compostos de interesse toxicológico como a acrilamida (Arisseto e Toledo, 2006). Segundo a Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC), a acrilamida é classificada como um provável carcinógeno humano (grupo 2A) (IARC, 1994).

A acrilamida tem sido considerada uma questão de interesse para a saúde pública devido a sua ocorrência em alimentos de consumo comum, como batata frita, cereais matinais e pães (EFSA, 2015). Alimentos ricos em carboidratos têm sido os principais produtos investigados quanto à ocorrência de acrilamida; no entanto, ainda há poucos estudos sobre os níveis desse contaminante em ANC, cujos dados disponíveis até o momento são basicamente provenientes de países como Colômbia, Peru, China e Japão. Nesse contexto, o presente estudo é pioneiro em avaliar e comparar os níveis de acrilamida em ANC produzido e comercializado em diferentes países da América Latina, incluindo Brasil, Colômbia, Equador, México e Peru, o que deve permitir um melhor entendimento sobre a ocorrência do contaminante e contribuir para o desenvolvimento de estratégias de mitigação.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Amostras

Setenta e seis amostras de ANC, incluindo diferentes marcas, lotes e formas de apresentação (em bloco ou granulado), foram adquiridas em supermercados e lojas de varejo localizados em diferentes países da América Latina, como Colômbia (38), Brasil (16), Equador (12), Peru (6), México (3) e Bolívia (1), entre julho de 2018 e setembro de 2019. As amostras foram mantidas em sua embalagem original e armazenadas em temperatura ambiente, protegidas da luz e umidade, até análise.

2.2. Determinação de acrilamida por LC-MS/MS

Extração: Antes da extração, as amostras disponíveis comercialmente em forma de bloco foram raladas e homogeneizadas. Em seguida, 2,0 g de amostra homogeneizada foram pesados em um tubo de polipropileno de 50 mL e adicionou-se um volume adequado da solução de padrão interno (acrilamida-d3) para se obter uma concentração final de 100 ng/g. Após repouso à temperatura ambiente por 15 min, foram adicionados 5 mL de água ultrapura e a mistura foi agitada no vórtex por 10 min, a fim de dissolver completamente a amostra. Foram adicionados 5 mL de acetonitrila contendo ácido fórmico 0,01%, seguidos por 0,5 g de NaCl e 2 g de MgSO₄ anidro. Após agitação vigorosa por 1 min, a mistura foi centrifugada por 5 min a 3500 g (centrífuga 5810R Eppendorf, Hamburgo, Alemanha). Em seguida, 1 mL do sobrenadante (extrato de acetonitrila) foi transferido para um tubo de 1,5 mL contendo 50 mg de sorvente de PSA e 150 mg de MgSO₄ anidro. A mistura foi agitada no vórtex durante 30 s e centrifugada durante 1 min a 12000 g (microcentrífuga Gyrozen®, Daejeon, Coreia). O sobrenadante foi coletado e filtrado em um vial usando uma membrana de PTFE de 0,22 µm. As análises foram realizadas em duplicata e as amostras com conteúdo de acrilamida superior a 220 µg kg⁻¹ foram diluídas até 10 vezes com extrato de matriz em branco.

Análise de acrilamida por LC-MS/MS: Um sistema de cromatografia líquida de ultra alta eficiência (UHPLC) acoplado à um espectrômetro de massas sequencial (Agilent Technologies, CA, USA), com fonte de ionização *electrospray* (ESI) em modo positivo e analisador triplo quadrupolo operando em monitoramento de reação selecionada (SRM), foi empregado para a análise de acrilamida. Duas transições foram monitoradas, uma para quantificação (m/z 72>55) e outra para qualificação (m/z 72>44). A separação cromatográfica foi realizada utilizando uma coluna C₈ (2,1 x 100 mm, 1,8 µm; Zorbax RRHD SB, Agilent Technologies, CA, EUA) mantida

a 30 °C. A fase móvel consistiu em água deionizada (A) e acetronitrila (B), ambas contendo 0,01% de ácido fórmico, aplicando-se o seguinte gradiente de eluição: 0 min, 5% B; 5 min, 50% de B; 5,01-6 min 5% de B. O fluxo da fase móvel e o volume de injeção foram de 0,3 mL min⁻¹ e 1 µL, respectivamente.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Validação do método

Uma amostra de ANC na qual acrilamida não foi detectada foi empregada como branco para avaliar os parâmetros de desempenho do método analítico. Limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) de 10 e 20 µg kg⁻¹ foram obtidos, respectivamente. Linearidade foi avaliada em curvas analíticas preparadas em solvente (acetonitrila), extrato da matriz e na própria matriz no intervalo de 20 a 220 µg kg⁻¹, cujos coeficientes de determinação (R^2) foram maiores do que 0,99. A exatidão do método foi verificada por meio dos ensaios de recuperação em 3 níveis de fortificação (20, 100 e 220 µg kg⁻¹) cujos valores variaram entre 84,3 e 107,5%. Os coeficientes de variação foram menores do que 15% em condições de repetibilidade e reprodutibilidade.

3.2. Níveis de acrilamida em açúcar não centrifugado

A concentração de acrilamida variou de < 20 até 1414 µg kg⁻¹ (Figura 1), com valor médio de 379 µg kg⁻¹ e mediana de 314 µg kg⁻¹. A maioria (96,1%) das amostras continha acrilamida acima de 20 µg kg⁻¹ (LOQ). Os maiores níveis de acrilamida foram detectados em amostras do Peru, Equador e Colômbia, com concentrações médias de 636, 446 e 401 µg kg⁻¹, respectivamente (Tabela 1).

Figura 1 - Teores de acrilamida em açúcar não centrifugado (µg kg⁻¹). Os valores são média ± desvio. A linha pontilhada indica a mediana dos dados. As barras laranja indicam as amostras analisadas.

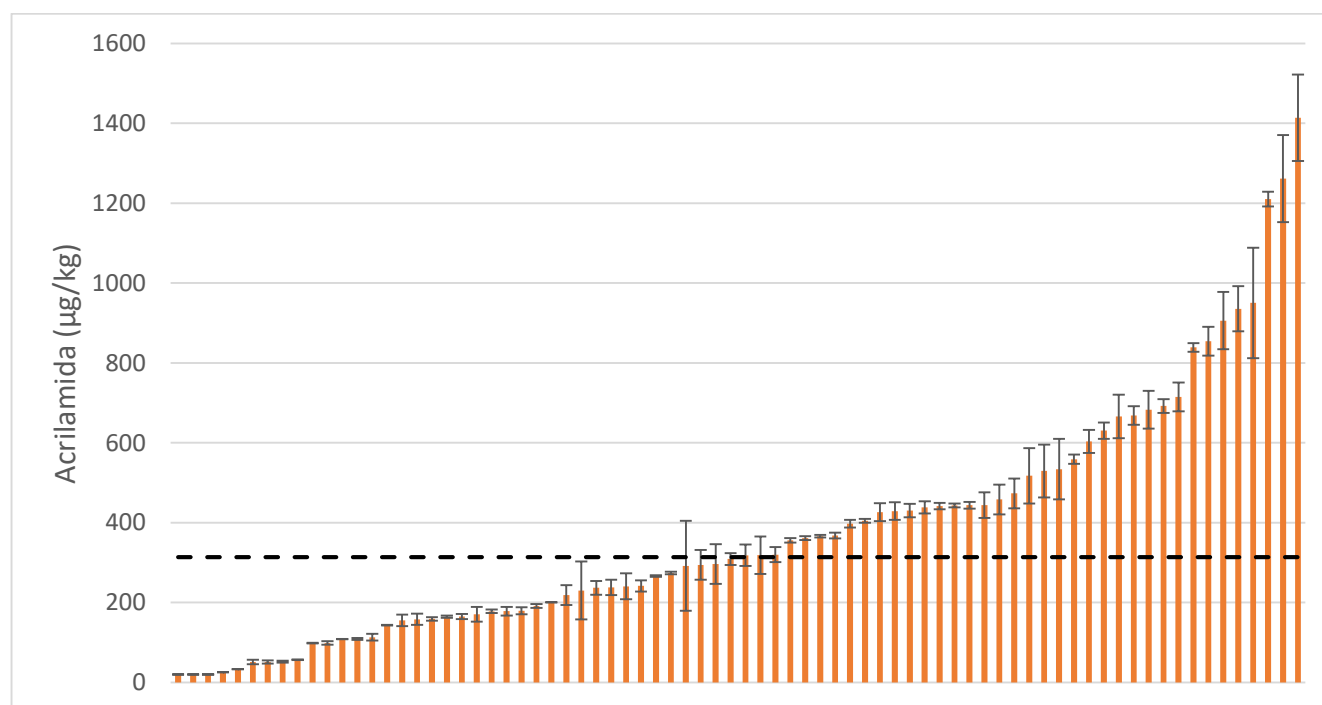


Tabela 1 - Ocorrência de acrilamida em açúcar não centrifugado em diferentes países da América Latina.

Grupo	No. de amostras	No. de positivos ^a	Média ± desvio (µg kg ⁻¹)	Mediana (µg kg ⁻¹)	Mínimo - Máximo
Total	76	73	379 ± 301	314	< 20 – 1414
País					
Brasil	16	14	240 ± 229	234	< 20 – 855
Colômbia	38	37	401 ± 278	319	< 20 – 1210
Equador	12	12	446 ± 337	394	113 – 1262
Peru	6	6	636 ± 418	544	178 – 1414
México	3	3	147 ± 128	98	52 – 292
Bolívia	1	1	155	-	155

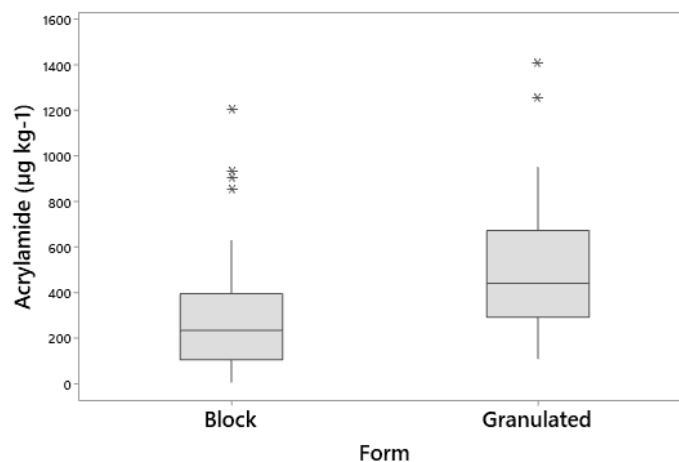
^aAcima do limite de quantificação (LOQ = 20 µg kg⁻¹).

Os resultados obtidos estão de acordo com os reportados por Gómez-Narváez et al. (2019) e Invima (2018), cujas concentrações de acrilamida em ANC variaram entre 60 e 3058 µg kg⁻¹ e de 29 até 2762,80 µg kg⁻¹, respectivamente. As variações no teor de acrilamida podem ser explicadas devido às diferenças na concentração de seus precursores na cana de açúcar, tais como açúcares redutores e asparagina, os quais podem variar de acordo com a cultivar e o manejo agrícola. Outro fator importante é o tempo entre o corte da cana de açúcar e a moagem, pois quanto maior o tempo, mais acentuado o desdobramento da sacarose em glicose e frutose (Dezfuly, Mahadevaiah & Demappa, 2013), resultando em um aumento no conteúdo de açúcares redutores disponíveis para a formação de acrilamida.

O processo tecnológico é outro fator que pode influenciar no conteúdo de acrilamida. Como observado na Figura 2, os maiores níveis de acrilamida foram encontrados no ANC granulado (média = 517 µg kg⁻¹ e mediana = 443 µg kg⁻¹) quando comparado com o produto em bloco (média = 294 µg kg⁻¹ e mediana = 237 µg kg⁻¹). Esses resultados são semelhantes aos relatados por Gómez-Narváez et al. (2019), cuja concentração média do produto granulado foi de 812 µg kg⁻¹ e para bloco de 540 µg kg⁻¹. Provavelmente, a ocorrência de maiores níveis de acrilamida no produto granulado é devida às maiores temperaturas empregadas no preparo desse produto, pois, no processo de elaboração do ANC, o caldo de cana é fervido para evaporar a água e concentrar os sólidos solúveis, de 16-20°Brix (inicial) a 90-96°Brix (final), e os caldos concentrados empregados para o preparo do produto em bloco alcançam o ponto de bala entre 120 e 130°C, enquanto para o produto granulado são requeridas temperaturas entre 126 e 132°C (Rozo, 2018), as quais podem variar até 2°C, devido à altura acima do nível do mar, a pureza do caldo concentrado e os equipamentos.

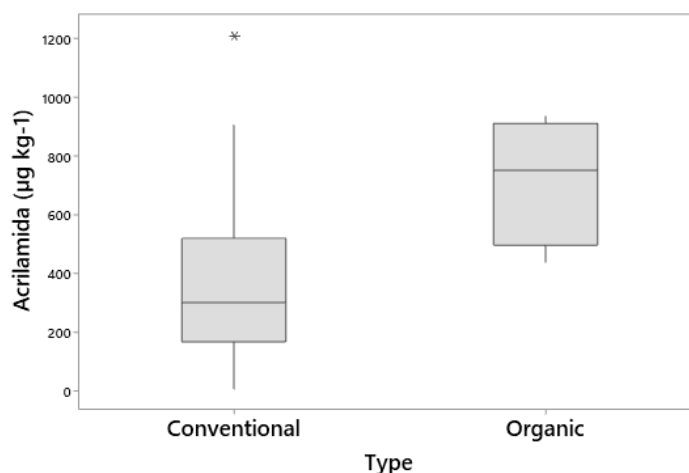
O tempo e a temperatura empregados no processo de obtenção do ANC fazem com que o teor de umidade varie no máximo 9% para o produto em bloco e 5% para o granulado (Duran-Castro, 2010; Codex Alimentarius, 2017). Muitos dos processos de elaboração do ANC granulado são artesanais, cujas condições do processamento não são totalmente controladas (Mujica et al., 2008), como também alguns fabricantes empregam uma etapa adicional de secagem com ar quente reduzindo ainda mais o teor de umidade e expondo o produto a altas temperaturas por tempos longos, resultando, assim, em maiores concentrações de acrilamida nas amostras granuladas (Guerra e Mujica, 2010; FAO, 2014).

Figura 2 - Nível de acrilamida nas amostras de açúcar não centrifugado em bloco e granulado.



As amostras da Colômbia foram também divididas em orgânicas e convencionais (Figura 3), de acordo com a descrição na embalagem do produto. As amostras orgânicas, elaboradas com floculante natural (guasimo, cadilho, balso, casca de café, entre outros), apresentam uma média maior ($721 \mu\text{g kg}^{-1}$) do que as amostras convencionais ($363 \mu\text{g kg}^{-1}$), elaboradas com floculante artificial (poliacrilamida). Isso pode ser explicado pelo fato de que a poliacrilamida gera uma maior limpeza do caldo de cana em um menor tempo. As amostras avaliadas durante essa pesquisa foram poucas ($n=8$), sendo importante continuar investigando se essa tendência se mantém durante a avaliação de maior número de amostras.

Figura 3 - Nível de acrilamida nas amostras orgânicas e convencionais de açúcar não centrifugado da Colômbia.



4. CONCLUSÕES

O presente estudo apresenta os primeiros dados de ocorrência de acrilamida, um composto genotóxico e carcinogênico, em amostras de rapadura comercializadas no Brasil, além dos níveis de concentração desse contaminante em amostras da Bolívia, Colômbia, Equador, México e Peru. Grande variação no conteúdo de acrilamida foi observada entre as amostras dos diferentes países o que indica que o teor do contaminante é dependente da matéria-prima empregada como também do processo de elaboração do produto, o qual ainda é



muito artesanal e pouco controlado. O ANC granulado apresentou os maiores teores de acrilamida quando comparado ao produto em bloco, enquanto que no ANC declarado como orgânico foram detectados os maiores níveis de acrilamida em comparação ao ANC convencional. Os resultados obtidos poderão contribuir com os órgãos reguladores para a definição de limites máximos desse contaminante neste tipo de produto alimentício como também para o estabelecimento de estratégias de mitigação.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arisseto, A., Toledo, M.C.F. (2006). Acrilamida em Alimentos : Uma Revisão. *Acrylamide in Foods : A Review. Brazilian Journal of Food Technology*, 9(2), 123-134.
- Codex Alimentarius. (2017). Draft Codex standard for non-centrifuged dehydrated sugar cane juice (CL 2017/84-CS). Codex Alimentarius Commission, Italy. Disponível em: http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/en/?Ink=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252FCircular%252520Letter%252FCL%2525202017-84%252Fcl17_84e.pdf.
- Dezfuly, M., Mahadevaiah e T. Demappa. (2013). Effective of Different Flocculants on Fresh and Stale Sugarcane Juice Clarification. *Research Journal of Recent Sciences*. 2(7), 48-52.
- Duran-Castro, N. (2010). *Reingeniería panelera* (1st ed.). Tunja: Buhos Editores ISBN: 978-958-44-7577-0.
- EFSA. (2015). Scientific Opinion on acrylamide in food. *EFSA Journal*. 13 (6), 1–321.
- FAO. (2014). *Procesados de productos diversos. Fichas técnicas*. Disponível em: <http://www.fao.org/3/a-au171s.pdf>.
- Gómez-Narvaez, F., Mesías, M., Delgado-Andrade, C., Contreras-Calderón, J., Ubillús, F., Cruz, G., Morales, F. (2019). Occurrence of acrylamide and other heat-induced compounds in panela: Relationship with physicochemical and antioxidant parameters. *Food Chemistry*, 301, 1–9.
- Guerra, M., Mujica, M. (2010). Physical and chemical properties of granulated cane sugar “panelas”. *Food Science and Technology*, 30(1), 1-8.
- IARC. (1994). IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: Acrylamide. *IARC Monographs*. 60, 389-433.
- INS. (2012). *Concepto científico acrilamida en panela*. Ministerio de Salud y Protección Social, Republica de Colombia. Disponível em: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/IA/INS/Concepto-acrilamida-panela.pdf>.
- Invima (National Institute of Drug and Foods Vigilance) (2018). Informe de resultados del plan nacional subsectorial de vigilancia y control de acrilamida en alimentos procesados durante los años 2015-2016. Gobierno de Colombia. Disponível em: <https://www.invima.gov.co/images/pdf/INFORMESALIMENTOS/INFORME-ACRILAMIDA.pdf>.
- Jaffé, W. (2013). *Non centrifugal sugar: world production and trade*. Disponível em: <http://www.panelamonitor.org/documents/558/non-centrifugal-sugar-world-production-and-trade/>.
- Mujica, M., Guerra, M., Soto, N. (2008). Efecto de la variedad, lavado de la caña y temperatura de punteo sobre la calidad de la panela granulada. *Interciencia*. 33(8), 598–603.
- Rozo, T. (2018). *Manual técnico de buenas prácticas de manufactura (BPM) para el proceso tecnológico de producción de panela*. (Trabalho de conclusão de curso). Corporación Universitaria del Huila, Neiva.