



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

SYLVIA COELHO MAEHARA DOS SANTOS

**INFLUÊNCIA DA ASPARAGINASE NA REDUÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DA
ACRILAMIDA EM CAFÉ**

PORTO ALEGRE

2022



SYLVIA COELHO MAEHARA DOS SANTOS

INFLUÊNCIA DA ASPARAGINASE NA REDUÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DA ACRILAMIDA EM CAFÉ

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

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Manuela Poletto Klein

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Poliana Deyse Gurak

PORTO ALEGRE

2022

FOLHA DE APROVAÇÃO

SYLVIA COELHO MAEHARA DOS SANTOS

**INFLUÊNCIA DA ASPARAGINASE NA REDUÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DA
ACRILAMIDA EM CAFÉ**

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Manuela Poletto Klein (UFCSPA)

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Poliana Deyse Gurak (UFCSPA)

Avaliadora: Prof.^a Dr.^a Vivian Caetano Bochi (UFCSPA)

Avaliadora: Me. Denise Wibelinger Melo (UFRGS)

Data de aprovação: ____ de _____ de 2022.

PORTO ALEGRE

2022

Catálogo na Publicação

Dos Santos, Sylvia Coelho Maehara.

Influência da asparaginase na redução da concentração da acrilamida em café. Porto Alegre, 2022.

Trabalho de Conclusão de Curso de graduação apresentado ao Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Manuela Poletto Klein

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Poliana Deyse Gurak

AGRADECIMENTOS

Concluir a graduação de Tecnologia em Alimentos foi uma tarefa difícil que demandou disciplina, dedicação e tempo, porém, a recompensa após tantos sacrifícios é muito gratificante.

Agradeço, primeiramente, a Deus, por ter me dado saúde para superar as dificuldades.

Em especial, ao meu esposo, André Alexander dos Santos, pois sem seu apoio, carinho, compreensão e incentivo, talvez eu não tivesse chegado até aqui. À minha filha Emilly, que embora ainda pequena, me encorajou a buscar mais conhecimento.

À minha irmã Patrícia e minha tia Adriana, pelo suporte, motivo pelo qual agradeço a Deus todos os dias. Sem elas nada disso teria sido possível.

À minha orientadora, Manuela Poletto Klein, pela ajuda, oportunidade de aprendizado e ensinamentos proporcionados.

À minha coorientadora, Poliana Deyse Gurak, pela paciência, dedicação e orientação.

À Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, pela oportunidade e pela alta qualidade de seu corpo docente.

Por fim, a todos que, direta ou indiretamente, estiveram presentes nesta caminhada.

SANTOS, Sylvia Coelho Maehara dos. **Influência da asparaginase na redução da concentração da acrilamida em café.** Porto Alegre, 2022. Trabalho de Conclusão de Curso de graduação apresentado ao Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre.

RESUMO

O café é uma das bebidas mais populares no mundo devido às suas características sensoriais e propriedade estimulante. Além destes efeitos positivos, o café também é uma fonte importante de acrilamida, pois seu grão verde contém substratos que durante o processo de torra reagem e geram esse composto tóxico. No entanto, o teor de acrilamida no café vai depender do tipo de torra utilizada; a torra mais escura tende a ter menor teor de acrilamida quando comparadas às torras média e clara. O teor médio de acrilamida é de 250 µg/Kg no pó de café, contribuindo significativamente para o aumento da acrilamida na dieta. A acrilamida é um composto nocivo com potencial carcinogênico, formado nos alimentos tratados termicamente na presença de açúcar redutor e um aminoácido pela reação de Maillard. O uso da enzima asparaginase tem demonstrado ser uma estratégia promissora para redução da acrilamida em café. Este estudo utilizou o método de revisão bibliográfica de literatura, buscando evidenciar a influência da asparaginase na redução do teor de acrilamida nessa bebida. Os resultados apontam que a asparaginase é uma alternativa eficaz na diminuição da acrilamida em café, destacando que o nível de diminuição está relacionado com a dosagem e o tempo de aplicação da enzima, e, para facilitar a absorção, alguns estudos descrevem um pré-tratamento a vapor nos grãos para melhor distribuição da enzima. Tratamentos com a enzima asparaginase nas dosagens 2.000 e 6.000 ASNU/kg de 30 a 60 minutos demonstraram mitigação entre 30 e 86% do teor inicial da acrilamida. No entanto, alguns estudos evidenciaram mudanças na cor e no sabor do café, especialmente no café arábica.

Palavras-chave: Reação de Maillard. Acrilamida. Asparaginase. Café.

SANTOS, Sylvia Coelho Maehara dos. **Influência da asparaginase na redução da concentração da acrilamida em café.** Porto Alegre, 2022. Trabalho de Conclusão de Curso de graduação apresentado ao Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre.

ABSTRACT

Coffee is one of the most popular beverages in the world due to its sensory characteristics and stimulating property. In addition to these positive effects, coffee is also an important source of acrylamide, as its green bean contains substrates that react and generate this toxic compound during the roasting process. However, the acrylamide content in the coffee will depend on the type of roast used; darker roasts tend to have lower acrylamide content when compared to medium and light roasts. The average acrylamide content is 250 µg/Kg in the coffee powder, contributing significantly to the increase of acrylamide in the diet. Acrylamide is a harmful compound with carcinogenic potential, formed in heat-treated foods in the presence of reducing sugar and an amino acid by the Maillard reaction. The use of the enzyme asparaginase has been shown to be a promising strategy for reducing acrylamide in coffee. This study used the literature review method, seeking to evidence the influence of asparaginase in reducing the acrylamide content in this drink. The results indicate that asparaginase is an effective alternative in reducing acrylamide in coffee, highlighting that the level of decrease is related to the dosage and time of application of the enzyme, and, to facilitate absorption, some studies describe a pre-treatment steam in the grains for better enzyme distribution. Treatments with the enzyme asparaginase at dosages 2,000 and 6,000 ASNU/kg for 30 to 60 minutes showed mitigation between 30 and 86% of the initial acrylamide content. However, some studies have shown changes in the color and flavor of coffee, especially in Arabica coffee.

Keywords: Maillard reaction. Acrylamide. Asparaginase. Coffee.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fórmula molecular da acrilamida	14
Figura 2 - Mecanismo de formação de acrilamida em alimentos aquecidos	16
Figura 3 - Mecanismo de ação da L-asparaginase.....	17
Figura 4 - Estágios de desenvolvimento e maturação do café	19
Figura 5 - Fluxograma simplificado do processamento de café.....	20
Figura 6 - Curva de torra do café	22
Figura 7 - Relação entre o tempo torrefação e a temperatura do torrefador	23
Figura 8 - Estágios da torrefação do café.....	24
Figura 9 - Esquema simplificado das possíveis rotas de formação da acrilamida durante a torrefação do café	35

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Tempo necessário (min) para os grãos de café atingirem torrefação média clara (MC), média (M), moderadamente escura (ME) e escura (E).....	22
Tabela 2 - Concentração açúcares totais, redutores e não redutores no café arábica e robusta.....	25
Tabela 3 – Concentração de acrilamida em cafés comerciais.....	29

LISTA DE SIGLAS

ABIC	Associação Brasileira da Indústria de Café
ASNU	Unidades de medida da enzima asparaginase
Aw	Atividade de água
E	Escura
EC 3.5.1.1	<i>Enzyme Commission Number</i>
FAO	Agência das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação
LC-MS	Cromatografia líquida agregada a um espectrômetro de massa
M	Média
MC	Média clara
ME	Moderadamente escura
OMS	Organização Mundial de Saúde (OMS)
R ²	Coeficientes de determinação
ΔT	Diferença de tempo

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 OBJETIVOS	13
2.1 OBJETIVO GERAL	13
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	13
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
3.1 ACRILAMIDA.....	14
3.2 ASPARAGINASE.....	16
3.3 PRODUÇÃO DE CAFÉ.....	18
3.3.1 Teor de açúcares e asparagina no grão de café	25
3.4 O CAFÉ E A ASSOCIAÇÃO COM A ACRILAMIDA	26
3.5 INFLUÊNCIA DA TORRA NA FORMAÇÃO DE ACRILAMIDA.....	28
4 MÉTODOS	30
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
5.1 MECANISMOS ENVOLVIDOS NA FORMAÇÃO DA ACRILAMIDA DURANTE O PROCESSAMENTO DO CAFÉ.....	34
5.2 PRINCÍPIOS DA APLICAÇÃO DA ENZIMA ASPARAGINASE NO CAFÉ	37
5.3 FORMAS DE APLICAÇÃO DA ENZIMA ASPARAGINASE EM CAFÉ.....	40
5.4 REDUÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE ACRILAMIDA EM CAFÉ PELA AÇÃO DA ENZIMA ASPARAGINASE EM COMPARAÇÃO COM OUTROS MÉTODOS.	42
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	46
REFERÊNCIAS	47

1 INTRODUÇÃO

A descoberta em 2002 por pesquisadores suecos da presença da acrilamida em inúmeros alimentos submetidos a elevadas temperaturas gerou intenso debate e preocupação (SHAKAMBARI, 2017). A formação da acrilamida ocorre pela via reação de Maillard conhecida como escurecimento não enzimático, entre os açúcares redutores e o aminoácido asparagina, em temperaturas acima de 100°C, sendo responsáveis pelo desenvolvimento do cor e sabor em alimentos fritos, assados e torrados (SAJED, 2022). Os primeiros estudos acerca da existência de acrilamida em alimentos revelaram que produtos à base de batata (batata frita e *chips*) e produtos de cereais (pães, torradas, biscoitos e cereais matinais), detinham as maiores quantidades de acrilamida, chegando até 3500 µg/kg⁻¹. Já em alimentos obtidos a partir de proteínas processadas termicamente, foram identificados teores entre 5-50 µg/kg⁻¹ de acrilamida. Ao contrário, não foi identificada a existência da acrilamida em alimentos crus ou cozidos em água (XU, 2015).

A enzima L-asparaginase (EC.3.5.1.1), também conhecida como L-asparagina amido-hidrolase, desperta grande interesse na indústria alimentícia. Na preparação de alimentos a asparaginase pode ser empregada para diminuir a produção de acrilamida (MOHAN KUMAR; MANONMANI, 2013). A acrilamida é uma substância formada nas matrizes alimentares tratadas termicamente na presença de açúcar redutor e um aminoácido a asparagina, fato que ocorre no processamento do café (HENDRIKSEN et al., 2013).

Processos de fritura e cozimento de alimentos com elevado teor de polissacarídeos (amido, glicogênio, dextrinas) e níveis reduzidos de proteínas, são mais propensos à formação de acrilamida, pois são essas circunstâncias que acarretam a reação de Maillard em altas temperaturas (ANASE, 2015). Mitigar ou suprimir a formação da acrilamida é uma opção para a melhoria da segurança desses tipos de alimentos. Em razão do café ser consumido diariamente, este representa uma fonte importante de exposição à acrilamida (HU, 2021).

O café, devido ao seu aroma e sabor, é uma das bebidas mais importantes mundialmente (ANESE, 2016). O Brasil é o maior produtor de café e conforme o Relatório sobre o Mercado de Café, da ABIC, sua produção é estimada em 58,5 milhões de sacas anuais, sendo responsável por 35% de toda produção mundial, seguido pelo Vietnã (18%), Colômbia (9%), Indonésia (5,6%) e Etiópia (5%). Como

segundo maior consumidor mundial, o Brasil tem um consumo *per capita* de 4,82 kg/ano de café torrado e moído (ABIC, 2019).

Segundo demonstram alguns estudos, o teor de acrilamida em café não depende só da espécie botânica, mas também do tipo de processamento a que é submetido. As duas principais espécies de café usadas na preparação da bebida são *Coffea arábica* e *Coffea robusta*. Uma comparação entre os cafés robusta e arábica demonstrou que o primeiro apresenta um nível mais elevado de acrilamida. Isso ocorre devido aos grãos verdes do café robusta apresentarem um teor maior de asparagina (VINCI et al., 2011; LANTZ et al., 2006). A formação de acrilamida acontece rapidamente no início do processo de torra e diminui logo após atingir um nível máximo, possivelmente devido às perdas físicas e químicas (ALVES et al., 2010). Não foram encontradas revisões na literatura que compilem todos os dados experimentais da aplicação da enzima asparaginase no tratamento do café para redução da formação de acrilamida.

Entretanto, diferentes metodologias foram desenvolvidas para tentar minimizar o teor de acrilamida em vários tipos de alimentos. Assim, a questão norteadora deste trabalho foi revisar na literatura a influência da utilização da enzima asparaginase para a redução da concentração de acrilamida em café.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Revisar na literatura a influência da utilização da enzima asparaginase na redução da concentração de acrilamida em café.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Apresentar os mecanismos envolvidos na formação de acrilamida durante o processamento do café;
- b) Apresentar os princípios de ação da enzima asparaginase;
- c) Demonstrar as formas de aplicação da enzima asparaginase em café;
- d) Discutir as estratégias e condições para mitigação da concentração de acrilamida em café pela ação da enzima asparaginase e comparação com outros métodos.

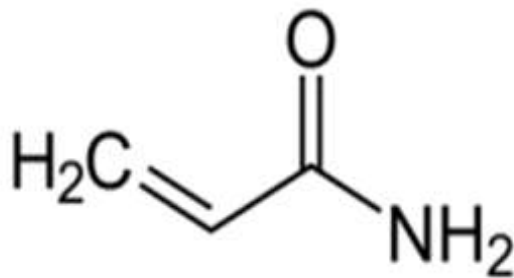
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 ACRILAMIDA

A acrilamida ou propenamida (C_3H_5NO), é uma amida α , β -insaturada, muito solúvel em água (2 g/mL), incolor, e com um ponto de fusão de $84,5^\circ C$ (MCCOLLISTER; OYEN; ROWE, 1964). Possui variadas aplicações e vem sendo produzida comercialmente pela indústria desde 1950, sobretudo na forma de poliacrilamida (PORTO, 2015). Esta molécula (figura 1) é importante em muitas reações em razão de possuir dois grupos funcionais: o grupo amida e uma dupla ligação vinílica que possibilita uma gama de reações (CAPUANO; FOGLIANO, 2011).

A acrilamida é muito utilizada na indústria química, como exemplo, na produção de colas, papel e na fabricação de cosméticos, assim como é reagente em inúmeras técnicas de biologia molecular. Em certos alimentos sendo formados quando são submetidos a altas temperaturas, as concentrações parecem variar conforme o tempo de exposição e o modo de aquecimento (PORTO, 2015).

Figura 1 - Fórmula molecular da acrilamida



Fonte: Lingnert et al. (2014).

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

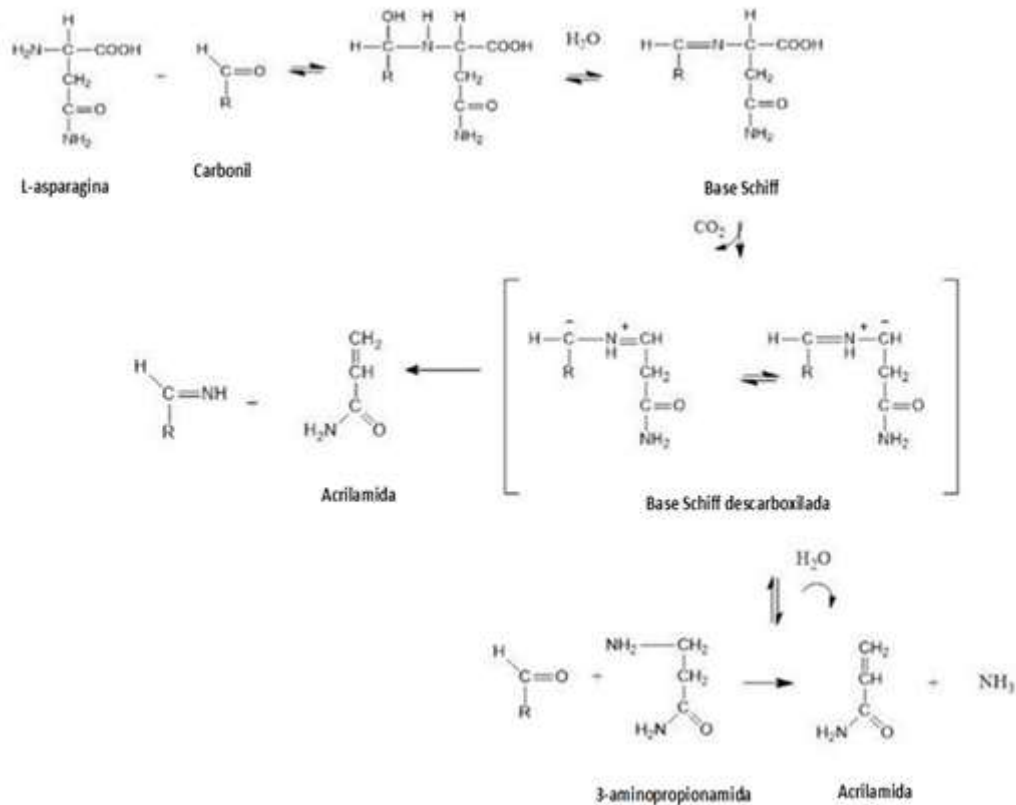
A Swedish National Food Administration e a Universidade de Estocolmo, na Suécia, anunciaram em 2002, pela primeira vez, a existência de acrilamida em alimentos. A detecção dessa substância foi possível com o uso de cromatografia líquida agregada a um espectrômetro de massa (LC-MS), demonstrando a presença de acrilamida em produtos alimentares, como por exemplo: pão, bolachas, café e alimentos fritos. Em alimentos crus ou cozidos não existe a acrilamida, o que ficou comprovado também em 2002 (TARDIFF, 2010).

Segundo Guenther et al. (2007), as reações de formação de acrilamida em café ocorrem no início da torra levando a níveis aumentados nesta fase, $> 7 \text{ mg/kg}^{-1}$ e depois diminui rapidamente no fim do ciclo, devido a taxas mais altas de eliminação (perda física e química).

Alguns fatores influenciam a formação de acrilamida nos alimentos, entre eles as condições de seu processamento como: temperatura, umidade, tempo de cozimento e matriz do produto, e seus precursores, tais como: aminoácidos livres (principalmente a L-asparagina) e os açúcares redutores (ZUO et al., 2015). Entretanto, os métodos utilizados para diminuir a formação de acrilamida tendem a hidrolisar seus precursores, inibindo ou reduzindo a intensidade da reação de Maillard por modificações em seu processo (PEDRESCHI; KAACK; GRANBY, 2008).

Na indústria de alimentos, a asparaginase é empregada para evitar a produção de acrilamida (BATOOL et al., 2016). Dergal (2006) afirma que a L-asparagina está envolvida na reação de Maillard onde se formam produtos de Amadori, os quais reagem com terminais redutores do amido para finalmente produzir a acrilamida. A primeira reação é a formação intermediária da base de Schiff. Após, pode se hidrolisar para formação de 3-amino propionamida, sendo precursora da acrilamida ou podendo sofrer a perda de um grupamento amida formando diretamente acrilamida (CLAUS; CARLE; SCHIEBER, 2008), como mostra a figura 2.

Figura 2 - Mecanismo de formação de acrilamida em alimentos aquecidos



Fonte: Adaptada de Cunha et al. (2019).

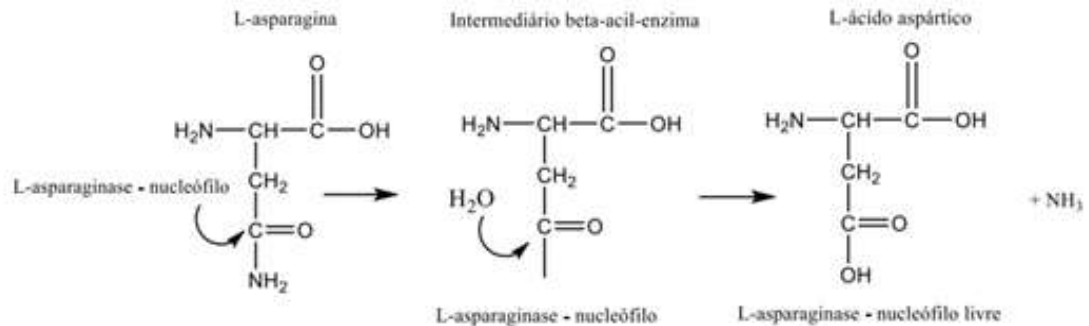
3.2 ASPARAGINASE

A asparaginase é uma enzima que hidrolisa a asparagina em ácido aspártico e amônia. Acredita-se que, em alguns processos (obtenção de produtos de panificação, por exemplo), esta enzima apresenta um eficiente mecanismo de diminuição dos níveis de acrilamida (CUNHA, 2020). Entretanto, a atividade da enzima depende dos parâmetros que podem ser definidos como o tempo e temperatura de incubação, é difícil determinar o grau de redução que a enzima vai proporcionar (PORTO, 2019). A asparaginase é uma hidrolase, ou seja, em ambiente aquoso, a enzima catalisa uma reação de hidrólise (XU et al. 2016).

A enzima age sobre o substrato contendo o aminoácido asparagina mediante um ataque nucleofílico ocasionando, assim, uma dissociação do radical amida e a liberação de amônia, bem como originando a formação de um intermediário acil-enzima. Na segunda fase da reação, o intermediário acil-enzima é hidrolisado e forma-se uma molécula de L-aspartato (SANSOM; JASKOLSKI, 2004). Esse mecanismo

usado para gerar o íon aspartato é quem dá o outro nome à enzima: asparagina amido-hidrolase, sendo sua identificação EC 3.5.1.1 (*Enzyme Commission Number*) (MOSS, 2016). Na figura 3, é apresentado o mecanismo de ação da L-asparaginase.

Figura 3 - Mecanismo de ação da L-asparaginase



Fonte: Cunha et al. (2020).

As L-asparaginases são amplamente encontradas em plantas, animais e microrganismos como: bactérias, fungos, leveduras, actinomicetos e algas (BATOOL et al., 2016; ZUO et al., 2015). Entretanto, a fonte de maior relevância é a microbiana (LOPES et al., 2017).

Segundo o JECFA (2009), as L-asparaginase fúngicas são consideradas seguras e podem ser utilizadas como coadjuvantes de tecnologia na produção de alimentos (XU; ORUNA-CONCHA; ELMORE, 2016). Na indústria alimentícia são utilizadas as L-asparaginases fúngicas sendo obtidas pelos fungos *A. oryzae* e *A. niger* sendo consideradas GRAS (geralmente reconhecidas como seguras). Atualmente, as empresas que comercializam as preparações desta enzima para aplicação em alimentos são a DSM (PreventASe®) e a Novozymes (Acrylaway®) (DSN, 2018).

A enzima L-asparaginase PreventASe® (DSM) é produzida pelo fungo *Aspergillus niger*, apresentando pH e temperatura ótima de 4 a 5 e 50°C respectivamente (XU; ORUNA-CONCHA; ELMORE, 2016), sendo muito utilizada em alimentos na redução de acrilamida. Como por exemplo: *chips* de milho, biscoitos e *crackers* (DSM, 2018).

A empresa Novozymes S/A produz a enzima L-asparaginase a partir de um *Aspergillus oryzae* recombinante. Essa asparaginase apresenta um pH ótimo entre 6 e 7, boa atividade na faixa de pH 5 a 8 e temperatura ótima de 60°C (CUNHA, 2020).

O uso comercial da enzima L-asparaginase tem se mostrado muito promissor na redução dos níveis de acrilamida em alimentos, pois não altera os procedimentos culinários tradicionais, nem compromete o sabor ou a qualidade dos alimentos (BATOOL et al., 2016; HENDRIKSEN et al., 2009; SWANSTON, 2018). Alguns estudos mostram que diminuir a L-asparagina em alimentos reduz em 90% a formação de acrilamida (SHANTHIPRIYA et al., 2015; XU; ORUNA-CONCHA; ELMORE, 2016).

3.3 PRODUÇÃO DE CAFÉ

São diversas as possibilidades de cultivo do café, em razão da sua diversidade genética. O café possui mais de 90 espécies e existem algumas premissas que devem ser consideradas quanto a escolha de qual tipo utilizar. Conforme a EMBRAPA (2004), alguns dos fatores mais importantes a serem considerados são a adaptação ao clima, potencial produtivo, estabilidade de produção, resistência a doenças e pragas e a época de maturação.

São explorados comercialmente 25 tipos de café, e apenas quatro se destacam no mercado internacional: *Coffea arabica* (café arábica), *Coffea canephora* (café robusta ou café conilon), *Coffea liberica* (café libérica) e *Coffea dewevrei* (café excelsa). Após a escolha da espécie e do plantio da muda, o pé de café desenvolve a primeira florada em torno de 18 meses (MIRANDA, 2017).

No Brasil, as duas espécies cultivadas são o café arábica e o café robusta. O café arábica é a espécie mais comercializada no mundo, representando 70% do volume. Conhecido por ser um grão de qualidade superior, possui sabor adocicado e aroma acentuado, podendo ser consumido puro ou com outras misturas de grãos de café (SOUZA et al., 2004). Embora esse apresente padrões sensoriais mais complexos, tem menos cafeína que o grão do cafeeiro robusta (MIRANDA, 2017).

O café robusta, por sua vez, é uma bebida com características menos complexas e menos aromáticas em comparação ao café do grão arábica, entretanto, tem larga utilização na preparação de café instantâneo e em misturas de grãos chamados de *blends* (MIRANDA, 2017). Isso se deve ao seu maior teor de sólidos solúveis, se comparado ao arábica, e maior rendimento após a etapa de torrefação (SOUZA et al., 2004).

O processamento de café passa por várias etapas, demonstradas na figura 4 e descritas na sequência.

Entre as fases do fruto do café, conforme a figura 4, tem-se o desenvolvimento do pé de café, chamado a primeira florada, seguida da fase inicial do desenvolvimento do fruto, chamada de fase do chumbinho, onde vira fruto verde. Em seguida, o fruto verde se transforma no fruto verde-cana que finalmente se desenvolve no fruto maduro. Nesta fase, o café deve ser colhido, e, se não o for, o fruto passará para a fase do fruto seco perdendo a qualidade (MIRANDA, 2017).

Figura 4 - Estágios de desenvolvimento e maturação do café.

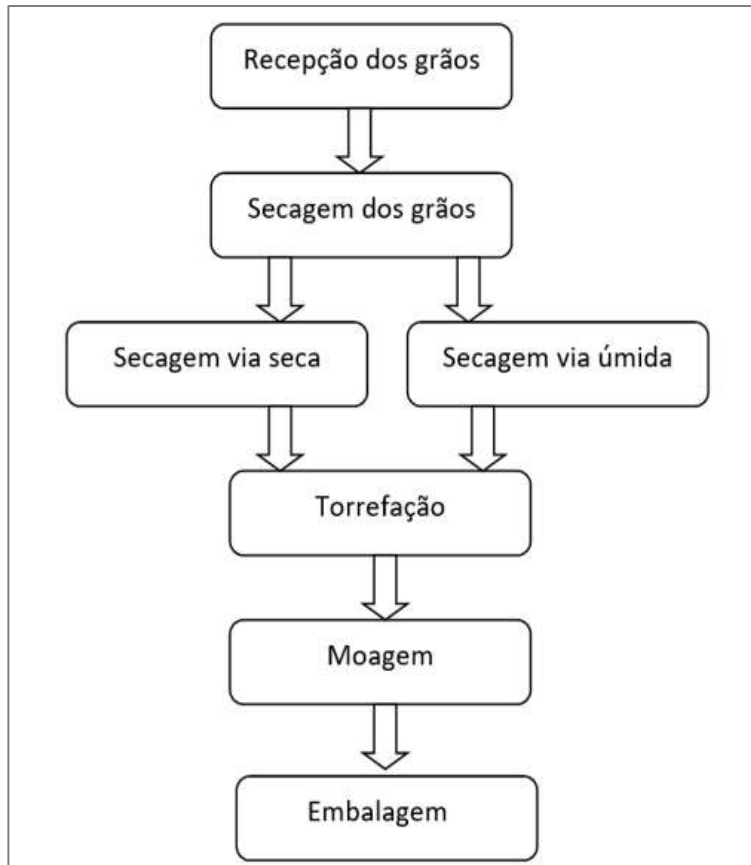


Fonte: Miranda (2017).

A colheita pode se dar de forma mecanizada ou manual, tendo por finalidade colher o fruto de café reduzindo as impurezas no processo (folhas, galhos, pedras, partículas do solo e ervas daninhas) (SILVA, 2008).

O mecanismo de colheita manual mais utilizado no Brasil é a derriça total no pano, que se caracteriza por colher os frutos em diferentes etapas de maturação. Na colheita manual seletiva são colhidos somente os frutos maduros, utilizando-se esse método quando o cafeicultor busca um café de qualidade superior. Nos dois casos, os grãos e os galhos precisam ser preservados de danos excessivos que poderão facilitar a entrada de microrganismos, influenciando na qualidade final do grão (MESQUITA et al., 2016). Já a colheita mecanizada, que teve início no Brasil em torno dos anos 70, configura-se como um mecanismo de menor custo de mão de obra, em comparação à colheita manual, além de um maior rendimento em um tempo menor de colheita (SILVA, 2008). De forma simplificada o processo de fabricação do café está exemplificado na figura 5.

Figura 5 – Fluxograma simplificado do processamento de café.



Fonte: Elaborada pela autora.

O processamento do café começa logo após a colheita onde ocorre a limpeza, secagem e separação dos grãos em várias porções, podendo ser realizado por via seca ou por via úmida. Os dois métodos de preparo têm por finalidade a redução de 65% para 10% a 12% de água contida no fruto (GONZALES, 2004).

O processo de secagem por via seca é o mais comum no Brasil originando o café natural. Os grãos são secos através da exposição solar e o processo consiste em espalhá-los em camadas finas, para que seja obtida uma secagem uniforme. Nesta etapa a umidade é reduzida em aproximadamente 40%. Após atingir a umidade adequada, os grãos são transferidos para os secadores, sendo monitorados até que a umidade chegue a 11,5% ou 12%. Os mesmos depois de secos são passados pelo lavador, onde serão separados por densidade: os grãos secos boiam e os que tiverem úmidos afundam (SILVA et al., 2001).

O processo por via úmida, origina o café descascado e despulpado ou lavado, sendo posteriormente levado para a secagem. Os grãos devem estar maduros, onde

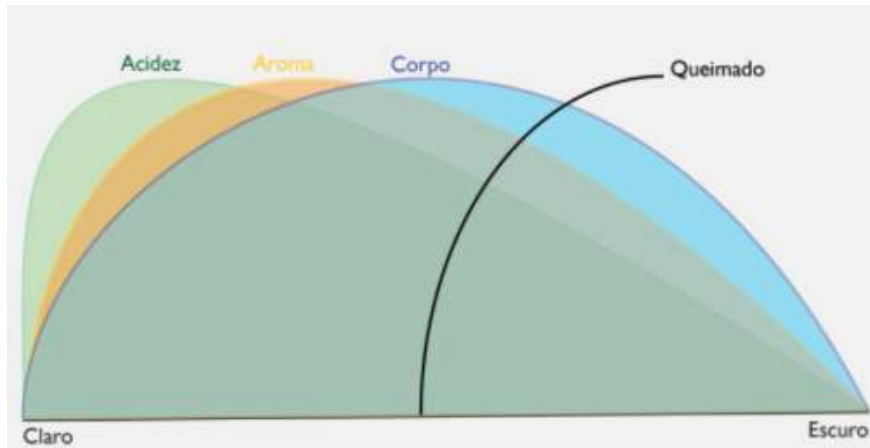
serão esmagados em peneiras com auxílio da água; este processo de despulpamento é realizado com auxílio de máquinas. Os grãos são submetidos nos despulpadores sob pressão separando a casca dos grãos verdes, com auxílio da água. Separada a casca, o café pode ser levado ao terreiro para a secagem, obtendo assim, um café cereja descascado. Seguindo esta etapa o grão passa pelo processo de secagem em terreiro que pode durar de um a dois dias (GONZALES, 2004).

No tocante a armazenagem do café esta tem por finalidade preservar as propriedades originais do grão, impedindo a perda ou ganho de água, massa seca, proliferação de fungos e alteração na coloração dos grãos em razão da exposição direta à luz. Os grãos de café podem ser armazenados logo após a secagem ou após passarem pela fase de beneficiamento próximo do período de comercialização (SILVA; MORELI; JOAQUIN, 2015).

O beneficiamento, conforme o Manual de Segurança e Qualidade para a Cultura do Café, da Embrapa (2004), diz respeito à retirada das cascas do fruto seco (coco ou pergaminho) e separação dos grãos, originando o chamado café beneficiado ou café verde. O café em coco é normalmente armazenado a granel em sacas, silos ou tulhas, e o café verde é armazenado em sacarias (sacos de 60kg) que possibilitam a separação em lotes de acordo com a qualidade do café (SILVA et al., 2001).

A etapa de torrefação diz respeito ao tratamento térmico ao qual o café verde é submetido, e tem por objetivo o desenvolvimento de aromas e sabores. Na figura 6 é apresentada a curva de torra do café, que é uma representação gráfica da relação entre o grau de torra (claro, médio e escuro) com a qualidade do sabor do grão. Entende-se que cada nível de torra realça uma característica diferente do café (ANASE, 2015).

Figura 6 – Curva de torra do café



Fonte: Blog Guia do Café (2016).

O tempo máximo e o mínimo de torrefação para os grãos de café atingirem uma torra média clara (MC), média (M), moderadamente escura (ME) e escura (E) foram de 9 a 33 min associados às temperaturas de 255°C e 335°C, respectivamente. A tabela 1 apresenta a média do tempo decorrido para que as amostras atingissem a cor característica, segundo o nível de torrefação dos grãos. Verifica-se o efeito direto da temperatura do torrefador com o tempo de torrefação, detectando que o tempo diminuiu significativamente quando se aumentou a temperatura. Além disso, o aumento da temperatura no torrefador diminuiu a diferença nos intervalos do tempo de 8min para 1,4min, nos índices das cores do café desde médio claro até escuro (VARGAS ELIAS, 2011).

Tabela 1 - Tempo necessário (min) para os grãos de café atingirem torrefação média clara (MC), média (M), moderadamente escura (ME) e escura (E)

Torrefação	Temperatura do torrefador			
	255°C	284°C	305°C	335°C
MC	23,67 d	15,67 d	12,47 c	9,33 c
M	25,00 c	16,92 c	14,00 b	9,97 b
ME	28,67 b	18,43 b	14,60 b	10,17 ab
E	31,67 a	19,94 a	15,56 a	10,73 a
² Δt	8,0	4,3	3,1	1,4

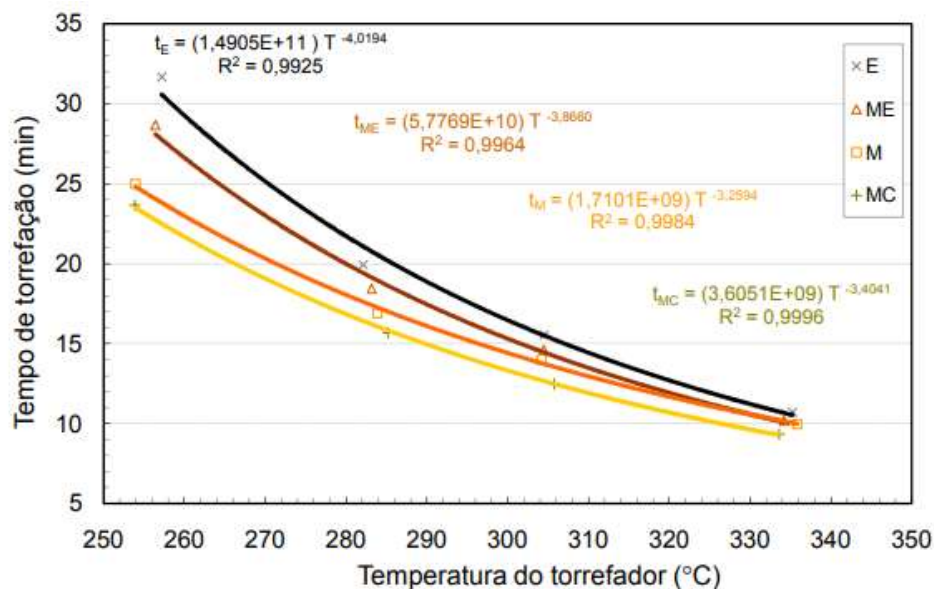
¹ As médias seguidas pela mesma letra nas colunas não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

² Diferença entre o tempo do dado inicial e o do final da coluna.

Fonte: Vargas Elias (2011).

Com base na tabela 1, verifica-se que há diferença entre os tempos para se obter os quatro níveis da cor nos grãos; para alta temperatura do torrefador é preciso mais de um minuto entre amostras de diferentes níveis de torrefação. Na temperatura alta como a de 335°C, foi necessário menos que 1,5 min para se obter os quatro índices de torrefação dos grãos de café, em razão de ter sido muito instável o processo de torrefação, que aumentava rapidamente a temperatura dos grãos, conseqüentemente passando de um tipo de torra para outro com rapidez. Conforme a figura 7, a relação entre o tempo de torrefação e a temperatura do torrefador é representada adequadamente por equações potenciais, com coeficientes de determinação (R^2) superiores a 0,992. Cada linha representa um índice de torrefação nos grãos. Os resultados apresentados atendem às necessidades dos torrefadores, pois integram os dois principais parâmetros de torrefação, o tempo e a temperatura do torrefador (VARGAS ELIAS, 2011).

Figura 7 - Relação entre o tempo torrefação e a temperatura do torrefador



Fonte: Vargas Elias (2011).

Legenda:

- + Cor média clara
- Média
- △ Moderadamente escura
- X Escura

Com o aumento da temperatura, o café verde passa por transformações físico-químicas e lentamente inicia a mudança na coloração, conforme a temperatura interna no grão aumenta pela transferência de calor do ar ou pela superfície do torrador (figura 8) (MUIINHOS, 2017).

Figura 8 - Estágios da torrefação do café



Fonte: Muinhos (2017).

Neste processo ocorre a perda de umidade de 2%, perdendo cerca de 10% da sua massa, ocorre a caramelização dos açúcares pela via de reação de Maillard, e a expansão do grão quase do dobro de seu tamanho original. Com o aumento da temperatura o grão passa por um processo exotérmico eliminando compostos voláteis, como o gás carbônico, e conforme aumenta a pressão interna, o grão se expande e gera o primeiro “crack” (rupturas na semente) (MUIINHOS, 2017). O segundo “crack” gera uma ruptura da matriz celular, geralmente em temperaturas próximas a 230°C e nesta etapa é notado que o grão fica mais brilhoso devido à eliminação dos óleos aromáticos (MELO, 2004).

O processo de torra engloba três fases: secagem, pirólise e resfriamento. A fase de secagem é onde ocorre a evaporação da água. Nesta etapa a umidade presente no grão é perdida durante os primeiros minutos da torrefação, o processo de escurecimento de verde para amarelo ocorre nos primeiros oito minutos na temperatura de 150°C. Quando os grãos atingirem a temperatura de aproximadamente 200°C, entre 11-12min sua coloração passa a ser marrom-clara. O escurecimento do grão continua conforme o aumento da temperatura, chegando em graus de torra como os chamados *French Roast* (240°C - 246°C) e *Italian Roast* (246°C - 265°C) (SILVA, 2008).

No processo da pirólise ocorre o segundo “crack”, com ruptura da estrutura celular do grão devido ao aumento da temperatura. Nesta etapa, sem ou com pouca presença de oxigênio (MUIINHOS, 2017), ocorrem diversas reações químicas com

liberação de vários compostos aromáticos, como aldeídos, cetonas e ácido acético. Quando atinge a torra desejada, o grão de café é resfriado durante um tempo aproximado de 5min, cessando o processo de pirólise (GONZALES, 2004).

O grau de torra é um dos principais fatores que influenciam na qualidade da bebida final de torra, havendo três tipos de torra mais comuns: clara, média e escura (MELO, 2004). Quanto maior o grau de torra, maior será a perda de massa do grão que corresponde de 14% a 20% de perda, podendo variar de acordo com a qualidade do grão (MUIINHOS, 2017).

O café pode ser consumido logo após o processo de torra. Contudo, na comercialização industrial, o café passa pelo processo de empacotamento e estocagem de modo a manter o aroma e características do produto por mais tempo antes de chegar ao consumidor final. O produto pode ser embalado com a presença de ar ou ser embalado à vácuo (MORAES, 2006).

3.3.1 Teor de açúcares e asparagina no grão de café

Os açúcares totais são compostos pela soma dos açúcares redutores, como a glicose e a frutose, com os açúcares não redutores, como a sacarose (PEREIRA, 2008). No café, os açúcares encontrados em maior quantidade são os não redutores, particularmente a sacarose, os açúcares redutores estão presentes em menor quantidade. O teor de açúcares no café vai depender da espécie botânica, origem e tipo de processamento. O café robusta apresenta maior quantidade de açúcares redutores, já nos grãos de café arábica a quantidade de sacarose é o dobro em relação ao café robusta (ABRAHÃO, 2007), valores similares foram encontrados no estudo realizado por Agnoletti et al. (2015) como mostra a tabela 2.

Tabela 2 - Concentração Açúcares totais, redutores e não redutores no café arábica e robusta

Tipo	Açúcares totais (%)	Açúcares redutores (%)	Açúcares não redutores (%)
Café arábica	9,16	1,23	7,71
Café robusta	4,95	1,25	3,48

Fonte: Adaptado de Agnoletti et al. (2015)

Segundo Farah (2006), os açúcares agem como precursores de aroma e sabor característico da bebida, a partir de reações com várias substâncias (furanos, aldeídos, ácidos carboxílicos etc.), influenciando na qualidade final do produto. Um papel importante dos açúcares redutores é a formação da cor durante o processo de torra, que ao reagir com os aminoácidos (pela reação de Maillard), dá origem à compostos responsáveis pela cor marrom do café (CARVALHO, 1989).

Os principais componentes que levam à formação de acrilamida na reação de Maillard são açúcares e asparagina (XU, 2015). Entre os aminoácidos presentes na composição dos grãos de café, a asparagina é a principal precursora da acrilamida. Os teores de asparagina nos frutos verdes são maiores que nos grãos imaturos (DIAS et al., 2011).

A concentração de asparagina livre nos grãos verdes do café arábica está em uma concentração de 0,2-1,0 g/kg⁻¹. Nos grãos de café robusta seus níveis são moderadamente mais altos, quando comparados como os grãos de café arábica (STADLER; SCHOLTZ 2004; LANTZ et al., 2006; MURKOVIC; AKGÜN, 2021).

Além da espécie, alguns fatores podem influenciar nos níveis de asparagina dos grãos verdes. A concentração de asparagina no café é influenciada por vários fatores agronômicos, como suprimento de nitrogênio, deficiência de micronutrientes e condições de estresse. Esses fatores influenciam no aumento dos níveis de asparagina nos grãos de café contribuindo para o aumento da formação de acrilamida durante a torra (FERNANDES, 2019).

3.4 O CAFÉ E A ASSOCIAÇÃO COM A ACRILAMIDA

O café tornou-se uma expressiva fonte de exposição diária à acrilamida, tendo em vista o seu elevado consumo em diversos países (MESIAS et al., 2018). As principais espécies de café utilizadas são o arábica (*Coffea arábica*) e robusta (*Coffea robusta*). A qualidade da bebida depende da proporção de cada grão de café (ALVES et al., 2010). As concentrações de acrilamida são maiores no café robusta torrado do que no café arábica (ANESE, 2016). A explicação mais provável está nos níveis de asparagina livre presentes nos grãos de café verde, uma vez que esses são maiores nos grãos robusta do que nos grãos de café arábica, conforme estudos de Stadler e Scholz (2004) e Lantz et al. (2006) e confirmado por Bagdonaitė et al. (2008), sendo

encontrados níveis de acrilamida 60% maiores no robusta ($797 \pm 23 \text{ mg/kg}^{-1}$) do que em grãos verdes ou não torrados ($486 \pm 96 \text{ mg/kg}^{-1}$).

O processo de torra dos grãos para o preparo do café é fator desencadeante da presença da acrilamida (SENYUVA; GOKMEN, 2005). Neste sentido, o café tem sido reconhecido por sua contribuição substancial para a ingestão de acrilamida (GUENTHER et al., 2007).

A ingestão de acrilamida pelo consumo de café varia de país para país, isso se deve a fatores como: fator determinante é idade, sexo do consumidor, grau de torra e volume de café ingerido (ANESE, 2016).

Outro parâmetro que deve ser levado em consideração são as condições de armazenamento. Essas podem influenciar nos teores de acrilamida presentes no café torrado e moído; quando embalado a vácuo teve uma diminuição no teor de acrilamida 33% a 66% durante seu armazenamento. As temperaturas do armazenamento analisadas nos estudos foram de 4°C a 37°C num período de 6 e 12 meses. A conclusão dos autores foi que a presença de $-\text{SH}$ e $-\text{NH}_2$ grupos de aminoácidos presentes na composição do café, podem ter um fator significativo na redução de acrilamida. No entanto, não foram esclarecidos os mecanismos de redução da acrilamida durante o seu armazenamento, apenas algumas hipóteses foram apresentadas (BAUM, 2008; LANTZ, 2006; MICHALAK, 2016; MESIAS; MORALES, 2016). Segundo Taeymans et al. (2004), no armazenamento prolongado ocorre uma diminuição de acrilamida, entretanto afeta significativamente as características sensoriais do café, não sendo uma alternativa atrativa para o consumidor.

Após torrado e moído, e com a incorporação de água quente e posterior filtração, tem-se o café preparado como bebida, podendo ter diferentes técnicas do preparo da bebida. É muito importante conhecer o teor de exposição à acrilamida, por xícara de café, e, para esse cálculo, considera-se um teor médio de acrilamida de $250 \mu\text{g/Kg}$ no pó de café e uma mistura de 50 g/L (5% em café preparado), assim cerca de 6 – 8 xícaras resultará numa absorção de acrilamida de $12,5 \mu\text{g}$ (levando-se em conta a extração total de acrilamida do pó) (GUENTHER et al., 2007).

Segundo os resultados do Painel de Contaminantes da EFSA na Cadeia Alimentar (CONTAM), entre 2010 e 2013, foram analisados 1500 produtos à base de café, e a concentração média de acrilamida encontrada foi de 578 ng/g no café torrado (EFSA, 2015).

Em 2017, a recomendação da Comissão Europeia (2017/2158/EU) estabeleceu uma concentração máxima de acrilamida em café torrado de 400 µg/Kg (COMISSÃO EUROPEIA, 2017). O Brasil ainda não estabeleceu um limite para o teor de acrilamida em alimentos. Entretanto, para a água potável, segundo a Portaria de Consolidação nº 5 do Ministério da Saúde, de 2017, a concentração limite de acrilamida é de cerca de 0,5 µg/L (BRASIL, 2017).

Outro problema da acrilamida é o fato de ser uma molécula polar. O preparo do café moído com água quente pode facilitar a extração completa da acrilamida presente nos grãos de café torrados (GUENTHER et al., 2007). A formação da acrilamida é induzida pelo calor, onde são formadas as características sensoriais desejáveis no café como cor, sabor e aroma, tornando muito difícil diminuir a formação deste composto tóxico sem afetar a qualidade sensorial deste alimento (ANESE, 2016).

3.5 INFLUÊNCIA DA TORRA NA FORMAÇÃO DE ACRILAMIDA

A formação de acrilamida no café durante o processo de torrefação é resultado da reação entre os aminoácidos precursores e os açúcares redutores na reação de Maillard. A presença do aminoácido asparagina no café é o fator que desencadeia a formação de acrilamida. O sabor e o aroma do café são caracterizados pelo resultado das combinações dos compostos químicos, que são produzidos pelas reações que acontecem durante o processo de torrefação. A qualidade final do café está relacionada à composição dos grãos torrados, pelas características da matéria-prima, e pelas condições de processamento pós-colheita. O grau de torra do grão determina diretamente o sabor da bebida, assim como os compostos que são formados durante a torrefação (MUIINHOS, 2017; MELO, 2004).

O início da torra do café, aumenta rapidamente a formação de acrilamida. Esta etapa acontece após ter atingido o máximo na primeira metade do ciclo total, conforme continua a torra, o nível de acrilamida diminui. No produto, os níveis de acrilamida estão em apenas 20-30% dos níveis máximos. Portanto, a concentração final dependerá do grau da torra do café, e do tempo de exposição da torrefação (ARISSETO; TOLEDO, 2006)

Os grãos de café torrados leves apresentam maiores quantidades de acrilamida do que os torrados escuros (FERNANDES, 2019), conforme demonstra a tabela 3 do

relatório fornecido pelo painel EFSA (2015) sobre contaminantes na cadeia alimentar em relação ao teor de acrilamida encontrados em café comerciais.

Tabela 3 – Concentração de acrilamida em cafés comerciais

Amostra	Número de amostras	Valor médio de concentração em µg/Kg
Café torra clara	45	374
Café torra média	44	266
Café torra escura	15	187

Fonte: Adaptado de EFSA (2015).

Para a torrefação mais escura, geralmente, o tempo de exposição dos grãos na torra é prolongado aplicando temperaturas mais baixas. Esta técnica tende a diminuir o nível de acrilamida, mas ambos os princípios devem ser fixados em pequenos intervalos para atingir o sabor alvo desejado (ARISSETO; TOLEDO, 2006; 2008).

De acordo com Farah (2006), em comparação com outras categorias de alimentos, a concentração de acrilamida em café tende a diminuir com o aumento da potência térmica de torra mais escura. Provavelmente, em temperaturas mais altas, como é aplicado na torra do café, acontecem reações em que ocorre a perda de acrilamida no fim do ciclo de torrefação. Após a torra e resfriamento, o grão de café passa pela etapa de moagem. Neste processo os grãos são quebrados em diferentes dimensões, cujo tamanho da granulometria é determinado de acordo com o tipo de preparo da bebida final (REVIEW CAFE, 2020).

4 MÉTODOS

O presente trabalho foi desenvolvido através de uma revisão bibliográfica, embasado em materiais científicos. O levantamento bibliográfico foi realizado consultando-se as bases de dados Biblioteca Virtual em Saúde (BVS), *Web of Science*, *Scopus*, *Science Direct* e Periódicos CAPES. Para as buscas, foram utilizadas as palavras-chave "Acrylamide" AND "Asparaginase" AND "Coffee". A busca pelas produções foi iniciada em junho de 2021.

Fizeram parte do estudo artigos publicados após o ano de 2010, nos idiomas português, inglês ou espanhol, disponíveis na íntegra e que tratavam sobre o tema da pesquisa. Foram excluídos os estudos que não tratavam diretamente sobre o tema, assim como *guidelines*, resumos de anais e protocolos.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da busca realizada, foram encontrados 53 artigos científicos e, após a aplicação de filtros, exclusão de duplicatas e leitura completa, gerou uma amostra de 9 artigos, os quais são apresentados no Quadro 1.

Quadro 1 – Artigos incluídos neste estudo

Espécie	Objetivo	Dosagem da enzima	Condições de processamento	Redução de acrilamida	Autor (es)
Café arábica e robusta	Testar a eficiência da aplicação da enzima asparaginase nos grãos de café verde na redução da asparagina livre.	6.000 ASU/kg	Pré-tratamento de vapor 100°C. O grão de café arábica, o tempo de pré-tratamento foi 30 min. O grão de café robusta, o tempo de pré-tratamento foi de 45 min	Grão de café arábica redução de 60% da quantidade de asparagina. Grão de café robusta redução de 35% da quantidade de asparagina.	Porto et al. (2015)
Café arábica	Testar asparaginase nos grãos crus e sobre a formação de acrilamida em grãos torrados de café arábica e avaliar a análise sensorial do café.	3.000 ASNU/kg	Pré-tratamento de vapor 100°C. O grão de café arábica o tempo de pré-tratamento foi 30 min.	O tratamento do café arábica resultou em uma redução de 30% de acrilamida.	Porto (2020)
Café arábica	Testar o uso da asparaginase para diminuir o teor de acrilamida em café.	2.600 e 20.000 ASNU/kg	A combinação da etapa de vapor com o tratamento com asparaginase.	Redução de 69% e 86% acrilamida	Xu et al. (2015)

Café arábica	Reduzir a formação de acrilamida no café usando a enzima asparaginase.	6.000 ASU/kg	Os grãos verdes de arábica foram cozidos no vapor com água por 45 min a 100°C e tratados com L-asparaginase a 60°C por 60 min.	O tratamento do café resultou em uma redução de 55-74% de acrilamida na escala de laboratório.	Hendriksen et al. (2013)
Café arábica	Desenvolver melhores condições otimizadas para o tratamento com L-asparaginase em grãos de café arábica na qualidade do café Turco.	2.126,4 ASNU/kg	Os grãos verdes foram cozidos no vapor por 45 min a 100°C. tratados com L-asparaginase a 60°C por 82,73 min.	O tratamento do café arábica resultou em uma redução de 42% de acrilamida na escala de laboratório.	Akgün; Arıcı (2019)
Café arábica	Tratar os grãos de café arábica com asparaginase para reduzir o teor de acrilamida.	5.000 ASNU/kg	O café utilizado foi o arábica. O pré-tratamento por 30 min foi realizado para abrir os poros dos grãos de café para aumentar o acesso da enzima.	Redução de 77 a 85% do conteúdo de acrilamida.	Corrêa et al. (2021)
Café arábica	Produzir e isolar a enzima asparaginase fúngica e sua aplicação para grãos de café torrados.	PcAsnase (2Ug de grãos)	Pré-tratamento foram cozidos no vapor a 100°C por 45 min.	Redução dos níveis de acrilamida em 80,7% e 75,8% em grãos de café torrados claros e escuros.	Khalil et al. (2021)

Café arábica	Selecionar as linhagens de <i>Aspergillus</i> sp. produtoras de L-asparaginase e aplicação da enzima para diminuição do conteúdo de acrilamida em grãos de café torrado.	L-asparaginase comercial Acrylaway®- 80 U de L-asparaginase de <i>Aspergillus oryzae</i> IOC 3999 80 U/mL e <i>Aspergillus niger</i> IOC 020380 U/mL	No estudo da aplicação das L-asparaginases, os grãos de café arábica foram submetidos à um pré-tratamento térmico sob vapor a 100°C por 35 min. Torra média.	O tratamento dos grãos de café com L-asparaginase comercial resultou em diminuição de 43,09% de acrilamida. Os tratamentos com as L-asparaginases purificadas de <i>A. oryzae</i> e <i>A. niger</i> resultaram em redução de 9,08% e 7,03% de acrilamida.	Cunha et al. (2019)
Café robusta	Avaliar os grãos de robusta torrados tratados com asparaginase, sendo submetidos os grãos de café a um tratamento com vapor antes do tratamento com asparaginase.	3.000 ASNU/kg	O tratamento dos grãos de café crus com vapor a uma temperatura de cerca de 100-115°C, de 15 min, seguido por tratamento com asparaginase foi adicionado sob agitação suave a 60°C por 60-120 minutos e torrefação.	No café robusta sem tratamento a vapor não apresentou redução no teor de acrilamida quando comparado a vapor com uma redução de 38% de acrilamida.	Lynglev; Schoesler (2016)

Para melhor compreensão dos resultados do estudo, as informações encontram-se segmentadas por áreas temáticas, cada uma delas respondendo a um objetivo específico.

5.1 MECANISMOS ENVOLVIDOS NA FORMAÇÃO DA ACRILAMIDA DURANTE O PROCESSAMENTO DO CAFÉ

Muitos estudos relataram que o café torrado possui um nível elevado de acrilamida (C_3H_5NO) e o café verde contém os principais precursores (asparagina livre e açúcares redutores). A quantidade de acrilamida durante a torra depende de alguns fatores cruciais, níveis de asparagina e açúcares redutores na matéria-prima, como o tempo e temperatura, o grau de torra, a espécie botânica, as condições e tempo de armazenamento do produto acabado (CAGLIERO, 2016; SCHOUTEN, 2020). O grão de café robusta apresenta níveis mais elevados de acrilamida quando comparado com os grãos de café arábica, possivelmente a sua maior concentração de asparagina (ALVES et al., 2010; MESÍAS; MORALES, 2016).

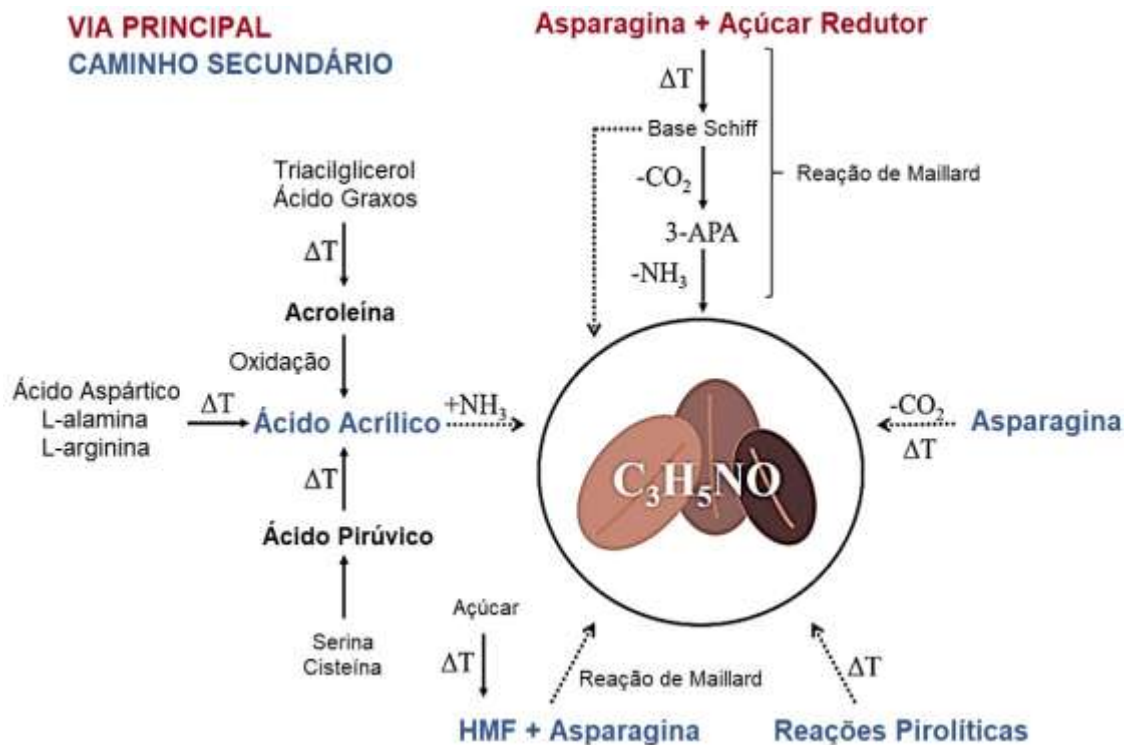
Diferentes mecanismos possíveis e precursores da formação de acrilamida no café torrado foram abordados em artigos científicos (ANESE 2015; KHEZERLOU et al., 2018;):

- Precursores:
 - Aminoácidos livres e açúcares redutores via reação de Maillard;
 - 5-hidroxiacetilfurfural (HMF) e asparagina livre via reação de Maillard.
- Mecanismos:
 - Descarboxilação e desaminação da asparagina;
 - Reação entre amônia e acroleína ou ácido acrílico (degradação de lipídios);
 - Reações pirolíticas.

Uma das vias predominantes de formação de acrilamida em café, como na maioria dos outros alimentos, é um processo de reações de escurecimento não enzimático, conhecido como reação de Maillard (ANESE; SUMAN; NICOLI, 2010). A reação de Maillard é um conjunto extremamente complexo de reações induzidas por calor iniciadas pela condensação do grupo carbonila ($C=O$) de um açúcar redutor (por exemplo glicose) com um resíduo de amino ($-NH_2$) proveniente de aminoácidos (por

exemplo, asparagina) em temperaturas acima de 120°C (PASTORIZA; RUFÍAN-HENARES; MORALES, 2012; SOARES; ALVES; OLIVEIRA, 2014).

Figura 9 - Esquema simplificado das possíveis rotas de formação da acrilamida durante a torrefação do café



Fonte: Adaptado de Schouten et al. (2020).

O primeiro produto é resultado da descarboxilação do grupo carbonila e de um açúcar redutor em altas temperaturas que resulta na formação da base de Schiff, sendo um composto muito instável. Outras reações levam à formação de um importante intermediário conhecido como 3-aminopropionamida (3-APA) e, posteriormente, à formação da acrilamida (PEDRESCHI; MARIOTTI; GRANBY, 2014; SOARES; ALVES; OLIVEIRA, 2014). Entretanto, a decomposição da base de Schiff também pode gerar acrilamida de uma forma direta (PEDRESCHI; MARIOTTI; GRANBY, 2014).

A asparagina é um dos principais precursores para formação da acrilamida pela reação de Maillard. No grão de café verde, a sacarose, o principal açúcar encontrado, estão presentes nos grãos na faixa de 0,30-0,90 mg/g⁻¹ e 35-90 mg/g⁻¹, respectivamente, dependendo das características das matérias-primas (MURKOVIC;

DERLER, 2006; ZHANG; ZHANG, 2007). No entanto, a sacarose não é um açúcar redutor, mas na fase inicial de torra ocorre sua degradação, dando origem a neo-carbonilas que influenciam a formação de acrilamida durante a reação de Maillard. Os novos compostos formados, neo-carbonil podem ser gerados a partir da oxidação lipídica durante a torrefação do café, devem ser contemplados na formação da acrilamida pela reação de Maillard (KOCADAĞLI, 2012).

Durante a reação de Maillard, não apenas compostos tóxicos são produzidos, mas também um grande número de compostos aromáticos de cor marrom (melanoidinas), voláteis (responsáveis pelo sabor e aroma) e não voláteis. Esses compostos são desejados sendo responsáveis pela identidade e qualidade do café (STADLER; SCHOLZ, 2004). No entanto, alguns produtos com uma atividade antioxidante interessante também foram detectados entre os produtos da reação de Maillard (HEČIMOVIĆ et al., 2011; HU et al., 2019).

Embora a formação de acrilamida seja basicamente devida à combinação de asparagina livre e açúcares redutores, este composto também pode ser produzido a partir de asparagina simples na ausência de açúcares por descarboxilação direta e desaminação em temperaturas elevadas. No entanto, a baixa concentração de asparagina e as altas temperaturas do processo levam à sua rápida ciclização intramolecular, tornando a formação de acrilamida por esta via de importância limitada (GRANVOGL; SCHIEBERLE, 2006).

Outra via onde não precisa da presença de asparagina para a formação de acrilamida, é por acroleína e ácido acrílico reagindo com amônia (NH_3) podendo estar presente ou ser formada durante a termólise de aminoácidos e proteínas (ANESE 2015; KHEZERLOU et al., 2018). A acroleína pode ser formada por diversas vias, ressaltando a degradação oxidativa de gorduras (ou seja, triglicerídeos) e podendo gerar ácido acrílico por oxidação. Entretanto, o ácido acrílico pode ser formado a partir da decomposição térmica de alguns aminoácidos, como ácido aspártico, L-alanina e L-arginina ou, indiretamente a partir de serina e cisteína por meio da formação de ácido pirúvico (GUENTHER et al., 2007).

Quando o ácido acrílico reage com a amônia para formar acrilamida por meio de uma amino hidroxilação, ocorre uma reação de ácidos que levam a amidas (YAYLAYAN; STADLER, 2005). Portanto, a formação de acrilamida a partir da acroleína e do ácido acrílico é uma via marginal importante onde é limitada pela disponibilidade de amônia livre nos alimentos e sendo necessário que tenham

temperaturas relativamente altas para que a reação aconteça (GUENTHER et al., 2007; YAYLAYAN; STADLER, 2005).

O HMF (hidroximetilfufural), é um composto furânico podendo ser gerado durante a torrefação a partir da decomposição dos açúcares. Estudos recentes sugerem como um precursor alternativo para a formação de acrilamida. Provavelmente devido ao seu grupo carbonila, o HMF pode reagir rapidamente com a asparagina na reação de Maillard. Ainda existem poucas pesquisas sobre este possível caminho para a formação de acrilamida, no entanto o HMF pode atuar como um precursor mais eficiente quando comparado com os açúcares (ANESE, 2015; CAI et al., 2014; GÖKMEN et al., 2012; KOCADAĞLI et al., 2012).

Segundo Anese (2015), existem mecanismos adicionais de formação de acrilamida ocorrendo durante a torrefação do café, conforme relatos anteriormente em produtos de panificação em alta temperatura, causados por reações pirolíticas. A exposição dos grãos em altas temperaturas, sendo sob pouco oxigênio ou a vácuo, geram algumas reações químicas. A hidrólise da sacarose, forma compostos voláteis que são responsáveis pelo aroma, nesta etapa ocorre a ruptura da estrutura molecular do grão de café liberando CO₂. Os grãos perdem sua coloração verde e ganham uma coloração amarronzada. A cor final dependerá do ponto de torra desejado (KOBLOITZ, 2011).

Cada uma dessas rotas de formação de acrilamida no café é influenciada por diversos fatores como por exemplo: a qualidade da matéria-prima, a espécie do café, a origem e tratamentos pós-colheita, além de intervenções moleculares ocorridas nas etapas dos processos de torrefação, fermentação e armazenamento (ANESE, 2015).

5.2 PRINCÍPIOS DA APLICAÇÃO DA ENZIMA ASPARAGINASE NO CAFÉ

Uma das maneiras preventivas na formação de acrilamida é o uso da L-asparaginase que tem como objetivo manter a menor concentração possível deste composto durante a torra, atuando no precursor L-asparagina, criando condições reacionais menos favoráveis (CUNHA et al., 2020).

Estudo comparativo foi realizado por Porto et al. (2015) com o objetivo de testar a eficiência da aplicação da L-asparaginase (Acrylaway®) na redução da asparagina livre nos grãos de café verdes das espécies robusta e arábica. Os parâmetros da utilização da enzima foram temperatura 37,0 a 37,5°C no pH 7,0 a 7,5. Os grãos de

café sofreram um pré-tratamento de vapor, que consiste na abertura dos poros do grão em contato direto com fluxo de vapor a 100°C. Para receber o tratamento enzimático, neste experimento foram avaliados quatro tempos (15, 30, 45 e 60min) e cargas enzimáticas diferentes. A carga enzimática que determinou melhor redução em relação ao tempo foi de 6.000 ASNU/kg. O melhor tempo de pré-tratamento encontrado para o grão do café arábica foi o de 30min, ocorrendo uma diminuição de aproximadamente 60% da quantidade de asparagina quando comparado com o grão submetido ao mesmo tempo de exposição ao vapor e sem tratamento enzimático. Já no grão do café robusta o melhor tempo de pré-tratamento foi o de 45min, havendo a diminuição de aproximadamente 35% da quantidade de asparagina.

Estudo foi realizado por Porto et al. (2019), usando a L-asparaginase nos grãos crus com o objetivo de reduzir a formação de acrilamida em grãos torrados de café arábica avaliando a análise sensorial do café. A metodologia empregada foi em condições semelhantes ao seu estudo anterior usando o vapor para abrir os poros dos grãos verdes, garantindo contato suficiente da enzima com a asparagina livre do café. Neste experimento foi utilizado a enzima (Acrylaway® L) em diferentes cargas (3.000 ASNU/kg a 15.000 ASNU/kg). Foi constatado que a carga de 3.000 ASNU/kg é a mais adequada para o tratamento enzimático, reduzindo o teor de asparagina em aproximadamente 30%.

Na pesquisa realizada nesta área específica, de aplicação de asparaginase no café, por Hendriksen et al. (2013), foi avaliado o efeito da enzima L-asparaginase na diminuição da acrilamida no café. Os grãos verdes arábica foram cozidos no vapor com água por 45min a 100°C e tratados com L-asparaginase a 60°C por 60min. Segundo os autores, observou-se a maior redução quando usaram a concentração de 6.000 ASNU/kg nos grãos, notou-se uma redução de 70% a 80% no conteúdo de L-asparagina e de 55% a 74% na formação de acrilamida.

No trabalho realizado por Gottschalk et al. (2018) usaram a enzima L-asparaginase no processamento do café arábica e robusta para redução de formação de acrilamida. Para a abertura dos poros os grãos de café verdes foram pré-tratados com vaporização na autoclave durante 45min a 100°C. Em seguida, os grãos pré-tratados receberam diferentes concentrações de carga enzimática 2000, 4000 e 6000 ASNU/kg durante 60min a 60°C, com agitação. A enzima utilizada neste experimento foi Acrylaway® L. Para a torrefação foram utilizadas três temperaturas (R1 - 230°C por 12min), média (R2 - 240°C por 14min) e alta (R3 - 250°C por 17min). A melhor

carga enzimática (6000 ASNU/Kg) aplicada no café apresentou redução da formação de acrilamida em 90%, 86% e 76% para o café arábica nas torras R1, R2 e R3, respectivamente, e de 95%, 86% e 77% para o café robusta nas torras R1, R2 e R3, respectivamente.

Com intuito de obter cafés de alta qualidade Akgün et al. (2021) investigaram a correlação entre os precursores da acrilamida (asparagina livre e açúcar) em grãos de café verde e do nível de acrilamida no café torrado produzido a partir do grão de café arábica usando a enzima asparaginase na redução de acrilamida. Os grãos verdes do café arábica foram cozidos em vapor por 45min a 100°C para abrir seus poros, após sendo colocados em um saco a vácuo e água aquecida (60°C) contendo *Acrylaway* L (a enzima L asparaginase apresenta sua atividade ideal em pH 7 e 60°C) sendo pulverizados uniformemente por um recipiente aerossol sobre os grãos de café verdes embalados foram agitados para distribuir a enzima uniformemente. Neste experimento foram utilizadas diferentes dosagens de enzima (0, 2.000 e 4.000 ASNU/kg de grãos de café verde) sendo mantidos em banho-maria numa temperatura de 60°C por tempos variados (30, 75 e 120min). Em seguida, os grãos de café foram torrados em uma torrefadora elétrica a 180°C por 20min obtido um café torra média. As condições ótimas para aplicação da enzima l-asparaginase em grãos de café verde foram 2.126,4 ASNU/kg de grão verde e 82,73min, com uma redução média de 42% do nível de acrilamida.

Estudos anteriores demonstram melhor eficiência da asparaginase quando o vapor é usado para abrir os poros dos grãos de café verde, garantindo contato suficiente da enzima com a asparagina livre nos grãos (PORTO et al., 2019). Da mesma forma, Corrêa et al. (2021) em seu estudo, este pré-tratamento foi realizado para abrir os poros dos grãos de café para aumentar o acesso da enzima. Os grãos verdes de café arábica foram submetidos ao contato direto com fluxo de vapor (100°C) por 30min. Os grãos de café após o tratamento a vapor foram hidrolisados com uma solução de asparaginase (*Acrylaway* L). Para melhor atividade enzimática da asparaginase os parâmetros usados seguiram a orientação da Novozymes (pH 7,0; 37°C). Os fatores investigados foram carga enzimática (1000 e 5000 ASNU/Kg). Após o tratamento enzimático, os grãos de café foram colocados em uma estufa a 80°C por aproximadamente duas horas para a secagem. Os grãos foram então torrados em temperatura de 230°C por 15min e moídos. O resultado obtido neste trabalho, foi de 5.000 ASNU/kg, que alcançou redução de 77% a 85% do conteúdo de acrilamida.

Os estudos têm demonstrado resultados positivos do pré-tratamento da enzima asparaginase nos grãos de café verde tanto do café arábica como do café robusta. No entanto, é difícil comparar o grau de redução da acrilamida pois estas medidas estão relacionadas a características específicas da espécie botânica, no tempo de incubação da enzima, na quantidade enzimática e na temperatura. As estimativas de redução da acrilamida giram em torno de 30-86%.

5.3 FORMAS DE APLICAÇÃO DA ENZIMA ASPARAGINASE EM CAFÉ

Resumidamente, os métodos de adição da enzima L-asparaginase nos grãos de café incluem o cozimento, pulverização, vapor sob vácuo, imersão e aspersão levando a um aumento da área de superfície.

Diversos estudos foram realizados sobre o uso da enzima asparaginase como alternativa para a diminuição de acrilamida nos alimentos (PORTO, 2019). Alguns fatores importantes foram observados, como a dosagem e o tempo de aplicação da enzima (AKGÜN, 2021). Estudo realizado por Hendriksen et al. (2013) adicionando a enzima asparaginase no grão verde de café reduziu a concentração de acrilamida, e estudos realizados por Lynglev e Schoesler (2016) confirmaram que a abordagem enzimática pode reduzir com sucesso a acrilamida no café assim como os resultados obtidos por Xu et al. (2018).

Uma revisão muito útil do uso de asparaginase na redução dos níveis de acrilamida em alimentos cozidos foi recentemente fornecida por Xu et al. (2016). A primeira aplicação ao café do pré-tratamento de asparaginase para reduzir os níveis de asparagina nos grãos verdes de café e, conseqüentemente, obter café torrado com teores reduzidos de acrilamida foi patenteada por Dria et al. (2007). Basicamente, consistia em submeter os grãos de café verdes a uma solução aquosa contendo asparaginase, após uma série de tratamentos preliminares essenciais para promover um contato adequado entre a enzima e o substrato. Esses tratamentos podem incluir (i) redução em fragmentos (moagem) dos grãos de café, de modo a aumentar a superfície de contato entre o café verde e a enzima; (ii) exposição dos grãos de café à ação de celulasas, hemicelulasas e/ou pectinases, por degradar a celulose e, conseqüentemente, a estrutura dos grãos; (iii) secar os grãos de café, ou tratar os grãos de café com vapor de baixa pressão ou pressão atmosférica, de modo a abrir

os poros dos grãos e facilitar a penetração no interior dos grãos da solução aquosa que contém a enzima (NAVARINI, 2014).

No trabalho de Xu *et al.* (2018), seu objetivo foi examinar o efeito do processo de vapor para a entrega da enzima de asparaginase nas dosagens 2.600 e 20.000 ASNU/kg, foi inicialmente distribuída em grãos de café verdes de arábica e robusta por um método de vapor e imersão. As dosagens de enzimas nas faixas de 2.000 a 6.000 ASNU/kg em comparação com dosagens mais altas, obtiveram a redução da acrilamida no café torrado (40-91%). Um efeito adverso do tratamento com enzimas apresentou diferença de cor nos grãos de café, que tornou os grãos de café tratados com enzimas mais escuros quando torrados. Os resultados indicaram que o método de infusão a vácuo (redução de 21–56% da acrilamida) não foi tão eficaz quanto o método de vapor e imersão (40–91%) (XU *et al.*, 2018).

Neste estudo com o uso da enzima L-asparaginase nos grãos de café verde arábica para reduzir a concentração de acrilamida em café torrado, foram analisados no tratamento enzimático duas variáveis independentes: a dosagem da enzima e o tempo de aplicação. A dosagem da enzima foi 0-4000 ASNU/Kg e o tempo de 30-120 min. Inicialmente os grãos foram lavados e cozidos no vapor por 45min a 100°C (esta etapa é realizada para abrir os poros dos grãos), em seguida colocados em sacos a vácuo sendo pulverizados uniformemente a L-asparaginase. Os resultados foram encontrados como 2.125,2 ASNU/kg de grão verde e 82,75 min com uma redução de 42% de acrilamida (AKGÜN, 2021).

Hendriksen *et al.* (2013) usando a enzima comercial *Acrylaway*® relatou a redução da acrilamida em café. Em seu experimento foram usados grãos verdes de arábica e robusta onde passaram por um processo de cozimento por 45 min a 100°C. Os grãos foram misturados na água aquecida (60°C) contendo *Acrylaway*® L, a dosagem utilizada foi de 2000 a 6000 ASNU/kg. A aplicação da enzima foi a vapor. Este processo é usado para abrir os poros dos grãos de café verde assegurando um contato suficiente da enzima com asparagina nos grãos. As amostras foram incubadas a 60°C durante 60min com agitação, o tempo determinado foi 45-60 min. Os resultados do experimento foram a redução de acrilamida que variou entre 55% e 74% nos cafés, no entanto, os autores citaram que houve drástica mudança no sabor do café, especialmente a redução da doçura do café arábica.

No estudo realizado por Khalil *et al.* (2021), foi usada L-asparaginase fúngica de *Penicillium crustosum* NMKA 511 (PcAsnase®) para diminuir a concentração de

acrilamida em grãos de café torrados. Nesta pesquisa os grãos de café arábica verde (5 g) foram cozidos no vapor a 100°C por 45min, após o pré-tratamento foram incubados em solução de asparaginase PcAsnase® (2 U g⁻¹ de grãos) em uma temperatura de 35°C a 20rpm por 1h, esta etapa permitiu o acesso da L-asparaginase à asparagina livre dentro dos grãos. Os grãos de café sofreram os processos de torra clara e escura para melhor avaliação quanto a eficiência da enzima. A torra clara foi realizada em temperatura de 210°C por 20min, enquanto os grãos de café escuros foram torrados na temperatura de 240°C por 25min. Em comparação com o controle, o conteúdo de acrilamida de grãos torrados claros e grãos torrados escuros tratados com a enzima foi reduzido para 80,7% e 75,8%.

Um estudo sensorial foi realizado por Xu et al. (2016) com a finalidade de descrever as mudanças no perfil sensorial do café, utilizando doses ligeiramente superiores da enzima asparaginase líquida, de 6000 a 20.000 ASNU/kg, e relataram diminuição nos níveis de acrilamida em café torrado da ordem de 69-86%, no entanto teve mudança sensorial principalmente na doçura do café arábica. Entretanto, Porto et al. (2020), indicaram estagnação enzimática a partir da carga de 3000 ASNU em relação à redução do aminoácido asparagina.

5.4 REDUÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE ACRILAMIDA EM CAFÉ PELA AÇÃO DA ENZIMA ASPARAGINASE EM COMPARAÇÃO COM OUTROS MÉTODOS

Alguns estudos científicos vêm contribuindo para identificar estratégias potenciais na redução dos níveis da acrilamida em café torrado. Em comparação com os experimentos na redução de acrilamida em batatas e produtos de panificação, existem poucos estudos científicos realizados até o momento de estratégias para mitigação da acrilamida em café torrado e produtos de café (SCHOUTEN, 2020).

A maneira mais eficaz de reduzir a acrilamida em alimentos aquecidos é reduzir os níveis de precursores nas matérias-primas alimentares. Como a asparagina foi descrita como o fator limitante para a formação de acrilamida no café, as possíveis estratégias de mitigação no pré-processamento têm se concentrado na redução desse aminoácido nos grãos de café verde. Levando em consideração que os níveis de asparagina livre em grãos de café crus estão dentro de uma faixa muito estreita, normalmente de 0,2 a 1 g/kg⁻¹, a oportunidade para possível controle ou redução pela

seleção de grãos com quantidades relativamente baixas de asparagina é pequena (FDE, 2011).

A seleção da matéria-prima é um fator muito importante que pode influenciar no teor final da acrilamida em café. As duas principais espécies botânicas de café mundialmente utilizadas na indústria são a arábica e a robusta, caracterizadas por composições químicas e sensoriais diferentes. Diversas pesquisas demonstram que o café robusta apresenta maior teor de acrilamida quando comparado com o arábica. De acordo com Guenther et al. (2007) uma alternativa seria usar combinações de café (por exemplo 70% de arábica e 30% de robusta). Um fator que pode elevar o teor de acrilamida no café torrado é a mistura dos grãos imaturos ou defeituosos, uma vez que estes grãos contêm quantidades duas vezes maiores de asparagina (SOARES, 2014).

No estudo realizado por Halford et al. (2012a) alguns fatores podem influenciar o acúmulo de asparagina nas plantas, que incluem um suprimento exacerbado de nitrogênio juntamente com a falta de nutrientes como potássio, enxofre, fósforo e magnésio e condições estressantes, como exposição a metais tóxicos como cádmio, ataques de patógenos e seca ou estresse salino. A falta de dados sobre a importância desses fatores especificamente no café não permitiu até o momento o surgimento de propostas nesta área visando a obtenção de matérias-primas cafeeiras com teores reduzidos de asparagina.

A modificação genética fornece outra possibilidade de obtenção de cereais e grãos de café com níveis reduzidos de asparagina (HALFORD et al., 2012) mas, novamente, nenhum estudo é descrito a respeito do café.

O estudo realizado por Alafeef et al. (2021), mostrou efeito positivo na diminuição da acrilamida usando um pré-tratamento com selênio. Os grãos verdes de café arábica foram cortados um terço do tamanho para aumentar a superfície de absorção, receberam um pré-tratamento com selênio em diferentes concentrações onde ficaram imersos durante a noite. Os grãos foram submetidos à secagem até atingirem 10% de umidade para serem torrados. O aumento da capacidade antioxidante pela fortificação com selênio no pré-tratamento, os resultados demonstram uma supressão na formação da acrilamida durante a torrefação do café, reagindo nos precursores e intermediários da reação de Maillard o que foi um fator determinante na diminuição. Este estudo sugere que a torrefação a vapor e o pré-

tratamento químico da suplementação de selênio obteve uma diminuição de 32% nos níveis de acrilamida, sendo uma alternativa no processamento do café.

O processamento de torra a vácuo combinado com baixa pressão atmosférica também foi sugerido como uma medida na redução da acrilamida no café. De acordo com o estudo realizado por Anese (2016) os grãos de café arábica foram torrados em um forno a 200°C por períodos crescentes de tempo sob vácuo (ou seja, 0,15 kPa). Os experimentos foram realizados em um aparelho constituído de um forno (5 Pascal, VS-25 SC, Trezzano S/N, Milano, Itália), equipado com placas aquecidas para melhorar a transferência de calor sob condições de vácuo. Neste experimento, o café processado à vácuo com grau de torra médio apresentou 50% menos acrilamida do que seu equivalente torrado convencionalmente com impacto mínimo na análise sensorial da bebida. Segundo o autor, devido à baixa pressão provocada no interior do forno pelo processo de vácuo resulta num impedimento no acúmulo da acrilamida nos grãos. No entanto, pesquisas adicionais devem ser realizadas em escala piloto e industrial para encontrar as condições ideais de processo.

A torrefação é um tratamento térmico no qual os grãos de café são submetidos a temperaturas superiores a 200°C dando cor, sabor e aroma característicos a essa bebida. A concentração final de acrilamida no café vai ser determinada pela espécie botânica, do grau e tempo de torra (ANESE, 2015). De acordo com estudos realizados por Lantz et al. (2006) e confirmados por Summa et al. (2007), foram encontrados níveis maiores de acrilamida em café que passaram por torrados leves. A formação da acrilamida nos grãos ocorre durante os primeiros 1,5-16 min em temperaturas de torra diferentes. Segundo a conclusão dos autores, a acrilamida é formada no início da torrefação e diminui conforme o aumento do tempo de torra e a temperatura. No experimento de Summa et al (2007) o prolongamento da torrefação a 236°C por cerca de 4 min causou uma redução no teor de acrilamida tanto na espécie robusta quanto na arábica. Neste estudo não é determinada a porcentagem de diminuição da acrilamida, no entanto a torra escura causou um grande impacto nas propriedades organolépticas e conseqüentemente na aceitabilidade do produto.

Em estudo realizado por Alves et al. (2010) o café torrado escuro a 210°C por 11 min apresentou uma diminuição de 25% no teor de acrilamida quando comparado com a torra média. Uma relação negativa entre o teor de acrilamida com o grau de torra, recentemente foram encontrados para cafés comerciais de robusta e arábica

onde foram encontrados valores maiores de acrilamida na torrefação média quando comparada com a torra escura (WAWRZY尼亚K, JASIEWICZ, 2019).

No entanto, novas pesquisas são necessárias para diminuir a concentração de acrilamida, visando combinações de estratégias. O uso da enzima asparaginase na hidrólise da asparagina tem se mostrado uma alternativa promissora na redução da acrilamida em café, no entanto, não foram encontrados na literatura quanto a intervenções aplicáveis industrialmente na diminuição da acrilamida em café e seus produtos. Uma alternativa viável no café é aumentar o grau de torra, já que café mais escuro tende a ter menor concentração de acrilamida devido ao processo de degradação, mas vale ressaltar que pode não atender a preferência de todos os consumidores. A torra à vácuo sob pressão reduzida e o uso da enzima asparaginase representam alternativas promissoras.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A acrilamida é um tóxico alimentar gerado no processamento térmico acima de 120°C de alguns alimentos, pela via da reação de Maillard entre o aminoácido asparagina e açúcares redutores. No café é formada durante as fases iniciais de torra, e sua quantidade é definida, principalmente, pela espécie botânica e grau de torrefação dos grãos. Vale acrescentar que os tipos de torras estão relacionados a preferência de consumo em distintos locais. Estudos vêm demonstrando que cafés com torras mais escuras tendem a ter menor teor de acrilamida quando comparados a torrefação mais leve e média. Outros relatam que o uso da asparaginase acima de 6000 ASNU/kg altera consideravelmente as características sensoriais no sabor do café, especialmente a redução da doçura do café arábica.

O uso da enzima asparaginase tem sido uma promissora solução na diminuição da acrilamida em café, no entanto, fatores como dosagem, tempo e forma de aplicação, devem ser levados em consideração. Alguns estudos demonstram que o tratamento térmico para abertura dos poros dos grãos facilita a absorção da enzima e a hidrólise da asparagina. Alguns métodos podem ser adotados na redução do teor de acrilamida em café, como a torrefação a vácuo sob pressão reduzida.

Observa-se que o tratamento enzimático apresenta diferença na coloração dos grãos tornando-os mais escuros quando torrados, podendo este ser uma alternativa nas torras escuras. O uso da enzima na indústria de café é uma solução promissora, pois não necessita de equipamentos caros para sua incorporação no processo.

Mais investigações e pesquisas são necessárias a fim de encontrar soluções para a mitigação da acrilamida em café, atentando às propriedades sensoriais e nutricionais, assim como visando sua aplicação em escala industrial.

REFERÊNCIAS

- ABIC. **Indicadores da indústria de café 2018**. Disponível em: <<http://abic.com.br/estatisticas/indicadores-da-industria/indicadores-da-industria-de-cafe>> 2019. Acesso em: 2 out. 2021.
- ABRAHÃO, S. A. **Qualidade da bebida e atividade antioxidante em in vivo e in vitro**. 2007. 87 f. Dissertação (Mestrado em Ciências dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, 2007.
- AGNOLETTI, B. Z. **Avaliação das propriedades físico-químicas de café arábica (Coffea arabica) e conilon (Coffea canephora) classificados quanto à qualidade da bebida**. 2015. 110 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre, 2015.
- AKGUN, B.; ARICI, M.; CAVUS, F.; KARATAS, A. B.; EKSI KARAAGAC, H.; UCURUM, H. O. Application of l-asparaginase to produce high-quality Turkish coffee and the role of precursors in acrylamide formation. **Journal of Food Processing and Preservation**, p. e15486, 2021.
- AKGÜN, B.; ARICI, M. Avaliação de acrilamida em algumas marcas de café turco do mercado turco. **Aditivos Alimentares e Contaminação**: Parte A, 36, p. 548-560, 2019.
- ALVES, R. C.; SOARES, C.; CASAL, S.; FERNANDES, J. O.; BEATRIZ, M.; OLIVEIRA, P. P. Acrylamide in espresso coffee: influence of species, roast degree and brew length. **Food Chemistry**, v.119, n. 3, p. 929 – 934, 2010.
- ANESE, M. Acrylamide in coffee and coffee substitutes. **Acrylamide in Food**, p.181–195, 2016.
- _____. **Acrilamida no café e seus substitutos**. Acrilamida em alimentos: Análise, conteúdo e efeitos potenciais para a saúde. Waltham, MA: Academic Press Elsevier. 2015.
- ANESE, M.; SUMAN, M.; NICOLI, M. C. Acrylamide removal from heated foods. **Food Chemistry**, 119(2), p. 791–794, 2010.
- ARISSETO, M. A. P.; TOLEDO, C. Estimativa preliminar da ingestão de acrilamida no Brasil. **Revista Brasileira de Toxicologia**. v.1, n. 21, p. 9 -14, 2008.
- _____. Acrilamida em Alimentos: uma revisão. **Food Technology**, v.9, n. 2, p.123-134, 2006.
- BAGDONAITE, K.; DERLER, K.; MURKOVIC, M. Determinação de acrilamida durante a torrada de café. **J Agric Food Chem.**, 56(15):6081-6, 2008.

BATOOL, T.; MAKKY, E.A.; JALAL, M.; YUSOFF, M.M. Uma revisão abrangente sobre L-Asparaginase e suas aplicações. **Appl Biochem Biotechnol**, 178(5):900-23, 2016.

BAUM, M.; BÖHM, N.; GÖRLITZ, J.; LANTZ, I.; MERZ, K.H.; TERNITÉ, R.; EISENBRAND, G. Destino da 14C-acrilamida em café torrado e moído durante o armazenamento. **Nutrição molecular e pesquisa alimentar**, 52 (5), 600-608, 2008.

BLANK, I. Current status of acrylamide research in food: measurement, safety assessment, and formation. **Ann N Y Acad Sci.**, v. 1043, pp. 30-40, 2005.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Portaria de Consolidação nº 5**, de 28 de setembro de 2017. Consolidação das normas sobre as ações e os serviços de saúde do Sistema Único de Saúde. Brasília, DF: Ministério da Justiça, 2017. Disponível em: www.gov.br. Acesso em: 15 ago. 2021.

CAGLIERO, C.; NAN, H.; BICCHI, C.; ANDERSON, J.L. Revestimentos sorventes compatíveis com matrizes baseados em líquidos iônicos poliméricos estruturalmente ajustados para a determinação de acrilamida em café e pó de café usando microextração em fase sólida. **Journal of Chromatography**, 1459, p. 17-23, 2016.

CAI, Y.; ZHANG, Z.; JIANG, S.; YU, M.; HUANG, C.; QIU, R.; ZOU, Y.; ZHANG, Q.; OU, S.; ZHOU, H.; WANG, Y.; BAI, W.; LI, Y. Chlorogenic acid increased acrylamide formation through promotion of HMF formation and 3-aminopropionamide deamination. **Journal of Hazardous Materials**, 268:1–5, 2014.

CAPUANO, E.; FOGLIANO, V. Acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural (HMF): a review on metabolism, toxicity, occurrence in food and mitigation strategies. **LWT - Food Sci Technol.**, v. 44, pp.793-810, 2011.

CARVALHO, A. **Breeding programs**. In: Kushalappa, A. C. and Eskes, A. B. (Eds.). Coffee rust: epidemiology, resistance, and management. Boca Raton, Florida: **CRC Press Inc.**, pp. 293-335, 1989.

CIAA - The Confederation of the food and drink industries of the European Union. **Acrylamide Toolbox Document**. September 2006. Disponível em: <<http://www.CIAA.be/documents/positions/The%20CIAA%20Acrylamide%20Toolbox.pdf>>. Acesso em: 15 ago. 2021.

CLAUS, A.; CARLE, R.; SCHIEBER, A. Acrilamida em produtos de cereais: uma revisão. **Journal of Cereal Science**, 47: 118-133. 2008.

COMISSÃO EUROPEIA. **Regulamento da Comissão Europeia 2017/2158** de 20 de novembro de 2017 que estabelece medidas de mitigação e níveis de referência para a redução da presença de acrilamida em gêneros alimentícios. 2017. Disponível em: EUR-Lex - 32017R2158 - EN - EUR-Lex (europa.eu). Acesso em: 15 ago. 2021.

CORRÊA, C. L. O.; DAS MERCES PENHA, E.; DOS ANJOS, M. R.; PACHECO, S.; FREITAS-SILVA, O.; LUNA, A. S.; GOTTSCHALK, L. M. F. Use of asparaginase for

acrylamide mitigation in coffee and its influence on the content of caffeine, chlorogenic acid, and caffeic acid. **Food chemistry**, 338, 128045., 2021.

CUNHA, M. C. DA; AGUILAR, J. G. DOS S.; MELO, R. R. DE; NAGAMATSU, S.T.; ALI, F.; CASTRO, R. J. S. DE; SATO, H. H. **L-asparaginase fúngica: produção, purificação, caracterização bioquímica e aplicação em café para redução dos teores de acrilamida**. 2020.

_____. Fungal L-asparaginase: Strategies for production and food applications. **Food Research International**, v. 126, p. 1– 10, 2019.

DERGAL, S. B. **Química de los alimentos**. 4 ed. México D.F., México: Pearson Educación, 2006.

DIAS, E.C.; BORÉM, F.M.; PEREIRA, R. G. F. A.; SOARES, C.; FERNANDES, J. O. **Formação de acrilamida no café imaturo torrado submetido a diferentes tipos de processamento**. 2011.

DRIA, G. J.; ZYZAK, D. V.; GUTWEIN, R. W.; VILLAGRAN, F.V.; YOUNG, H.T.; BUNKE, P.R.; LIN, P.Y.T.; HOWIE, J. K.; SCHAFERMEYER, R. G. **Método de redução de acrilamida em grãos de café torrados, grãos de café torrados com níveis reduzidos de acrilamida e artigo de comércio**. Patente US US7220440B2. Estados Unidos, 2007.

DSM. **DSM introduces PreventASe® XR to extend use of enzymatic acrylamide-reduction solution to more snacks and baked goods**. Disponível em: <<https://www.dsm.com/corporate/media/informationcenter-news/2018/07/2018-07-10-dsmintroduces-preventase-xr-to-extend-use-of-enzymatic-acrylamide-reduction-solution-to-moresnacks-and-baked-goods1.html>>. Acesso em: 24 jan. 2021.

EFSA. **Acrylamide in Food**. EFSA Explains Risk Assessment. In. COMMISSION REGULATION (EU) 2017/2158. (2017). 20 November. Disponível em: EFSA explains risk assessment: Acrylamide in food | EFSA (europa.eu). Acesso em: 28 set. 2021.

_____. **Outcome of the public consultation on the draft Scientific Opinion of the EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM) on acrylamide in food**. 2015. Disponível em: Outcome of the public consultation on the draft Scientific Opinion of the EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM) on acrylamide in food | EFSA (europa.eu). Acesso em: 28 set. 2021.

EMBRAPA. **Manual de Segurança e Qualidade para a Cultura do Café**. 2004.

FAO, Organização de Alimentos e Agricultura das Nações Unidas. O Estado da alimentação e agricultura 2007. 2007. Disponível em: <https://www.fao.org/3/a1200e/a1200e00.htm>. Acesso em: 18 set. 2021.

FARAH, A.; MONTEIRO, M. C.; CALADO, V.; FRANCA, A. S.; TRUGO, L. C. Correlation Between cup quality and chemical attributes of Brazilian coffee. **Food Chemistry**, v. 98, n. 7, p.373-380, 2006.

FDE - Food Drink Europe. **Acrylamide Toolbox**. 2011. Disponível em: <http://www.fooddrinkeurope.eu/uploads/publications_documents/AcrylamideToolbox_2011.pdf>. Acesso em: 18 set. 2021.

FERNANDES, S. M.; PINTO, N. A. V. D.; PEREIRA, R. G. F. A.; CARVALHO, V.D de. Comparação entre duas cooperativas do sul de minas gerais quanto à composição química de cafés com torração comercial. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 26, n. 4, p. 830-835, 2002.

FERNANDES, J.O. Acrylamide. In book: **Coffee: Production, Quality and Chemistry** Edited by Adriana Farah. The Royal Society of Chemistry. 2019.

FRIEDMAN, M. Chemistry, Biochemistry, and safety of acrylamide. A review. **J Agric Food Chem.**, v. 51, pp.4504-4526, 2003.

GÖKMEN, V.; KOCADAĞLI, T.; GÖNCÜOĞLU, N.; MOGOL, B.A. Estudos de modelo sobre o papel de 5-hidroximetila-2-furfural na formação de acrilamida a partir de asparagina. **Química alimentar**, 132 (1):168–74. 2012.

GONZALES, E. A. **Estudo da viabilidade de implantação de pequenas unidades de torrefação de café**. 2004. Trabalho final (Graduação em Bacharelado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Estácio de Sá, Rio de Janeiro, RJ, 2004.

GOTTSCHALK, L. M. F.; TONON, R. V.; CABRAL, L. M. C.; ORUNA-CONCHA, M. J.; ELMORE, J. S. **Uso da enzima asparaginase no processamento do café arábica e robusta para redução de formação de acrilamida**. 2018.

GRANVOGL, M.; SCHIEBERLE, P. Thermally generated 3-aminopropionamide as a transient intermediate in the formation of acrylamide. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 54 (16): 5933–8, 2006.

GUENTHER, H.; ANKLAM, E.; WENZL, T.; STADLER, R. H. Acrylamide in coffee: Review of progress in analysis, formation and level reduction. **Food Additives and Contaminants**, v. 24(S1), n. SUPPL. 1, p. 60–70, 2007.

HALFORD, N.; CURTIS, T.; MUTTUCUMARU, N.; POSTLES, J.; ELMORE, J.; MOTTRAM, D. The acrylamide problem: a plant and agronomic science issue. **Journal of Experimental Botany**, 63(8), 2841-2851, 2012.

HECIMOVIC, I.; BELSCAK-CVITANOVIC, A.; HORZIC, D.; KOMES, D. Comparative study of polyphenols and caffeine in different coffee varieties affected by the degree of roasting. **Food Chemistry**, 129 (3): 991–1000, 2011.

HENDRIKSEN, H.; BUDOLFSEN, G.; BAUMANN, M. J. Asparaginase for acrylamide mitigation in food. **Aspects of Applied Biology**, 116, 41–50, 2013.

HENDRIKSEN, H.; KORNBRUST, B.; OSTERGAARD, P.; STRINGER, M. Evaluating the Potential for Enzymatic Acrylamide Mitigation in a Range of Food Products Using an Asparaginase from *Aspergillus oryzae*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 4168-4176, 2013.

_____. Avaliação do potencial de mitigação enzimática da acrilamida em uma variedade de produtos alimentícios usando uma asparaginase de *Aspergillus oryzae*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 57 (10) (2009), pp. 4168 – 4176, 2009.

HU, G.L.; WANG, X.; ZHANG, L.; QIU, M.H. The sources and mechanisms of bioactive ingredients in coffee. **Food Funcional**, v. 10, p. 3113–3126, 2019.

HU, H.; LIU, X.; JIANG, L.; ZHANG, Q.; ZHANG, H. A relação entre acrilamida e vários componentes durante a torrefação do café e efeito dos aminoácidos na formação de acrilamida. **Journal of Food Processing and Preservation**, 45 (5), e15421, 2021.

JECFA. Evaluation of certain food additives. **Technical Report 952**. Sixty-ninth report of the Joint FAO/Expert Committee on Food Additives. 2009.

KHALIL, N. M.; RODRÍGUEZ-COUTO, S.; EL-GHANY, M. N. A. Caracterização de *Penicillium crustosum* l-asparaginase e sua eficiência no alívio de acrilamida em grãos de café torrados em níveis não citotóxicos. **Arquivos de Microbiologia**, v. 203, n. 5, p. 2625-2637, 2021.

KHEZERLOU, A.; ALIZADEH-SANI, M.; FIROUZSALARI, N.Z.; EHSANI, A. Formation, properties, and reduction methods of acrylamide in foods: A review study. **Journal of Nutrition Fasting and Health**, 6 (1):52–9, 2018.

KOBLITZ, M. G. B. **Matérias-Primas Alimentícias** - Composição e Controle de Qualidade. Grupo GEN, 2011.

KOCADAGLI, T.; GONCUOGLU, N.; HAMZALIOGLU, A.; GOKMEN, V. In depth study of acrylamide formation in coffee during roasting: Role of sucrose decomposition and lipid oxidation. **Food & Function**, 3:970–5. 2012.

LANTZ, I.; TERNITÉ, R.; WILKENS, J.; HOENICKE, K.; GUENTHER, H.; VAN DER STEGEN, G. H. D. Studies on acrylamide levels in roasting, storage and brewing of coffee. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 50, n.11, p. 1039 – 1046, 2006.

LINGNERT, H.; GRIVAS, S.; JAGERSTAD, M.; SKOG, K.; TORNQVIST, M.A.; ÅMAN, P. Acrylamide in food: mechanisms of formation and influencing factors during heating of foods. **Scandinavian Journal of Nutrition**, v. 46, p. 159–172, 2002.

LOPES, A. M.; OLIVEIRA-NASCIMENTO, L.D.; RIBEIRO, A.; TAIRUM, J.R.; BREYER, C.A.; OLIVEIRA, M. A. D.; PESSOA, A. (2017). L-asparaginase terapêutica: a montante, a jusante e além. **Revisões críticas em biotecnologia**, 37 (1), 82-99, 2017.

LYNGLEV, G.B.; SCHOESLER, S. **Método para produção de grãos de café torrados**. Patente concedida e registrada sob o nº BR112015024158B1, 2021.

MCCOLLISTER, D.; OYEN, F.; ROWE, V. Toxicology of Acrylamide. **Toxicol Appl**

Pharmacol., v. 6, pp.172-181, 1964.

MELO, W.L. de B. **A Importância da Informação Sobre do Grau de Torra do Café e sua Influência nas Características Organolépticas da Bebida**. Embrapa Instrumentação Agropecuária. Comunicado Técnico, 2004.

MESIAS, M.; DELGADO-ANDRADE, C.; HOLGADO, F.; MORALES, F. J. Teor de acrilamida em batatas fritas preparadas em domicílios: um estudo piloto em casas espanholas. **Food Chem.**, 260, pp. 44-52, 2018.

MESÍAS, M.; MORALES, F. J. Acrylamide in coffee: Estimation of exposure from vending machines. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 48, p. 8–12, 2016.

MESQUITA, C. M. DE; REZENDE, J. E. DE; CARVALHO, J. S.; FABRI JÚNIOR, M.A.; MORAES, N. C.; DIAS, P. T.; CARVALHO, R. M. DE; ARAÚJO, W. G. DE. **Manual do café: manejo de cafezais em produção**. Belo Horizonte: EMATER-MG, 2016.

MICHALAK, J. et al MICHALAK, J.; GUJSKA, E.; CZARNOWSKA, M.; KLEPACKA, J.; NOWAK, F. Effect of Storage on Acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural Contents in Selected Processed Plant Products with Long Shelf-life. **Plant Foods Hum. Nutr.**, v. 71, p.115, 2016.

MIRANDA, S. A surpreendente cadeia do café – entenda os processos do pé até a xícara da segunda bebida mais consumida no mundo. **Coffee and Joy**, 2017

MOHAN KUMAR, N.S.; MANONMANI, H.K. Purification, characterization and kinetic properties of extracellular L-asparaginase produced by *Cladosporium* sp. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 29, n. 4, p. 577-587. 2013.

MORAES, I.V.M. **Dossiê Técnico - Processamento de café**. Serviço Brasileiro de Respostas Técnicas - SBRT, [S. I.], 2006.

MOSS, G. P. **Enzyme Nomenclature**. Disponível em: <<http://enzyme.expasy.org/cgi-bin/enzyme/enzyme-search-ec>>. Acesso em: 15 ago. 2021.

MOTTRAM, D. S.; WEDZICHA, B. L.; DODSON, A. T. Acrylamide is formed in the Maillard reaction. **Nature**, London, v. 419, p. 448-449, 2002.

MUINHOS, R. A ciência da torra. **Buena Vista Café**, 18 de janeiro de 2017. Disponível em: <<https://buenavistacafe.com.br/blog/2017/01/18/a-ciencia-da-torra/>> Acesso em: 2 jan. 2022.

MURKOVIC, M.; DERLER, K. Analysis of amino acids and carbohydrates in green coffee. **Journal of Biochemical and Biophysical Methods**, 69 (1-2):25–32, 2006.

NAVARINI, L.; DEL TERRA, L.; COLOMBAN, S.; LONZARICH, V.; LIVERANI, F. S. **Method for reducing the content of acrylamide in a roasted coffee**. US 2014/0193541 A1, issued 2014.

PASTORIZA, S.; RUFÍ AN-HENARES, J. A.; MORALES, F.J. Reactivity of acrylamide with coffee melanoidins in model systems. **LWT - Food Science and Technology**, 45 (2):198–203, 2012.

PEDRESCHI, F.; KAACK, K.; GRANBY, K. The effect of asparaginase on acrylamide formation in French fries. **Food Chemistry**, v. 109, n. 2, p. 386–392, 2008.

PEDRESCHI, F.; MARIOTTI, M.S.; GRANBY, E.K. Temas atuais em acrilamida dietética: Formação, mitigação e avaliação de risco. **Jornal da Ciência da Alimentação e Agricultura**, 94 (1): 9–20, 2014.

PEREIRA, M. C. **Características químicas, físico-químicas e sensorial de genótipos de grãos de café** (*Coffea arabica* L.). Lavras: UFLA, 2008. 101p. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, 2008.

PINHO, O; FERREIRA, I. Contaminantes alimentares resultantes do processamento térmico. **Revista Segurança e Qualidade Alimentar**, n. 5, p. 37-39, nov. 2008.

PORTO, A. C. V.; SOUSA, F. C. A.; SOUZA, E. F.; PENHA, E. M.; MATTOS, L. S.; PACHECO, S.; GODOY, R. L. O.; FREITAS-SILVA, O.; GOTTSCHALK, L. M. F.; SOUZA, E. F. de **Avaliação do efeito do pré-tratamento dos grãos de café robusta e arábica sobre a ação da asparaginase**. In: Embrapa Agroindústria de Alimentos-Artigo em anais de congresso (ALICE). In: SIMPÓSIO NACIONAL DE BIOPROCESSOS, 20.; SIMPÓSIO DE HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE BIOMASSA, 21. 2015. Fortaleza. Anais... Galoá, 2015., 2015

_____. Effect of asparaginase enzyme in the reduction of asparagine in green coffee. **Beverages**, 5, 32, 2019.

PORTO, A.C.V. Uso da enzima asparaginase em cafés especiais para redução da formação de acrilamida durante o processo de torrefação: efeito sobre aspectos químicos e sensoriais da bebida, Centro de Ciências da Saúde – CCS, Instituto de Nutrição Josué de Castro. Programa de Pós-Graduação em Nutrição – PPGN. 2020.

REVIEW CAFÉ. Moagem de Café: Principais Tipos e os Preparos Ideais. **Review Café**, 18 de novembro de 2020. Disponível em: <<https://reviewcafe.com.br/dicas-ereceitas/moagem-de-cafe/>>. Acesso em: 21 dez. 2021

SANSOM, C. E.; JASKOLSKI, M. **Structure, Dynamics and Electrostatics of the L-Asparaginase Catalytic Centre Ponzan**, Poland, 2004. Disponível em: <http://www.man.poznan.pl/CBB/POSTER1/poster.html#refs>. Acesso em: 12 ago. 2021.

SAJED, M.; UN NAEEM, S.; RASHID, N. L-Asparaginases de archaea hipertermofílicas e suas aplicações. In: **Extremozimas Microbianas**. Imprensa Acadêmica, p. 177-184, 2022.

SCHOUTEN, M.A.; TAPPI, S.; ROMANI, S. Acrilamida no café: formação e possíveis estratégias de mitigação - uma revisão. **Revisões críticas em ciência de alimentos e nutrição**, v. 60, n. 22, p. 3807-3821, 2020.

SHAKAMBARI, G.; KUMAR R. S.; ASHOKKUMAR, B.; VARALAKSHMI, P. Aproveitamento de resíduos agrícolas para produção econômica de L-asparaginase por *Pseudomonas plecoglossicida* RS1 com potencial anticancerígeno e de mitigação de acrilamida. **ACS omega**, v. 2, n. 11, p. 8108-8117, 2017.

SENYUVA, H.Z.; GOKMEN, V. Study of acrylamide in coffee using an improved liquid chromatography mass spectrometry method: Investigation of colour changes and acrylamide formation in coffee during roasting. **Food Additives and Contaminants**, v. 22, n. 3, p. 214 – 220, 2005.

SFOPH (Swiss Federal Office of Public Health). **Assessment of acrylamide intake by duplicate diet study**, 2002. Disponível em: https://mobil.bfr.bund.de/cm/343/assessment_of_acrylamide_intake_by_duplicate_diet_study.pdf. Acesso em: 29 jul. 2021.

SHANTHIPRIYA, A.; KOTESWARA RAO, V.; GIRISHAM, S.; REDDY, S.M. FACTORS influencing L-asparaginase Production by Three Thermophilic Caprophilous Fungi. **International Journal of Pharma Sciences**, v. 5, n. 5, p. 1242–1248, 2015.

SILVA, J. S.; LOPES, R. P.; DONZELES, S. M. L.; MACHADO, M. C. Custo e Gerenciamento da Secagem do Café em Sistemas Combinados. In: ZAMBOLIM, L. (Ed.). **Tecnologias de Produção de Café com Qualidade**. Viçosa: UFV, Departamento de Fitopatologia, p.475-526, 2001.

SILVA, J.R. **Otimização do processo de torração do café pelo monitoramento de parâmetros e propriedades físicas e sensoriais**. 2008. 71 p. Dissertação (Mestrado em Ciência dos Alimentos) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.

SILVA, L. C.; MORELI, A. P.; JOAQUIM, T. N. M. **Café: beneficiamento e industrialização**. In: MARCOLAN, A.L.; ESPINDULA, M.C. (Ed.). **Café na Amazônia**. Brasília, DF: Embrapa, 2015. Cap. 17, p. 383-389

SOARES, C. M. D.; ALVES, R. C.; OLIVEIRA, M. B. P.P. Fatores que afetam os níveis de acrilamida em bebidas de café. In: **Café na saúde e prevenção de doenças**. **Imprensa Acadêmica**, p. 217-224, 2015.

SOUZA, F. DE F.; SANTOS, J.C.F.; COSTA, J. N. M.; SANTOS, M.M. DOS. **Características das principais variedades de café cultivadas em Rondônia**. Porto Velho: Embrapa Rondônia, 2004. 21 p.

STADLER, R. H.; SCHOLZ, G. 2004. Acrylamide: An update on current knowledge in analysis, levels in food, mechanisms of formation, and potential strategies of control. **Nutrition Reviews**, 62 (12):449–67, 2004.

STADLER, R. H.; BLANK, I.; VARGA, N.; ROBERT, F.; HAU, J.; GUY, P. A.; ROBERT, M. C.; RIEDIKER, S. Acrylamide from Maillard reaction products. **Nature**, London, v. 419, p. 449-450, 2002.

SUMMA, C. A.; DE LA CALLE, B.; BROHEE, M.; STADLER, R.H.; ANKLAM, E. Impacto do grau de torra do café na capacidade de sequestro de radicais in vitro e teor de acrilamida. **LWT-Food Science and Technology**, 40 (10), 1849-1854, 2007.

SWANSTON, J. **Mitigação de acrilamida em alimentos** - uma atualização. Disponível em: <https://www.leatherheadfood.com/files/2018/01/White-paper-59-Acrylamide-in-foods-an-update.pdf>. Acesso em: 23 nov. 2021.

TAEYMANS, D.; WOOD, J.; ASHBY, P.; BLANK, I.; STUDER, A.; STADLER, R. H.; WHITMORE, T. Uma revisão de acrilamida: uma perspectiva da indústria em pesquisa, análise, formação e controle. **Revisões críticas em ciência dos alimentos e nutrição**, 44 (5), 323-347, 2004.

TARDIFF, R.G. Estimation of safe dietary intake levels of acrylamide for humans. **Food and Chemical Toxicology**, v. 48, p. 658-667, 2010.

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**, Washington, v. 50, p. 4998-5006. 2002.

TSUTSUMIUCHI, K.; WATANABE, Y.; WATANABE, M.; HIBINO, M.; KAMBE, M.; OKAJIMA, N.; NEGISHI, H.; MIWA, J.; TANIGUCHI, H. Formation of acrylamide from glucans and asparagine. **New Biotechnology**, v. 28, n. 6, p. 566-573, 2011.

VALLANTIN, W. A torra do café e seus diferentes tipos. **Blog Guia do Café**, 01 de setembro de 2016. Disponível em: <<https://guiadocafe.com/torra-do-cafe-diferentes-tipos/>>. Acesso em: 28 dez. 2021.

VARGAS-ELÍAS, G. **Avaliação das propriedades físicas e qualidade do café em diferentes condições de torrefação**. 2011.

VINCI, R. M.; MESTDAGH, F.; VAN POUCKE, C.; KERKAERT, B.; DE MUER, N.; DENON, Q.; VAN PETEGHEM, C.; DE MEULENAER, B. Implementation of acrylamide mitigation strategies on industrial production of french fries: challenges and pitfalls. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 59, n. 8, p. 898 – 906, 2011.

WAWRZYNIAK, R; JASIEWICZ, B. Determinação direta e rápida de acrilamida em grãos de café por meio de HS-SPME/GC-MS. **Food Chem**. 2019

XU, F. **Mitigação de acrilamida em café por aplicação de asparaginase**. 2018. Tese de Doutorado. Universidade da Leitura.

XU, F.; ORUNA-CONCHA, M. J.; ELMORE, J. S. The use of asparaginase to reduce acrylamide levels in cooked food. **Food Chemistry**, v. 210, p. 163–171, 2016.

_____. **Effect of asparaginase on flavour formation in roasted coffee.** 2015.

YAYLAYAN, V. A.; STADLER, R.H. Acrylamide formation in food: A mechanistic perspective. **Journal of AOAC International**, 88 (1):262–7, 2005.

ZHANG, Y.; ZHANG, Y. Formation and reduction of acrylamide in maillard reaction: A review based on the current state of knowledge. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 47 (5):521–42, 2007.

ZUO, S.; ZHANG, T.; JIANG, B.; MU, W. Recent research progress on microbial L-asparaginases. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 99, p. 1069–1079, 2015.