

BIOACESSIBILIDADE DE ACRILAMIDA E HIDROXIMETILFURFURAL SIMULANDO A DIGESTÃO *IN VITRO* DE BOLO INTEGRAL

Verônica Simões de BORBA¹, Andressa Cunha LEMOS¹, Milena da Silva Matsuda VALENCIA¹, Kelly Cristina MASSAROLO², Maristela Barnes Rodrigues CERQUEIRA¹, Eliana BADIALE-FURLONG¹

¹Laboratório de Micotoxinas e Alimentos – LAMCA, Escola de Química de Alimentos – EQA/ Universidade Federal do Rio Grande – FURG, Campus Carreiros, Avenida Itália s/n km 8, CEP 96230-000, Rio Grande, Rio Grande do Sul, Brasil.

²Associação de Ensino, Pesquisa e Extensão BIOPARK – Biopark Educação, Rodovia Pr 182, s/n, km 320/321 Biopark, Toledo, Paraná, Brasil.

*E-mail para correspondência: veronicasimoesborba@gmail.com

RESUMO

O consumo de produtos de panificação integrais é motivado pelo aporte de fibras e proteínas em relação aos seus similares elaborados com farinha branca. No entanto, o risco de exposição a contaminantes de processamento nestes produtos é pouco conhecido. Neste trabalho, foram avaliados a bioacessibilidade e a permeação intestinal por membrana da acrilamida (AA) e hidroximetilfurfural (HMF) proveniente da digestão *in vitro* de bolo integral. O bolo integral foi elaborado e submetido ao processo de digestão *in vitro* determinando os contaminantes inicialmente e após as etapas gástrica e intestinal. Posteriormente, a permeabilidade intestinal destes contaminantes foi determinada utilizando membrana de diálise. Na elaboração do bolo integral, foram formados $834 \pm 0,7 \mu\text{g}/\text{kg}$ de AA e $88 \pm 0,3 \mu\text{g}/\text{kg}$ de HMF. Após a digestão *in vitro*, os valores de AA e HMF aumentaram para 154% e 242%, respectivamente, em relação as concentrações iniciais, sendo que 86% de AA e 100% de HMF permearam a membrana por diálise, logo, são potencialmente absorvíveis e contribuem para o risco de exposição dos consumidores pela ingestão de bolo integral.

INTRODUÇÃO

A acrilamida (AA) e o hidroximetilfurfural (HMF) são contaminantes formados durante o tratamento térmico de alimentos ricos em carboidratos, como os produtos de panificação. O assamento destes produtos ocorre em temperaturas acima de 120 °C e baixas condições de umidade, favorecendo a Reação de Maillard que além de conferir aroma, sabor e cor aos produtos, também promove a formação de AA pela interação entre um grupamento α -amino livre da L-asparagina e açúcares redutores (glicose e frutose) (1,2). O HMF é formado nos estágios avançados da Reação de Maillard e Caramelização, servindo como indicador do grau de extensão e severidade do tratamento térmico (3,4).

Além de ser classificada como provável carcinógeno para humanos (grupo 2B) (5), a AA também apresenta efeitos neurotóxicos e genotóxicos (1-3). No organismo, é convertida em glicidamida, metabólito altamente mutagênico (6). O HMF possui grupamentos (anel furano e grupamentos carbonílico α,β -insaturado e hidroxil-alélico)

com potencial risco genotóxico e carcinogênico e no organismo é biotransformado em sulfoximetilfurfural, metabólito altamente genotóxico e mutagênico (1,4).

Após a digestão de alimentos, a AA é rapidamente absorvida e distribuída pelo sistema circulatório no organismo humano (2,7) devido a sua alta solubilidade, sugerindo que o conteúdo biodisponível seja o mesmo que a quantidade digerida (7). Porém, os conteúdos bioacessíveis podem variar em virtude diversos fatores, como composição da matriz alimentar, mastigação, diluição, pH e ação de enzimas salivares, gástricas e intestinais, em que ao decorrer da digestão gastrointestinal, podem levar a mudanças na estrutura química ou liberação do contaminante da matriz alimentar (3,7).

Há uma tendência ao consumo de produtos de panificação integrais devido ao maior aporte de fibras e proteínas, porém, o risco de exposição a contaminantes de processamento ainda é pouco explorado, apesar de seus teores mais elevados de asparagina e açúcares redutores (8). Dentre os produtos de panificação doces mais consumidos por todas as faixas etárias da população estão os bolos, portanto, conhecer a bioacessibilidade de AA e HMF e a permeabilidade por membrana após simulação da digestão *in vitro* de bolo integral é necessário para inferir sobre o risco potencial ao consumir este produto de panificação.

OBJETIVO

O objetivo geral deste trabalho foi avaliar a bioacessibilidade e a permeabilidade intestinal por membrana de AA e HMF proveniente de digestão *in vitro* de bolo integral. Os objetivos específicos foram a) verificar a formação de AA e HMF em bolo integral; b) determinar a bioacessibilidade *in vitro* destes contaminantes; c) determinar no material digerido a capacidade dos contaminantes permearem a membrana de diálise.

RESULTADO E DISCUSSÃO

Na Figura 1 está apresentado um diagrama das principais etapas experimentais realizadas para avaliação da bioacessibilidade e permeação por membrana de AA e HMF provenientes da digestão *in vitro* de bolo integral

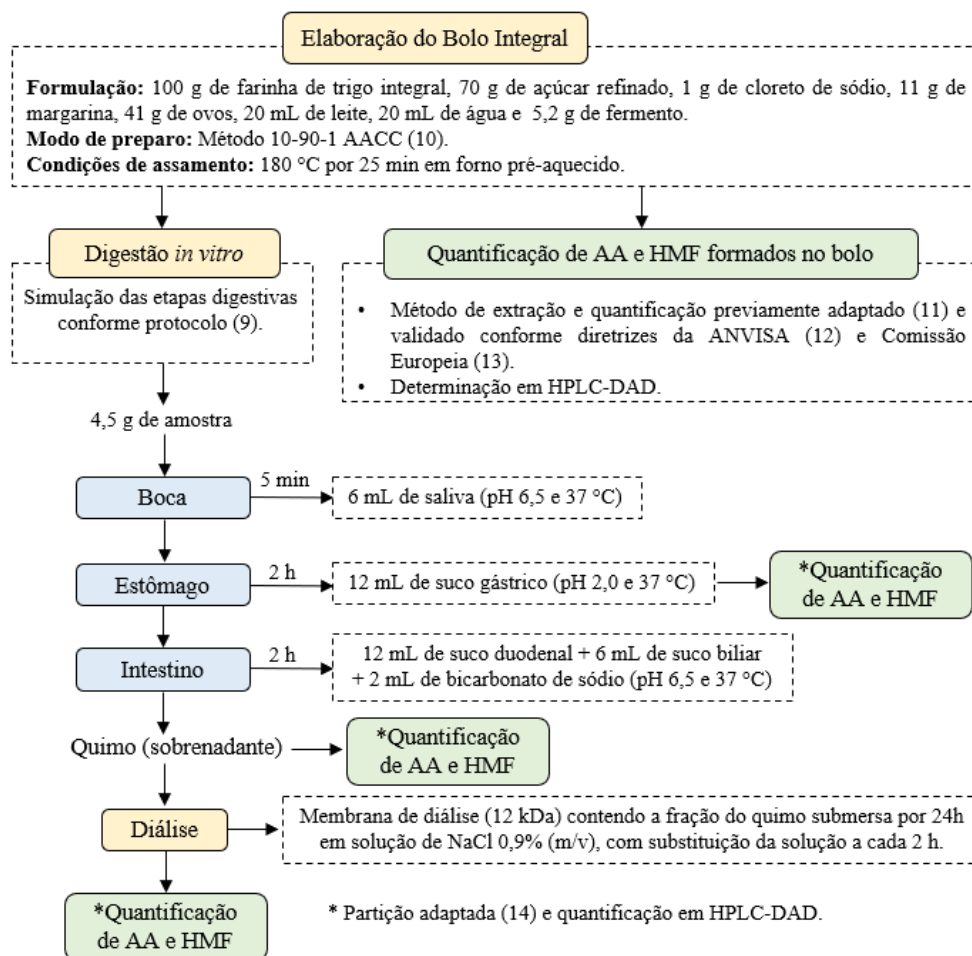


Figura 1: Diagrama das etapas experimentais para avaliação da bioacessibilidade e permeabilidade de AA e HMF provenientes da digestão *in vitro* de bolo integral.

Na Figura 2 estão as concentrações de AA e HMF antes e após a digestão *in vitro* do bolo integral em base seca. O preparo do bolo integral promoveu a formação de $834 \pm 0,7 \mu\text{g}/\text{kg}$ de AA e $88 \pm 0,3 \mu\text{g}/\text{kg}$ de HMF. O teor de AA encontrado no bolo integral foi cerca de 2,8x maior que o indicado no regulamento n° 2017/2158 da Comissão Europeia (13) de $300 \mu\text{g}/\text{kg}$ para produtos de panificação doces. Ainda não há legislação referente ao HMF, porém, o teor formado foi cerca de 9,5x menor que AA, sugerindo que, apesar de poderem empregar os mesmos precursores reacionais, a formação de AA é favorecida no assamento do bolo.

A bioacessibilidade corresponde a fração de um composto que é liberada da matriz alimentar no trato gastrointestinal, tornando-se disponível para absorção intestinal (9,14). Durante a digestão do bolo integral, o teor de AA detectado foi menor na fração estomacal ($340 \pm 3,7 \mu\text{g}/\text{kg}$) e aumentou novamente na fração intestinal ($1283 \mu\text{g}/\text{kg}$), o que corresponde a 154% da AA inicialmente detectada no bolo. O conteúdo de HMF aumentou nas etapas gástrica ($127 \pm 5,6 \mu\text{g}/\text{kg}$) e intestinal ($213 \pm 7,4 \mu\text{g}/\text{kg}$), indicando que 242% do conteúdo inicial ficou bioacessível no digerido intestinal.

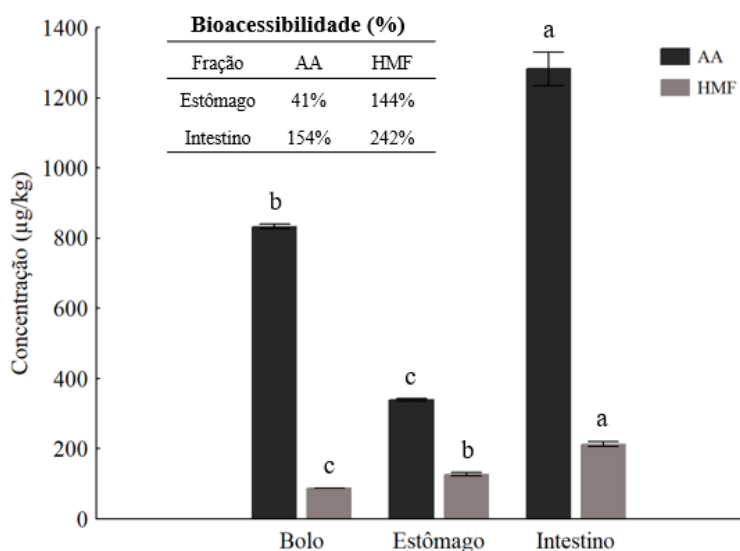


Figura 2: Concentrações de AA e HMF no bolo e nas frações digeridas correspondente ao estômago e intestino delgado e seus percentuais de bioacessibilidade.

A bioacessibilidade do contaminante em cada fase digestiva é determinada pelo grau de degradação da matriz, efeito do pH gástrico e conversão de intermediários da reação de Maillard (bases de Schiff e produtos de Amadori) em AA e HMF (2, 3, 7, 15). Apesar de não terem sido encontrados estudos sobre a bioacessibilidade em bolo, outros estudos em produtos de panificação doces também verificaram aumento nos níveis de AA e HMF após ensaio de digestão *in vitro*. Sansano et al. (7) verificou que a AA aumentou 410% após digestão de biscoitos doces. González-Mulero et al. (2) relatam que as bioacessibilidades gástrica e intestinal foram 105% e 128% para biscoitos e de 109% e 74% em cereais, respectivamente. Hamzalioglu & Gokmen (3), ao simular a digestão *in vitro* de em biscoitos infantis e biscoitos doces, teve o teor de HMF aumentado em 134% e 105%, respectivamente, na etapa duodenal em relação ao conteúdo inicial.

A forma físico-química do composto determina a capacidade de ultrapassar a barreira intestinal e se tornar disponível para absorção (Massarolo et al., 2020). Na simulação do transporte intestinal, na etapa de diálise, 86% de AA e 100% de HMF permearam a membrana, tornando-se potencialmente disponíveis para absorção e distribuição metabólica.

Os resultados apresentados neste estudo contribuem com informações sobre o risco de exposição a contaminantes de processamento pelo consumo de produtos de panificação integrais. Ficou demonstrado que ambos contaminantes ficaram mais bioacessíveis após a simulação da digestão *in vitro* de bolo integral e são capazes de permear a membrana. Esta matriz alimentar, apesar de mais nutritiva quanto ao seu teor de fibras e proteínas, também possui risco potencial a saúde em termos de segurança alimentar, principalmente em relação a exposição de AA. Portanto, é interessante estudar medidas de mitigação durante o processo ou controle de exposição.

CONCLUSÃO

Após a digestão *in vitro* de bolo integral, 154% de AA e 242% de HMF ficaram bioacessíveis, em relação ao conteúdo inicial. Além disso, 86% e 100% do conteúdo de AA e HMF, respectivamente, permearam a membrana de diálise, ficando potencialmente disponíveis para absorção e distribuição metabólica. Portanto, medidas de mitigação são necessárias de modo que o aporte de nutrientes destes produtos não seja afetado pela minimização da formação destes contaminantes durante o processamento para gerar menos danos à saúde dos consumidores.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

1. CAPUANO, E.; FOGLIANO, V. Acrylamide and 5-hydroxymethylfurfural (HMF): A review on metabolism, toxicity, occurrence in food and mitigation strategies. **LWT-Food Science and Technology**, v. 44, n. 4, p. 793-810, 2011.
2. GONZÁLEZ-MULERO, L.; MESÍAS, M.; MORALES, F. J.; DELGADO-ANDRADE, C. Assessment of the acrylamide bioaccessibility in cereal and potato-based foods after *in vitro* digestion. **Food Research International**, v. 161, p.111820, 2022.
3. HAMZALIOĞLU, A.; GÖKMEN, V. Formation and elimination reactions of 5-hydroxymethylfurfural during *in vitro* digestion of biscuits. **Food Research International**, v. 99, p. 308-314, 2017.
4. MORALES, F. J.; MESÍAS, M.; DELGADO-ANDRADE, C. Association between heat-induced chemical markers and ultra-processed foods: A case study on breakfast cereals. **Nutrients**, v. 12, n. 5, p. 1418, 2020.
5. IARC - International Agency for Research on Cancer. **IARC monographs on the evaluation of the carcinogenic risks of chemicals to humans**. Lyon: World Health Organization, 1994, vol. 60.
6. PUNDIR, C. S.; YADAV, N.; CHHILLAR, A. K. Occurrence, synthesis, toxicity and detection methods for acrylamide determination in processed foods with special reference to biosensors: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 85, p. 211-225, 2019.
7. SANSANO, M.; HEREDIA, A.; PEINADO, I.; ANDRÉS, A. Dietary acrylamide: What happens during digestion. **Food Chemistry**, v. 237, p. 58-64, 2017.
8. ŽILIC, S.; AKTAĞ, I. G.; DODIG, D.; FILIPOVIĆ, M.; GÖKMEN, V. Acrylamide formation in biscuits made of different wholegrain flours depending on their free asparagine content and baking conditions. **Food Research International**, v. 132, p. 109109, 2020.
9. VERSANTVOORT, C. H.; OOMEN, A. G.; VAN DE KAMP, E.; ROMPELBERG, C. J.; SIPS, A. J. Applicability of an *in vitro* digestion model in assessing the bioaccessibility of mycotoxins from food. **Food and Chemical Toxicology**, v. 43, n. 1, p. 31-40, 2005.
10. AACC. **AACC approved methods of analysis Method 10-90.01**. St. Paul, MN: Cereals & Grains Association, 2010, 11 ed.
11. SHI, J.; SHAO, Z.; LI, H.; ZHANG, Y.; WANG, S. Co-extraction and co-purification coupled with HPLC-DAD for simultaneous detection of acrylamide and 5-hydroxymethyl-2-furfural in thermally processed foods. **Molecules**, v. 24, n. 20, p. 3734, 2019.
12. ANVISA. Resolução da Diretoria Colegiada-RDC No. 166, 24 de julho de 2017: Dispõe sobre validação de métodos analíticos e dá outras providências. 2017. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/documents/10181/2721567/RDC_166_2017_COMP.pdf/d5fb92b3-6c6b-4130-8670-4e3263763401. Acesso em: 15 de set. 2022.
13. COMISSÃO EUROPEIA. Regulation (EU) 2017/2158 — mitigation measures and benchmark levels for the reduction of the presence of acrylamide in food. Off J Eur Union L 304/24. 2017. Disponível em: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=LEGISSUM%3A4324370>. Acesso em: 8 ago. 2022.
14. MASSAROLO, K. C.; FERREIRA, C. F.; COLLAZZO, C. C.; BIANCHINI, A.; KUPSKI, L.; BADIALE-FURLONG, E. Resistant starch and hydrothermal treatment of commmeal: Factors in aflatoxins and fumonisin B1 reduction and bioaccessibility. **Food Control**, v. 114, p. 107274, 2020.
15. RUFÍÁN-HENARES, J. A.; DELGADO-ANDRADE, C. Effect of digestive process on Maillard reaction indexes and antioxidant properties of breakfast cereals. **Food Research International**, v. 42, n. 3, p. 394-400, 2009.