

**Universidade de São Paulo**  
**Faculdade de Saúde Pública**

VERSÃO SIMPLIFICADA

Avaliação da presença de hidrocarbonetos policíclicos  
aromáticos em chocolates: Exposição ao consumo e  
implicações à saúde.

Glória Maria Guizzellini

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-  
Graduação em Nutrição em Saúde Pública da  
Faculdade de Saúde Pública da Universidade de  
São Paulo para obtenção do título de Mestre em  
Ciências.

Área de concentração: Nutrição.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Assoc. Elizabeth  
Aparecida Ferraz da Silva Torres.

**São Paulo**

**2020**

## RESUMO

GUIZELLINI, G. M. Avaliação da presença de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em chocolates: Exposição ao consumo e implicações à saúde. 2020. Dissertação - Faculdade de Saúde Pública da USP, São Paulo, 2020.

**Introdução** – Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) são compostos que apresentam ação potencialmente carcinogênica e mutogênica, que geram risco à saúde humana. Esses contaminantes são formados a partir da combustão incompleta de matéria orgânica, podendo ocorrer a formação durante o processamento dos alimentos em âmbito industrial (secagem, torra, pré-cozimento) e doméstico (fritar, assar e grelhar) pelo emprego de altas temperaturas. Para a produção do chocolate e outros produtos derivados do cacau, etapas como a secagem, torra e conchagem, são processos que utilizam altas temperaturas e essenciais para a produção de chocolates. Não existem estudos avaliando a presença e a exposição dietética por HPAs em chocolates no Brasil. **Objetivo** – Otimizar e validar a metodologia de extração e quantificação de 4 HPAs (benzo[a]antraceno (BaA), criseno (Cri), benzo[b]fluoranteno (BbF) e benzo[a]pireno (BaP)) em chocolates, quantificar sua presença em amostras de chocolates comerciais e estimar a exposição dietética aos HPAs a partir do consumo de chocolate. **Métodos** – As amostras de chocolate (ao leite, branco e amargo com porcentagens de cacau de 40%, 53%, 55%, 60% e 70%) foram obtidas no comércio da cidade de São Paulo. Foi realizada a otimização e validação da metodologia pelos parâmetros de linearidade, seletividade, limite de detecção, limite de quantificação, recuperação e repetibilidade. As amostras foram submetidas a extração líquido-líquido, extração em fase sólida e quantificadas por cromatógrafo líquido de alta eficiência com detector de fluorescência. A estimativa de exposição dietética (DEs) para benzo[a]pireno foi avaliada para três categorias: 1) Sexo (feminino e masculino); 2) Grupos etários: adolescentes (14 a 18 anos), adultos (19 a 59 anos) e idosos ( $\geq 60$  anos); 3) Local de residência (urbana e rural). **Resultados** – O método obteve faixa de linearidade entre 0,50 e 5,00  $\mu\text{g.kg}^{-1}$  para os quatro HPAs. Com relação à seletividade, houve interferência da matriz apenas para o BaP. O método também mostrou acurácia, com recuperações médias variando entre 95,25 a 108,27 % e repetibilidade mostrando valores entre 0,14 e 7,25 %. Benzo[a]pireno foi encontrado em todos os chocolates, variando entre 1,58 a 4,34  $\mu\text{g.kg}^{-1}$  de gordura. As amostras de chocolate com 53-60 % cacau e chocolate 70 % cacau apresentaram as maiores taxas de contaminação para BaP; já as amostras de chocolate 40 % cacau e chocolate ao leite apresentaram menor contaminação. Quanto a exposição dietética, as mulheres (por gênero) e os adolescentes (por idade) apresentaram maiores DEs para BaP pelo consumo de chocolate, principalmente para o chocolate 70 % cacau. Os resultados apresentaram baixa contaminação por HPAs nos chocolates analisados, no entanto, o consumo aumentado por diferentes faixas etárias pode contribuir para a DEs ao BaP. **Conclusões** - A metodologia padronizada foi considerada seletiva e sensível, garantindo a eficiência do ensaio. As amostras analisadas apresentaram resultados abaixo dos limites estabelecidos pelo Regulamento da Comunidade Européia No. 835/2011 para o BaP e para a soma dos 4 HPAs. Frente aos grupos analisados (sexo, idade e

local de residência), os chocolates 70 % cacau contribuíram para a maior exposição dietética à BaP. A presença dos quatro HPAs prioritários nos chocolates analisados demonstrou a importância de programas de monitoramento da cadeia produtiva em produtos de cacau (massa de cacau, manteiga de cacau e cacau em pó) e ingredientes adicionados (açúcar e leite em pó).

**Descritores:** chocolate; cacau; hidrocarbonetos policíclicos aromáticos; benzo(a)pireno.

## ABSTRACT

GUIZELLINI, G.M. Evaluation of the presence of polycyclic aromatic hydrocarbons in chocolates: Exposure to consumption and health implications. [Dissertation]. São Paulo: Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, 2020. Portuguese.

**Introduction** - Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are compounds that have a potentially carcinogenic and mutagenic action, which generate risk to human health. These contaminants are formed from the incomplete combustion of organic matter, which can occur during industrial (drying, roasting, pre-cooking) and domestic (frying, roasting and grilling) processing of food by the use of high temperatures. For the production of chocolate and other products derived from cocoa, steps such as drying, roasting and conching are processes that use high temperatures and are essential for the production of chocolates. There are no studies evaluating the presence and dietary exposure to PAHs in chocolates in Brazil. **Objective** - To optimize and validate the methodology for the extraction and quantification of 4 PAHs (benzo[a]anthracene (BaA), chrysene (Chr), benzo[b]fluoranthene (BbF) and benzo[a]pyrene (BaP)) in chocolates, quantify the presence in commercial chocolate samples and estimate dietary exposure to PAHs from the consumption of chocolate. **Methods** - Chocolate samples (milk, white and dark with cocoa percentages of 40%, 53%, 55%, 60% and 70%) were obtained from commercial stores in the city of São Paulo. The methodology was optimized and validated by the parameters of linearity, selectivity, limit of detection, limit of quantification, recovery and repeatability. The samples were subjected to liquid-liquid extraction, solid-phase extraction and quantified by a High Performance Liquid Chromatograph with fluorescence detector. The dietary exposure estimate (DEs) for benzo[a]pyrene was assessed for three categories: 1) Gender (female and male); 2) Age groups: adolescents (14 to 18 years), adults (19 to 59 years) and elderly ( $\geq 60$  years); 3) Place of residence (urban and rural). **Results** - The method obtained a linearity range between 0.50 and 5.00  $\mu\text{g.kg}^{-1}$  for the four PAHs. Regarding selectivity, there was interference from the matrix only for BaP. The method also showed accuracy, with average recoveries ranging from 95.25 to 108.27% and repeatability showing values between 0.14 and 7.25%. Benzo[a]pyrene was found in all chocolates, ranging from 1.58 to 4.34  $\mu\text{g.kg}^{-1}$  of fat. Chocolate samples with 53-60% cocoa and chocolate 70% cocoa showed the high contamination for BaP; the 40% cocoa and milk chocolate samples showed low contamination. As for dietary exposure, women (by gender) and adolescents (by age) had

higher DEs for BaP due to chocolate consumption, especially for 70% cocoa chocolate. The results showed low contamination by PAHs in the analyzed chocolates, however, the increased consumption by different age groups can contribute to DEs to BaP. **Conclusions** - The standardized methodology was considered selective and sensitive, ensuring the efficiency of the test. The analyzed samples showed results below the limits established by the European Community Regulation No. 835/2011 for the BaP and for the sum of the 4 PAHs. In view of the groups analyzed (gender, age and place of residence), chocolates 70% cocoa contributed to the greater dietary exposure to BaP. The presence of the four priority PAHs in the analyzed chocolates demonstrated the importance of programs to monitor the production chain in cocoa products (cocoa mass, cocoa butter and cocoa powder) and ingredients used in chocolate formulation (sugar and powdered milk).

**Keywords:** chocolate; cocoa; polycyclic aromatic hydrocarbons; benzo(a)pireno.