

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

**Influência das técnicas de preparo e cocção na
formação dos contaminantes hidrocarbonetos
policíclicos aromáticos em carnes e embutidos: fatores
de risco associados ao consumo**

Simone Alves da Silva

Tese apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Nutrição em Saúde Pública para
obtenção do título de Doutora em Ciências

Área de concentração: Nutrição em Saúde
Pública

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Elizabeth Aparecida
Ferraz da Silva Torres

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Geni Rodrigues
Sampaio

São Paulo

2023

Influência das técnicas de preparo e cocção na formação dos contaminantes hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em carnes e embutidos: fatores de risco associados ao consumo

Simone Alves da Silva

Tese 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 Doutora em Ciências.

Área de concentração: Nutrição em Saúde Pública

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Elizabeth Aparecida Ferraz da Silva Torres

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Geni Rodrigues Sampaio

Versão Corrigida

São Paulo

2023

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Catálogo da Publicação

Ficha elaborada pelo Sistema de Geração Automática a partir de dados fornecidos pelo(a) autor(a)
Bibliotecária da FSP/USP: Maria do Carmo Alvarez - CRB-8/4359

Silva, Simone Alves da

Influência das técnicas de preparo e cocção na formação dos contaminantes hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em carnes e embutidos: fatores de risco associados ao consumo / Simone Alves da Silva; orientadora Elizabeth Aparecida Ferraz da Silva Torres; coorientadora Geni Rodrigues Sampaio. -- São Paulo, 2023.

269 p.

Tese (Doutorado) -- Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, 2023.

1. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. 2. Produtos cárneos. 3. Defumação. 4. Cocção. 5. Risco. I. Torres, Elizabeth Aparecida Ferraz da Silva, orient. II. Sampaio, Geni Rodrigues, coorient. III. Título.

Dedicatória

À Deus

À minha família: João, Leonides, Bruno, Cibele, Alcides e Abdias

Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

À Deus e Nossa Senhora Aparecida, por estarem sempre presentes nos meus dias, me abençoando, dando saúde, força, coragem e proteção.

Aos meus amados pais, João e Leonides, meus queridos irmãos, Bruno e Cibele, meu avô Abdias e meu tio Alcides, pelo amor, apoio, compreensão e incentivo. Agradeço a Deus por ter esta família incrível, sempre presente em minha vida, incentivando cada etapa de minha trajetória, não medindo esforços para me ajudar.

À Profa. Dra. Elizabeth Aparecida Ferraz da Silva Torres pela orientação, amizade, apoio, confiança e compreensão para realização deste trabalho.

À Dra. Geni Rodrigues Sampaio pela coorientação, amizade, paciência e confiança. Obrigada por encaminhar o projeto para auxílio financeiro, e colaboração em todas as fases do projeto.

À Faculdade de Saúde Pública (FSP) e à Universidade de São Paulo, pela oportunidade.

À FAPESP pelo auxílio financeiro (Processo nº 2018/19005-6).

A todos os professores que aceitaram participar como membros da banca, titulares e suplentes. Muito obrigada pelas sugestões, suas experiências enriqueceram o trabalho.

Ao Instituto Adolfo Lutz (IAL) por permitir o cumprimento deste trabalho.

Às diretoras, Dra. Janete Alaburda e Dra. Adriana Bugno, pelo apoio, incentivo e autorização para realização desta importante etapa profissional.

À equipe do Núcleo de Contaminantes Orgânicos (NCO) do IAL, pela amizade, colaboração e incentivo: Adriana, Elenice, Ana, Sueli e Iracema.

A todos os amigos e membros do grupo de pesquisa do laboratório do Departamento de Nutrição da FSP, bem como os funcionários da Pós-Graduação da FSP.

À Adriana Palma de Almeida, pela amizade, paciência, estímulo, auxílio com as análises experimentais, com a rotina de trabalho no NCO e com a redação dos artigos desta tese.

Aos alunos Letícia, Marina e Gustavo, meus orientandos do Curso de Especialização em Vigilância Laboratorial em Saúde Pública (CEFOR/SUS/SP) e do Programa de Aprimoramento Profissional (SES/SP) no IAL, que foram essenciais para desenvolvimento deste projeto.

À Glória Guizzellini pelo auxílio nas análises estatísticas, incentivo de todas as horas, amizade e carinho.

À Jamila Barbosa, pela amizade e auxílio nas análises de composição centesimal.

Às pesquisadoras Maria Auxiliadora (Dola), Jussara e Mahyara, pela gentileza de permitir utilizar o Laboratório de Análise Sensorial do Núcleo de Química, Física e Sensorial do Centro de Alimentos do IAL para realização dos tratamentos de cocção.

À Sidnei de Lara Nobrega e Simone Okawa Kimura, gratidão por todo auxílio, vocês foram essenciais nesta caminhada.

Às queridas amigas Mahyara Markievicz, Lucile Tieme, Maria do Socorro, Luciana Soares, Monique de Almeida, pela amizade e palavras de incentivo, por dividirem de forma tão carinhosa cada etapa de vida pessoal e profissional.

A todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

Muito obrigada!

Deus não escolhe os capacitados, Ele capacita os escolhidos. Fazer ou não fazer algo só depende da nossa vontade e perseverança.

Albert Einstein

RESUMO

SILVA, S. A. **Influência das técnicas de preparo e cocção na formação dos contaminantes hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em carnes e embutidos: fatores de risco associados ao consumo.** 2023. Tese - Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2023.

Introdução - Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) são compostos orgânicos que têm demonstrado comprovadamente efeitos mutagênicos, carcinogênicos e potencial imunossupressor. Dentre os alimentos, os produtos cárneos apresentam frequente ocorrência e concentrações mais elevadas para HPAs, uma vez que o preparo e os processos tecnológicos aos quais são submetidos podem produzir tais compostos. Considerando que a carne é um dos produtos mais consumidos no Brasil, com importante valor nutricional, avaliar sua contaminação torna-se necessária. **Objetivo** - Estudar a contaminação por HPAs de produtos cárneos, tanto nos embutidos e alimentos prontos para consumo, quanto nos submetidos a diferentes tratamentos e técnicas de cozimento, a fim de avaliar possíveis riscos à saúde humana associados ao consumo destes alimentos. **Métodos** - Os cárneos embutidos e defumados (n=205) foram adquiridos no comércio, incluindo dez categorias de produtos. Para a cocção, linguiças defumadas e carnes bovinas foram conduzidas a cinco métodos de cozimento, em distintos preparos e temperaturas. A metodologia para HPAs, contendo os quatro prioritários benzo[a]antraceno, benzo[b]fluoranteno, criseno, benzo[a]pireno (HPA4), incluiu saponificação, extração com n-hexano, purificação com cartuchos de extração em fase sólida de sílica e quantificação por cromatografia líquida de ultra eficiência e detecção por fluorescência. **Resultados** - O método analítico foi otimizado e validado, com resultados satisfatórios. Na avaliação dos produtos cárneos comerciais, as concentrações HPA4 variaram de não quantificável (<LQ) a 48,2 µg/kg, sendo que três amostras (1%) apresentaram níveis acima do permitido pela legislação da Comunidade Europeia para benzo[a]pireno, e dezoito (9%) para HPA4, com maior representatividade das linguiças e do hidrocarboneto criseno. Quanto às cocções, em relação às amostras cruas (controle), não foram formados HPAs de forma significativa nas carnes bovinas, mas sim na linguiça, na qual o uso de temperatura mais elevada acarretou a geração de HPAs, e algumas amostras foram consideradas insatisfatórias pelos maiores teores de HPA4. A *air fryer* formou mais compostos, com teores mais elevados de pireno, e o *grill* elétrico formou menos. Na avaliação de risco, os índices de MOE e ILCR indicaram potencial baixo de risco à saúde da população brasileira associado à ingestão de HPAs pelo consumo destes alimentos. **Conclusões** - Sugere-se a avaliação contínua destes contaminantes, considerando que algumas amostras apresentaram teores elevados e que

consumo de alimentos contaminados por HPAs estão associados ao risco de desenvolvimento de câncer. Programas de monitoramento devem ser incentivados com objetivo de contribuir no controle dos alimentos oferecidos à população, bem como fornecer dados para estabelecimento de limites na legislação nacional.

Palavras-chave: Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. Produtos cárneos. Defumação. Cocção. Risco.

ABSTRACT

SILVA, S. A. **Influence of different preparation and cooking techniques on the formation of polycyclic aromatic hydrocarbon contaminants in meat and smoked products: risk factors associated with consumption.** 2023. Thesis - Faculdade de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2023. Portuguese.

Introduction - Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are organic compounds that have demonstrated mutagenic, carcinogenic, and immunosuppressive potential. Among the foods, meat products have frequent occurrence and higher concentrations of PAHs, since the preparation and technological processes to which they are submitted can produce such compounds. Considering that meat is one of the most consumed products in Brazil, with important nutritional value, evaluating its contamination becomes necessary. **Objective** - To study PAHs contamination of meat products, both in sausages and ready-to-eat foods, as well as in those submitted to different treatments and cooking techniques, to evaluate possible risks to human health associated with the consumption of these foods. **Methods** - Sausages and smoked meats (n=205) were purchased commercially, including ten product categories. For cooking, smoked sausages and beef were submitted to five cooking methods, in distinct preparations and temperatures. The methodology for PAHs containing the four priority benzo[a]anthracene, benzo[b]fluoranthene, chrysene, benzo[a]pyrene (PAH4), included saponification, n-hexane extraction, purification with silica solid phase extraction cartridges, and quantification by ultra-performance liquid chromatography and fluorescence detection. **Results** - The analytical method was optimized and validated, with satisfactory results. In the evaluation of commercial meat products, the PAH4 concentrations ranged from unquantifiable (<LOQ) to 48.2 µg/kg, with three samples (1%) presented levels above that permitted by the European Community legislation for benzo[a]pyrene, and eighteen (9%) for the PAH4, with greater representativeness of sausages and chrysene hydrocarbons. As for the cooking, in relation to the raw samples (control), PAHs were not formed significantly in beef, but in sausages, in which the use of higher temperature caused the generation of PAHs, and some samples were considered unsatisfactory by the higher contents of PAH4. The air fryer formed more compounds, with higher levels of pyrene, and the electric grill formed less. In the risk assessment, the MOE and ILCR indices indicated a low potential risk to the health of the Brazilian population associated with the intake of PAHs by consuming these foods. **Conclusions** - Continuous evaluation of these contaminants is suggested, considering that some samples presented high levels and that consumption of food contaminated by PAHs is

associated with the risk of cancer development. Monitoring programs should be encouraged to contribute to the control of food offered to the population, as well as provide data for establishing limits in national legislation.

Keywords: Polycyclic aromatic hydrocarbons. Meat products. Smoking. Cooking. Risk.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	20
1.1	CARNES E PRODUTOS CÁRNEOS - PRODUÇÃO E CONSUMO	20
1.2	HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS	23
1.2.1	Riscos relacionados aos HPAs	25
1.2.2	Contaminação de alimentos por HPAs	27
1.2.3	Contaminação de produtos cárneos por HPAs	28
1.2.4	Legislações sobre HPAs em alimentos	40
1.2.5	Metodologias para análise dos HPAs em produtos cárneos	41
1.2.6	Avaliação da exposição e caracterização do risco para a saúde humana	45
2	OBJETIVOS	48
2.1	OBJETIVO GERAL	48
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	48
3	MATERIAL E MÉTODOS	49
3.1	MATERIAL	49
3.1.1	Padrões, reagentes e solventes	49
3.1.2	Vidrarias	49
3.1.3	Equipamentos e acessórios	50
3.1.4	Amostras e ingredientes	51
3.2	MÉTODOS	54
3.2.1	Análise dos HPAs	54
3.2.2	Análise da composição dos produtos cárneos submetidos a processos de cocção	58
3.2.3	Perda de massa por cocção dos produtos cárneos submetidos a processos de cocção	58
3.2.4	Avaliação de risco para a saúde humana da ingestão de HPAs em cárneos	59
3.3	ANÁLISE ESTATÍSTICA	59
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO	60
4.1	PRIMEIRO MANUSCRITO	60
4.1.1	Introduction	61
4.1.2	Material and methods	63
4.1.3	Results and discussion	66
4.1.4	Conclusions	69
4.1.5	References	70
4.1.6	Material complementar	80
4.2	SEGUNDO MANUSCRITO	81
4.2.1	Introdução	81
4.2.2	Material e métodos	84
4.2.3	Resultados e discussão	85
4.2.4	Conclusões	94
4.2.5	Referências	95
4.3	TERCEIRO MANUSCRITO	98
4.3.1	Introdução	99

4.3.2	Material e métodos	100
4.3.3	Resultados e discussão	101
4.3.4	Conclusões..	102
4.3.5	Referências.....	102
4.3.6	Material complementar	104
4.4	QUARTO MANUSCRITO	105
4.4.1	Introduction	106
4.4.2	Material and methods	107
4.4.3	Results and discussion.....	112
4.4.4	Conclusion.....	116
4.4.5	References..	117
4.4.6	Material complementar	127
4.5	QUINTO MANUSCRITO	128
4.5.1	Introdução.....	129
4.5.2	Material e métodos	130
4.5.3	Resultados e discussão	132
4.5.4	Conclusão.....	134
4.5.5	Referências.....	135
4.5.6	Material complementar	136
4.6	SEXTO MANUSCRITO.....	137
4.6.1	Introdução.....	138
4.6.2	Material e métodos	141
4.6.3	Resultados e discussão	150
4.6.4	Conclusões..	163
4.6.5	Referências.....	164
4.6.6	Material complementar	170
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	171
6	REFERÊNCIAS	173
	APÊNDICES	187
	ANEXOS	254
	CURRÍCULO LATTES.....	267

LISTA DE TABELAS

INTRODUÇÃO

Tabela 1 - Nome e estrutura molecular de alguns hidrocarbonetos policíclicos aromáticos.....	24
Tabela 2 - Teores de HPAs em produtos cárneos defumados descritos na literatura.....	31
Tabela 3 - Ingredientes usados no pré-tratamento, anterior à cocção, e impactos na formação de HPAs.....	38
Tabela 4 - Níveis máximos para produtos cárneos de acordo com Regulamento nº 835/2011.....	41
Tabela 5 - Métodos utilizados na literatura para análise de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em produtos cárneos.....	42

PRIMEIRO MANUSCRITO

Table 1 - Analysis of variance for experimental design in saponification of PAHs.....	76
Table 2 - Validation parameters for determination of four PAHs in salami.....	77
Table 3 - PAHs contents ($\mu\text{g}/\text{kg}$) for different commercial salami samples.....	78

SEGUNDO MANUSCRITO

Tabela 1 - Fontes de incerteza para curva analítica e precisão associadas à concentração de benzo[a]antraceno (BaA), criseno (Chr), benzo[b]fluoranteno (BbF) e benzo[a]pireno (BaP).....	90
Tabela 2 - Fontes de incerteza e respectivas porcentagens de contribuição para a incerteza total de cada hidrocarboneto: benzo[a]antraceno (BaA), criseno (Chr), benzo[b]fluoranteno (BbF) e benzo[a]pireno (BaP).....	91
Tabela 3 - Graus de liberdade efetivo e incerteza total associada à concentração de benzo[a]antraceno (BaA), criseno (Chr), benzo[b]fluoranteno (BbF) e benzo[a]pireno (BaP).....	93

TERCEIRO MANUSCRITO

Tabela 1 - Teores de HPAs ($\mu\text{g}/\text{kg}$) para amostras de peitos de aves defumadas (chester, frango e peru).....	104
--	-----

QUARTO MANUSCRITO

Table 1 - Linearity, recovery, precision, and limits of detection (LOD) and quantitation (LOQ) for analysis of PAH9 in meat products.....	122
Table 2 - Polycyclic aromatic hydrocarbons mean levels in different types of meat products.....	123

Table 3 - Mean values for dietary daily intake (ID), margin of exposure (MOE), and incremental lifetime cancer risk (ILCR) in different meat products.....126

QUINTO MANUSCRITO

Tabela 1 - Recuperação, coeficiente de variação (CV), limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) dos HPA4 analisados.....132

Tabela 2 - Teores de HPAs ($\mu\text{g}/\text{kg}$) para amostras de condimentos.....133

SEXTO MANUSCRITO

Tabela 1 - Composição centesimal e pH das carnes de alcatra e linguiça usados no processo de cocção.....150

Tabela 2 - Médias obtidas para perda de massa por cocção para as amostras de carne alcatra e linguiça avaliadas.....151

Tabela 3 - Concentração (média \pm desvio padrão) de HPAs em amostras de alcatra, segundo tipo de cocção, temperatura e adição de condimentos.....153

Tabela 4 - Concentração (média \pm desvio padrão) de HPAs em amostras de linguiça segundo pré-tratamento em meio ácido, tipo de cocção e temperatura.....1534

Tabela 5 - Ingestão diária estimada (BaP, HPA4 e HPA8), valores MOE (de BaP, HPA4 e HPA8) e ILCR (para HPA4 em diferentes faixas etárias).....162

LISTA DE FIGURAS

MATERIAL E MÉTODOS

Figura 1 - Cromatógrafo a líquido de ultra eficiência usado na análise de HPAs.....56

PRIMEIRO MANUSCRITO

Figure 1 - Contour plots obtained by fractional factorial planning using the proposed mathematical model.....79

Figure 2 - Overlapping UHPLC-FL chromatograms of three different samples: blank salami sample, commercial salami sample, and 4 PAHs standard solution (5 ng/mL).....80

SEGUNDO MANUSCRITO

Figura 1 - Diagrama de causa e efeito para cálculo de estimativa de incerteza da concentração de HPAs em produto cárneo.....86

TERCEIRO MANUSCRITO

Figura 1 - Cromatograma obtido pela análise em UPLC para amostra de peito de peru adicionada de padrão (5,0 ng/g).....104

QUARTO MANUSCRITO

Figure 1 - Chromatograms of PAH9 standards (5.0 ng/mL) and a sample of ham spiked with 5.0 ng/g.....127

QUINTO MANUSCRITO

Figura 1 - Cromatogramas sobrepostos obtido pela análise em UPLC/FL para amostra de orégano, amostra de orégano com adição de padrão (5,0 ng/g) e solução padrão contendo HPA4 em acetonitrila (5,0 ng/mL).....133

SEXTO MANUSCRITO

Figura 1 - Representação esquemática do preparo da carne bovina.....145

Figura 2 - Representação esquemática do processo de preparo da linguiça.....146

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ABIEC - Associação Brasileira de Indústrias Exportadoras de Carnes

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

AOAC - *Association of Official Analytical Chemistry*

APPI - Ionização por fotoionização a pressão atmosférica

AT - Expectativa média de vida

BaA - Benzo[a]antraceno

BaP - Benzo[a]pireno

BbF - Benzo[b]flouranteno

BghiP - Benzo[g,h,i]perileno

BHA - Butil-hidroxianisol

BHT - Butil-hidroxitolueno

BkF - Benzo[k]fluoranteno

BMDL - Limite inferior da dose de referência

BW - Peso corporal médio

CCD - Cromatografia em cada delgada

CEC - *Commission of the European Communities*

CG - Cromatografia gasosa

Chr - Criseno

CHX - Ciclohexano

CL - Cromatografia líquida

CLAE - Cromatografia líquida de alta eficiência

CV - Coeficiente de variação

DAD - Detector de arranjo de diodos

DahA - Dibenz[a,h]antraceno

DIC - Detector de ionização de chama

DMF - N,N-dimetilformamida

DP - Desvio-padrão

DPPH - 1,1-difenil-2- picrilhidrazina

EC - Comunidade Europeia

ED - Duração da exposição

EF - Frequência de exposição

EFSA - *European Food Safety Authority*

ELL - Extração líquido-líquido

EtOH - Etanol
EU - União Europeia
EUA - Estados Unidos
FAO - *Food and Agriculture Organization*
FL - Detector de fluorescência
FSP - Faculdade de Saúde Pública
H₂O - Água
HPA4 - Soma dos quatro HPAs (BaA, Chr, BbF e BaP)
HPA8 - Soma dos oito HPAs (HPA4, BkF, IcdP, BghiP, DahA)
HPA9 - Soma dos nove HPAs (HPA8, Pyr)
HPAs - Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos
HPLC - *High-performance liquid chromatography*
IARC - Agência Internacional de Pesquisas com Câncer
IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IcdP - Indeno[1,2,3-c,d]pireno
ILCR - Incremento de risco de câncer
INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial
IR - Consumo alimentar diário médio
JECFA - *Joint Expert Committee on Food Additives*
KOH - Hidróxido de potássio
LD - Limite de detecção
LLE - *Liquid-liquid extraction*
LOD - *Limit of detection*
LOQ - *Limit of quantification*
LQ - Limite de quantificação
MeCN - Acetonitrila
MeOH - Metanol
MOE - Margem de exposição
MS - Espectrômetro de massas
Na₂SO₄ - Sulfato de sódio
NaCl - Cloreto de Sódio
NaOH - Hidróxido de sódio
NC - Não consta
ND - Não detectado
OMS - Organização Mundial da Saúde

PAH4 - *Sum of BaA, Chr, BbF, and BaP*

PAH8 - *Sum of PAH4, BkF, IcdP, BghiP, and DahA*

PAH9 - *Sum of PAH8, and Pyr*

PAHs - *Polycyclic aromatic hydrocarbons*

POF - Pesquisa de Orçamentos Familiares

PRS - Cartucho de troca catiônica

PSA - Amina primária secundária

PTFE - Politetrafluoretileno

Pyr - Pireno

r^2 - Coeficiente de determinação

RDC - Resolução de Diretoria Colegiada

RSD - *Relative standard deviation*

SCF - *Scientific Committee on Food*

SF - Fator potencial oral

SP - São Paulo

SPE - Extração em fase sólida

SPME - Microextração em fase sólida

t - Tonelada

TEF - Fator de equivalência tóxica

TEQs - Quocientes de equivalência tóxica

UHPLC - *Ultra-high performance liquid chromatography*

UPLC - Cromatografia líquida de ultra performance

USEPA - *U.S. Environmental Protection Agency*

USP - Universidade de São Paulo

UV - Detector de ultravioleta

WHO - *World Health Organization*

APRESENTAÇÃO DA TESE

A modalidade de apresentação da tese foi estruturada em formato de artigos, de acordo com as normas do Programa de Pós-Graduação em Nutrição em Saúde Pública da FSP-USP. A tese está estruturada nas sessões: Introdução, Objetivos, Material e métodos, Resultados e discussão, Considerações finais, Referências da Introdução, Apêndices e Anexos.

No item Introdução, parte da revisão de literatura está contemplada no artigo de revisão Polycyclic aromatic hydrocarbons in foods: biological effects, legislation, occurrence, analytical methods, and strategies to reduce their formation publicado pelo grupo no periódico International Journal of Molecular Sciences (2021), DOI: 0.3390/ijms22116010.

No item Resultados e discussão, foram anexados seis manuscritos correspondentes à pesquisa, conforme segue:

PRIMEIRO ARTIGO - Quantification of polycyclic aromatic hydrocarbons in commonly consumed salami in Brazil - Publicado no periódico Food Analytical Methods (2022). DOI: 10.1007/s12161-022-02414-z

SEGUNDO ARTIGO - Estimativa de incerteza de medição de método para determinação de quatro hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em matriz salame - Artigo a ser submetido após avaliação da banca examinadora.

TERCEIRO ARTIGO - Contaminação de amostras de peito de aves defumadas por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos - Capítulo de livro publicado no livro Pesquisa e Atualizações em Ciência dos Alimentos (2022). DOI: 10.53934/9786599539657-36.

QUARTO ARTIGO - Occurrence and exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in traditional dry-cured or smoked meat products from Brazil - Artigo submetido para avaliação no periódico Food Chemistry.

QUINTO ARTIGO - Metodologia para análise de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em condimentos - Artigo a ser submetido após avaliação da banca examinadora.

SEXTO ARTIGO - Determinação de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos em carne bovina e linguiça defumada submetidas a diferentes métodos de cocção - Artigo a ser submetido após avaliação da banca examinadora.

1 INTRODUÇÃO

Carnes e seus produtos constituem um importante papel para a saúde humana, uma vez que apresentam componentes nutricionais essenciais. É conhecido que o preparo ao qual a carne pode ser submetida, durante a cocção doméstica ou a defumação, pode levar à formação de substâncias carcinogênicas, como os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs).

Uma alimentação saudável deve contemplar os diversos tipos de alimentos. Os produtos cárneos têm um papel importante e complementam a alimentação, porém, deve-se levar em consideração que a quantidade consumida está relacionada com um aumento do risco de desenvolvimento de câncer.

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), o consumo de produtos cárneos tem sido associado com um aumento do risco de desenvolvimento de doenças crônicas, dentre elas o câncer. Segundo relatório feito pela Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC), a carne vermelha é classificada no Grupo 2A, ou seja, provavelmente carcinogênica para humanos, e as carnes processadas, como salsicha, linguiça, bacon e presunto, estão classificadas no Grupo 1, como carcinogênicas, para os quais já há evidência suficiente de relação com o câncer em humanos. A carne vermelha tem uma classificação mais moderada, em função de evidências limitadas de que ela possa causar câncer. Estudos demonstraram uma correlação entre a ingestão de carne vermelha e o aparecimento de câncer de colorretal, mas também foram evidenciadas associações com tumores de pâncreas e próstata (BOADA; HENRÍQUEZ-HERNÁNDEZ; LUZARDO, 2016; IARC, 2015).

1.1 CARNES E PRODUTOS CÁRNEOS - PRODUÇÃO E CONSUMO

A carne é um dos produtos mais consumidos no mundo e no Brasil, especialmente a carne bovina (IBGE, 2020a; 2022). Conforme apresentado na Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) divulgada em 2020, o consumo médio per capita (g/dia) de carne bovina é de 50,2 g/dia, valor que ultrapassa o consumo per capita de aves (47,4 g/dia), carne suína (15,8 g/dia) e peixe fresco (13,1 g/dia) (IBGE, 2020a). Em comparação com outras populações, os brasileiros consumiram em média 34,4 kg de carne bovina em 2021, consumo inferior apenas em comparação à população dos Estados Unidos (37,8 kg/ano) e China (36,8 kg/ano) segundo dados da Associação Brasileira de Indústrias Exportadoras de Carnes (ABIEC) (ABIEC, 2022).

O consumo de carne bovina no Brasil cresce em paralelo a produção deste alimento. Em comparação ao ano de 2021, houve um acréscimo de 361,75 mil bovinos abatidos para consumo

no país e exportação, com o consumo nacional representando 63,4% da produção total de 1,836 milhão de toneladas (t) de carne bovina produzida somente no primeiro trimestre de 2022 (IBGE, 2022). O Brasil é o segundo maior produtor de carne bovina do mundo (13,66%), atrás apenas dos Estados Unidos (17,87%), porém segue como o maior exportador do mundo de carne bovina e exportou, no 1º trimestre/2022, 469.025 mil toneladas, especialmente para China (243.286 mil t), Estados Unidos (43.205 mil t) e Egito (41.809 mil t) (ABIEC, 2022).

A carne bovina apresenta uma composição de alto valor nutricional, fonte de proteína de alto valor biológico e micronutriente, como ferro, vitaminas do complexo B e zinco, por isso o consumo é considerado importante para o equilíbrio nutricional (BOUVARD *et al.*, 2015; TRAVASSOS; COELHO, 2017). Mas a carne de frango tem sido uma alternativa, especialmente ao seu valor de mercado mais acessível, e considerada fonte de proteína, vitamina A, vitaminas do complexo B, cobre e zinco (BOUVARD *et al.*, 2015; TRAVASSOS; COELHO, 2017).

Em 2021, o consumo da proteína de frango foi de 45,56 kg per capita, com produção nacional alcançando 14,329 milhões de toneladas. Do volume total de carne de frango produzido no Brasil, 68% abastecem o mercado interno, alcançando o terceiro lugar entre os países que mais consomem este tipo de proteína, atrás apenas de Estados Unidos e China. O Brasil é considerado o terceiro maior produtor mundial de frango, com 10,280 milhões de toneladas, e o maior exportador mundial, com 4,225 milhões de toneladas exportados para países como Japão e México (EMBRAPA, 2021).

A carne suína apresenta diversas vantagens nutricionais, uma vez que possui a composição centesimal semelhante às carnes bovina e de ave. É rica em proteínas e ácidos graxos monoinsaturados, enquanto o teor de lipídeos depende do corte, sendo que o lombo apresenta o menor teor de gordura (MARÇAL *et al.*, 2016). O Brasil é o 4º maior produtor mundial de suínos (4,325 milhões t), e 4º lugar dentre os maiores exportadores (1,322 milhões t) (EMBRAPA, 2021). Embutidos suínos representam um total de 979 mil toneladas em produtos exportados para outros países, abastecendo principalmente países da Ásia (60,38%) e América (36,32%) (ABPA, 2022).

O consumo de produtos cárneos embutidos no Brasil apresentou aumento em comparação com a POF divulgada 10 anos antes. Atualmente o consumo per capita de linguiça, salsicha, mortadela e presunto é de 3,9 g/dia, 1,1 g/dia, 0,6 g/dia e 0,4 g/dia, respectivamente (IBGE, 2020a). Louzada *et al.* (2015) avaliaram o perfil nutricional da dieta no Brasil, e foi observada uma tendência de substituir refeições tradicionais apoiada em alimentos *in natura* ou

minimamente processados por alimentos processados, que incluem os embutidos, seguindo uma tendência mundial, devido a maior praticidade, comodidade e rapidez.

Os produtos cárneos são obtidos das carnes frescas, os quais foram modificados por um ou mais procedimentos, sejam eles cozimento, salga, defumação ou adição de aditivos e temperos. A intenção é obter produtos estáveis, aumento da vida útil, facilitando o transporte e armazenamento (SILVEIRA *et al.*, 2014).

Uma vez colocado no envoltório (embutido), natural ou artificial, o produto passa uma série de tratamentos necessários ao processo de fabricação. Segundo apresentado por Embrapa (2021) e Silveira *et al.* (2014), o processo divide os produtos em:

a) Produtos salgados: utiliza-se carne e sal (cloreto de sódio) como matérias-primas, podendo ser adicionados de sais de cura ou não. O sal atua com a intenção de redução de umidade e atividade de água, para preservação do alimento. A salga pode ser realizada a seco, úmida ou mista. Entre os produtos, estão incluídos: carne de sol, charque e *jerked beef*;

b) Produtos cozidos: produtos que, após as operações de trituração, mistura e enformagem, são submetidos à alta temperatura (até 70°C), a fim de modificar propriedades sensoriais, funcionais e de conserva. São constituídos por uma mistura de tecido muscular (carne de diferentes tamanhos), gordura e água, adicionados de sal e aditivos para a formação da cor, do sabor, formato, agregação e estabilização, bem como destruição de microorganismos. Estão incluídos nesta categoria produtos curados (presunto cozido, apresuntado, por exemplo), produtos emulsionados (salsicha, mortadela, patê, etc.) e produtos enlatados;

c) Produtos fermentados: passam pelo processamento com a redução da umidade, atividade de água e do pH (acidez), que tem como função proporcionar sabor, aroma e cor característicos, promover estabilidade, inclusive a temperatura ambiente, e inibir microrganismos indesejáveis. As culturas de bactérias adicionadas podem ser consideradas como aditivos e tem a intenção de produzir somente ácido lático, para conferir sabor ao produto, e não devem ser causadoras de doenças. Nesta categoria, estão salame e pepperoni;

d) Produtos embutidos frescos: Produtos que não foram submetidos ao uso de calor em nenhuma etapa de sua elaboração, e são preparados com carne picada, gordura e condimentos, que são inseridos em envoltórios tubulares naturais (tripas naturais ou de colágeno) ou artificiais (tripa celulósica ou plástica). Devem ser mantidos sob refrigeração. O principal embutido fresco é a linguiça;

Estes produtos podem passar pelo processo de cura, que pode ser realizado a seco ou de forma úmida, consistindo na adição à carne de cloreto de sódio, nitratos e/ou nitritos, açúcar e condimentos, reduzindo a quantidade de água, melhorando as propriedades sensoriais e inibição

de micro-organismos. Os produtos podem ainda ser defumados, para agregar sabor e odor ao alimento, melhorar a aparência, assim como preservar o alimento (EMBRAPA, 2021; SILVEIRA *et al.*, 2014).

Existe uma preocupação relacionada aos riscos que estes produtos embutidos podem trazer à saúde. Por exemplo, o uso em excesso de sal utilizado durante a produção, a presença de nitritos, nitrosaminas, HPAs, ou mesmo a contaminação microbiológica (em especial nos fermentados) (FLORES *et al.*, 2019; HALAGARDA, WÓJCIAK, 2022). Desta forma, torna-se importante analisar estes produtos, investigando aspectos de segurança e qualidade.

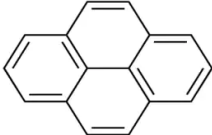
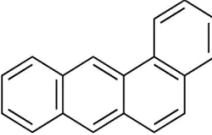
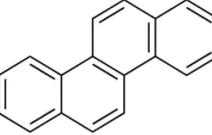
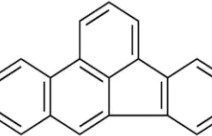
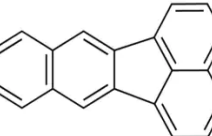
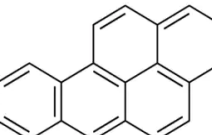
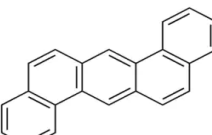
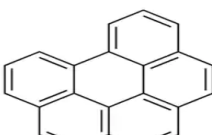
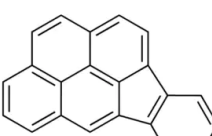
1.2 HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS

Os HPAs representam um grupo de mais de 200 diferentes compostos orgânicos, com dois ou mais anéis aromáticos condensados (SAMPAIO *et al.*, 2021). Os HPAs podem ser classificados como leves (2-3 anéis) ou pesados (4-6 anéis), de acordo com o número de anéis aromáticos (MOLOGNONI *et al.*, 2019; ZHU *et al.*, 2022). Segundo a *European Food Safety Authority* (EFSA), é recomendada a avaliação de oito HPAs (HPA8) em alimentos, incluindo o benzo[a]pireno (BaP), benzo[a]antraceno (BaA), benzo[b]fluoranteno (BbF), benzo[k]fluoranteno (BkF), criseno (Chr), benzo[g,h,i]perileno (BghiP), dibenzo[a,h]antraceno (DahA) e indeno[1,2,3-c,d]pireno (IcdP), pois são considerados os indicadores mais adequados para a avaliação da exposição alimentar desses compostos, se tornando como bons marcadores de HPAs (EFSA, 2008). A **Tabela 1** apresenta alguns HPAs e suas estruturas moleculares, fórmulas químicas, siglas e pesos moleculares.

Os HPAs têm baixa solubilidade em água (a solubilidade aquosa diminui para cada anel adicional adicionado ao hidrocarboneto) e alta solubilidade em solventes apolares e óleos (ZHU *et al.*, 2022). Podem ser gerados pela poluição ambiental, pelo processamento de alimentos ou pelo contato dos alimentos com materiais de embalagem contaminados (SUN; WU; GONG, 2019).

No ambiente, os HPAs são provenientes de fontes naturais (queima natural de florestas e emissões vulcânicas) ou, principalmente, de fontes antropogênicas (queima do carvão, escapamento de veículos, óleos lubrificantes usados em motores, fumaças de cigarro etc.). Os humanos estão expostos aos HPAs tanto por fontes dietéticas como não dietéticas (inalação e contato com a pele), mas a primeira apresenta um grande impacto na exposição não ocupacional aos HPAs, e acima de 70% da exposição em pessoas não fumantes está associada ao consumo dos alimentos (SAMPAIO *et al.*, 2021; SUN; WU; GONG, 2019).

Tabela 1 - Nome e estrutura molecular de alguns hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

Nome	Sigla	Massa Molecular (g/mol)	Fórmula química	Estrutura molecular
Pireno	Pyr	202,3	C ₁₆ H ₁₀	
Benzo[a]antraceno	BaA	228,3	C ₁₈ H ₁₂	
Criseno	Chr	228,3	C ₁₈ H ₁₂	
Benzo[b]fluoranteno	BbF	252,3	C ₂₀ H ₁₂	
Benzo[k]fluoranteno	BkF	252,3	C ₂₀ H ₁₂	
Benzo[a]pireno	BaP	252,3	C ₂₀ H ₁₂	
Dibenzo[a,h]antraceno	DahA	278,4	C ₂₂ H ₁₄	
Benzo[g,h,i]perileno	BghiP	276,3	C ₂₂ H ₁₂	
Indeno[1,2,3-c,d]pireno	IcdP	276,3	C ₂₂ H ₁₂	

Adaptado de: ZHU *et al.* (2022)

Os HPAs podem afetar o organismo por meio de diversas ações tóxicas, e muitos deles estão relacionados a efeitos carcinogênicos e mutagênicos, além do potencial imunossupressor.

O efeito na saúde humana baseia-se principalmente na duração, via de exposição e na toxicidade relativa dos HPAs. Alguns HPAs não são definidos como carcinogênicos, mas podem agir de maneira sinérgica. Estudos epidemiológicos com humanos e animais de laboratório indicam que a exposição aos HPAs é um dos fatores responsáveis pelo aumento de câncer ao qual a população está exposta (MALLAH *et al.*, 2022; SAMPAIO *et al.*, 2021).

1.2.1 Riscos relacionados aos HPAs

O câncer é a segunda maior causa de morte no Brasil. Em 2020, foram diagnosticados 626.030 mil novos casos da doença no país, com um total de 225.830 mil mortes causadas pela doença no mesmo ano. O diagnóstico de câncer de cólon e reto é o segundo câncer mais diagnosticado, perdendo apenas para câncer de mama e de próstata. Fatores ambientais estão intimamente relacionados ao desenvolvimento de tumores, em especial câncer de cólon e reto (BRASIL, 2022b).

Os HPAs podem contribuir de forma significativa para o aumento de câncer. A biodisponibilidade após absorção e inalação é essencial devido à alta lipofilicidade dos compostos. Pesquisas científicas mostraram que níveis detectáveis de HPAs podem ser encontrados em diversos órgãos, mas especialmente nos ricos em tecido adiposo, que atuarão como depósitos de armazenamento para a liberação gradual de HPAs. No entanto, quando os HPAs entram na corrente sanguínea, determinadas enzimas atuam e formam metabólitos. A maioria dos metabólitos de HPA é excretada na urina e nas fezes, mas alguns muitas vezes não são adequadamente polares para excreção. Compostos como epóxidos e dihidrodíols, se ligam mais facilmente a proteínas celulares e ao DNA, formando adutos que podem levar a rupturas bioquímicas e dano celular, provocar a mutação genética, com atividade no desenvolvimento de malformações e tumores. Estudos já apresentaram a correlação dos HPAs e o aumento da incidência de câncer de pele, pulmão, pâncreas, esôfago, bexiga, cólon, mama e gastrointestinal (IARC 2010, 2012; MALLAH *et al.*, 2022; RENGARAJAN *et al.*, 2015)

Estudos encontraram uma relação entre exposição aos HPAs e estresse oxidativo. Também pode aumentar o risco de doenças cardiovasculares, incluindo aterosclerose, trombose, hipertensão e infarto do miocárdio (MALLAH *et al.*, 2022).

Dentre os HPAs, o mais extensivamente estudado é o BaP (MALLAH *et al.*, 2022; RENGARAJAN *et al.*, 2015). A Agência Internacional de Pesquisas com Câncer (IARC) classifica os HPAs em grupos de acordo com o risco de carcinogenicidade para humanos e o BaP está no grupo 1, carcinogênico, o DahA no grupo 2A, provável carcinogênico, compostos

como BaA, Chr, BbF, BkF e IcdP estão no grupo 2B, possíveis carcinogênicos, e Pyr e BghiP no grupo 3, sem evidências de carcinogenicidade (IARC, 2010, 2012; ZHU *et al.*, 2022).

A IARC classificou o consumo de carne vermelha no grupo 2A, provável carcinogênico para humanos, enquanto carnes processadas foram classificadas no grupo 1. Esta classificação foi fundamentada em dados epidemiológicos que apresentaram associações positivas entre o consumo deste produto e o desenvolvimento de câncer colorretal, pâncreas e próstata (BOUVARD *et al.*, 2015; DOMINGO; NADAL, 2015). Estudo desenvolvido por Carr *et al.* (2016) sugeriu associação entre o aumento no consumo de carne vermelha e o desenvolvimento de câncer colorretal, e um dos fatores relacionados a este incremento foi a formação de HPAs durante o cozimento deste alimento. Uma vez que o processo de preparo pode acarretar a formação de HPAs, todos os produtos cárneos podem sofrer com a contaminação por estes compostos.

Além da IARC, outras organizações internacionais classificaram e avaliaram a carcinogenicidade dos HPAs de acordo com suas ocorrências, como o Comitê Conjunto FAO/WHO (*Food and Agriculture Organization/World Health Organization*) *Joint Expert Committee on Food Additives* (JECFA), o Scientific Committee on Food (SCF) e o EFSA (ZELINKOVA; WENZL, 2015).

Em 1976, a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (em inglês, *U.S. Environmental Protection Agency - USEPA*) selecionou 16 HPAs para avaliar os riscos à saúde da água potável, que têm sido amplamente aceitos e monitorados em estudos ambientais e de alimentos de diversos países. Em 2002, o SCF da Comissão Europeia indicou o monitoramento de 15 HPAs em alimentos, considerados cancerígenos, dos quais oito estão incluídos na lista da USEPA. Em 2005, o JECFA adicionou um hidrocarboneto à lista do SCF, que foram chamados de “15 + 1 HPAs prioritários da União Europeia”. Até 2008, o EFSA utilizava o BaP como único marcador para a ocorrência de HPAs em alimentos, e propôs a avaliação de mais componentes, incluindo quatro HPAs (HPA4), abrangendo BaA, Chr, BbF e BaP, e HPA8, que desde então têm sido compostos amplamente utilizados na avaliação da contaminação dos alimentos (EFSA, 2008; SUN; WU; GONG, 2019; ZHU *et al.*, 2022)

Em 2011, a União Europeia estabeleceu por meio do Regulamento nº 835/2011 os limites máximos para BaP e HPA4 em diversas categorias de alimentos, e desde então vários Regulamentos foram apresentados (CEC, 2011; SAMPAIO *et al.*, 2021).

1.2.2 Contaminação de alimentos por HPAs

Alimentos com maior teor de lipídeos em sua composição apresentam acúmulo facilitado de HPAs devido à associação facilitada entre os HPAs e as moléculas de lipídeos desse tipo de matriz alimentar (MOLOGNONI *et al.*, 2019).

Segundo Sampaio *et al.* (2021), existem várias etapas da produção em que os alimentos podem ser contaminados por HPAs, desde a agricultura (com a absorção dos componentes presentes no solo, ar e água), as etapas industriais de processamento, até o preparo doméstico com métodos de cozimento em alta temperatura.

Em estudo realizado na Espanha com vários produtos, os maiores níveis de ocorrência foram verificados em cárneos e derivados (38,99 $\mu\text{g}/\text{kg}$), seguidos pelos óleos e gorduras (18,75 $\mu\text{g}/\text{kg}$) e lácteos (7,57 $\mu\text{g}/\text{kg}$) (DOMINGO *et al.*, 2010). Em estudo mais recente na China também observou maiores níveis de HPAs em produtos cárneos como linguiça do que em outras categorias de alimentos, ainda que tenham passado por processos de secagem e torrefação, que pode contribuir substancialmente para a formação de HPAs, como café, chá verde e grãos de soja torrados (CHIANG *et al.*, 2021).

No caso dos óleos e gorduras, estes podem ser contaminados por diferentes vias, incluindo a deposição nas plantas atmosférica de HPAs nas plantas, absorção de HPAs presentes no solo pelas plantas, secagem de sementes oleaginosas com fumaça de combustão e uso de solvente para extração de óleo. A natureza lipofílica dos HPAs facilita a contaminação de gorduras e óleos, e os níveis podem se apresentar elevados (BERTOZ *et al.*, 2021).

A secagem é usada para controlar umidade do alimento e evitar a deterioração durante o armazenamento. Pode ser empregada em alimentos como chá, grão, cacau, entre outros, sendo realizada de maneira direta (sol e vento) ou indireta, sendo esta última bastante usada de forma industrial com aquecimento do ar usando fontes combustíveis. Na primeira, a contaminação por HPAs vai se originar da contaminação ambiental, e na segunda devido ao contato com os produtos de combustão (SAMPAIO *et al.* 2021). No Brasil, o processo de secagem de grãos utiliza principalmente a lenha como combustível, que é um processo rápido e de baixo custo, no entanto leva à combustão incompleta durante a queima da matéria orgânica, gerando fumaça que contém HPAs e podem contaminar a matéria-prima e atingir os subprodutos.

Para soja, as concentrações médias foram inferiores aos valores máximos permitidos pela União Europeia, e os autores sugeriram que as condições controladas de secagem dos grãos influenciaram na baixa formação de HPAs (QUEQUETO *et al.*, 2021). Para cacau, a secagem dos grãos de cacau na presença de fumaça resultou em níveis de HPAs mais elevados,

possivelmente devido ao uso inadequado de secadores de ar quente (ABBALLE *et al.*, 2021). O Código de Prática da Comissão do *Codex Alimentarius* (CAC/RCP 68/2009) oferece diretrizes para secagem direta e indireta, de forma a minimizar a formação de HPAs durante o processo de secagem (CODEX, 2009).

A torrefação, usada para melhorar os atributos sensoriais dos produtos como café, cacau e chás, é um processo normalmente realizado em altas temperaturas, na faixa de 120–240°C, por certo tempo, que pode variar de alguns minutos a horas, e que pode formar compostos nocivos como os HPAs. As condições de torrefação, com otimização de tempo e temperatura, devem ser observadas para obter as características desejadas do produto e evitar a formação destes compostos (ABBALLE *et al.*, 2021; BINELLO *et al.*, 2021; SAMPAIO *et al.*, 2021).

Para chás que passam por processo de torrefação, como mate e preto, as faixas de concentração de HPA4 encontradas foram 194–1795 µg/kg e 1,8–186 µg/kg, respectivamente, mas nas infusões de chá foram observados apenas vestígios de HPAs, refletindo a característica lipofílica dos compostos que limita a solubilidade em água (TFOUNI *et al.*, 2018). Para as infusões de café, Tfouni *et al.* (2013) não relataram diferença estatisticamente significativa nos níveis de HPAs de infusões de café produzidas a partir de grãos torrados em diferentes temperaturas. Já na avaliação do processo de amêndoas de cacau e derivados, de torrefação de amêndoas de cacau, defumadas ou não, uma diminuição na contaminação dos produtos foi observada (ABBALLE *et al.*, 2021).

1.2.3 Contaminação de produtos cárneos por HPAs

As moléculas de HPAs, principalmente os compostos pesados, podem se adsorver em materiais particulados por meio da fumaça e se depositar nos produtos cárneos (HAMIDI *et al.*, 2016; SINGH, AGARWAL, SIMAL-GANDARA, 2022). Processos como defumação ou secagem também contribuem para a contaminação dos produtos cárneos, devido ao depósito de HPAs produzidos pela queima incompleta do combustível usado (HAMIDI *et al.*, 2016). Estes produtos podem ainda ser contaminados por meio de alimentação dos animais (rações, pastagens), que transferem os compostos para produtos de origem animal e derivados (GARCIA *et al.*, 2014; WENZL; ZELINKOVA, 2019). Além disso, podem ser formados durante certos tipos de preparação aos quais os alimentos são submetidos, como grelha, tostagem, torrefação e fritura (GARCIA *et al.*, 2014; KAFOURIS *et al.*, 2020).

Os métodos de preparo de produtos cárneos, como o cozimento, a defumação e a grelha, são utilizados de forma a melhorar a digestibilidade, a palatabilidade e a conservação dos

alimentos. No entanto, altas temperaturas utilizadas durante o processamento podem produzir diversos compostos carcinogênicos, especialmente os HPAs, devido à pirólise de proteínas e lipídeos dos alimentos (BOUVARD *et al.*, 2015; HAMIDI *et al.*, 2016). A formação de HPAs em produtos cárneos não se restringe a alimentos que passam por métodos de cocção industrial, mas também afeta aqueles produzidos em casa e que não são submetidos a temperaturas elevadas (28°C), como nos resultados apresentados por Kafouris *et al.* (2020).

A presença de HPAs nos alimentos, em geral, é motivo de preocupação e requer monitoramento contínuo, uma vez que vários HPAs são potencialmente carcinogênicos. Nos últimos anos, os estudos epidemiológicos demonstraram que uma grande proporção de câncer humano é atribuível, pelo menos em parte, a fatores alimentares, incluindo a exposição dietética a HPAs (KIM *et al.*, 2013).

1.2.3.1 Defumação e contaminação de produtos cárneos por HPAs

Os embutidos são produtos elaborados com carnes ou órgãos comestíveis, curados ou não, condimentados, cozidos ou não, defumados e dessecados ou não, tendo como envoltórios as membranas, naturais ou sintéticas, a fim de dar forma e estabilidade. Os produtos curados podem ser defumados, incluindo presunto, salame, pepperoni, bacon, lombo, dentre outros, com o objetivo de dar sabor e odor característicos, além de aumentar o tempo de prateleira. A legislação brasileira permite a defumação a quente ou a frio, em estufas construídas para essa finalidade, e realizada com a queima de madeiras não resinosas, secas e duras (BRASIL, 2017a).

A contaminação e a concentração de HPAs em produtos defumados irão depender de diversos fatores, incluindo: tipo de defumação (direto ou indireto), tipo de combustível utilizado (carvão ou biomassa), condições de defumação (umidade, temperatura, tempo e fluxo de ar), distância entre a fonte de calor e o produto, teor de gordura, drenagem da gordura e tipo de invólucro (LEDESMA; RENDUELES; DÍAZ, 2016; SKALJAC *et al.*, 2014; ZHU *et al.*, 2022).

A defumação pode acontecer pelos processos direto (ou tradicional) ou indireto. Na defumação direta, a fumaça é produzida na mesma câmara onde a carne é processada e esta fumaça fica em contato direto com os alimentos. Se este processo não for controlado, e houver a combustão incompleta, os HPAs podem ser formados, causando contaminação dos alimentos (LEDESMA; RENDUELES; DÍAZ, 2016; ZHU *et al.*, 2022)

A defumação direta pode ser classificada de acordo com a temperatura da fumaça em fria e quente. Na defumação direta a frio, o combustível é queimado, a fumaça é produzida e,

quando terminada a queima, o fogo não é estimulado e assim a fumaça esfria. A temperatura da fumaça é no máximo 30°C (CODEX, 2009; LEDESMA *et al.*, 2016). Na defumação direta a quente, a câmara é aquecida pela queima de combustível, que é alimentado para produzir grandes quantidades de fumaça, e a carne é aquecida e seca enquanto o combustível é queimado. As temperaturas da carne e fumaça podem chegar a 80°C e 130°C, respectivamente (LEDESMA; RENDUELES; DÍAZ, 2016).

Entre os métodos indiretos, estão incluídos: fumaça produzida por um gerador de fricção, fumaça líquida (aroma de fumaça) e fumaça produzida por eletrostática. O uso de aromatizantes de fumaça tem sido bastante comum, em especial na indústria em substituição ao método de defumação tradicional, devido à sustentabilidade, à facilidade e à possibilidade de obter produtos com maior uniformidade de sabor, de cor e com características organolépticas distintas, uma vez que aromas com diferentes composições estão disponíveis. O aroma de fumaça é produzido pela condensação da fumaça formada na pirólise controlada com quantidade mínima de material combustível, por exemplo, serragem ou lascas de madeira, que é resfriado em condensadores, se liquefazendo, passando por tanques de refino, filtração (no qual os HPAs podem ser removidos), e então o líquido é envelhecido para melhorar o sabor (LEDESMA; RENDUELES; DÍAZ, 2016; SCHWERT *et al.*, 2020; ZHU *et al.*, 2022).

A **Tabela 2** apresenta os resultados encontrados para HPAs em produtos defumados e embutidos avaliados em diversos países. Trabalhos nacionais relacionados à produtos cárneos ainda são limitados (CAMARGO; TOLEDO, 2001; SCHWERT *et al.*, 2020; MERLO *et al.*, 2021).

Os estudos de Djinovic, Popovic e Jira (2008), Wretling *et al.* (2010), Roseiro; Gomes; Santos (2011), Olatunji *et al.* (2014), Ledesma; Rendueles; Díaz (2015), Rozentale *et al.* (2015), Kafouris *et al.* (2020) e Adesina (2020), por exemplo, apresentaram teores elevados para HPA4. Alguns resultados para BaP estavam acima do limite da legislação (2 µg/kg) da Comunidade Europeia (CEC, 2011) para produtos cárneos, como os avaliados por Wretling *et al.* (2010), Olatunji *et al.* (2014), Rozentale *et al.* (2015), Adesina (2020) e Kafouris *et al.* (2020). Ao analisar a ocorrência dos HPA4 nas amostras de carne bovina, suína e pescado, de maneira geral, foi observado que o BaA e o Chr foram os hidrocarbonetos mais frequentes e em concentrações mais elevadas (KAFOURIS *et al.*, 2020; OLATUNJI *et al.*, 2014).

Tabela 2 - Teores de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em produtos cárneos defumados descritos na literatura

Referência	Local	Produto	BaP (µg/kg)	HPA4 (µg/kg)	Total HPAs (µg/kg)
CAMARGO; TOLEDO (2001)	Brasil	Bacon	0,44	1,24	10,29 (10)
		Linguiça	0,12	0,65	3,72 (10)
		Salsicha	0,32	0,58	3,96 (10)
		Mortadela	0,10	0,24	1,52 (10)
DJINOVIC; POPOVIC; JIRA (2008)	Sérvia	Bacon	1,04	8,42	22,7 (16)
		Presunto	0,52	4,50	10,2 (16)
PURCARO; MORET; CONTE, (2009)	Itália	Embutido de carne suína	0,5	3,5	187,6 (13)
		Bacon	<LQ	0,5	10,4 (13)
WRETLING <i>et al.</i> (2010)	Suíça	Presunto	13,3	58,4	92,6 (15)
		Bacon	9,36	48,9	91,6 (15)
ROSEIRO; GOMES; SANTOS (2011)	Portugal	Chouriço	3,53	87,37	3237,1 (16)
OLATUNJI <i>et al.</i> (2014)	África do Sul	Carne bovina	5,34	-	-
SKALJAC <i>et al.</i> (2014)	Sérvia	<i>Petrovska Klabasa</i> embutido regional	<0,6	<0,6	220 (13)
LEDESMA; RENDUELES; DÍAZ (2015)	Espanha	Diversos	0,38-3,21	-	-
ROZENTALE <i>et al.</i> (2015)	Letônia, Lituânia e Estônia	Diversos	<0,05- 6,03	0,15-34,65	-
LU; KUHNLE; CHENG (2017)	Inglaterra	Bacon	1,09	-	1,75 (2)
		Salsicha	0,21	-	0,89 (2)
KAFOURIS <i>et al.</i> (2020)	República de Chipre	Carne de porco	1,3	8,7	-
		Linguiça	1,0	5,9	-
		Presunto	2,5	15,2	-
		Bacon	1,2	9,4	-
ADESINA (2020)	Nigéria	Carne bovina	61	515	-
SCHWERT <i>et al.</i> (2020)	Brasil	Linguiça calabresa	0,12-0,19	-	-
MERLO <i>et al.</i> (2021)	Brasil	Bacon	<LD-0,10	0,10-1,47	-
CUNHA <i>et al.</i> (2021)	Espanha	Salmão	≤0,1	≤0,3	4,34-67,00 (14)
KARTALOVIĆ <i>et al.</i> (2022)	Croácia	<i>Slavonska slanin</i> embutido regional	<LQ (DD e DI)	10,6-17,3 (DD) <LQ (DI)	676-1294 (DD,16) 18,6-80,5 (DI,16)

LD: limite de detecção, LQ: limite de quantificação, DD: defumação direta/tradicional, DI: defumação indireta

No Brasil, dados sobre a presença de HPAs em produtos cárneos são escassos. O mais completo foi apresentado por Camargo e Toledo (2001), no qual foram analisados bacon, frango, linguiça, salsicha e mortadela. A quantidade de BaP variou de 0,10 a 0,44 µg/kg, enquanto HPA4 variou de 0,24 a 1,40 µg/kg, que naquele momento estavam superiores aos encontrados na literatura internacional. Em 2020, Schwert *et al.* (2020) avaliaram linguiças calabresas defumadas com fumaça líquida e método tradicional (temperatura controlada de 300°C), que apresentaram teores de BaP de 0,12 e 0,19 µg/kg, respectivamente, considerados baixos.

A dificuldade em controlar o teor de HPAs de produtos cárneos defumados tem sido destacada por diversos pesquisadores, inclusive pela Comunidade Europeia segundo os Regulamentos nº 1327/2014 e 1255/2020 (CEC, 2014; CEC, 2020; LEDESMA; RENDUELES; DÍAZ, 2016). A CAC/RCP nº 68/2009 do *Codex Alimentarius* apresenta um código de práticas para a redução da contaminação de alimentos por HPAs devido ao processo de defumação e secagem direta estipula que a contaminação por estes contaminantes deve ser minimizada, e sugere dez variáveis a serem controladas (CODEX, 2009). Segundo reportado por Ledesma, Rendueles e Díaz (2016), as três variáveis mais importantes na defumação são temperatura, tipo de invólucro e tipo de defumação.

Segundo o CAC/RCP 68/2009, é conhecido que a substituição da defumação direta pela indireta de alimentos defumados pode reduzir de forma significativa a contaminação por HPAs (CODEX, 2009). Kartalović *et al.* (2022) determinaram as concentrações de 16 HPAs (naftaleno, acenaftileno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, benzo[a]antraceno, criseno, benzo[b]fluoranteno, benzo[k]fluoranteno, benzo[a]pireno, indeno[1,2,3-c,d]pireno, dibenzo[a,h]antraceno e benzo[g,h,i]perileno) em Slavonska Slanin, amostra típica da Croácia. Nas amostras defumadas de forma tradicional e industrial, foram detectados 11 de 16 HPAs, enquanto no método industrial apenas 2 de 16 HPAs, estes com concentrações abaixo do LQ. Os autores também avaliaram as diferentes partes do produto expostas à defumação tradicional, e as concentrações de HPA4 foram: 14,84 µg/kg no meio, 10,60 µg/kg na superfície e 17,37 µg/kg na pele, indicando a maior contaminação na parte exterior, com maior teor de lipídeos.

Merlo *et al.* (2021) estudando a presença de HPA4 em cinco amostras de bacon defumado, uma comercial e quatro preparadas, processadas e defumadas em planta piloto com diferentes madeiras de reflorestamento (*Acacia mearnsii*, *Acacia mangium*, *Mimosa scabrella* e *Eucalyptus sp*) por 60 min a 75°C, verificaram que os hidrocarbonetos BaA e Chr foram os

principais compostos quantificados nas amostras, porém os teores de BaP e HPA4 estavam abaixo dos valores máximos da legislação (CEC, 2011).

Em outro estudo, em que linguças foram defumadas com as mesmas madeiras, acácia e eucalipto, e com tempo/temperatura de defumação semelhantes, apresentaram baixas concentrações de HPAs, com conteúdo de BaP máximo de 0,43 µg/kg (MALARUT; VANGNAI, 2018).

Já Stumpe-Viksna *et al.* (2008) encontraram altos teores de BaP (32,34 µg/kg) em produtos cárneos defumados com madeira macia (espruce) e a explicação foi que a madeira macia contém maior teor de lignina, em comparação com a madeira dura, o que pode resultar no aumento de fumaça e, conseqüentemente, na formação de compostos nocivos.

Quanto ao tipo de invólucro usado nos embutidos, os resultados obtidos por Mastanjević *et al.* (2019) em embutidos defumados indicaram que o teor de HPAs foi menor nas amostras envoltas em tripa de colágeno, em relação à tripa natural. A celulose, como tripa sintética, cria uma espécie de barreira permitindo a menor adsorção de HPAs no produto, sendo que a tripa natural possui característica lipofílica, e assim facilita a permeabilidade dos compostos apolares (MASTANJEVIĆ *et al.*, 2019; ZHU *et al.*, 2022).

1.2.3.2 Influência das técnicas de cocção dos produtos cárneos na contaminação por HPAs

A cocção é considerada um dos principais processos de contaminação dos alimentos por HPAs. Métodos como aquecer, assar, fritar e grelhar inicia a formação de HPAs, aumentando consideravelmente a contaminação quando os alimentos são submetidos a temperaturas que se aproximem de 200°C e expostos a fumaça (KAFOURIS *et al.*, 2020; MOLOGNONI *et al.*, 2019).

Segundo enfatizado por Domingo e Nadal (2017), é essencial conhecer o conteúdo de compostos carcinogênicos em carnes cruas e não processadas antes de avaliar a influência das técnicas de cocção, uma vez que a contaminação pode ocorrer de seu conteúdo original devido à presença destes compostos no ambiente.

Em relação à influência da cocção nos níveis de HPAs nos alimentos, sabe-se que não depende apenas do processo de cocção específico, mas também das características específicas dos alimentos (como o conteúdo de lipídeos), a proximidade com a fonte de calor, o tempo de exposição e ingredientes utilizados durante o preparo do alimento (DOMINGO; NADAL,

2015; HAMIDI *et al.*, 2016; SINGH, AGARWAL, SIMAL-GANDARA, 2022; WONGMANEEPRATIP; VANGNAI, 2017).

No que se refere ao tipo de fonte de calor empregado, métodos que utilizam fonte térmica indireta, colaboram para uma menor formação de HPAs em alimentos. Parks *et al.* (2017) analisaram a influência dos métodos de cocção em carne suína e indicaram que níveis reduzidos de HPAs foram encontrados nos alimentos grelhados em grelha elétrica, indicando que a barreira entre o alimento e a fonte de calor, evitaria a exposição à chama e fumaça geradas pela combustão da gordura derretida de alimentos cárneos, promovendo uma maior contaminação por HPAs. Oz e Yuzer (2016) mostraram que o tempo de cozimento de carne bovina influencia nos níveis de contaminação por HPAs. Bifes grelhados em churrasqueira até 10,5 minutos apresentaram maior formação de HPAs quando comparados a outras amostras submetidas às mesmas condições de processamento térmico, mas com menor tempo de exposição.

Kazerouni *et al.* (2001) analisaram diversos alimentos preparados por diferentes técnicas de cocção em condições controladas e os níveis mais altos de BaP foram encontrados em bifes e hambúrgueres bem cozidos e grelhados. Min, Patra e Shin (2018) verificaram que a formação de HPAs em produtos cárneos aquecidos é mais afetada por mudanças na temperatura do que em relação ao tempo de exposição. Lai *et al.* (2023) indicaram que charque suíno assado em forno a 220°C por 10 min gerou mais 23 HPAs do que o produto preparado a 180°C.

1.2.3.3 Impacto da adição de condimentos na contaminação por HPAs dos produtos cárneos

Como existe uma tendência de aumento de risco ao câncer devido à exposição de humanos a HPAs, torna-se importante encontrar maneiras simples de evitar a formação destes compostos nos alimentos.

O uso de ingredientes, como temperos e vinagre, na carne antes de sua cocção é uma técnica muito utilizada com o objetivo de agregar sabor e aroma ou mesmo trazer maciez ao produto (FARHADIAN *et al.*, 2012). Este preparo prévio do alimento pode influenciar na quantidade de HPAs que podem ser formados, dependendo dos tipos de ingredientes adicionados, uma vez que eles podem agir como inibidores ou aceleradores na formação de alguns compostos carcinogênicos (PAZ *et al.*, 2017).

A formação e inibição de HPAs em diferentes cocções têm sido bem exploradas na literatura. Os resultados dos estudos sobre a aplicação de alguns ingredientes nas carnes e formação de HPAs são apresentados na **Tabela 3**. Alguns estudos, além de avaliar a

concentração e HPAs nos produtos finais, também investigaram o processo de redução de formação, propondo mecanismos e realizando a avaliação conjunta de perfil fenólico, status antioxidante, parâmetros de oxidação lipídica e pH.

Especiarias, assim como alho e cebola, têm sido estimuladas ao uso pelo fato de conterem compostos fenólicos, capazes de desativar os radicais livres (NEVES *et al.*, 2021; PAZ *et al.*, 2017).

A presença de cebola (30 g/100 g de carne) resultou uma diminuição de 60% do total de HPAs, enquanto o alho (15 g/100 g de carne) reduziu a concentração em 54% (JANOSZKA, 2011). Alho e cebola, ambos da família *Allium*, contêm um alto nível de antioxidantes, principalmente organossulfetos, e na cebola está presente também a quercetina, com capacidade antioxidante e propriedades antibacterianas. Os compostos fenólicos, como a alicina (alho) e quercetina (cebola), também podem suprimir as espécies reativas, interagindo com produtos intermediários da oxidação que contribuem para a síntese de HPAs (JANOSZKA *et al.*, 2011; LU; KUHNLE; CHENG, 2018; NEVES *et al.*, 2021).

Segundo relatado por Wongmaneepratip e Vangnai (2017), o óleo de cozinha é adicionado ao produto com a intenção de contribuir para a suculência e a maciez da carne. Lee *et al.* (2020), ao realizar frituras de frango em óleo de soja, indicaram que os ácidos graxos insaturados presentes no óleo promoveram a produção de HPAs. O óleo vegetal pode causar um aumento nos níveis de HPAs no produto devido ao fato da gordura ser o principal precursor destes hidrocarbonetos, em função da característica lipofílica (WONGMANEEPRATIP; VANGNAI, 2017). Além disso, os ácidos graxos insaturados são mais propensos à oxidação e podem formar peróxidos que, por meio de reações de ciclização intramolecular, podem polimerizar e formar monômeros ou dímeros cíclicos, formando assim os HPAs. Por isso a importância da composição dos ácidos graxos na carne, e a atenção aos óleos vegetais adicionados (MIN; PATRA; SHIN, 2018; ZHU *et al.*, 2022).

A adição de óleos e ingredientes alcalinos elevou consideravelmente o conteúdo de HPAs no frango grelhado de acordo com Wongmaneepratip e Vangnai (2017). A carne marinada por 1 h com óleo (palma ou girassol) ou ingredientes alcalinos (bicarbonato de sódio, pH>7,5) elevou a concentração em mais de 70% para o total de HPAs e em 80% para o BaP. A adição dos óleos aumentou os teores de HPAs pesados, especialmente o BbF, e as maiores concentrações foram observadas para BbF (146,5 µg/kg) e BaP (84,6 µg/kg). Os resultados das concentrações de 4 e 16 HPAs em óleo de girassol e palma foram ligeiramente diferentes, embora fosse esperado um nível maior no óleo de girassol. Tal resultado foi relacionado à presença de antioxidantes naturais (especialmente α - e γ -tocoferóis) e sintéticos (como butil-

hidroxianisol BHA, butil-hidróxi-tolueno BHT e terc butil-hidroquinona TBHQ) neste óleo, uma vez que tem como propriedade eliminar os radicais livres.

O pH apresenta efeito na maciez na carne, com mudanças microestruturais que levam ao aumento desta maciez. A ação amaciante pode ser considerada pelo uso de marinadas com ácido fraco (por exemplo, ácido acético, ácido cítrico, ácido láctico etc.) ou com produtos alcalinos (como bicarbonato de sódio, pirofosfato ácido de sódio e hexametáfosfato de sódio), que promovem o amaciamento devido ao inchaço da fibra relacionado ao aumento da capacidade de retenção de água (WONGMANEEPRATIP; VANGNAI, 2017). O uso destes ingredientes deve ser considerado também no que diz respeito à formação de contaminantes como HPAs.

A adição de ingrediente ácido nos marinados reduziu a formação de HPAs. No estudo de Farhadian *et al.* (2012), o tratamento com suco de limão ou tamarindo contendo óleo teve efeitos positivos na diminuição dos HPAs. Neste mesmo trabalho, observou-se que o tempo de duração do marinado (4 a 12 h) não influenciou na formação destes compostos, e o tempo de 4 h foi considerado o adequado para redução.

Cordeiro *et al.* (2020) observaram que lombo de porco borrifado com vinagre grelhado no carvão apresentou redução significativa na formação de HPAs durante o cozimento, e o maior efeito inibitório (cerca de 80%) foi observado com vinagres de sabugueiro e de vinho branco. Desta forma, aconselharam temperar a carne com vinagre de frutas, naturalmente rico em compostos fenólicos, com a intenção de reduzir a formação destes contaminantes na carne grelhada e, assim, limitar a exposição a esses compostos nocivos. Os autores ainda estudaram os mecanismos de inibição dos hidrocarbonetos e destacaram que estes mecanismos foram mais complexos do que apenas a atividade de eliminação de radicais. Foram propostas equações polinomiais de 3º grau para explicar o efeito dos vinagres sobre a formação dos HPAs, e o aumento na complexidade dos modelos de regressão foi justificado pela diversidade da composição dos vinagres, como por exemplo, os diferentes perfis fenólicos, pH e as interações que podem ocorrer entre os componentes da carne e do vinagre.

Zhang *et al.* (2023) indicaram que vinagres fermentados e destilados podem significativamente inibir a formação de BaP em linguças suínas grelhadas. Os vinagres fermentados, ricos em compostos fenólicos, tiveram melhor inibição de BaP, além de melhorar a avaliação sensorial dos produtos (maciez, sabor, suculência e aceitabilidade geral). Os autores sugeriram que mais grupos hidroxila de polifenóis têm melhor inibição de BaP, e que um intermediário da reação de Maillard (hidroximetilfurfural) (0,14–2,34 mg/kg), possivelmente associado à geração de BaP, foi inibido devido à diminuição do pH.

El Badry (2010) também avaliou os tipos de preparo antes da cocção da carne de frango e relação com a formação de HPAs, e o tratamento com marinado preparado (composto de suco de tomate, pasta de alho, cebola, sal e especiarias - cominho, coentro e pimenta do reino) foi o que mais contribuiu na redução, seguido por tratamento com alho e especiarias (cominho, coentro, pimenta do reino e alecrim). Comparando o tratamento prévio realizado apenas com alho e apenas com especiarias, o último indicou ter um maior efeito para a diminuição dos compostos, e foi relacionado a um efeito sinérgico das propriedades antioxidantes da mistura.

Yu *et al.* (2023) avaliaram o efeito de diferentes concentrações de extrato de folha de coentro (*Coriandrum sativum* L.) e extrato de raiz de coentro na formação de oito HPAs em asas de pato. Os alimentos foram marinados a 4°C por 4 h e levados à cocção por 8 min a 15 cm da superfície contendo fonte combustível de bambu. O extrato de raiz teve maior efeito inibitório na formação de oito HPAs, relacionado ao conteúdo de compostos fenólicos. Um total de vinte compostos fenólicos foi identificado na marinada extrato de raiz, entre os predominantes a naringina, o ácido vanílico, o ácido protocatecúico 4-O-glicosídeo e o ácido 3-feruloilquínico, enquanto apenas 16 compostos fenólicos foram detectados na marinada do extrato de folha, entre os quais ácido ferúlico 4-O-glicosídeo, crisina, ácido protocatecúico 4-O-glicosídeo e ácido p-cumárico 4-O-glicosídeo.

Tabela 3 - Ingredientes usados no pré-tratamento, anterior à cocção de produtos cárneos, e impactos na formação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs)

Referência	Produto	Tipo de pré-tratamento	Cocção	HPAs avaliados	Resultado
FARHADIAN <i>et al.</i> (2012)	Carne bovina grelhada	Sete marinados: 1) básico (açúcar, água, cebola, açafrão, capim-limão, sal, alho, coentro e canela), 2) óleo+básico, 3) marinada comercial, 4) suco básico de óleo de limão, 5) suco básico de limão, 6) óleo básico de tamarindo e 7) tamarindo	Grelha a carvão por 8 min até que a cor ficasse marrom amarelada	3 HPAs (fluoranteno, BbF e BaP)	Redução de 47% a 70% nas concentrações de BaP com óleo básico-tamarindo a suco básico de limão
JANOSZKA (2011)	Carne de porco e molhos provenientes dos pratos de carne de porco	Cebola e alho	Diversos incluindo: Fritura a 170°C (tempos diferentes), cozimento com água a 95-98°C, grelha em forno elétrico a 270°C	7 HPAs	A cebola (30/100 g de carne) causou redução 60% na carne e 90% no molho. O alho, redução de 54% na carne e 13,5-79% no molho
WONGMANE EPRATIP; VANGNAI (2017)	Peito de frango	Diferentes tratamentos de marinada por 1h a 4°C antes da cocção, com variação de óleo e pH: controle (água, açúcar, molho ostra, sal, alho, pimenta), marinada de palma (controle + óleo de palma), marinada de girassol (controle + óleo de girassol), marinada ácida (marinada palma+ácido cítrico), marinada básica (palma+bicarbonato)	Grelhado por 3 min/lado em carvão, fonte a 280±10°C, grelha a 350–400°C durante o cozimento.	16 HPAs	Aumento de HPAs em 240% e 198% em adição de óleo de palma e girassol, em relação ao controle. Marinada básica (pH>7,5) aumentou em mais de 70% os HPAs pesados. O BaP aumentou em mais de 80% na marinada básica (pH>7,5)
LU; KUHNLE; CHENG (2018)	Almôndegas de carne bovina e de frango	0,5% de alho, cebola, pimenta vermelha, páprica, gengibre e pimenta-do-reino em pó	Fritura em óleo de girassol em fritadeira a 180°C por 3 min até atingir temperatura central de 71,8–73,1°C	BaA e BaP	Efeito inibitório para BaA em almôndegas de frango. Efeito inibitório para BaP em almôndegas bovinas. Nenhuma diferença entre almôndegas de carne bovina e frango para os HPAs totais

continua

continuação

Referência	Produto	Tipo de pré-tratamento	Cocção	HPAs avaliados	Resultado
WANG <i>et al.</i> (2019)	Asas de frango	Marinadas contendo cervejas e compostos fenólicos	Amostras grelhadas em churrasqueira a 20 cm da brasa por 8 min, viradas a cada 2 min	8	Composto fenólico mais eficaz na redução foi o ácido homovanílico (5,26 ng/g), presente em uma única cerveja, seguido pelo ácido ferúlico (5,42 ng/g) e trolox (5,49 ng/g), no qual os HPA8 foi reduzido em mais da metade em comparação ao controle
CORDEIRO <i>et al.</i> (2020)	Bifes de lombo de porco	Vinagres: vinho branco, vinho tinto, maçã, sabugueiro, maçã com suco de framboesa	Churrasqueira a carvão. Temperatura da grelha em torno de 200°C, temperatura interna mínima de 75°C	16	Vinagre causou a inibição de HPAs. O de sabugueiro exibiu maior inibição (82%), seguido de vinho branco (79%), de vinho tinto e maçã (66%) e de frutas com suco de framboesa (55%)
LAI <i>et al.</i> (2022)	Carne suína moída	Três diferentes meios: a) suco contendo açúcar, molho de soja e água (fórmula padrão). b) suco com 0,5% de canela em pó, c) suco com 0,5% de chá verde em pó	Cozimento em panela de aço inoxidável com tampa aquecida a gás. Após a fervura do suco, adição da carne suína moída crua e aquecimento (90°C) por 2 a 24 h	24	Uso de canela e chá verde não inibiu a formação de HPAs
LAI <i>et al.</i> (2023)	Charque de porco	6 grupos: açúcar+molho de soja (em 4 diferentes proporções), açúcar+molho de soja+canela	Assar em forno a 180 e 220°C, 5 min de cada lado, total de 10 min	22	Adição de açúcar e molho de soja reduziu HPAs. Uso de cúrcuma/canela em pó não teve efeito sobre HPAs
YU <i>et al.</i> (2023)	Asas de pato	Extrato de raiz de coentro e de folha de coentro, em diferentes concentrações	Cocção por 8 min a 15 cm da superfície contendo fonte combustível de bambu	8	A marinada raiz de coentro exibiu maior efeito inibitório na formação de HPAs (65- 87%)

1.2.4 Legislações sobre HPAs em alimentos

No Brasil, legislações referentes aos HPAs são escassas e restrita apenas ao BaP. Os únicos produtos descritos em legislações nacionais que apresentam limites máximos toleráveis de BaP são o óleo de bagaço de oliva (BRASIL, 2022a), a água para consumo humano (BRASIL, 2017b) e o aroma de fumaça (BRASIL, 2007).

O EFSA considerou até 2008 o BaP como único marcador da ocorrência de HPAs, mas foi observado, pela reavaliação desta organização, que 30% das amostras de alimentos que apresentaram baixos valores de BaP tinham níveis significativos de outros carcinogênicos. Por isso, o EFSA passou a recomendar a quantificação de benzo[a]antraceno, benzo[b]fluoranteno, benzo[k]fluoranteno, benzo[g,h,i]perileno, criseno, dibenz[a,h]antraceno e indeno[1,2,3-c,d]pireno, pela sua formação facilitada em alimentos, o que colabora com a identificação de pontos de risco durante o processo de cocção e processamento de alimentos (EFSA, 2008; IARC, 2010, 2012).

A União Europeia, por meio de diversos Regulamentos, apresenta os limites máximos permitidos para BaP e HPA4 para alimentos, incluindo gorduras e óleos comestíveis; grãos de cacau e produtos derivados; carne fumada e produtos à base de carne; peixe fumado e produtos à base de peixe; moluscos bivalves fumados; alimentos processados à base de cereais e alimentos para bebês para lactentes e crianças pequenas; fórmula infantil e fórmula de seguimento; alimentos dietéticos especiais; fibra de cacau e produtos de fibra de cacau; chips de banana; suplementos alimentares contendo própolis, geleia real, espirulina ou suas preparações; ervas secas e especiarias secas, exceto cardamomo, *Capsicum* spp. defumado e aromatizantes de fumaça (CEC, 2011; 2014; 2015; 2020).

O Regulamento nº 835/2011 é a legislação europeia mais completa que define os limites permitidos para diversos produtos (CEC, 2011). Este Regulamento propôs, para carnes e produtos à base de carne defumada, que os valores fossem reduzidos gradativamente no decorrer dos anos. A **Tabela 4** apresenta os valores estipulados para carnes tratadas termicamente, carnes defumadas e produtos (CEC, 2011). Entretanto, certos países membros da União Europeia, apesar da aplicação de boas práticas de defumação, não conseguiram atingir os valores para produtos defumados pelo modo tradicional. Os limites estipulados foram mantidos e o prazo para redução foi prorrogado para 2017, pelo Regulamento nº 1327/2014 (CEC, 2014).

Após o Regulamento de 2014, os Estados Membros da União Europeia passaram a monitorar de forma contínua os níveis de HPAs em produtos defumados de maneira tradicional, implantando inclusive estratégias para melhorar as práticas defumação e redução dos teores de HPAs. Com uma nova avaliação realizada pela CE em 2018, verificou-se que alguns produtos em determinados Estados não conseguiram reduzir os níveis, e então concederam uma extensão indeterminada dos níveis de BaP e HPA4 para 5,0 e 30,0 µg/kg, respectivamente, em produtos cárneos de produção e consumo local (CEC, 2020; SAMPAIO *et al.*, 2021).

Tabela 4 - Níveis máximos para produtos cárneos de acordo com Regulamento nº 835/2011

Alimento	Níveis máximos (µg/kg)	
	BaP	HPA4 (BaA, Chr, BbF e BaP)
Carne defumada e produtos à base de carne defumada	5,0 até 31/8/14 2,0 a partir de 1/9/14	30,0 de 1/9/12 até 31/8/14 12,0 a partir de 1/9/14
Carne e produtos à base de carne tratados termicamente; Espadilhas defumadas (<i>Sprattussprattus</i>); Moluscos bivalves (frescos refrigerados ou congelados)	5,0	30,0

BaA: benzo[a]antraceno; Chr: criseno; BbF: benzo[b]fluoranteno; BaP: benzo[a]pireno

1.2.5 Metodologias para análise dos HPAs em produtos cárneos

A análise de HPAs em produtos alimentícios é desafiadora porque eles existem apenas em nível de traço em muitas matrizes alimentares. A **Tabela 5** apresenta as principais técnicas de análises usadas para produtos cárneos.

A metodologia oficial 973.30 da *Association of Official Analytical Chemistry* (AOAC), indicada para análise de HPAs em alimentos, recomenda a separação por cromatografia em camada delgada e determinação espectrofotométrica no ultravioleta (UV), e apresenta como desvantagens o uso de volumes elevados de solventes e a baixa sensibilidade (AOAC, 2015a). Assim, os ensaios vêm sofrendo modificações visando aumentar a eficiência, usando o mínimo de solventes, com pouca manipulação da amostra e no menor tempo possível (CAMARGO *et al.*, 2011; PURCARO *et al.*, 2012).

Tabela 5 - Métodos utilizados na literatura para análise de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em produtos cárneos

Referência	Saponificação / Extração	Purificação	Quantificação
AOAC (2015a) Método 973.30 - 1974	Saponificação a quente (EtOH-KOH) e ELL com isoctano	CCD	Espectrometria UV
GRIMMER; BOHNKE (1975)	Saponificação (KOH-MeOH) e ELL com DMF:água	Sílica Gel	CG-DIC
CAMARGO (2000)	Saponificação (KOH-MeOH) e ELL com CHX	Sílica Gel	CLAE-FL
DUEDAHL-OLESEN; WHITE; BINDERUP (2006)	Saponificação a quente (KOH-MeOH:água) e ELL com CHX	Sílica Gel	CG-MS
STUMPE-VIKSNA <i>et al.</i> (2008)	Saponificação com KOH em etanol e ELL com CHX	SPE Sílica	CG-MS
PURCARO; MORET; CONTE (2009)	Digestão em micro-ondas e ELL com n-hexano	SPE Sílica	CLAE-FL
MICULIS <i>et al.</i> (2010)	Saponificação a quente (KOH-EtOH), ELL CHX e DMF:água	SPE Sílica	CLAE-FL
WRETLING <i>et al.</i> (2010)	Saponificação a quente (KOH-MeOH) e ELL com CHX	SPE Sílica	CG-MS
ROSEIRO; GOMES; SANTOS (2011)	Saponificação a quente com KOH-MeOH e ELL com n-hexano	SPE Florisil	CLAE-UV-FL
FARHADIAN <i>et al.</i> (2012)	Saponificação com NaOH e adição de terra diatomáceas (refil extrelut)	Coluna Extrelut conectada ao PRS-SPE e Sílica-SPE	CLAE-FL
SKALJAC <i>et al.</i> (2014)	QuEChERS (acetonitrila, sulfato de magnésio, cloreto de sódio)	QuEChERS (C18 + PSA)	CG-MS
AOAC (2015b) Método 2014.08 - 2014	ELL com acetato de etila:água, sulfato de magnésio e NaCl	SPE Sílica	CG-MS
CHATTERJEE <i>et al.</i> (2016)	QuEChERS (acetonitrila, sulfato de magnésio)	QuEChERS (C18 + PSA)	CG-MS/MS
LU; KUHNLE; CHENG (2017)	Saponificação a quente (NaOH-MeOH) e terra diatomáceas	SPE Sílica	CLAE-FL
PARK <i>et al.</i> (2017)	Saponificação a quente (KOH-EtOH) e CHX com n-hexano	SPE Sílica	CG-MS
BOGDANOVIĆ <i>et al.</i> (2019)	Saponificação a quente (KOH-EtOH), ELL com CHX	Coluna de Sílica	CLAE-FL
LEE <i>et al.</i> (2020)	ELL com n-hexano	SPE Sílica	CG-MS
MIRZAZADEH; SADEGHI; BEIGMOHAMMADI (2021)	Saponificação a quente (KOH-MeOH) e ELL com n-hexano e diclorometano (4:1)	SPE de fase normal	CG-DIC
SILVA <i>et al.</i> (2022)	Saponificação a quente (KOH-EtOH) e ELL com n-hexano	SPE Sílica	UPLC-FL
LAI <i>et al.</i> (2023)	QuEChERS (MeCN e ácido acético)	QuEChERS (PSA, MgSO ₄ e C18)	CG-MS/MS
ZHANG <i>et al.</i> (2023)	ELL com diclorometano e n-hexano	SPE Activate Cleanert BaP	CLAE-FL

CCD: cromatografia em cada delgada; CG: cromatografia gasosa; CHX: ciclohexano; CLAE: cromatografia líquida de alta performance; DIC: detector de ionização de chama; DMF: N, N-dimetilformamida; ELL: extração líquido-líquido; EtOH: etanol; FL: detector de fluorescência; KOH: hidróxido de potássio; MeCN: acetonitrila; MeOH: metanol; MS: espectrômetro de massas; MS/MS: espectrômetro de massas triplo quadrupolo; NaOH: hidróxido de sódio; PRS: cartucho de troca catiônica; PSA: amina primária secundária; SPE: cartucho de extração em fase sólida; UPLC: cromatografia líquida de ultra performance; UV: detector de ultravioleta

De acordo com Zelinkova e Wenzl (2015), as impurezas majoritárias em tecidos animais são os lipídeos. Para extrair os HPAs de alimentos cárneos, geralmente são utilizadas quatro etapas: saponificação, extração líquido-líquido (ELL), purificação e quantificação.

Os analitos presentes nas amostras de carnes, que ficam adsorvidos em componentes como proteínas e lipídeos, não são destruídos apenas na presença de MeOH ou com elevação de temperatura. Assim, a saponificação da carne com adição de hidróxido de potássio (KOH) ou sódio (NaOH) faz-se necessária para quebrar tais compostos e tornar os HPAs livres, para posterior separação por ELL com solvente orgânico, como hexano ou ciclohexano (GRIMMER; BÖHNKE, 1975).

Dentre as diversas técnicas usadas na limpeza e purificação dos analitos, os cartuchos de extração em fase sólida (SPE) têm sido empregados como alternativa por apresentarem sensibilidade e rapidez. As fases sorventes mais empregadas são o C18, florisil ou sílica (LU; KUHNLE; CHENG, 2017; MICULIS *et al.*, 2010; PURCARO; MORET; CONTE, 2009). Novas fases têm sido usadas como alternativas na purificação, como os polímeros molecularmente impressos (MIPs), e mais recentemente os QuEChERS que significa rápido, fácil, barato, eficaz, robusto e seguro (do inglês, *Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, and Safe*), mostrando-se promissores para a análise de HPAs devido às vantagens como rapidez e baixo consumo de solventes (CHATTERJEE *et al.*, 2016; PURCARO; MORET; CONTE, 2013; SKALJAC *et al.*, 2014). Em 2014, a *Association of Official Analytical Chemistry* publicou uma metodologia para a determinação de HPAs em peixes, moluscos e camarões usando os princípios QuEChERS (AOAC, 2015b).

Atualmente, metodologias que utilizem menor quantidade de solventes e produtos menos tóxicos estão sendo adotadas, reduzindo o custo das análises e a geração de resíduos químicos. A etapa de purificação é essencial para remoção de impurezas, e o uso de cartucho de extração em fase sólida (SPE) é uma escolha que atende requisitos como sensibilidade e rapidez. Existem vários adsorventes já empregados na análise de HPAs, e para produtos cárneos, que possuem um maior teor de lipídeos. De todos, a sílica é a mais usada, permitindo a retenção dos interferentes e a eluição dos HPAs (PURCARO; MORET; CONTE, 2013).

A técnica QuEChERS, representa um método eficiente que visa simplificar e agilizar os procedimentos de extração e purificação, minimizando custos. Essa técnica inclui a miniaturização e automação das etapas de extração e purificação de vários analitos em diferentes matrizes alimentares, enquanto os métodos convencionais de extração requerem várias etapas e uso de quantidade considerável de solvente e tempo. Especificamente, o método QuEChERS geralmente envolve a extração de analitos com a utilização de acetonitrila (MeCN)

e adição de sal inorgânico (como sulfato de magnésio ou cloreto de sódio), para separar o solvente orgânico da fase aquosa, e a purificação por adição de adsorvente para remover substâncias interferentes por centrifugação. Pode ser usado para avaliação de contaminantes de mais de uma classe por análise multiresíduos (KIM *et al.*, 2019; LAI *et al.*, 2023; PURCARO; MORET; CONTE, 2013).

Para a quantificação dos hidrocarbonetos, têm sido utilizadas como técnicas instrumentais a cromatografia gasosa (CG), com detectores de massa (MS) e de ionização de chama (DIC) (AOAC, 2015b; LI *et al.*, 2016; MIN; PATRA; SHIN, 2018; ROSE *et al.*, 2015; XIA *et al.*, 2010), e a cromatografia líquida (CL), incluindo a cromatografia de alta performance (CLAE) e de ultra performance (UPLC), com detector de fluorescência (FL) e detector de massas com ionização por fotoionização a pressão atmosférica (APPI) (FARHADIAN *et al.*, 2012; JIANG *et al.*, 2015; LU; KUHNLE; CHENG, 2018; LU, KUHNLE; CHENG, 2017; LUNG; LIU, 2015; PURCARO; MORET; CONTE, 2013; SILVA; SAMPAIO; TORRES, 2017; SILVA *et al.*, 2018; ROZENTALE; ZACS; BARTKEVICS, 2019; SILVA *et al.*, 2022; WONGMANEEPRAITIP; VANGNAI, 2017; ZELINKOVA; WENZL, 2015).

A CG combinada com detectores MS é bastante utilizada e tem recebido grande atenção devido à sua maior resolução e detecção de HPAs leves com efeitos de fluorescência baixos, como naftaleno e acenafteno, ou nenhum, como o acenaftileno. O método da AOAC para peixes e produtos sugere o uso de CG-MS, com apresentação de metodologia validada para determinação de 16 HPAs (AOAC, 2015b).

No uso da CL, tanto na CLAE quanto UPLC, a fase móvel mais comum, é um gradiente de MeCN ou metanol (MeOH) em água, em especial na separação de um número maior de HPAs (PURCARO; MORET; CONTE, 2013). A UPLC utiliza partículas menores e possui algumas vantagens em relação à CLAE, como ganhos em resolução, menor tempo de análise, consumo de solventes e custos (SILVA *et al.*, 2022). Quanto aos detectores, explorando a característica de que alguns HPAs emitem naturalmente fluorescência, o detector de fluorescência é bastante explorado, envolvendo absorção e emissão molecular, além de possuir a maior sensibilidade e seletividade. O uso de detector FL em série com UV pode ser uma alternativa para detectar o ciclopenta[c,d]pireno, que não dá origem a fluorescência (PURCARO; MORET; CONTE, 2013). Mas existem desvantagens no uso destes detectores, devido à possibilidade de interferência de outros compostos (LUNG; LIU, 2015).

Nos últimos anos, o uso da CL acoplada ao espectrômetro de massa (MS) para análise de HPAs vem aumentando, com sensibilidade semelhante ao FL. A fonte mais indicada para estes compostos é a fotoionização por ionização à pressão atmosférica (APPI), capaz de ionizar

efetivamente compostos apolares como HPAs. O emprego do triplo quadrupolo tem como vantagens fornecer dois pares de íons precursor/produto, tornando-o interessante para quantificação e confirmação. A técnica de MS para análise de HPAs vem sendo aplicada com frequência em matrizes ambientais e metabólitos biológicos, mas em alimentos ainda é limitada, com algumas poucas aplicações na literatura, mas apresentando resultados promissores (HOLLOSI, WENZL, 2011; LUNG; LIU, 2015; PURCARO; MORET; CONTE, 2013; ROZENTALE; ZACS; BARTKEVICS, 2019; SAMPAIO *et al.*, 2021).

1.2.6 Avaliação da exposição e caracterização do risco para a saúde humana

Sendo um dos processos para a promoção de padrões alimentares seguros, a avaliação de risco é um dos componentes da análise, e tem como intenção a caracterização e a estimativa do potencial efeito adverso à saúde após a exposição a um agente particular por um dado organismo alvo, sistema ou população (JARDIM; CALDAS, 2009).

Existem diversas formas de avaliar os riscos de exposição aos HPAs por meio da ingestão de alimentos. Os riscos carcinogênicos dessas substâncias podem ser estimados pelo cálculo da ingestão diária média dos HPAs, do quociente de equivalência tóxica (TEQ) (em inglês, *toxic equivalency quotients*), exposição dietética diária crônica (em inglês, *exposure estimate*), incremento do risco de câncer (ILCR) (em inglês, *incremental lifetime cancer risk*) ou pela margem de exposição (MOE) (em inglês, *margin of exposure*) (CAMARGO *et al.*, 2011; JIANG *et al.*, 2015; KRAJIAN, 2020; LI *et al.*, 2016; WANG *et al.*, 2021).

Na interpretação do ILCR, a USEPA estimou uma chance de 1 em 1.000.000 (ILCR de 1×10^{-6}) de câncer humano adicional dado um tempo de exposição de 70 anos, assim se $ILCR < 1 \times 10^{-6}$ o risco é insignificante, quando o valor está entre 1×10^{-6} e 1×10^{-4} é considerável um risco aceitável, e se $ILCR \geq 1 \times 10^{-4}$ é considerado grave e, portanto, requer atenção (OTOO *et al.*, 2022; USEPA, 2004).

Para o cálculo da MOE, é usado o limite inferior da dose de referência (BMDL10), um indicador que causa uma incidência de tumor de 10% nos animais de teste e a exposição dietética diária aos HPAs. Os dados do BMDL10 são teóricos, e empregados os valores de 0,49 mg/kg por dia para HPA8, respectivamente.

De acordo com o EFSA, valores de MOE próximos ou inferiores a 1×10^4 são interpretados como preocupação potencial para saúde do consumidor e uma possível necessidade de ação de gerenciamento de risco, enquanto valores superiores a 1×10^6 indicam uma preocupação insignificante (EFSA, 2008).

O método ILCR é bastante empregado para HPAs, mas a literatura indica que este método pode possuir algumas falhas, resultando em baixa precisão. Por exemplo, o fator de equivalência tóxica (TEF, em inglês, *toxicity equivalent factor*) tem limitações nos dados disponíveis, e em uma mistura de hidrocarbonetos haverá baixa previsibilidade do real risco carcinogênico (EFSA, 2008; YAN; LI; WU, 2022). Assim, a *European Food Safety Agency* (EFSA) indicou o uso do MOE para avaliação de risco para HPAs (EFSA, 2008), mas é comum a abordagem dos dois métodos (YAN; LI; WU, 2022; WANG *et al.*, 2021).

Nos últimos anos, a abordagem para avaliação de risco relacionada ao consumo de alimentos tem sido mais explorada. Jiang *et al.* (2015) indicaram um risco potencial à população de Shandong, China, exposta a dieta com diversos óleos vegetais. Xia *et al.* (2010) reportaram que diversas categorias de alimentos resultaram em diferentes contribuições para HPAs, e a exposição variou de acordo com a idade da população e o gênero, com maior contribuição para ingestão de alimentos como trigo, carne de porco e pescado.

Krajian (2020) realizou a estimativa da exposição alimentar de HPAs na Síria e sua avaliação de riscos à saúde para várias categorias de alimentos. Os valores de ILCR variaram de $1,47 \times 10^{-5}$ a $7,77 \times 10^{-8}$, e MOE de 41600 a 53200, para BaP, HPA4 e HPA8, sendo que óleos e gorduras resultaram em maior contribuição, seguidos por carnes e derivados, e vegetais e cereais. A avaliação global indicou baixo risco à saúde para esta população.

Racovita, Secuianu e Israel-Roming (2021), na avaliação de 17 peixes defumados na região da Romênia, nenhuma das amostras analisadas mostrou preocupação significativa e o risco foi considerável como aceitável, com base nas determinações de MOE (entre 0,59 e $30,21 \times 10^{+6}$) e ILCR (entre 0,17 e $16,60 \times 10^{-6}$).

Para Wang *et al.* (2021), os resultados da MOE (para BaP, HPA4 e HPA8) e ILCR (para soma de quinze HPAs) sugeriram que a ingestão de HPAs provenientes de peixes fritos e grelhados não implicaram em preocupação toxicológica significativa para os consumidores em Shandong, China.

Para Duedahl-Olesen *et al.* (2015), que analisaram 203 amostras de carne grelhada comercialmente (bovina, suína, frango, salmão e cordeiro) e 15 amostras grelhadas com tempo e temperatura controlados da Dinamarca, para a maior parte das carnes grelhadas, a MOE de HPA4 foi superior a 10.000, indicando que a ingestão de carne grelhada é de baixa preocupação para a saúde, predominantemente. Considerando o pior cenário, foi possível obter MOE de 7.080 e 8.500 para carne grelhada comercialmente e carne grelhada em casa, respectivamente, assumindo o consumo diário de carne grelhada. No entanto, segundo os autores, acredita-se que

nenhum consumidor esteja exposto a esses níveis, já que a alimentação é composta por diversas fontes alimentares.

Cunha *et al.* (2021) mostraram que o risco de 14 HPAs para a saúde humana por meio do consumo de salmão defumado da região de Barcelona (Espanha) era baixo considerando os resultados de ILCR inferiores a 10^{-6} .

Otoo *et al.* (2022) estudaram carnes de ave defumadas da região de Gana, e verificaram que as amostras irradiadas (2,5 a 7,5 kGy) apresentaram menores teores de HPAs, e os valores de MOE (para HPA4 e HPA8) foram superiores a 10.000, e de ILCR (para HPA4 e HPA8) menores que 1×10^{-4} consideradas seguras para consumo. Os valores de MOE para a amostra controle (0 kGy) ficaram abaixo do BMDL (10.000), indicando sérios efeitos à saúde.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- ✓ Investigar a contaminação por HPAs, incluindo os quatro HPAs prioritários (BaA, Chr, BbF e BaP), em produtos cárneos (carnes bovinas e defumados), tanto nos alimentos prontos para consumo quanto nos submetidos a diferentes técnicas de cocção e preparo, a fim de avaliar possíveis riscos à saúde humana associados ao consumo destes alimentos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Otimizar e validar metodologia analítica para identificar e quantificar nove HPAs em cárneos por cromatografia líquida com detecção por fluorescência;
- ✓ Avaliar a contaminação de produtos cárneos defumados comerciais;
- ✓ Otimizar e validar metodologia analítica para identificar e quantificar quatro HPAs em condimentos por cromatografia líquida com detecção por fluorescência;
- ✓ Avaliar a contaminação de condimentos comerciais;
- ✓ Estudar a influência das técnicas de cocção na formação de HPAs em dois tipos de produtos cárneos, carne bovina e linguiça defumada, bem como parâmetros de temperatura, uso de condimentos (carne bovina) e pré-tratamento em meio ácido (linguiça);
- ✓ Comparar os valores obtidos nas análises com as legislações vigentes dos produtos, quando aplicável;
- ✓ Estimar a ingestão diária dos quatro HPAs, a avaliação da exposição, o incremento do risco de câncer e a margem de exposição presentes nos produtos cárneos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATERIAL

3.1.1 Padrões, reagentes e solventes

Dentre os solventes e reagentes que foram empregados, estão incluídos, como grau analítico: etanol (EtOH), éter etílico, KOH e sulfato de sódio (Na₂SO₄), sulfato de potássio, sulfato de cobre, ácido clorídrico, ácido bórico e reagente de Kjeldal. Foram utilizados os seguintes solventes grau cromatográfico: n-hexano, N, N-dimetilformamida (DMF), metanol e acetonitrila. Água deionizada pelo sistema de purificação Milli-Q (Millipore, Beldford, MA, EUA), filtrada em membrana de nylon de 0,22 µm, também foi utilizada.

Para identificação e quantificação dos HPAs, foram utilizados os seguintes padrões: solução de benzo[a]antraceno (código: 40070), solução de criseno (código: 40074), solução de benzo[b]fluoranteno (código: 40072), solução de benzo[a]pireno (código: 40071), solução mix contendo 16 HPAs recomendados pela Agência de Proteção Ambiental Norte-Americana (EPA) incluindo naftaleno, acenaftileno, acenafteno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno (Pyr), benzo[a]antraceno (BaA), criseno (Chr), benzo[b]fluoranteno (BbF), benzo[k]fluoranteno (BkF), benzo[a]pireno (BaP), indeno[1,2,3-cd]pireno (IcdP), dibenzo[a,h]antraceno (DahA), e benzo[g,h,i]perileno (BghiP) (código 4S8905), todos da marca Supelco (Bellefonte, PA, EUA).

Para os HPA4, foram preparadas soluções individuais, em acetonitrila, na concentração aproximada de 40 µg/mL (para BbF, Chr e BaP) e 36 µg/mL (para BaA), e mantidas em frasco âmbar a -18°C. As soluções de trabalho constituíram em soluções individuais, mix com HPA4 (BaA, Chr, BbF e BaP) e mix contendo dezesseis HPAs (EPA) com concentração de 200 ng/mL em acetonitrila, preparadas a cada necessidade analítica, mantidas a -18°C por no máximo um mês.

3.1.2 Vidrarias

As vidrarias utilizadas foram previamente descontaminadas com etanol, acetona e n-hexano, a fim de não haver qualquer resquício de HPAs oriundos do ar ou da água, sendo elas: balão volumétrico 25 mL, balão volumétrico de 50 mL, béquer de 150 mL, funil de separação de 125 mL, funil, pipetas graduadas de 5 mL, proveta de 10 mL, proveta de 50 mL e tubo de ensaio.

3.1.3 Equipamentos e acessórios

- ✓ Agitador de tubo tipo vortex, modelo Genius 3, marca Gehaka;
- ✓ Balança analítica - capacidade de pesagem $\pm 0,0001\text{g}$, modelo Adventurer, marca Ohaus;
- ✓ Banho-maria com controle de temperatura, marca Nova Técnica;
- ✓ Bloco de extração em fase sólida, marca Supelco;
- ✓ Cartucho de extração em fase sólida (SPE) de C18, 6 mL, 500 mg, marca Agilent;
- ✓ Cartucho de extração em fase sólida (SPE) de sílica, 6 mL, 500 mg, Discovery DSC-Si, marca Supelco (52655-U);
- ✓ Cartucho de extração em fase sólida (SPE) de C18, 6 mL, 500 mg, marca Agilent;
- ✓ Coluna cromatográfica para cromatógrafo a líquido de ultra eficiência, Zorbax Eclipse PAH (100 mm x 2,1 mm x 1,8 μm), marca Agilent (P.N. 959758-918);
- ✓ Concentrador e centrífuga a vácuo, modelo 5301, marca Eppendorf;
- ✓ Cromatógrafo a líquido de ultra eficiência, marca Shimadzu, composto pelos módulos: bomba modelo LC-30AD Nexera, injetor automático modelo SIL-30AC Nexera, degaseificador modelo DGU-20A, forno modelo CTO-20A, detector de fluorescência modelo RF-20A e detector de arranjo de diodos (DAD) modelo SPD-M20A;
- ✓ Estufa (marca Thermo Scientific);
- ✓ Membranas filtrantes de poliéster, 0,20 μm de poro, 15 mm de diâmetro;
- ✓ pHmetro (marca Digimed);
- ✓ Pipeta Pasteur de polipropileno de 3 mL;
- ✓ Pipetador automático (50 μL a 200 μL e 200 μL a 1000 μL);
- ✓ Pré-coluna cromatográfica para cromatógrafo a líquido de ultra eficiência, Eclipse Plus (5 mm x 2,1 mm x 1,8 μm), marca Agilent (P.N.821725-901);
- ✓ Seringas descartáveis de 1 mL;
- ✓ Sistema automatizado de SPE Gilson, modelo GX-274 ASPEC (Gilson Inc., Middleton, WI, USA);
- ✓ Suporte universal;
- ✓ Vials, com capacidade para 2,0 mL, com tampa e septo de teflon/silicone.

3.1.4 Amostras e ingredientes

Os produtos cárneos embutidos foram adquiridos de maneira aleatória no comércio, especialmente da cidade de São Paulo. O Apêndice A apresenta as características das amostras estudadas, que inclui dez categorias de produtos, incluindo: linguiça, presunto, salame, peito de aves, mortadela, hambúrguer, salsicha, bacon, lombo e outros. As amostras foram cortadas em pedaços pequenos, na sua totalidade, trituradas e homogeneizadas em multiprocessador, separadas, armazenadas em embalagens plásticas, protegidas de luz e conservadas em freezer a -18°C até o momento da análise. As análises foram realizadas em duplicata.

Para os tratamentos de cocção, foi realizada a aquisição da carne bovina alcatra em bifes, sem osso, congelados individualmente em embalagens de 900 g, todas do mesmo lote, fabricadas em 09/11/20 em Andradina/SP, com validade 09/11/21.

Também foi adquirida a linguiça mista cozida e defumada tipo fininha, congelada em embalagens de 215 g contendo quatro unidades (gomos), fabricada em 07/01/21 em Bom Retiro do Sul/RS, com validade 07/05/21. Esta linguiça foi selecionada para as técnicas de cocção por ter apresentado previamente elevados teores de HPAs. A escolha da linguiça levou em consideração que este alimento é um dos embutidos mais consumidos pela população brasileira (IBGE, 2020a).

As amostras foram armazenadas em suas embalagens originais, protegidas de luz, em freezer a -18°C até o momento da análise. As amostras que passaram pelo processo de cocção foram pesadas (antes e após cocção), trituradas e homogeneizadas em multiprocessador, acondicionadas em freezer a -18°C em embalagens identificadas, e analisadas no máximo uma semana após a cocção.

Também foram adquiridos diferentes condimentos a granel na cidade de São Paulo para o preparo do tempero da carne e cozimento da linguiça, incluindo cebola em pó (*Allium cepa* L.), alho em pó (*Allium sativum* L.), limão em pó (*Citrus limonium*, contendo ácido cítrico como ingrediente), orégano desidratado (*Origanum vulgare* L.), manjerição desidratado (*Ocimum basilicum* L.), alecrim desidratado (*Rosmarinus officinalis* L.) e sal de cozinha (cloreto de sódio). São condimentos geralmente utilizados nas condições de preparo caseiro dos brasileiros, além de serem recomendados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) para uso no sal de ervas secas em substituição ao sal tradicional (BRASIL, 2014). Todos foram caracterizados para avaliação do teor inicial de HPAs. Ainda foram adquiridos no comércio óleos de soja, que foram usados na cocção.

3.1.4.1 Cocção de produtos cárneos defumados e carne bovina

3.1.4.1.1 Pré-preparo dos produtos cárneos

Quanto à linguiça, metade das amostras foram separada e levada ao pré-tratamento com meio ácido. Cada seis gomos (~320 g) foram colocados em 1,2 L de água fervente contendo 10% de limão em pó, e cozidos por 5 min. A água foi descartada e cada gomo (cerca de 50 g) foi levado individualmente ao tratamento de cocção.

Para a carne bovina, os bifes de alcatra foram cortados em pedaços menores, com aproximadamente 50 g, e as capas de gordura foram retiradas a fim de obter padronização entre as amostras. Metade das amostras foram separadas e levadas ao pré-tratamento com tempero. Para cada 50 g de carne bovina, foram adicionados 0,50 g da mistura de temperos com as seguintes quantidades de cada condimento: cloreto de sódio (0,22 g), limão desidratado (0,08 g), orégano desidratado (0,035 g), alecrim desidratado (0,06 g), manjericão desidratado (0,06 g), alho desidratado (0,025 g) e cebola desidratada (0,025 g). O uso dos ingredientes foi fundamentado nas publicações de Janoszka (2011), Farhadian *et al.* (2012), Brasil (2014) e Wongmaneepratip e Vangnai (2017), com modificações. Os ingredientes foram previamente misturados em um processador, por 2 min, passados em peneira com 16 *mesh*, pesados e acrescentados às carnes imediatamente antes da cocção.

3.1.4.1.2 Tratamento de cocção dos produtos cárneos

As análises e tratamentos de cocção foram realizados no laboratório da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, no Núcleo de Contaminantes Orgânicos do Centro de Contaminantes e no Núcleo de Química, Física e Sensorial do Centro de Alimentos do Instituto Adolfo Lutz.

Tanto a linguiça quanto os bifes foram cortados, divididos e numerados conforme os tratamentos de cocção e as condições de cocção (Apêndice B).

As variáveis do estudo foram:

- a) Uso de tempero (contendo especiarias, sal e limão) para carne bovina, e cozimento em meio ácido para linguiça
- b) Tratamento de cocção
- c) Temperatura de cocção

Os tratamentos de cocção foram fundamentados no trabalho de Trevisan *et al.* (2016) e Carvalho *et al.* (2021), e instruções dos equipamentos, simulando o uso doméstico, e são os mais comumente usados para preparo de carnes pelos brasileiros, conforme descritos a seguir:

- **Cocção 1:** cocção sob calor seco (grelhar) em *Grill* elétrico antiaderente marca Philco, modelo Super Grill Duo, potência de 1500 W, com termopar tipo J (G Controls sistemas Ltda) conectado a indicador digital de temperatura (modelo GC 2109T, G Controls Sistemas Ltda) até que o centro geométrico do alimento atingisse 80 e 100°C.
- **Cocção 2:** cocção sob calor seco (grelhar) em frigideira antiaderente de 21 cm de diâmetro, com termopar tipo J (G Controls sistemas Ltda). Fogão a gás de seis bocas de embutir marca Brastemp, modelo De Ville Clean e chama do fogão mínima. Uso de termopar tipo J (G Controls sistemas Ltda) conectado a indicador digital de temperatura (modelo GC 2109T, G Controls Sistemas Ltda). Quando o centro geométrico do alimento alcançou 30°C, alimento foi trocado de lado a cada 30 s até que atingisse 80 e 100°C.
- **Cocção 3:** cocção sob calor seco (assar) usando forma antiaderente retangular de dimensões 24 x 34 cm em forno de fogão a gás de seis bocas de embutir marca Brastemp, modelo De Ville Clean. Sensor de temperatura mantido entre 150-180°C (valor médio medido de 175°C) e 180-210°C (valor médio medido de 200°C), por 30 minutos. Uso de termopar tipo J (G Controls sistemas Ltda) conectado a indicador digital de temperatura (modelo GC 2109T, G Controls Sistemas Ltda) para conferência de temperatura.
- **Cocção 4:** cocção sob ar quente em fritadeira elétrica (*Air fryer*), marca Mondial, modelo NAF-03 – 4470-12, 3,2 litros, potência 1500W. Pré-aquecida por 5 minutos iniciais com temperatura de 200°C, conforme recomendado no manual do fabricante. Sensor de temperatura do equipamento mantido em 180°C (valor médio medido de 180°C) e em 200°C (valor médio medido de 200°C), por 7 minutos, sendo que na metade do tempo (3,5 min), o alimento foi trocado de lado. Uso de termopar tipo J (G Controls sistemas Ltda) conectado a indicador digital de temperatura (modelo GC 2109T, G Controls Sistemas Ltda) para conferência de temperatura.
- **Cocção 5:** cocção sob calor seco (assar) em grelha disposta em churrasqueira com carvão de eucalipto, distância da carne ao material combustível de 12 cm, com termopar tipo J (G Controls sistemas Ltda) conectado a indicador digital de temperatura (modelo GC 2109T, G Controls Sistemas Ltda). Quando o centro geométrico do alimento alcançou 30°C, alimento foi trocado de lado a cada 2 min até que atingisse 80 e 100°C.

Antes de todos os métodos de cocção, foram acrescentados 0,5 mL de óleo de soja de forma a retratar a cocção doméstica. Cada tratamento foi avaliado em triplicata. Os óleos vegetais de soja (quatro diferentes marcas) foram avaliados previamente quanto aos teores de HPAs, e a amostra com menor concentração usada nos processos de cocção.

Produtos que não passaram pelo cozimento foram usados como controle. As amostras que passaram pelo processo de cocção foram pesadas, homogeneizadas em multiprocessador, acondicionadas em embalagens metalizadas com zíper e seladas a vácuo. Cada unidade foi numerada e identificada com rótulo e estocada a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ até o momento da análise.

3.2 MÉTODOS

3.2.1 Análise dos HPAs

3.2.1.1 Procedimento de extração e limpeza dos HPAs em produtos cárneos

A metodologia foi escolhida após o planejamento experimental da saponificação, testes de otimização da ELL, da purificação por SPE e validação.

Cerca de 2 g de amostra triturada e homogeneizada foram pesados em tubo de vidro e adicionou-se 5 mL de KOH 2M em etanol. A mistura foi colocada previamente no ultrassom por 10 minutos, e em seguida no banho-maria a 40°C por 3 horas. Após resfriar, foram adicionados 5 mL de água deionizada (H_2O) e 10 mL de n-hexano. Depois de alguns segundos, quando as fases orgânica e aquosa estavam completamente separadas, retirou-se a fase orgânica e depositou-se no funil de separação, repetindo-se por mais duas vezes com n-hexano. A esse funil, para limpeza da fase orgânica, foi realizada uma sequência de lavagem com 30 mL de MeOH: H_2O (4:1, v/v), 30 mL de MeOH: H_2O (1:1, v/v) e 30 mL de H_2O , conforme proposto por Wretling *et al.* (2010). A fase aquosa foi então descartada, e a fase orgânica filtrada em Na_2SO_4 , recolhida em bquer e levada à completa evaporação.

Após secagem com nitrogênio, o extrato da amostra foi ressuspendido em 4 mL de MeCN e iniciou-se a fase de limpeza em cartucho de SPE de sílica (6 mL, 500 mg, Discovery DSC-Si, Supelco) em sistema automatizado Gilson GX-274 ASPEC (Gilson Inc., Middleton, WI, USA). O cartucho foi pré-condicionado com 3 mL de MeCN, em seguida foram passados 3 mL do extrato da amostra e por último foi feita uma lavagem com 3 mL de MeCN, com fluxo máximo de 2 mL/min. O extrato final foi colocado em concentrador a vácuo a 30°C até completa

evaporação. O resíduo foi dissolvido em 1 mL de MeCN, sendo posteriormente filtrado em membrana de PTFE 0,22 μm e acondicionado em vials para análise cromatográfica.

Para amostras que apresentaram concentrações acima do limite da curva de calibração, o volume de dissolução foi ajustado a fim de obter resultados dentro da faixa de trabalho.

Como controle laboratorial, periodicamente era analisado um branco analítico (contendo apenas os reagentes e solventes da análise), junto às amostras, para verificar a contaminação dos solventes e água utilizados. Para descontaminação das vidrarias, foram usados para enxague: água deionizada, etanol e n-hexano.

3.2.1.2 Procedimento de extração e limpeza dos HPAs em óleo de soja

O procedimento para extração e purificação dos HPAs foi aquele utilizado em trabalhos anteriores deste mesmo grupo (SILVA *et al.*, 2018). O óleo (500 mg) foi dissolvido em n-hexano e os HPAs foram extraídos com solução de DMF:H₂O (9:1, v/v) em um funil de separação. O extrato combinado foi diluído com água até a proporção de DMF:H₂O (1:2, v/v) e levados para etapa de purificação usando cartuchos de C18 (6 mL, 500 mg) em sistema automatizado (Gilson GX-274 ASPEC). Após etapas de ativação, condicionamento, carregamento da solução contendo HPAs e lavagem, o cartucho de SPE foi seco e os HPAs eluídos com n-hexano. Após completa evaporação, o resíduo foi dissolvido em 500 μL de MeCN, filtrado em membrana de politetrafluoretileno (PTFE) 0,22 μm e coletados em vials para posterior análise cromatográfica.

3.2.1.3 Procedimento de extração e limpeza dos HPAs em condimentos

Para condimentos, a metodologia utilizada foi fundamentada no trabalho de Shang *et al.* (2019), com adaptações de Silva *et al.* (2018). Em cerca de um grama do condimento pesado em tubo de vidro, previamente misturado em processador e passado em peneira com 16 *mesh*, foram adicionados 20 mL de n-hexano. O tubo foi agitado em vortex por 30 s e deixado em repouso no escuro por 24 h. Após este tempo, foi colocado no ultrasonicador por 10 minutos, e então filtrado, sendo a fase orgânica recolhida em béquer e levada à completa evaporação. O extrato foi dissolvido em 5 mL de n-hexano, e seguido pelas etapas de extração com DMF:água (9:1, v/v), purificação em cartucho de extração C18 (6 mL, 500 mg), concentração e acondicionamento do extrato em vial para posterior análise cromatográfica.

3.2.1.4 Condições cromatográficas para análise de HPAs

O procedimento para identificação e quantificação dos HPAs foi fundamentado em trabalhos anteriores do grupo (SILVA *et al.*, 2017, 2018), bem como de referências que avaliaram os HPAs estudados (PURCARO *et al.*, 2012; TFOUNI *et al.*, 2018).

Os padrões e amostras foram analisados em cromatógrafo a líquido de ultra eficiência, marca Shimadzu, com detecção por fluorescência (**Figura 1**). As condições cromatográficas aplicadas foram: temperatura do forno a 30°C, injeção de 2 µL, fluxo: 0,4 mL/min, fase móvel MeCN:H₂O, com gradiente de eluição com gradiente de eluição: 0-0,9 min, 55% MeCN; 0,9-7,0 min, gradiente linear 55-75% MeCN; 7,0-17,0 min, 75% MeCN; 17,0-18,0 min, gradiente linear 75-100% MeCN; 18-23 min, 100% MeCN; retornando às condições iniciais em 27 min, e estabilizando em 34 min. A separação dos compostos ocorreu na coluna Zorbax Eclipse PAH (100 mm x 2,1 mm, 1,8 µm, Agilent), protegida por coluna de guarda (5 mm x 2,1 mm, 1,8 µm, Eclipse Plus, Agilent).

A detecção foi obtida com detector de fluorescência, e os comprimentos de onda de excitação e emissão empregados foram: 270 nm e 390 nm (para Pyr, BaA e Chr), e 290 nm e 430 nm (para BbF, BkF, BaP, IcdP, DahA e BghiP).

Figura 1 - Cromatógrafo a líquido de ultra eficiência (Shimadzu) usado na análise de HPAs



Fonte: Próprio autor (2015)

3.2.1.5 Identificação e quantificação dos HPAs

Os compostos foram identificados pela comparação dos tempos de retenção com padrões individuais dos HPAs, quando disponíveis. Também foi utilizado o trabalho de Purcaro et al. (2012) para verificar a ordem de eluição dos compostos, uma vez que utilizaram a mesma coluna cromatográfica (Zorbax Eclipse PAH, 100 mm x 2,1 mm, 1,8 μ m, Agilent). Os picos foram integrados e quantificados usando software LabSolutions (Shimadzu). A quantificação foi realizada por padronização externa com curva de calibração, construída a partir da injeção de soluções-padrão com concentrações variadas, preparadas em acetonitrila, a partir da solução de trabalho.

3.2.1.6 Planejamento experimental da saponificação

No planejamento experimental, o procedimento estudado foi a saponificação. Os experimentos foram realizados em uma amostra de salame branco (contendo concentrações abaixo do LQ) que, após trituração e homogeneizada, foi pesada (2 g) em recipientes de vidro com tampa e padrão contendo 5 ng/g de cada hidrocarboneto foi adicionado, usando solução mix contendo 200 ng/mL, em acetonitrila. Então, foi adicionada a solução de KOH, e demais etapas foram continuadas, conforme procedimento padrão.

A variável de resposta considerada foi a soma das áreas dos HPA4. O planejamento experimental utilizado foi o fatorial fracionado (2_{III}^{5-2}) com cinco fatores testados em dois níveis (-1 e +1), gerando oito experimentos realizados de forma aleatória em duplicata (CALADO; MONTGOMERY, 2003; NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2007). Para este estudo, os fatores estudados foram: solvente de dissolução do KOH (etanol e metanol), concentração de hidróxido de potássio (2 e 4 M), volume de hidróxido de potássio (5,0 e 10,0 mL), tempo do banho-maria (1 a 3 h) e temperatura do banho-maria (40 e 70°C). Mais informações referentes aos índices constam no item Resultados e Discussão.

3.2.1.7 Validação de metodologia para HPAs

Para verificar as características de desempenho do método, foi realizada a validação de acordo com o acordo com o Guia do Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia (INMETRO, 2020), incluindo os seguintes parâmetros: linearidade, seletividade, exatidão (recuperação), precisão do método (repetitividade e precisão intermediária), limites de detecção

e quantificação. Mais informações referentes aos parâmetros constam no item Resultados e Discussão.

3.2.1.8 Incerteza de medição

A incerteza de medição expandida (U) foi calculada para HPA4 usando os dados de validação (curva analítica e precisão), calibração de balança e pipetador, assim como o efeito da temperatura nas medidas volumétricas, com base no Guia EURACHEM/CIT (ELLISON *et al.*, 2012) e Oliveira *et al.* (2015). O fator de expansão ou cobertura (k) foi obtido com base nos graus de liberdade efetivos (v_{eff}), calculados a partir da fórmula de Welch-Satterthwaite (ELLISON *et al.*, 2012; KIM *et al.*, 2021). A U foi calculada multiplicando o k pela incerteza combinada (u_c). Mais informações referentes aos cálculos de incerteza constam no item Resultados e Discussão.

3.2.2 Análise da composição dos produtos cárneos submetidos a processos de cocção

Para caracterizar os produtos submetidos a diferentes processos de cocção, foram realizados ensaios, em triplicata, dos teores de umidade, lipídeos, proteínas e pH. Os procedimentos aplicados foram os descritos pela AOAC (2012), e para pH em Farhadian *et al.* (2012):

- Umidade: dessecação em estufa a 105°C (Thermo Scientific) até peso constante;
- Lipídeos: extraídos com éter por Soxhlet após secagem prévia da amostra;
- Proteínas: método de Kjeldahl, com a determinação do nitrogênio total utilizando o fator de conversão para proteína de 6,25.
- pH: usando pHmetro marca Digimed, pela medida de uma mistura de 5 g de carne com 45 mL de água destilada.

3.2.3 Perda de massa por cocção dos produtos cárneos submetidos a processos de cocção

As carnes e linguiças foram pesadas em uma balança analítica e as massas determinadas, imediatamente antes e após cocção. A perda de massa foi calculada de acordo com a equação, e expressa em redução percentual:

$$\text{Perda de massa} = (m_{\text{inicial}} - m_{\text{final}}) / (m_{\text{inicial}}) \times 100$$

3.2.4 Avaliação de risco para a saúde humana da ingestão de HPAs em carnes

Alguns indicadores de risco foram usados no estudo, incluindo ingestão diária alimentar, quociente de equivalência tóxica, ILCR e MOE, de acordo com estudos de Ariseto *et al.* (2017), Li *et al.* (2016), Wang *et al.* (2018), Wang *et al.* (2021b), método de avaliação de risco do JECFA (JECFA, 2005), e método de avaliação do EFSA (EFSA, 2008). Também foram utilizados dados antropométricos, de faixa etária e de consumo de alimentos nacionais (IBGE 2010, 2020a, 2020b). Mais informações referentes aos índices constam no item Resultados e Discussão.

3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todos os resultados expressos das análises foram apresentados como média e desvio-padrão. Quando adequado, foram aplicados os testes t de Student e ANOVA como ferramentas estatísticas, usando os programas SPSS®, Statistica (TIBCO Software) e Microsoft Excel.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 PRIMEIRO MANUSCRITO

O primeiro artigo descreve as etapas de otimização e validação de metodologia para determinação de quatro HPAs em salame. Foi publicado no periódico *Food Analytical Methods* (2022). <https://doi.org/10.1007/s12161-022-02414-z>. No Anexo A consta a Folha de rosto do manuscrito publicado, e no Anexo B a autorização para uso do manuscrito na tese.

Quantification of polycyclic aromatic hydrocarbons in commonly consumed salami in Brazil

Simone Alves da Silva^{1,2}, Gustavo Zanetti De Rossi², Marina Missae Ossugui², Adriana Palma de Almeida², Glória Maria Guizellini¹, Geni Rodrigues Sampaio¹, Elizabeth Aparecida Ferraz da Silva Torres^{1*}

¹Department of Nutrition, School of Public Health, University of São Paulo – USP
Avenida Doutor Arnaldo, 715, Cerqueira César, 01246-904, São Paulo, SP, Brazil

²Organic Contaminant Core, Contaminant Centre, Adolfo Lutz Institute

Avenida Doutor Arnaldo, 355, Cerqueira César, 01246-000, São Paulo, SP, Brazil

* eatorres@usp.br

Abstract

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are organic compounds that have been found in different food categories, and meat products can have high concentrations of PAHs, since the technological processes to which they are subjected, such as smoking, can produce several compounds. Considering the risk that these compounds can bring to the population's health, it is essential to develop an accurate and reliable method to evaluate the contamination of PAHs in products of animal origin. The objective of this study was to optimize and validate a method for the quantification of 4 PAHs (benz[a]anthracene, chrysene, benzo[b]fluoranthene, benzo[a]pyrene) in salami. The methodology included saponification, liquid-liquid extraction, solid-phase purification, and quantification by ultra-high performance liquid chromatography. The effects of saponification parameters were investigated by experimental design, whereas the model obtained by regression analysis was considered satisfactory with the dissolution solvent of potassium hydroxide providing the highest global sum of areas. In validation, the parameters studied were adequate and within European and INMETRO Guidelines limits. The evaluation

of 22 samples indicated that 27% were contaminated with at least one of the 4 PAHs, and benz[a]anthracene being the prevalent one with content varying between <1.00 and 17.58 µg/kg. Two samples showed PAHs contamination above the maximum tolerable limit in the European Commission Regulation.

Keywords benzo[a]pyrene, Smoked meat, Chemometric approach, Ultra-high performance liquid chromatography (UHPLC)

4.1.1 Introduction

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) have two or more fused aromatic rings in the structure and have already been identified in at least 200 organic compounds (Domingo and Nadal 2015; Sampaio et al. 2021). They are formed during the incomplete combustion of organic matter (Hamidi et al. 2016).

The PAHs can be present in the food due to environmental contamination (present in air, soil, or water), food processing, and cooking. Among the food categories, meat products were considered to have the highest levels of contamination (Martorell et al. 2010; Wretling et al. 2010; Roseiro et al. 2011; Olatunji et al. 2014; Ledesma et al. 2015). Food processed through charcoal grilling, gas stove grilling and smoking could produce higher levels of PAHs (Chiang et al. 2021).

Salami is a cured type of sausage, generally dry and tough compared to other types of sausage, and can be made with different types of meat, mixed with fat and additives such as salt, spices, sugar, and starter culture. They are stuffed into casings, and dry-cured until they reach the desired consistency (Söllner and Schieberle 2009). They also can be smoked, to give a characteristic flavor and odor, as well as increasing shelf life. However, these processes can contaminate products with PAHs, due to the deposition of compounds in food. The contamination and concentration of PAHs will depend on several factors, including type of smoking (direct, indirect, or the use of liquid smoke), type of fuel (coal or biomass), and smoking conditions (humidity, temperature, time, airflow, and others) (Ledesma et al. 2016; Malarut and Vangnai 2018). Smoked sausages with different woods showed similar appearance, color, and sensory attributes according to Malarut and Vangnai (2018), although the PAHs concentrations were differentiated, reinforcing the importance of continuous monitoring by laboratory analysis to verify PAHs contamination.

In 2008, the Contaminants in Food Chain (CONTAM) of the European Food Safety Authority (EFSA) suggested the evaluation of four PAHs (4 PAHs), including benz[a]anthracene (BaA), chrysene (Chr), benzo[b]fluoranthene (BbF), and benzo[a]pyrene (BaP) in food as indicative of the occurrence of these compounds (EFSA, 2008). Since then, the European Commission (EC) has reported several legislations with 4 PAHs maximum limits and, for smoked meats, Commission Regulation No. 835/2011 establishes levels of 2.0 µg/kg and 12.0 µg/kg for BaP and 4 PAHs, respectively (European Commission 2011a). For some member states of European Union (EU) that could not comply with the limits on traditionally smoked meats, Commission Regulation No. 1255/2020 establishes the BaP and 4 PAHs levels of 5.0 and 30.0 µg/kg, respectively, only for smoked products with local production and consumption (European Commission 2020; Sampaio et al. 2021).

PAHs can affect human health through different harmful implications, which are mostly related to carcinogenesis and mutagenesis in addition to immunosuppressive effects (Domingo and Nadal 2015; Sampaio et al. 2021). The BaP was classified as Group 1, carcinogenic to humans, according to the International Agency for Research on Cancer (IARC), whereas the other PAHs indicated for EU evaluation (BaA, Chr, and BbF) are probable carcinogens to humans, in group 2B (IARC 2010, 2012).

There are some methods for PAHs analysis in food, and the procedure to be chosen must take into account the type of matrix, the amount and variability of interferences, and the sensitivity to be achieved (Singhand Agarwal 2021). For meat products, four steps are often used: saponification, liquid-liquid extraction (LLE), purification, and quantification (Sampaio et al. 2021). The saponification with a base is suggested to break down components such as proteins and lipids, on which PAHs may be adsorbed, for further separation using LLE with organic solvents such as hexane or cyclohexane (Grimmer and Böhnke 1975). For purification, the solid-phase extraction (SPE) is a common technique used with sorbents like silica, C18, florisil, or a mixture removing impure compounds (Barranco et al. 2003; Camargo et al. 2011; Silva et al. 2017; Sampaio et al. 2021) and more recently, solid-phase microextraction (SPME), containing different fibers, and QuEChERS have been used, with the benefits as a quick procedure, solvent-less, low-cost, and possibility of automation (Tfouni et al. 2018; Jalili et al. 2020; Feng et al. 2021; Peng et al. 2022).

Different techniques have been applied for the quantification of PAHs in foods of animal origin. In 1974, the Association of Official Analytical Chemistry (AOAC) recommended thin layer chromatography, ultraviolet spectrometry, and confirmation by spectrophotofluorometry (#973.30; AOAC 2019a). Currently, the authors have used gas chromatography with flame

ionization or mass detectors (Grimmer and Böhnke 1975; Wretling et al. 2010; Olatunji et al. 2014; El Husseini et al. 2018; Puljić et al. 2019; AOAC 2019b) or liquid chromatography (LC). Ultra-high-performance LC (UHPLC) has advantages over high-performance LC (HPLC), such as improved resolution, lower time of analysis, solvent consumption, and cost (Purcaro et al. 2013), and can be coupled to the mass detector (Dong et al. 2015; Mirabelli et al. 2020; De Melo et al. 2022) or to the fluorescence detector (FL), with advantages like higher sensitivity, selectivity, and fluorescence properties of some PAHs (Purcaro et al. 2013; Sampaio et al. 2021). Despite the benefits, the applications of UHPLC-FL for foods are still limited (Silva et al. 2017; Hu et al. 2022).

The alkaline hydrolysis using potassium hydroxide (KOH) in an alcohol solution was first used in the mid-1970s by Fazio et al. (1973), and by Grimmer and Böhnke (1975), and until today it is one of the most widely followed and accepted method for extracting PAHs from food matrix. But it is known that saponification is a critical step since heat can affect the labile PAHs (Singhand Agarwal 2021). Thus, the optimization using experimental designs can be used to evaluate factors and facilitate the interpretation of results. They have several advantages, including a decrease in experiments, analysis time, consumption of samples, and reagents. The two-level full factorial design is generally used to evaluate the important effects in an experiment, however, when the number of factors is large, the use of fractional factorial design is appropriate once the number of experiments becomes smaller (Ferreira et al. 2018).

The aim of this work was to optimize and validate an analytical methodology for the quantification of 4 PAHs (BaA, Chr, BbF, and BaP) in salami. In addition, the differential of this study was the use of fractional factorial design to get the best analytical conditions for saponification, one of the most critical steps of the methodology, as well as the use of UHPLC-FL for quantification of PAHs priority in food. The method was applied in samples commercialized in São Paulo city, Brazil.

4.1.2 Material and methods

4.1.2.1 Materials

Individual standards of PAHs (BaA, Chr, BbF, and BaP) were purchased from Supelco (Bellefonte, PA, USA). A mixed stock standard solution (40-160 ng/mL) from 4 PAHs was prepared in acetonitrile (MeCN) and stored at -18 °C. The reagents and solvents of analytical grade and the highest purity were: KOH (Cromoline, São Paulo, Brazil), ethanol, and sodium

sulfate (Na_2SO_4) (Merck, Darmstadt, Germany). The solvents of HPLC grade were n-hexane, methanol (MeOH) (Merck, Darmstadt, Germany), and MeCN (Loba Chemie, Mumbai, IND). Deionized water (H_2O) was obtained with the Milli-Q purification system (Millipore, Bedford, MA, USA). SPE cartridges with silica sorbent (500 mg, 6 mL, Discovery DSC-Si, Supelco, Bellefonte, PA, USA) were also used.

4.1.2.2 Samples

Eighteen samples, from 14 brands of industrialized and artisanal salami, were purchased in from supermarkets and retail stores in São Paulo city (Brazil) between 2019 and 2021. Of the total, two samples, which indicated of the smoking process on the label, were analyzed separately as meat and casing (skin that covers the salami), to suggest the origin of PAHs contamination. The samples were ground, homogenized, and stored at 4 °C until analysis.

4.1.2.3 Extraction and Purification Method

The methodology for extraction and purification of PAHs was based on studies by Stumpe-Viksna et al. (2008), Wretling et al. (2010), Bogdanović et al. (2019), with modifications. It was chosen after the saponification experimental design and validation.

Aliquots of 2.0 g of ground and homogenized salami were weighed into a glass flask, and 5.0 mL of 2 M ethanolic KOH solution were added. Saponification was achieved keeping at 40 °C in a water bath for 3 h (flask was shaken before for 10 min by ultrasound). After cooling, 5 mL of water and 10 mL of n-hexane were added. The organic phase was transferred into a 125 mL separating funnel, and the extraction was performed twice with 10 mL of n-hexane. The combined extracts were washed with 30 mL MeOH:H₂O (4:1, v/v), 30 mL MeOH:H₂O (1:1, v/v), and 30 mL of water. The cleaned n-hexane phase was filtered in Na_2SO_4 , collected, and concentrated until complete evaporation.

The residue was dissolved in 3 mL of MeCN and cleaned up using the SPE silica cartridges, preconditioned with 3 mL MeCN and eluted with 3 mL MeCN, with a maximum flow of 2 mL/min. The eluate was concentrated on a rotational vacuum concentrator (model 5301, Eppendorf, Hamburg, Germany) at 30 °C, 1,400 rpm until drying. The residue was dissolved in 1 mL of MeCN, filtered through a 0.20 μm polytetrafluoroethylene membrane, and analyzed by UHPLC.

4.1.2.4 Instrumentation

An UHPLC-FL system from Shimadzu (Kyoto, Japan) was used, equipped with degasser in line, automatic injector, quaternary pump, column oven, and fluorescence detector, as well as a Zorbax Eclipse PAH column (100 x 2.1 mm, 1.8 μ m, Agilent, Palo Alto, CA, USA), protected by a guard column (5 x 2.1 mm, 1.8 μ m, Eclipse Plus, Agilent, Palo Alto, CA, USA).

The elution system consisted of a constant flow rate (0.4 mL/min) using a gradient mobile phase A (MeCN) and B (deionized water). The initial mobile phase composition was 65% A and remained constant for 0.9 min, increasing to 75% A for 0.9–7.0 min, maintained for 10 min, then a further increase to 100% A over the next 3 min, maintained for 4 min, returning to the initial conditions. The column temperature was set at 30 °C, and the injection volume was 2 μ L. The excitation and emission wavelengths were 270 and 390 nm (for BaA and Chr, respectively) and 290 and 430 nm (for BbF and BaP, respectively). The data processing and quantification were performed using LabSolutions analysis software (Shimadzu, Kyoto, Japan) (Silva et al. 2018a).

4.1.2.5 Experimental Design

This study was used to evaluate the saponification parameters. The selected criteria were based on our previous tests and different saponification conditions employed by other authors (Duedahl-Olesen et al. 2006; Stumpe-Vīksna et al. 2008; Bogdanović et al. 2019). The experiments were carried out on a blank sample of salami (sample analyzed that showed concentrations of PAHs below the limits of detection) spiked with 5 ng/g of each PAHs and the sum of peak area of 4 PAHs was used to evaluate the efficiency. The factors investigated were: KOH dissolution solvent (X1), KOH concentration (X2), KOH volume (X3), time of water bath (X4), and temperature of the water bath (X5). Low and high levels were: X1 = Ethanol–Methanol, X2 = 2.0 – 4.0 M, X3 = 5.0 – 10.0 mL, X4 = 1 – 3 h, and X5 = 40 – 70°C. The fractional factorial design ($2_{III}^{(5-2)}$) was conducted with eight experiments in duplicate. All statistical analyses were carried out by using the statistical package Statistica 13.4 Software (TIBCO).

4.1.2.6 Validation of Analytical Parameters

The method was validated for 4 PAHs using linearity, selectivity, accuracy (recovery), precision of the method (repeatability and intermediate precision), limits of detection (LOD),

and quantification (LOQ), according to the Guidelines of the Brazilian Institute of Metrology, Quality and Technology (INMETRO 2020). The selectivity was evaluated by adding the PAHs standards, in triplicate, of five different levels in two groups: blank, composed of MeCN, and a salami blank sample. The linearity was determined over the 1.00–15.00 ng/mL range using five levels (for BaA: 2.00, 4.00, 10.00, 15.00, and 20.00 ng/mL; for Chr, BbF, and BaP: 1.00, 2.00, 4.00, 10.00, and 15.00 ng/mL) of concentrations of the PAHs, prepared in MeCN, in triplicates. The recovery consisted of spiking a salami blank sample with five different levels of concentrations, in triplicate, on the same day. For repeatability, the sample was spiked with five different levels of concentrations, and the relative standard deviations (RSD) were determined on the same day. Intermediate precision was carried out with three different levels by two analysts on different days and evaluated by RSD. The LOD and LOQ were calculated, respectively, as three times and ten times the standard deviation obtained from the concentrations of six replicates at the lowest levels of the selectivity assay.

4.1.3 Results and discussion

4.1.3.1 Experimental Design

Regression analysis and ANOVA were used, and the results of the sixteen experiments, to evaluate the method and the significance of the effects and their interactions, are summarized in **Table 1**. All variables were considered significant ($p < 0.05$), with the equation model:

$$Y = 325260.7 - 72174.9 X_1 - 12566.2 X_2 - 53817.7 X_3 - 17495.6 X_4 - 25268.6 X_5 + 11119.4 X_2 X_3 - 18597.2 X_2 X_5$$

where: Y is the sum of the peak areas for the 4 PAHs as a function of: X1: KOH dissolution solvent, X2: KOH concentration, X3: KOH volume, X4: time of the water bath, and X5: temperature of the water bath.

Contour plots were used to evaluate the interactive effect of two variables on response, keeping three fixed (**Fig. 1**). In KOH factors such as dissolution solvent (X1), concentration (X2), or volume (X3), the difference observed between the minimum and maximum levels is distinct. The KOH dissolution solvent had the highest impact on the extraction since its quadratic sum was greater concerning other factors, followed by KOH volume, and temperature of water bath in the saponification (**Table 1**).

The determination coefficient (r^2) was high ($r^2 = 0.998$), indicating a good correlation between the experimental data and the proposed model. In the evaluation of the normality of the residuals, they are random and trend-free.

According to the optimization study, with the optimum results, the experimental conditions chosen for saponification were: KOH dissolution solvent: ethanol; KOH concentration: 2.0 M, KOH volume: 5.0 mL, time of the water-bath: 3 hours, and temperature of the water-bath: 40 °C.

4.1.3.2 Method Validation

The parameters of validation are presented in **Table 2**. For selectivity, the data and equations of the analytical calibration curves obtained between the peak areas and concentrations were evaluated, and the slopes were compared. No discrepant values were observed by the Grubbs test, with 99% confidence. Paired t-test was performed, with 95% confidence, and the slopes were homogeneous between the solvent and the sample, indicating that there is no matrix interference. The equations for the analytical curves of standards in solvent (MeCN) were obtained through linear regression using least squares methods. Outliers were not detected by the Grubbs test, with 99% of confidence limit. The r^2 showed values greater than 0.995.

The recovery values were considered acceptable, ranging from 76.71 to 116.61%, once the performance criteria of analytical methods established the recovery range between 50 to 120% by CEC for PAHs (European Commission 2011b), and values between 70 to 125% are recommended by AOAC with concentrations in levels of $\mu\text{g}/\text{kg}$ (AOAC 2016; INMETRO 2020). The RSDs, both for the repeatability and the intermediate precision, were below 12%, and suitable by the criteria of AOAC (2016), INMETRO (2020), and CEC (European Commission 2011b). The results were similar to those obtained by Silva et al. (2018b) who obtained recoveries between 80-110% and RSD for repeatability lower than 7.64% for 14 PAHs in grilled and smoked muscle food.

The LOD were 0.15 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (for Chr, BbF, and BaP) and 0.30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (for BaA), considered adequate by the EC (European Commission 2011b). The LOQ corresponded to the first points of the calibration curve, and ranged from 0.50 to 1.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$, indicating the sensitivity of the method.

4.1.3.3 PAHs Contamination Levels of Salami Sample

The validated method was applied to commercial salami samples. **Table 3** shows the characteristics of the salami products and PAHs contamination. **Fig. 2** presents the chromatogram obtained through the analysis of the salami samples and PAHs standard. The results indicated that six of the 22 samples (27%) were contaminated with one of the 4 PAHs analyzed. Among these, the most frequent hydrocarbon was BaA, with concentrations ranging from <LOQ to 17.58 µg/kg.

Of 18 salami samples, only one showed the 4 PAHs level (18.51 µg/kg) above the limits established by Regulation No. 835/2011 (European Commission 2011a). Two samples (ID 17 and 18, **Table 3**), which had smoking process information on the label, were analyzed as meat and casing. Both showed higher levels of PAHs in the casing than in the meat, indicating greater contamination on the surface of the food. Sample 17 has the highest contamination for BaP and 4 PAHs (2.34 and 33.84 µg/kg, respectively), higher than permitted by Regulation (European Commission 2011a).

Other studies have also shown that the concentration levels of PAHs are significant in meat products. Duedahl-Olesen et al. (2006), evaluating 45 smoked samples produced in Denmark, showed BaP contents lower than 0.08 µg/kg for salami, bacon, mackerel, and herring. Only one herring sample showed BaP contamination of 3.9 µg/kg.

Manea et al. (2017) analyzed meat products and found the highest amount of BaP (12.9 µg/kg) in the semi-smoked sausages, which could be explained by low water content (56.74%), elevated temperature in smoking (70 °C), and high permeability of natural membranes. The authors also found that the largest amount of PAHs was located on the casing, and their degree of diffusion depended on the smoke humidity and fat content of sausages. In the same study, they found the highest content for the four carcinogens PAHs in dry salami, which was hot smoked, pasteurized, and cold smoked salami.

Dry fermented sausages (Petrovska klobasa) smoked conditions were analyzed by Škaljac et al. (2020), and the content of 13 PAHs was 40.8 µg/kg. The results showed that conditions of the smoking process influenced the increase in contamination levels.

It is suggested that the main cause of the presence of PAHs in meat products is the smoked process (Onopiuk et al. 2021). Salami can be smoked, as by definition it is an embedded meat product, made from pork or mixture (pork and beef), bacon, added with ingredients, embedded in natural or artificial casing skin, cured, smoked or not, fermented, matured and desiccated for the time indicated by the manufacturing process (Brasil 2000). And the smoking technique can

be carried out through different processes, including the traditional smoking process (direct), modern process (indirect), or even the use of smoked aroma, which can lead to different levels of contamination (Zelinkova and Wenzl 2015; Ledesma et al. 2016). Puljić et al. (2019) studied a traditional dry-cured pork meat (hercegovačka pečenica) by different smoking methods, traditional and industrial, and the PAHs values in the traditional procedure were higher than industrial, as well as the surface layer of the samples in traditional conditions had the highest total content. However, in traditional smoking processes, several strategies must be adopted to limit the deposition of PAH, among them the control of the smoking temperature (Carballo, 2021).

Another factor related to PAHs contamination is the use of ingredients used in the preparation of salami, such as spices. The hypothesis is the environmental contamination of the places where the salami was cured since air pollution contains dust and particles that can present high amounts of PAHs, which can deposit on the surface of the food and contaminate them. This factor can therefore be significantly higher, especially near industrial areas and highways (Bansal and Kim 2015).

4.1.4 Conclusions

The fractional factorial design to saponification step for 4 PAHs analysis was performed with few tests, prioritizing costs, generation of chemical residues, and time. The proposed model has significant regression, random residuals, a determination coefficient of 0.998, and KOH dissolution solvent representing the factor with the highest impact on the extraction. The parameters of validation were considered satisfactory, including LOD (0.15–0.30 µg/kg), LOQ (0.05–1.00 µg/kg), linear range (1.00–20.00 ng/mL), recoveries (76.71–116.61%), and repeatability (RSDs, 0.23–10.19%). Analysis of commercial salami indicated that the predominant hydrocarbon was benz[a]anthracene, and two samples (9%) exceeded the European Commission maximum limits, one for BaP and 4 PAHs. The proposed method was considered safe, repeatable, and reliable, and the use of UHPLC added advantages such as lower use of solvents and analysis time, implying a high capacity for PAHs evaluation in several embedded portions of meats. It is suggested that other products, especially food smoked, should be continuously evaluated, to predict the contamination, as well as measure the risk offered to the population's health.

Funding

São Paulo Research Foundation (FAPESP – Brazil) (Proc. No. 2018/19005-6).

Acknowledgements

The authors are grateful for the partnership in project of Adolfo Lutz Institute (IAL) and for the financial support provided by São Paulo Research Foundation (FAPESP – Brazil) (Proc. No. 2018/19005-6).

4.1.5 References

- AOAC – Association of Official Analytical Chemistry (2013). AOAC International. Appendix K: Guidelines for dietary supplements and botanicals – Part I AOAC guidelines for single-laboratory validation of chemical methods for dietary supplements and botanicals. J AOAC Int 1-15. http://www.eoma.aoac.org/app_k.pdf. Accessed 03 March 2022
- AOAC – Association of Official Analytical Chemistry (2016). AOAC International. Appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements. In: Official methods of analysis of AOAC International, 20th edn. AOAC, Gaithersburg
- AOAC – Association of Official Analytical Chemistry (2019a). AOAC Official Method 973.30. Polycyclic aromatic hydrocarbons and benzo[*a*]pyrene in food. In: Official methods of analysis of AOAC International, 21st edn. AOAC, Gaithersburg
- AOAC – Association of Official Analytical Chemistry (2019b) AOAC Official Method 2014.08. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in seafood. In: Official methods of analysis of AOAC International, 21st edn. AOAC, Gaithersburg
- Bansal V, Kim KH (2015) Review of PAH contamination in food products and their health hazards. *Environ Int* 84:26-38. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.06.016>
- Barranco A et al. (2003). Solid-phase clean-up in the liquid chromatographic determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in edible oils. *J Chromatogr A* 988(1):33-40. [https://doi.org/10.1016/s0021-9673\(02\)02059-9](https://doi.org/10.1016/s0021-9673(02)02059-9)
- Bogdanović T et al. (2019). The occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons in fish and meat products of Croatia and dietary exposure. *J Food Compos Anal* 75:49-60. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2018.09.017>
- Brasil. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa nº 22, de 31 de julho de 2000. Aprova os Regulamentos técnicos de identidade e qualidade de copa, de jerked beef, de presunto tipo parma, de presunto cru, de salame,... Diário Oficial da União,

- 03 agosto 2000. <http://www.cidasc.sc.gov.br/inspecao/files/2020/09/IN-MAPA-n%C2%BA-22-de-31-de-julho-de-2000.pdf> Accessed 04 March 2022.
- Camargo MCR, Antonioli PR, Vicente E, Tfouni SAV (2011). Polycyclic aromatic hydrocarbons in Brazilian commercial soybean oils and dietary exposure. *Food Addit Contam Part B Surveill* 4(2): 152-159. <https://doi.org/10.1080/19393210.2011.585244>
- Carballo J (2021). Sausages: nutrition, safety, processing, and quality improvement. *Foods* 10(4):890. <https://doi.org/10.3390/foods10040890>
- Chiang CF, Hsu KC, Tsai TY, Cho CY, Hsu CH, Yang DJ (2021). Evaluation of optimal QuEChERS conditions of various food matrices for rapid determination of EU priority polycyclic aromatic hydrocarbons in various foods. *Food Chem* 334:127471. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127471>
- De Melo APZ et. al (2022). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in seafood by PLE-LC-APCI-MS/MS and preliminary risk assessment of the Northeast Brazil oil spill. *Food Anal Methods* 15:1826-1842. <https://doi.org/10.1007/s12161-022-02252-z>
- Domingo JL, Nadal M (2015). Human dietary exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons: A review of the scientific literature. *Food Chem Toxicol* 86:144-153. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.10.002>
- Dong H, Xian Y, Li H, Wu Y, Bai W, Zeng X (2020). Analysis of heterocyclic aromatic amine profiles in chinese traditional bacon and sausage based on ultrahigh-performance liquid chromatography–quadrupole-orbitrap high-resolution mass spectrometry (UHPLC–Q-Orbitrap-HRMS). *Food Chem* 310:125937. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125937>
- Duedahl-Olesen L, White S, Binderup ML (2006). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in Danish smoked fish and meat products. *Polycycl Aromat Compd* 26(3):163-184. <https://doi.org/10.1080/10406630600760527>
- European Food Safety Authority (EFSA). (2008). Scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain on a request from the European Commission on polycyclic aromatic hydrocarbons in food. *EFSA J* 724:1-114.
- El Husseini M, Makkouk R, Rabaa A, Al Omar F, Jaber F. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH4) in the traditional lebanese grilled chicken: implementation of new, rapid, and economic analysis method. *Food Anal Methods* 11(1):201-214. <https://doi.org/10.1007/s12161-017-0990-3>

- European Commission (2011a) Commission Regulation (EU) No. 835/2011 of 19 August 2011 amending Regulation (EC) No. 1881/2006 as regards maximum levels for polycyclic aromatic hydrocarbons in foodstuffs. Off J Eur Union L215:4.
- European Commission (2011b) Commission Regulation (EU) No. 836/2011 of 20 August 2011 amending Regulation (EC) No. 333/2007 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of lead, cadmium, mercury, inorganic tin, 3-MCPD and benzo[*a*]pyrene in foodstuffs. Off J Eur Union L215:9
- European Commission (2020) Commission Regulation (EU) No. 1255/2020 of 07 September 2020 amending Regulation (EC) No. 1881/2006 as regards maximum levels of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in traditionally smoked meat and smoked meat products and traditionally smoked fish and smoked fishery products and establishing a maximum level of PAHs in powders of food of plant origin used for the preparation of beverages. Off J Eur Union L293, pp.1-4.
- Fazio T, White RH, Howard JW. (1973). Collaborative study of the multicomponent method for polycyclic aromatic hydrocarbons in foods. *J Assoc Off Anal Chem* 56(1):68-70. <https://doi.org/10.1093/jaoac/56.1.68>
- Feng J et al. (2021). Dendritic mesoporous silica nanospheres@ porous carbon for in-tube solid-phase microextraction to detect polycyclic aromatic hydrocarbons in tea beverages. *Food Chem* 364:130379. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130379>
- Ferreira SL et al. (2018). Multivariate optimization techniques in analytical chemistry-an overview. *Microchem J* 140:176-182. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2018.04.002>
- Grimmer G, Böhnke H. (1975). Polycyclic aromatic hydrocarbon profile analysis of high-protein foods, oils, and fats by gas chromatography *J Assoc Off Anal Chem* 58(4):725-733. <https://doi.org/10.1093/jaoac/58.4.725>
- Hamidi EN, Hajeb P, Selamat J, Razis AFA (2016). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and their bioaccessibility in meat: A tool for assessing human cancer risk. *Asian Pac J Cancer Prev* 17(1):15-23. <https://doi.org/10.7314/APJCP.2016.17.1.15>
- Hu Y, Tian H, Hu S, Dong L, Zhang J, Yu X, Han M, Xu X. (2022). The effect of in-package cold plasma on the formation of polycyclic aromatic hydrocarbons in charcoal-grilled beef steak with different oils or fats. *Food Chem* 371:131384. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131384>
- IARC – International Agency for Research on Cancer (2010). Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, overall evaluation of carcinogenicity. Polynuclear Aromatic Compounds, v. 35. IARC, Lyon.

- IARC – International Agency for Research on Cancer (2012). Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, overall evaluation of carcinogenicity. Chemical Agents and Related Occupations, v. 100F. IARC, Lyon.
- INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (2020). Orientação sobre validação de métodos de ensaios químicos, DOQ-CGRE-008, Rev 9. http://www.inmetro.gov.br/credenciamento/organismos/doc_organismos.asp?torganismo=c_alibensaios. Accessed 10 March 2022
- Jalili V, Barkhordari A, Ghiasvand A (2020). Solid-phase microextraction technique for sampling and preconcentration of polycyclic aromatic hydrocarbons: a review. *Microchem J* 157:104967. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2020.104967>
- Ledesma E, Rendueles M, Díaz M (2015). Spanish smoked meat products: benzo[a]pyrene (BaP) contamination and moisture. *J Food Compost Anal* 37:87-94. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2014.09.004>
- Ledesma E, Rendueles M, Díaz M (2016). Contamination of meat products during smoking by polycyclic aromatic hydrocarbons: Processes and prevention. *Food Control* 60:64-87. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.07.016>
- Malarut JA, Vangnai K (2018). Influence of wood types on quality and carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) of smoked sausages. *Food Control* 85:98-106. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.09.020>
- Manea I, Rustad T, Manea L, Coatu V (2017). The evaluation of the aromatic polycyclic hydrocarbons content of meat products obtained by different methods. *Ann Food Sci Technol* 18(2):198-202. <http://www.afst.valahia.ro>. Accessed 10 September 2022
- Martorell I, Perelló G, Martí-Cid R, Castell V, Llobet JM, Domingo JL (2010). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in foods and estimated PAH intake by the population of Catalonia, Spain: temporal trend. *Environ Int* 36(5):424-432. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2010.03.003>
- Mirabelli MF, Zenobi R (2021). Rapid screening and quantitation of PAHs in water and complex sample matrices by solid-phase microextraction coupled to capillary atmospheric pressure photoionization-mass spectrometry. *J Mass Spectrom* 56(1):e4656. <https://doi.org/10.1002/jms.4656>.
- Olatunji OS, Fatoki OS, Opeolu BO, Ximba BJ (2014). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons [PAHs] in processed meat products using gas chromatography–Flame ionization detector. *Food Chem* 156:296-300. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.01.120>

- Onopiuk A et al. (2021). Analysis of factors that influence the PAH profile and amount in meat products subjected to thermal processing. *Trends Food Sci Technol* 115:366-379. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.06.043>
- Peng PL, Lim LH (2022). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) sample preparation and analysis in beverages: a review. *Food Anal Methods* 15:1-20. <https://doi.org/10.1007/s12161-021-02178-y>
- Puljić L, Mastanjević K, Kartalović B, Kovačević D, Vranešević J, Mastanjević K. (2019). The influence of different smoking procedures on the content of 16 PAHs in traditional dry cured smoked meat “Hercegovačka pečenica”. *Foods* 8(12):690. <https://doi.org/10.3390/foods8120690>
- Purcaro G, Moret S, Conte LS (2013). Overview on polycyclic aromatic hydrocarbons: occurrence, legislation, and innovative determination in foods. *Talanta* 105:292-305. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.10.041>
- Roseiro LC, Gomes A, Santos C (2011). Influence of processing in the prevalence of polycyclic aromatic hydrocarbons in a Portuguese traditional meat product. *Food Chem Toxicol* 49(6):1340-1345. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.03.017>
- Sampaio GR et al. (2021). Polycyclic aromatic hydrocarbons in foods: biological effects, legislation, occurrence, analytical methods, and strategies to reduce their formation. *Int J Mol Sci* 22(11):6010. <https://doi.org/10.3390/ijms22116010>
- Silva M, Viegas O, Melo A, Finteiro D, Pinho O, Ferreira IM (2018b). Fast and reliable extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from grilled and smoked muscle foods. *Food Anal Methods* 11(12):3495-3504. <https://doi.org/10.1007/s12161-018-1325-8>
- Silva SA, Sampaio GR, Torres EAFS (2017). Optimization and validation of a method using UHPLC-fluorescence for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in cold-pressed vegetable oils. *Food Chem* 221:809-814. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.098>
- Silva SA, Torres EAFS, de Almeida AP, Sampaio GR (2018a). Polycyclic aromatic hydrocarbons content and fatty acids profile in coconut, safflower, evening primrose and linseed oils. *Food Chem* 245:798-805. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.11.109>
- Singh L, Agarwal T (2021). Comparative analysis of conventional and greener extraction methods and method validation for analyzing PAHs in cooked chicken and roasted coffee. *Food Chem* 364:130440. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130440>
- Škaljac S et al. (2022). Color characteristics and content of polycyclic aromatic hydrocarbons of traditional dry fermented sausages throughout processing in controlled conditions.

- Polycycl Aromat Compd 42(6):3124-3134.
<https://doi.org/10.1080/10406638.2020.1853183>
- Söllner K, Schieberle P (2009). Decoding the key aroma compounds of a Hungarian-type salami by molecular sensory science approaches. *J Agric Food Chem* 57(10):4319-4327.
<https://doi.org/10.1021/jf900402e>
- Stumpe-Vīksna I, Bartkevičs V, Kukāre A, Morozovs A (2008). Polycyclic aromatic hydrocarbons in meat smoked with different types of wood. *Food Chem* 110(3):794-797.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.03.004>
- Tfouni SA, Reis RM, Kamikata K, Gomes FM, Morgano MA, Furlani RP (2018). Polycyclic aromatic hydrocarbons in teas using QuEChERS and HPLC-FLD. *Food Addit Contam: B Surveill* 11(2):146-152. <https://doi.org/10.1080/19393210.2018.1440638>
- Wretling S, Eriksson A, Eskhult GA, Larsson B (2010). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Swedish smoked meat and fish. *J Food Compos Anal* 23(3):264-272.
<https://doi.org/10.1016/j.jfca.2009.10.003>
- Zelinkova Z, Wenzl T (2015). The occurrence of 16 EPA PAHs in food—a review. *Polycl Aromat Compd* 35(2-4):248-284. <https://doi.org/10.1080/10406638.2014.918550>

Table 1 - Analysis of variance for experimental design in saponification of PAHs

Design: 2**(5-2)													
R2=0.99926; Adj=0.99861; MS Pure Error: 143621E+2													
Factor	ANOVA					Effect Estimates							
	SS	df	MS	F	p	Effect	Std. Err. Pure Err	t	p	Coeff.	Std. Err. Coeff.	-95% Cnf. Limt	+95% Cnf. Limt
Mean						325261	947.43	343.31	<0.05	325261.7	947.43	323075.9	327445.5
F1	8.33E+10	1	8.33E+10	5803.30	<0.05	-144350	1894.87	-76.18	<0.05	-72174.9	947.43	-74359.7	-69990.2
F2	2.53E+09	1	2.53E+09	175.92	<0.05	-25132	1894.87	-13.26	<0.05	-12566.2	947.43	-14751.0	-10381.4
F3	4.63E+10	1	4.63E+10	3226.65	<0.05	107635	1894.87	-56.80	<0.05	53817.7	947.43	56002.5	-51632.9
F4	4.90E+09	1	4.90E+09	341.00	<0.05	-34991	1894.87	-18.47	<0.05	-17495.6	947.43	-19680.3	-15310.8
F5	1.02E+10	1	1.02E+10	711.32	<0.05	-50537	1894.87	-26.67	<0.05	-25268.6	947.43	-27453.3	-23083.8
2 by 3	1.98E+09	1	1.98E+09	137.74	<0.05	22239	1894.87	11.74	<0.05	11119.4	947.43	8934.7	13304.2
2 by 5	5.53E+09	1	5.53E+09	385.30	<0.05	-37194	1894.87	-19.63	<0.05	-18597.2	947.43	-20782.0	-16412.4
Pure Error	1.15E+08	8	1.44E+07										
Total SS	1.55E+11	15											

Variable: sum of peak area of 4 PAHs. F1: KOH dissolution solvent, F2: KOH concentration, F3: KOH volume, F4: time of the water-bath, and F5: temperature of the water-bath

Table 2 - Validation parameters for determination of four PAHs in salami

PAHs	t _R (min)	Slope	Intercept	r ²	Linear range (ng/mL)	LOD (µg/kg)	LOQ (µg/kg)	Accuracy and repeatability tests			Intermediate precision
								Spike Level (ng/g)	Recovery (%)	RSD (%)	RSD (%)
BaA	8.3	16651.99	-192.74	0.9964	2.00 - 20.00	0.30	1.00	1.00	116.61	0.78	11.51
								2.00	105.88	1.15	11.56
								5.00	85.70	0.68	2.89
								7.50	80.25	0.42	-
								10.00	83.96	1.43	-
Chr	9.2	9637.37	-968.24	0.9989	1.00 - 15.00	0.15	0.50	0.50	103.19	2.66	-
								1.00	103.52	5.40	5.21
								2.00	105.62	6.55	5.84
								5.00	88.15	1.42	9.56
								7.50	80.65	4.28	-
BbF	13.1	4372.02	-64.47	0.9990	1.00 - 15.00	0.15	0.50	0.50	88.88	10.19	-
								1.00	79.19	0.47	6.27
								2.00	80.68	0.76	3.63
								5.00	76.71	3.06	6.18
								7.50	97.9	4.52	-
BaP	15.5	16591.25	-2664.46	0.9981	1.00 - 15.00	0.15	0.50	0.50	99.74	2.11	-
								1.00	97.32	1.89	9.33
								2.00	83.15	4.65	6.16
								5.00	90.30	0.23	3.73
								7.50	83.68	3.28	-

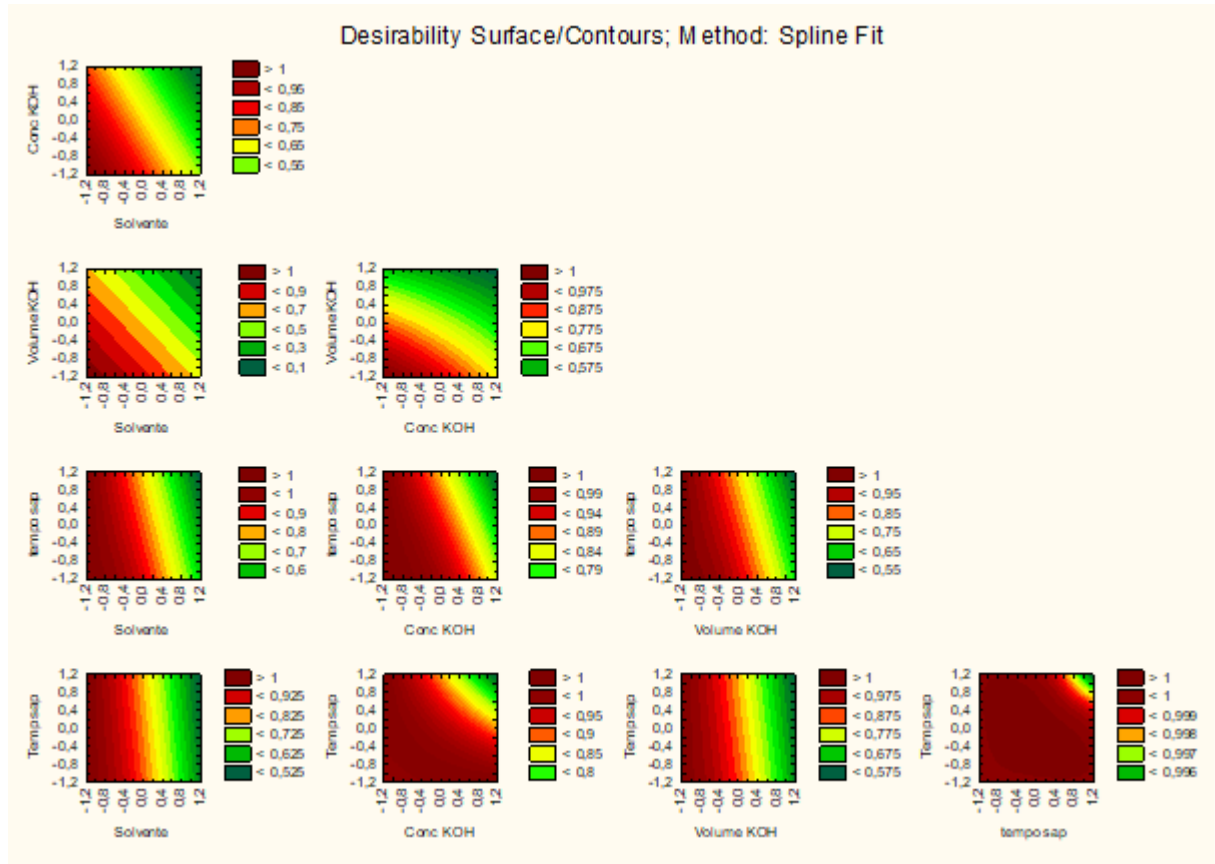
BaA: benz[a]anthracene; Chr: chrysene; BbF: benzo[b]fluoranthene; BaP: benzo[a]pyrene; LOD: limit of detection; LOQ: limit of quantification; RSD: relative standard deviation (n = 3); r²: coefficient of determination; t_R: retention time (min). A commercial sample of salami with concentrations of PAHs below the LOD was used for LOD, LOQ, accuracy, repeatability, and intermediate tests.

Table 3 - PAHs contents ($\mu\text{g}/\text{kg}$) for different commercial salami samples

Sample ID	Product	Meat Source	Manufacturing State of Brazil	Expiration date (Y/M)	Brand	BaA	Chr	BbF	BaP	4 PAHs
1	Salami	Pork	Rio Grande do Sul	2019/12	A	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a
2	Salami	Pork	Rio Grande do Sul	2019/11	F	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a
3	Salami	Pork, beef	São Paulo	2019/11	C	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a
4	Salami	Pork	Rio Grande do Sul	2019/10	D	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a
5	Salami	Pork	Rio Grande do Sul	2019/12	E	1.23 ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a	1.23 ^b
6	Salami	Pork	Rio Grande do Sul	2019/12	G	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a
7	Salami	Pork	Rio Grande do Sul	2019/11	G	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a
8	Salami	Pork, beef	NI	2019/10	H	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a
9	Salami	Pork	Santa Catarina	2019/12	A	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a
10	Salami	NI	NI	2019/10	I	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a
11	Salami	NI	NI	2019/10	D	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a
12	Salami	Pork, beef	Minas Gerais	2019/12	J	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a
13	Salami	Pork	Paraná	2019/11	K	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a
14	Salami	Pork	São Paulo	NI	L	2.77 ^c	13.37 ^d	1.59 ^b	0.78 ^b	18.51 ^d
15	Salami	NI	Mato Grosso do Sul	NI	NI	<LOQ ^a	1.87 ^b	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a
16	Salami	NI	Paraná	NI	NI	1.02 ^a	0.93 ^{ab}	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a
17	Salami	Pork	Rio Grande do Sul	2019/10	B	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a
17	Meat	Pork	Rio Grande do Sul	2019/10	B	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a
17	Casing	Pork	Rio Grande do Sul	2019/10	B	17.58 ^d	9.54 ^c	4.39 ^c	2.34 ^c	33.84 ^c
18	Salami	Pork	São Paulo	NI	L	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a
18	Meat	Pork	São Paulo	NI	L	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a
18	Casing	Pork	São Paulo	NI	L	2.10 ^b	<LOQ ^a	<LOQ ^a	<LOQ ^a	2.10 ^c
Range						<LOQ – 17.58	<LOQ – 13.37	<LOQ – 4.39	<LOQ – 2.34	<LOQ – 33.84

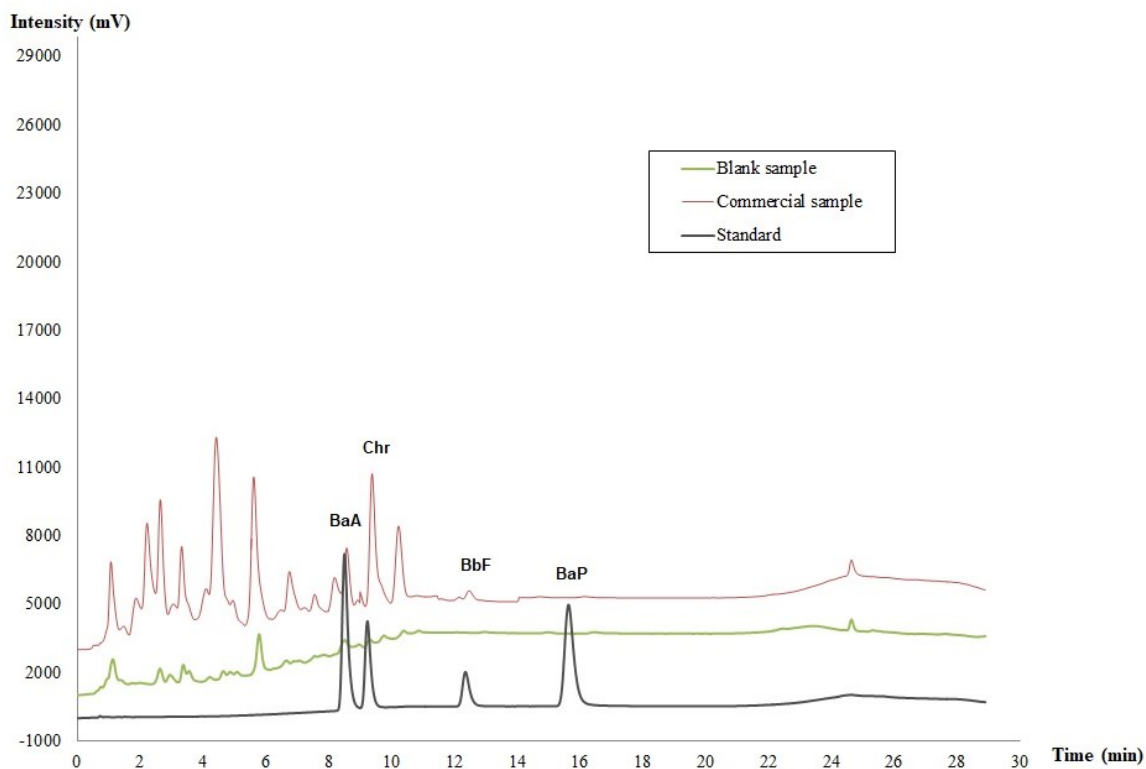
Values expressed as the average of two replicates; <LOQ: below the limit of quantification; BaA: benz[a]anthracene; Chr: chrysene; BbF: benzo[b]fluoranthene; BaP: benzo[a]pyrene; NI: Not identified; Means within the same column with different superscript letters differ significantly ($p < 0.05$)

Figure 1 - Contour plots obtained by fractional factorial planning using the proposed mathematical model



Variable: sum of peak area of 4 PAHs. Factors: potassium hydroxide dissolution solvent, potassium hydroxide concentration, potassium hydroxide volume, time of the water-bath, and temperature of the water-bath

Figure 2 - Overlapping UHPLC-FL chromatograms of three different samples: blank salami sample (Sample ID 1), commercial salami sample (Sample ID 14), and 4 PAHs standard solution (5 ng/mL). Benz[a]anthracene (BaA), chrysene (Chr), benzo[b]fluoranthene (BbF), benzo[a]pyrene (BaP)



4.1.6 Material Complementar

São apresentados os Apêndices C, D e E. No primeiro está apresentada a otimização das condições analíticas para análise dos quatro HPAs em produtos cárneos. No segundo, os resultados complementares do planejamento experimental para a etapa de saponificação em salame. No terceiro, os resultados complementares da validação para análise de HPA4 em salame.

Nos Anexos A e B estão apresentadas folha de rosto do manuscrito publicado no periódico “Food Analytical Methods”, e autorização para uso do manuscrito na tese.

4.2 SEGUNDO MANUSCRITO

O segundo artigo descreve os cálculos de incerteza de medição para os HPA4 em salame. Artigo a ser submetido para periódico após a avaliação da banca examinadora.

Estimativa de incerteza de medição de método para determinação de quatro hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em matriz salame

Resumo

Este artigo apresenta a incerteza associada à medição analítica de quatro hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) no salame. A metodologia analítica incluiu saponificação, extração líquido-líquido, purificação com cartuchos de extração em fase sólida e quantificação por cromatografia líquida com detecção de fluorescência. O Guia EURACHEM/CITAC foi utilizado como base, e dados da validação, bem como informações de calibração e verificação dos instrumentos, equipamentos e calibrações foram empregados. As incertezas consideradas foram: massa da amostra, volume de ressuspensão do extrato seco, concentração obtida (por meio da curva analítica) e precisão do método. Os componentes de incerteza dominantes foram a curva de calibração e a precisão do método. Em relação às concentrações avaliadas, as incertezas expandidas corresponderam ao valor mínimo de 9,1% (para Chr) e máximo de 34,6% (para BaP), inferiores ao critério de 44% do *Codex Alimentarius* e desta forma considerados adequados.

Palavras-chave incerteza de medição; cromatografia em fase líquida; embutido; contaminante.

4.2.1 Introdução

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) são contaminantes carcinógenos que podem ser depositados nos alimentos, tendo como origem a contaminação ambiental, o processamento dos alimentos ou o tratamento térmico. São formados por dois ou mais anéis benzênicos condensados, sendo que já foram identificados mais de 200 compostos (SAMPAIO *et al.*, 2021). Embora estejam presentes no solo, ar e água, a maior exposição ao ser humano é proveniente da dieta, contribuindo entre 88 e 98% da exposição (SINGH; AGARWAL; SIMAL-GANDARA, 2023).

Os HPAs nas células podem ser citotóxicos e causar mutações e carcinoma, e a carcinogenicidade pode variar de acordo com o número de anéis aromáticos e a estrutura destes anéis (KIM *et al.*, 2021). A Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC) classifica alguns HPAs quanto a carcinogenicidade, e o benzo[a]pireno (BaP) foi classificado no Grupo 1, carcinogênico para humanos, enquanto o benzo[a]antraceno (BaA), criseno (Chr) e benzo[b]fluoranteno (BbF) estão no Grupo 2B, possíveis carcinógenos humanos (IARC, 2010, 2012).

A União Européia (UE) estabelece através de Regulamentos a avaliação dos níveis máximos de BaP e HPA4 (BaA, Chr, BbF e BaP) em diversas categorias de alimentos, e produtos defumados apresentam limites de 2,0 e 12,0 µg/kg, respectivamente (CEC, 2011a).

A análise de HPAs em produtos cárneos geralmente envolve quatro etapas: saponificação, extração líquido-líquido (ELL), purificação e quantificação (SAMPAIO *et al.*, 2021; SILVA *et al.*, 2022). Na saponificação, são usadas soluções alcalinas para degradação de proteínas e lipídeos e liberação dos HPAs, em seguida a ELL é realizada para extração dos HPAs, com solventes apolares, e então a etapa de purificação é necessária para retirada de interferentes e limpeza do extrato, com utilização de cartuchos de extração em fase sólida, que vêm sendo amplamente empregados nesta etapa. Para quantificação, a cromatografia líquida (CL) é uma técnica que vem sendo usada na avaliação de HPAs, em especial a CL de ultra eficiência. Dentre os detectores, o de fluorescência apresenta sensibilidade e seletividade suficientes para determinar a maior parte dos HPAs, bem como considera as propriedades de fluorescência dos compostos (CAMARGO *et al.* 2011; PURCARO; MORET; CONTE, 2013; SAMPAIO *et al.* 2021; SILVA *et al.* 2022).

Em todas as etapas da metodologia, há sempre erros sistemáticos e aleatórios que estão envolvidos nas medições analíticas. As estimativas de incerteza são consideradas etapas difíceis, e uma das principais tarefas é identificar as contribuições predominantes (BARRADO-OLMEDO; PÉREZ-PASTOR; GARCÍA-ALONSO, 2012). A incerteza pode ser definida como “um parâmetro não negativo que caracteriza a dispersão dos valores das grandezas atribuídas a um mensurando, com base nas informações utilizadas” (FILIPE *et al.*, 2012; ZHOU *et al.*, 2014). Para estimar a incerteza de medição, o Guia para quantificação de incerteza em medições analíticas do EURACHEM/CITAC *Guide CG4 - Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement* introduziu a abordagem de avaliação que envolve medições replicadas de ensaios, dados de validação de métodos e de acessórios, padrões, vidrarias e equipamentos utilizados, dentre outros fatores (ELLISON *et al.*, 2012).

A contribuição de cada componente de incerteza de um resultado de medição é expressa como incerteza padrão (desvio padrão). As componentes de incerteza podem ser agrupadas em duas, de acordo com o tipo de avaliação: tipo A ou tipo B. A avaliação tipo A é aplicada quando são realizadas observações independentes da grandeza de entrada, com origem das avaliações da precisão e da exatidão de um método, ou seja, medições repetidas (CHOI *et al.*, 2022; OLIVEIRA *et al.*, 2015).

A avaliação tipo B da incerteza é aplicada quando o analista que realiza os ensaios não tem condições de gerar os resultados de determinadas fontes, como por exemplo, de calibração de equipamentos ou massas moleculares, desta forma os dados são fornecidos por certificados, manuais ou literatura. Neste caso, é importante considerar o tipo de distribuição de probabilidade mais adequada, como retangular, triangular e normal (ou gaussiana). Adota-se a distribuição retangular em medições feitas em instrumentos de visualização digital e quando há variações de volume devido à diferença de temperatura; a distribuição triangular em medições realizadas em instrumentos de indicação analógica; e a distribuição normal para dados obtidos em certificados de calibração, em manuais de equipamentos, entre outros (OLIVEIRA *et al.*, 2015).

A incerteza padrão combinada de um mensurando é considerada como a associação da combinação das incertezas padrão das estimativas de entrada, sejam elas correlacionadas ou não. Assim, a incerteza expandida corresponderá ao resultado da incerteza combinada multiplicada por um fator de abrangência (k), que depende do nível de confiança exigido. Ele pode ser calculado a partir dos graus de liberdade efetivos, mas segundo o Guia para quantificação de incerteza em medições analíticas do EURACHEM/CITAC, geralmente é recomendado usar $k=2$ para um nível de confiança de 95,45% para infinitos graus de liberdade. (OLIVEIRA *et al.*, 2015).

Quando disponíveis, materiais de referência certificados devem ser usados, pois consideram estimativas de recuperação e incerteza associada (BARRADO-OLMEDO; PÉREZ-PASTOR; GARCÍA-ALONSO, 2012).

O objetivo deste estudo foi avaliar as principais contribuições de incerteza associadas à medição de quatro HPAs (BaA, Chr, BbF e BaP) em salame.

4.2.2 Material e métodos

4.2.2.1 Amostra

Para cálculo de estimativa de incerteza, foi usada uma amostra de salame comercial adquirida e fabricada na cidade de São Paulo/SP, que apresentava na composição carne de porco como principal ingrediente e com resultados para HPAs acima dos limites de quantificação (LQ).

4.2.2.2 Metodologia para HPAs

Foi utilizado o método validado segundo descrito por Silva *et al.* (2022). Em cerca de 2 g de salame, triturado e homogeneizado, foram adicionados 5 mL de hidróxido de potássio 2M em etanol e levados à saponificação por 3 h a 40°C. À solução fria, foram adicionados 5 mL de água deionizada (H₂O) e os HPAs foram extraídos com três porções de 10 mL de n-hexano. Os extratos de n-hexano foram transferidos para funil de separação e lavados de forma sequencial com alíquotas de 30 mL de metanol (MeOH): MeOH:H₂O (4:1, v/v), MeOH:H₂O (1:1, v/v) e H₂O. O extrato orgânico foi filtrado em sulfato de sódio anidro, recolhido em béquer e levado à secagem completa sob nitrogênio. Os HPAs então foram dissolvidos em 4 mL de acetonitrila (MeCN), e levados a etapa de limpeza usando cartucho de extração em fase sólida de sílica (6 mL, 500 mg, Discovery DSC-Si, Supelco), pré-condicionado com MeCN. O volume foi seco em concentrador a vácuo a 30°C e o extrato diluído em 1 mL de MeCN colocado em vortex por 1 min, filtrado em membrana de politetrafluoretileno (PTFE) 0,22 µm e acondicionado em vial para posterior análise cromatográfica.

Para a quantificação, os HPA foram separados em sistema de cromatografia líquida de ultra eficiência (UPLC), marca Shimadzu, com gradiente de fase móvel constituída por MeCN e H₂O (variando de 65 a 100% de MeCN), vazão de 0,4 mL/min, coluna Zorbax Eclipse PAH (100 mm x 2,1 mm, 1,8 µm, Agilent), protegida por coluna de guarda (5 mm x 2,1 mm, 1,8 µm, Eclipse Plus, Agilent) em forno a 30°C, volume de injeção 2 µL, detecção por fluorescência com comprimentos de onda de excitação e emissão de 270/390 nm (para BaA e Chr) e 290/430 nm (para BbF e BaP).

4.2.2.3 Validação da metodologia para HPAs

A validação da metodologia para determinação dos quatro HPAs foi realizada segundo os parâmetros do INMETRO (2020) e CEC (2011b): linearidade, seletividade, exatidão (recuperação), precisão (repetitividade e precisão intermediária), limites de detecção e quantificação conforme detalhado por Silva *et al.* (2022).

4.2.2.4 Estimativa da Incerteza de Medição

A incerteza de medição foi estimada de acordo com o Guia EURACHEM/CITAC *Guide CG4 - Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement* (ELLISON *et al.*, 2012) e a abordagem apresentada por Oliveira *et al.* (2015), que emprega como base no mesmo guia.

O diagrama de espinha de peixe foi desenhado para mostrar o processo experimental geral e calcular a incerteza de medição.

Neste trabalho, avaliações do tipo A e tipo B foram usadas para estimar esses fatores de incerteza. A avaliação tipo A foi empregada quando os dados foram obtidos a partir de medições repetidas. A avaliação do tipo B foi utilizada quando o relatório do certificado de calibração, resolução ou erro dos aparelhos de medição estavam disponíveis.

Um fator de cobertura ($k = 2$) foi aplicado a um nível de confiança de 95% quando o grau de liberdade era ≥ 10 , de acordo com o método EURACHEM/CITAC (ELLISON *et al.*, 2012; KIM *et al.*, 2021). A incerteza padrão combinada foi obtida a partir da incerteza padrão para cada fator, incluindo os tipos A e B. A incerteza expandida foi finalmente obtida multiplicando o fator de abrangência pela incerteza padrão combinada. O resultado da incerteza foi expresso como concentração medida \pm incerteza expandida.

4.2.3 Resultados e discussão

A equação que representa o cálculo da concentração de cada hidrocarboneto no produto cárneo é dada por:

$$C_{HPAs} = \frac{C_o \times V_{para\ ressuspen\c{a}o}}{m_{amostra}} \cdot precis\c{o} \quad [\mu\text{g}/\text{kg}]$$

Onde:

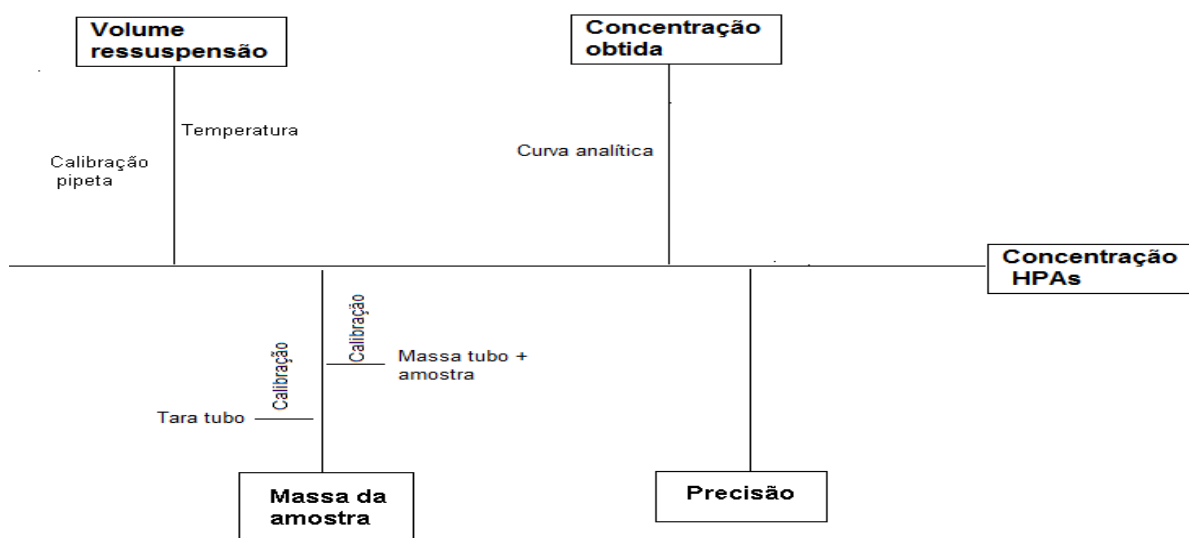
C_o = concentração obtida a partir da curva analítica [ng/mL]

$V_{para\ ressuspen\tilde{s}ao}$ = volume de acetonitrila usado para ressuspender o extrato [mL]

$m_{amostra}$ = massa da amostra de produto cárneo [g]

As fontes de incerteza estão apresentadas no diagrama de espinha de peixe (Diagrama causa e efeito) na **Figura 1**. As incertezas consideradas foram: concentração obtida (por meio da curva analítica), volume de ressuspensão de MeCN, massa da amostra e precisão do método.

Figura 1 - Diagrama de causa e efeito para cálculo de estimativa de incerteza da concentração de HPAs em produto cárneo



Fonte: Próprio autor (2020)

Após as definições, foram realizadas as determinações das incertezas padrão associadas a cada componente.

4.2.3.1 Determinação das incertezas padrão associadas a cada componente

4.2.3.1.1 Massa ($m_{amostra}$)

A massa da amostra de carne foi pesada em um tubo de vidro de 50 mL. Foram realizadas duas pesagens: a primeira do tubo vazio (tara) e a segunda do tubo com amostra, conforme descrito a seguir:

$$m_{amostra} = m_{amostra+tubo} - m_{tara\ tubo}$$

$$m_{amostra} = 2,00\text{ g}$$

Incerteza associada à calibração da balança

O certificado de calibração da balança fornece a incerteza expandida ($U_{cal.bal.}$) de 0,01 g, com fator de abrangência (k) igual a 2. Logo, a incerteza padrão associada pode ser calculada como:

$$u_{cal.bal.} = \frac{U_{cal.bal.}}{k} = \frac{0,01}{2}$$

$$u_{cal.bal.} = 0,0050\text{ g}$$

Incerteza padrão combinada associada à massa da carne

Como existe a pesagem do tubo vazio e do tubo com amostra, a incerteza padrão combinada da massa foi considerada duas vezes:

$$u_{c_{m_{amostra}}} = \sqrt{2 \cdot (u_{cal.bal.})^2}$$

$$u_{c_{m_{amostra}}} = \sqrt{2 \cdot [(0,0050)^2]}$$

$$u_{c_{m_{amostra}}} = 0,0071\text{ g}$$

4.2.3.1.2 Volume para ressuspensão ($V_{ressusp.}$)

O volume de acetonitrila, usado para ressuspensão do extrato, foi 1,0 mL. Para medição deste volume, foi usado um pipetador automático de 1000,0 μL , e as incertezas associadas estavam relacionadas à calibração do pipetador e à influência da temperatura na medição do volume.

Incerteza associada à calibração do pipetador

No certificado de calibração do pipetador, a incerteza expandida ($U_{cal.pipetador}$) era igual a 0,85 μL , com fator de abrangência (k) igual a 2. Então, o cálculo da incerteza padrão associada foi:

$$u_{cal.pipetador} = \frac{U_{cal.pipetador}}{k} = \frac{0,85}{2}$$

$$u_{cal.pipetador} = 0,4250 \mu L$$

Incerteza associada à influência da temperatura no volume do pipetador

A incerteza devido à influência da temperatura foi calculada a partir da estimativa da variação da temperatura e do coeficiente da expansão do volume. No certificado de calibração do pipetador, consta a informação de que a calibração foi realizada a 21,3°C. A temperatura do laboratório, onde o ensaio foi realizado, possui uma média de 24°C, logo a variação de temperatura (ΔT) foi de 2,7°C. Quanto ao coeficiente de expansão do volume (γ), o valor para a MeCN é $1,37 \cdot 10^{-3} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$ (DE VITO; NITRILES, 2007), então a variação de volume foi de:

$$(\Delta V) = V_0 \cdot \gamma \cdot \Delta T$$

$$(\Delta V) = 1000 \times 1,37 \cdot 10^{-3} \times 2,7, \text{ ou seja, } 3,70 \mu L.$$

Considerando a distribuição retangular, com fator de abrangência (k) igual a $\sqrt{3}$, a incerteza padrão associada à influência da temperatura na medição do volume foi dada por:

$$u_{temp.pipetador} = \frac{\Delta V}{\sqrt{3}} = \frac{3,70}{\sqrt{3}}$$

$$u_{temp.pipetador} = 2,1356 \mu L$$

Incerteza padrão combinada associada ao volume para ressuspensão

Combinando as incertezas associadas à calibração e à influência da temperatura na medição do volume, calculou-se a incerteza padrão combinada associada ao volume para ressuspensão:

$$u_{c_r,ressusp.} = \sqrt{(u_{cal.pipetador}^2 + u_{temp.pipetador}^2)} = \sqrt{(0,4250)^2 + (2,1356)^2}$$

$$u_{c_r,ressusp.} = 2,1775 \mu L = 0,0022 mL$$

4.2.3.1.3 Incerteza associada à interpolação da concentração dos hidrocarbonetos na curva analítica

Para obtenção da curva de calibração, como não existe interferência de matriz, o método consiste na diluição de soluções padrão e posterior análise cromatográfica.

O cálculo da incerteza associada à interpolação da concentração de cada hidrocarboneto na curva analítica foi realizado de acordo com a Equação:

$$u(c_o) = \frac{S}{B_1} \sqrt{\frac{1}{p} + \frac{1}{n} + \frac{(c_o - \bar{c})^2}{S_{xx}}}$$

Onde:

B_1 = coeficiente angular da reta

p = número de medições para determinar $C_o = 2$

n = número total de medições das soluções padrão realizadas para construir a curva analítica

\bar{c} = concentração média das soluções padrão usadas para obtenção das curvas analíticas (ng/mL)

C_o = concentração da amostra salame na curva para cada hidrocarboneto, obtida pela média de duas replicatas independentes por meio da curva

O S é calculado por:

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{j=1}^n [A_j - (B_1 \cdot c_j + B_0)]^2}{n - 2}}$$

Onde:

B_0 = coeficiente linear da reta

B_1 = coeficiente angular da reta

A = Área obtida no cromatograma para cada concentração

c = concentração para cada hidrocarboneto (ng/mL)

n = número total de medições das soluções padrão realizadas para construir a curva analítica

O S_{xx} é calculado por:

$$S_{xx} = \sum_{j=1}^n (c_j - \bar{c})^2$$

A **Tabela 1** apresenta os dados usados para cálculo da incerteza associada à concentração dos quatro HPAs na curva analítica.

Tabela 1 - Fontes de incerteza para curva analítica e precisão associadas à concentração de benzo[a]antraceno (BaA), criseno (Chr), benzo[b]fluoranteno (BbF) e benzo[a]pireno (BaP)

		BaA	Chr	BbF	BaP
Curva analítica	Bo	-192,74	-968,24	-64,47	-2664,46
	B1	16651,99	9637,37	4372,02	16591,25
	n	15	15	15	15
	\bar{c} (ng/mL)	10,20	6,40	6,40	6,40
	c_o (µg/kg)	2,77	13,37	1,59	0,78
	p	2	2	2	2
	$u(c_o)$ (µg/mL)	0,337	0,180	0,137	0,255
Precisão	Adição de padrão (µg/kg)	2,0	15,0	2,0	1,0
	Desvio padrão (µg/kg)	0,22	0,26	0,05	0,10
	u_{PI}	0,110	0,035	0,030	0,051

4.2.3.1.4 Precisão

Para cálculo da incerteza padrão associada à precisão intermediária, foram usados os dados da validação para cada hidrocarboneto na concentração referente à amostra de salame, usando a fórmula:

$$u_{PI} = \frac{\text{Desvio padrão}}{\text{Média}}$$

Ainda na **Tabela 1** são apresentados os dados relacionados à precisão intermediária e cálculo da incerteza associada a este parâmetro para cada hidrocarboneto.

Então, os valores das fontes de incertezas relacionados a cada hidrocarboneto foram relacionados e estão descritos na **Tabela 2**. Foram calculadas a incertezas padrão relativas (incerteza padrão dividida pelo valor absoluto do valor medido), que também pode ser representada pela porcentagem de contribuição para a incerteza total, de acordo com a equação:

$$\% \text{ contribuição } x_i = \frac{u \text{ relativa } i}{\Sigma u \text{ relativa } i} \times 100$$

Os resultados das porcentagens de contribuição são apresentados na **Tabela 2**. Verifica-se que as fontes com maior contribuição para a incerteza total foram a precisão do método e a curva analítica (concentração obtida pela curva), sendo a primeira mais representativa para BaA e Chr e a segunda para BbF e BaP.

Tabela 6 - Fontes de incerteza e respectivas porcentagens de contribuição para a incerteza total de cada hidrocarboneto: benzo[a]antraceno (BaA), criseno (Chr), benzo[b]fluoranteno (BbF) e benzo[a]pireno (BaP)

		BaA	Chr	BbF	BaP
Incerteza padrão (u_{xi})	Massa de amostra ($m_{amostra}$) (g)	0,0071	0,0071	0,0071	0,0071
	Volume ressuspensão ($V_{ressusp.}$) (mL)	0,0022	0,0022	0,0022	0,0022
	Concentração obtida $u(c_o)$ (ng/mL)	0,337	0,180	0,137	0,255
	Precisão u_{PI}	0,110	0,035	0,030	0,051
% Contribuição	Massa de amostra ($m_{amostra}$) (g)	2,0	6,6	4,4	1,6
	Volume ressuspensão ($V_{ressusp.}$) (mL)	1,2	4,0	2,8	1,0
	Concentração obtida $u(c_o)$ (ng/mL)	34,4	25,0	55,0	74,3
	Precisão u_{PI}	62,4	64,4	37,8	23,1

4.2.3.2 Determinação das incertezas combinadas e graus de liberdade efetivos

O cálculo da concentração de cada hidrocarboneto foi realizado a partir da equação:

$$C_{HPAs} = \frac{C_o \times V_{para \text{ ressuspensão}}}{m_{amostra}} \cdot \text{precisão} \quad [\mu\text{g/kg}]$$

A equação da incerteza padrão combinada para grandezas não correlacionadas foi simplificada utilizando a regra B (OLIVEIRA *et al.*, 2015), assim a incerteza padrão combinada da concentração de cada hidrocarboneto foi calculada como:

$$\frac{u_{c\text{HPAs}}}{C_{\text{HPAs}}} = \sqrt{\left(\frac{u_{\text{amostra}}}{m_{\text{amostra}}}\right)^2 + \left(\frac{u_{V_{\text{ressusp}}}}{V_{\text{ressusp}}}\right)^2 + \left(\frac{u_{C_o}}{C_o}\right)^2 + \left(\frac{u_{\text{Prec}}}{\text{Prec.}}\right)^2}$$

Os resultados são apresentados na **Tabela 3**.

4.2.3.3 Determinação dos graus de liberdade efetivos e fator de abrangência

Considerando que:

Graus de liberdade para precisão: $(n - 1) = (6 - 1) = 5$;

Graus de liberdade para regressão: $(n - 2) = (15 - 2) = 13$;

Graus de liberdade para todas as outras fontes (tipo B): infinito.

O número de graus de liberdade efetivos é dado pela fórmula de *Welch-Satterthwaite*:

$$v_{\text{eff}} = \frac{u_{c_y}^4}{\sum_{i=1}^n \frac{(c_{x_i} \cdot u_{x_i})^4}{v_i}}$$

Onde:

u_{c_y} = incerteza padrão combinada de y

v_i = graus de liberdade da grandeza de entrada x_i

u_{x_i} = incerteza padrão avaliada da grandeza de entrada x_i

c_{x_i} = coeficiente de sensibilidade em relação à x_i

Assim:

$$v_{\text{eff}} = \frac{(c_{\text{Prec}} \cdot u_{\text{Prec}})^4}{n-1} + \frac{(c_{C_o} \cdot u_{C_o})^4}{n-2} + \frac{u_{c_{\text{BaP}}}^4 (c_{m_{\text{amostra}}} \cdot u_{m_{\text{amostra}}})^4}{\infty} + \frac{(c_{V_{\text{ol.ress.}}} \cdot u_{V_{\text{ol.ress.}}})^4}{\infty}$$

Neste caso, foi necessário calcular o coeficiente de sensibilidade apenas para a precisão e para a regressão da curva analítica; para as outras fontes não houve necessidade, uma vez que as outras parcelas foram divididas por infinito, resultando em um número que tende a zero.

Calculando a derivada parcial da concentração de cada hidrocarboneto em função da precisão (parte 1, azul), tem-se que o coeficiente de sensibilidade para a precisão foi o próprio valor do mensurando, ou seja, corresponde à concentração do hidrocarboneto na amostra.

Calculando a derivada parcial da concentração de cada hidrocarboneto em função da precisão (parte 2, laranja), o coeficiente de sensibilidade para a precisão foi igual a 0,5, de acordo com a fórmula:

$$c_{Co} = \frac{\partial C_{HPA}}{\partial Co} = \frac{1 \times V_{para\ ressuspen\c{a}o}}{m_{amostra}} \times Precis\c{a}o$$

$$c_{Co} = \frac{\partial C_{HPA}}{\partial Co} = \frac{1 \times 1,0}{2,00} \times 1 = 0,5$$

Na **Tabela 3** consta o número de graus de liberdade efetivos (ν_{eff}) para cada composto. Assim, consultando a tabela para fator de abrangência em função do número de graus de liberdade efetivos, apresentada por Oliveira *et al.* (2015), obteve-se o fator de abrangência (k), com um nível de confiança de 95,45%, que também é apresentado na **Tabela 3**.

Tabela 3 - Graus de liberdade efetivo e incerteza total associada à concentração de benzo[a]antraceno (BaA), criseno (Chr), benzo[b]fluoranteno (BbF) e benzo[a]pireno (BaP)

	BaA	Chr	BbF	BaP
$u_{c_{Concentra\c{a}o}}$ (µg/kg)	0,35	0,50	0,08	0,13
ν_{eff}	8	7	49	640
k	2,37	2,43	2,05	2
Concentração (µg/kg)	2,77	13,37	1,59	0,78
U_c (µg/kg)	0,83	1,22	0,17	0,27

4.2.3.4 Determinação da incerteza expandida

A incerteza expandida associada à concentração de cada hidrocarboneto foi obtida multiplicando a incerteza padrão combinada pelo fator de abrangência (k) considerando um nível de confiança de 95,45%.

$$U_{CHPA} = u_{c_{CHPA}} \cdot k$$

Assim, a incerteza expandida correspondeu de 9,1% (para Chr) a 34,6% (para BaP) da concentração estudada. Os valores foram considerados adequados segundo apresentado pelo *Codex Alimentarius* já que para concentração de substância ≤ 100 ppb, a incerteza esperada deve ser inferior a $< 44\%$ (CODEX, 2011).

Choi *et al.* (2022) observaram os efeitos de seis fatores selecionados para incerteza de medição, o que revelou que maior contribuição para a incerteza total foi a curva de calibração, assim como encontrado para BbF e BaP.

Kim *et al.* (2021) apresentaram as seguintes concentrações, incertezas expandidas e porcentagens para amostras de leite e carne: BaA ($9,67 \pm 0,49$ – $10,05 \pm 0,42$ $\mu\text{g}/\text{kg}$, 4,18–5,07%), Chr ($9,80 \pm 0,46$ – $10,41 \pm 0,64$ $\mu\text{g}/\text{kg}$, 4,69–6,15%), BbF ($9,72 \pm 0,51$ – $9,86 \pm 0,46$ $\mu\text{g}/\text{kg}$, 4,67–5,25%), BaP ($10,11 \pm 0,44$ – $10,55 \pm 0,51$ $\mu\text{g}/\text{kg}$, 4,35–4,83%), resultados inferiores aos obtidos neste estudo. Rose *et al.* (2015) indicaram que as incertezas de medição avaliadas para 16 HPAs foram aproximadamente 17% para concentrações de 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$, mas subiram para até 200% em concentrações mais baixas, próximas ao limite de detecção (aproximadamente 0,01 $\mu\text{g}/\text{kg}$).

4.2.4 Conclusões

Os dados da metodologia validada foram usados para cálculo da incerteza de medição em amostra de salame. As principais contribuições de incerteza foram estimadas com base na determinação analítica, análise do material de referência e etapa de extração. As maiores contribuições foram fornecidas pela precisão do método e curva analítica. O valor máximo da incerteza expandida correspondeu ao BaP (34,6% da concentração estudada). Todos os resultados foram considerados adequados segundo o *Codex Alimentarius*.

Financiamento

Este trabalho teve financiamento da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), processo nº 2018/19005-6.

4.2.5 Referências

- BARRADO-OLMEDO, A. I.; PÉREZ-PASTOR, R. M.; GARCÍA-ALONSO, S. An evaluation of uncertainty associated to analytical measurements of selected polycyclic aromatic compounds in ambient air. **Talanta**, v. 101, p. 428-434, 2012.
- CAMARGO, M. C. *et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbons in Brazilian commercial soybean oils and dietary exposure. **Food Additives and Contaminants: Part B**, v. 4, n. 2, p. 152-159, 2011.
- CEC - COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES. Commission Regulation (EC) No. 835/2011, of 19 August 2011. Amending Regulation (EC) No. 1881/2006 as regards maximum levels for polycyclic aromatic hydrocarbons in foodstuffs. **Official Journal of the European Union**, L215/4-L215/8, 2011a.
- CEC - COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES. Commission Regulation (EC) nº 836/2011, of 20 August 2011. Amending Regulation (EC) No. 333/2007 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of lead, cadmium, mercury, inorganic tin, 3-MCPD and benzo(a)pyrene in foodstuffs. **Official Journal of the European Union**, L215/9-L215/16, 2011b.
- CHOI, J. *et al.* Risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons in meat and edible oils: results of a total diet study in South Korea. **Food Science and Biotechnology**, v. 31, n. 12, p. 1523-1535, 2022.
- CODEX - FAO/WHO Codex Alimentarius Commission, CAC/GL 54-2004; Guidelines on Measurement Uncertainty, rev. 1, Rome, 2011. Disponível em: <https://www.fao.org/input/download/standards/10129/CXG_054e.pdf>. Acesso em: 02 jan 2023.
- DE VITO, S. C.; NITRILES. K. O. **Encyclopedia of Chemical Technology**. New York: John Wiley & Sons, 2007. Disponível em: <

<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Acetonitrile#section=Density>>. Acesso em: 16 jan. 2020.

ELLISON, S. L. R. *et al.* **Eurachem/CITAC guide - Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement**. Eurachem, 2012. Disponível em: <<https://eurachem.org/index.php/publications/guides/quam>>. Acesso em: 13 mar. 2022.

FILIFE, E. *et al.* Vocabulário Internacional de Metrologia-Conceitos fundamentais e gerais e termos associados (VIM 2012) -1ª edição luso-brasileira, autorizada pelo BIPM, da 3ª edição internacional do VIM-International Vocabulary of Metrology. **Rio de Janeiro**, 2012.

IARC - International Agency for Research on Cancer. **Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, Overall evaluation of carcinogenicity. Polynuclear Aromatic Compounds**. Lyon: IARC, 2010, v. 35.

IARC - International Agency for Research on Cancer. **Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, Overall evaluation of carcinogenicity. Chemical Agents and Related Occupations**. Lyon: IARC, 2012, v. 100F.

INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (2020). **Orientação sobre validação de métodos de ensaios químicos, DOQ-CGRE-008, Rev 9**. Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/credenciamento/organismos/doc_organismos.asp?torganismo=calibensaios>. Acesso em: 10 mar. 2022.

KIM, H. *et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbons in beverage and dairy products in South Korea: a risk characterization using the total diet study. **Food Science and Biotechnology**, v. 30, n. 7, p. 989-1002, 2021.

OLIVEIRA, C. C. *et al.* **Incerteza de medição em ensaios físico-químicos: uma abordagem prática**. São Paulo: SES/SP, 2015. 140 p. Disponível em: <<http://www.ial.sp.gov.br/ial/publicacoes/livros/incerteza-de-medicao-em-ensaios-fisico-quimicos-uma-abordagem-pratica>>. Acesso em: 16 jan. 2022.

PURCARO, G.; MORET, S.; CONTE, L. S. Overview on polycyclic aromatic hydrocarbons: occurrence, legislation, and innovative determination in foods. **Talanta**, v. 105, p. 292-305, 2013.

- ROSE, M. *et al.* Investigation into the formation of PAHs in foods prepared in the home to determine the effects of frying, grilling, barbecuing, toasting and roasting. **Food and Chemical Toxicology**, v. 78, p. 1-9, 2015.
- SAMPAIO, G. R. *et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbons in foods: Biological effects, legislation, occurrence, analytical methods, and strategies to reduce their formation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 11, p. 6010, 2021.
- SILVA, S. A. *et al.* Quantification of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Commonly Consumed Salami in Brazil. **Food Analytical Methods**, p. 1-11, 2022.
- SINGH, L.; AGARWAL, T.; SIMAL-GANDARA, J. Summarizing minimization of polycyclic aromatic hydrocarbons in thermally processed foods by different strategies. **Food Control**, v. 146, p. 109514, 2023.
- ZHOU, J. L. *et al.* Estimation of uncertainty in the sampling and analysis of polychlorinated biphenyls and polycyclic aromatic hydrocarbons from contaminated soil in Brighton, UK. **Science of the Total Environment**, v. 497, p. 163-171, 2014.

4.3 TERCEIRO MANUSCRITO

O terceiro manuscrito descreve a avaliação da contaminação de quatro HPAs em peito de aves comerciais. Trabalho publicado como capítulo de livro no livro Pesquisa e Atualizações em Ciência dos Alimentos (livro eletrônico), capítulo 36. (2022). ISBN 978-65-995396-5-7. <https://doi.org/10.53934/9786599539657-36>. Livro disponível em: <https://agronfoodacademy.com/9786599539657/>. No Anexo C constam a página de rosto do capítulo de livro, ficha catalográfica e a página do sumário em que consta o capítulo. No Anexo D consta a autorização para uso do capítulo de livro na tese.

Contaminação de amostras de peito de aves defumadas por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

Simone Alves da Silva¹; Adriana Palma de Almeida²; Gustavo Zanetti de Rossi³; Gloria Maria Guizellini⁴; Elizabeth Aparecida Ferraz da Silva Torres⁵; Geni Rodrigues Sampaio⁶

¹Estudante de doutorado da FSP – USP e Pesquisadora do Núcleo de Contaminantes Orgânicos - IAL/SP; E-mail: simone.alves.silva@usp.br, ²Pesquisadora do Núcleo de Contaminantes Orgânicos - IAL/SP; E-mail: adriana.almeida@ial.sp.gov.br, ³Bolsista Fedial do Núcleo de Contaminantes Orgânicos - IAL/SP; E-mail: gzrossi@hotmail.com, ⁴Estudante de doutorado da FSP - USP; E-mail: gloriaguizellini@gmail.com, ⁵Docente do Depto de Nutrição – FSP - USP. E-mail: eatortes@usp.br, ⁶Docente do Depto de Nutrição – FSP - USP. E-mail: genirs@usp.br.

Resumo

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) podem ser encontrados em produtos cárneos defumados e, devido aos efeitos altamente tóxicos que podem causar no organismo humano, o monitoramento em produtos alimentícios é fundamental. O objetivo deste estudo foi avaliar os teores de quatro HPAs em produtos de aves defumados, incluindo chester, frango e peru. Os procedimentos analíticos empregados foram saponificação, extração líquido-líquido e purificação com cartuchos de extração em fase sólida de sílica. A quantificação foi realizada por cromatografia líquida de ultra eficiência com detecção por fluorescência. Os resultados mostraram que o hidrocarboneto encontrado com maior frequência foi o criseno e apenas uma amostra de peito de peru foi considerada insatisfatória, com teores dos quatro HPAs acima do preconizado na legislação.

Palavras-chave: contaminantes, cromatografia líquida, produtos cárneos

4.3.1 Introdução

Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) são compostos com dois ou mais anéis aromáticos fundidos em sua estrutura. Estes são formados a partir da combustão incompleta de matéria orgânica, como madeira, carvão, óleo, gás ou alimentos, permanecendo nas cadeias tróficas e perpetuando a contaminação de alimentos (1). Os HPAs são classificados de acordo com o número de anéis e grau de solubilidade: os HPAs leves (até quatro anéis) são mais voláteis e hidrofílicos, e os HPAs pesados (mais de quatro anéis) apresentam maior estabilidade química, estrutura lipofílica e maior toxicidade, contribuindo para sua permanência no meio ambiente e em tecidos ricos em lipídeos (2,3).

Os alimentos são as principais fontes de contaminação por HPAs para os seres humanos não fumantes, contribuindo para a carcinogenicidade e a mutagenicidade de células humanas de acordo com a Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC) (4,5). Para o controle das fontes de contaminação alimentar por HPAs, o Regulamento da Comissão da União Europeia (UE) determinou a avaliação de quatro HPAs, benzo[a]pireno (BaP), benzo[b]fluoranteno (BbF), criseno (Cri) e benzo[a]antraceno (BaA), em alimentos, visto suas toxicidades e carcinogenicidades já comprovadas (6).

Carnes de aves estão amplamente distribuídas na alimentação da população brasileira. Como mostrou a mais recente Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF 2017-2018) (7), este tipo de proteína de origem animal corresponde a 47,4 g/dia do consumo per capita da população, atrás apenas do consumo de carne bovina, 59,8 g/dia. Porém, quando associados os consumos de carnes de aves, preparações à base de aves e embutidos, estes valores ultrapassam o per capita de carne bovina.

O consumo de alimentos embutidos a base de aves vem sendo uma opção alimentar associada à saudabilidade, devido a menor presença de lipídeos nestes produtos. A fim de melhorar o sabor, a cor e a textura, a maior parte dos embutidos passa por processo de defumação, tornando mais palatáveis e atrativos ao consumo. Os produtos podem ser expostos a dois diferentes métodos de defumação, direto e indireto. No processo direto, os alimentos são expostos à fumaça formada devido à queima parcial do combustível, e variáveis como temperatura, tipo de combustível (diferentes madeiras), umidade e tempo de defumação podem

ser fatores que elevam a contaminação dos alimentos por HPAs, expondo os consumidores aos efeitos deletérios destes contaminantes (8).

Considerando o consumo frequente e elevado de embutidos contendo carnes de aves, avaliar a contaminação destes produtos é de extrema importância, já que a presença destes compostos nos alimentos pode afetar diretamente a saúde da população. Assim, este estudo teve como objetivo identificar e quantificar os quatro HPAs (BaP, BBF, Cri e BaA) em carnes de aves defumadas comerciais (chester, frango e peru).

4.3.2 Material e métodos

Foram analisadas 10 amostras de peito de aves adquiridas no comércio da cidade de São Paulo, incluindo: um peito de chester, quatro peitos de frango e cinco peitos de peru. As amostras foram trituradas, separadas, armazenadas em embalagens plásticas, protegidas de luz e conservadas em freezer até o momento da análise.

Em dois gramas da amostra foram adicionados 5 mL de hidróxido de potássio etanólico 2M e a mistura foi colocada no ultrasonicador e banho-maria a 40°C por 3 horas. Após resfriar, foram adicionados 5 mL de água (H₂O) e 10 mL de n-hexano. A fase orgânica foi retirada e a extração realizada por mais duas vezes com n-hexano. Realizou-se uma sequência de limpeza da fase orgânica, com 30 mL de metanol (MeOH):H₂O (4:1, v/v), 30 mL de MeOH:H₂O (1:1, v/v) e 30 mL de H₂O. A fase contendo n-hexano foi filtrada em sulfato de sódio anidro, para retirada de água residual, e levada à completa evaporação.

O extrato seco foi ressuspendido em 4 mL de acetonitrila (ACN) e iniciou-se a fase de limpeza do extrato usando cartucho de extração em fase sólida (SPE) de sílica (6 mL, 500 mg, Discovery DSC-Si, Supelco), fundamentando-se no estudo de Bogdanović et al (9). O cartucho foi pré-condicionado com 3 mL de ACN, em seguida foram passados 3 mL do extrato da amostra e por último foi feita uma lavagem com 3 mL de ACN, com fluxo máximo de 2 mL/min. O procedimento de limpeza foi realizado em sistema automatizado de SPE (Gilson GX-274 ASPEC, Gilson Inc., Middleton, WI, EUA). O extrato final foi colocado em concentrador a vácuo a 30°C até completa evaporação. O resíduo foi dissolvido em 1 mL de ACN, filtrado em membrana de PTFE 0,22 µm e acondicionado em vial para análise cromatográfica.

Os quatro HPAs, benzo[a]antraceno (BaA), criseno (Cri), benzo[b]fluoranteno (BbF) e benzo[a]pireno (BaP) foram identificados e quantificados por cromatografia líquida de ultra

eficiência (UPLC) com detecção por fluorescência, marca Shimadzu, segundo método de Silva et al (10). As condições cromatográficas aplicadas foram: temperatura do forno 30°C, injeção automática 2 µL, fluxo 0,4 mL/min, fase móvel ACN:H₂O, com gradiente de eluição: 0-0,9 min, 65% ACN; 0,9-7 min, gradiente linear 65-75% ACN; 7-17 min, 75% ACN; 17-20 min, gradiente linear 75-100% ACN; 20-24 min, 100% ACN; retornando às condições iniciais. A separação dos compostos ocorreu na coluna Zorbax Eclipse PAH (100 mm x 2,1 mm, 1,8 µm, Agilent), protegida por coluna de guarda (5 mm x 2,1 mm, 1,8 µm, Eclipse Plus, Agilent). Os comprimentos de onda de excitação e emissão empregados foram: 270 nm e 390 nm (para BaA e Cri) e 290 nm e 430 nm (para BbF e BaP). O tempo de análise foi de 27 min. Os compostos foram identificados pela comparação dos tempos de retenção com padrões individuais dos HPAs. Os picos foram integrados e quantificados usando software LabSolutions (Shimadzu). A quantificação foi realizada por padronização externa.

4.3.3 Resultados e discussão

A faixa de linearidade foi avaliada na faixa de 1,00 a 20,00 ng/mL. Os limites de quantificação foram de 0,50 µg/kg (para Cri, BbF e BaP) e 1,00 µg/kg (para BaA) (11). A **Figura 1** apresenta um cromatograma de uma amostra de peito de peru com adição de padrão contendo 4 HPAs.

Os resultados para os hidrocarbonetos nas amostras de peito de aves (chester, frango e peru) constam na **Tabela 1**. A maior faixa de concentração encontrada foi para o criseno, com valores entre menor que LQ (0,50 µg/kg) e 13,41 µg/kg. O hidrocarboneto com menores concentrações foi o benzo[a]pireno.

Em relação ao Regulamento nº 835/2011 da Comissão Europeia (6), a maior parte das amostras apresentou valores satisfatórios, dentro do estabelecido para carnes defumadas e produtos defumados, para BaP (2,0 µg/kg) e para 4 HPAs (12,0 µg/kg). Uma amostra de peito de peru (amostra 10) foi considerada insatisfatória para os quatro HPAs (18,01 µg/kg), com quantidades mais elevadas de criseno (13,41 µg/kg).

A contaminação de amostras de peito de peru e frango foi considerada baixa em amostras analisadas no Qatar (12), com os resultados para BaA, Cri e BaP abaixo do limite de quantificação, próximos aos valores encontrados neste estudo.

O Codex Alimentarius estabelece, por meio do CAC/RCP 68/2009, um código de práticas para reduzir a contaminação de alimentos por HPAs em alimentos que empregam defumação e processos de secagem direta (13). Neste são indicados, dentre diversas variáveis,

três que apresentam ter maior influência na formação dos HPAs: o método de defumação (direto ou indireto), a temperatura durante a defumação e o tipo de invólucro dos produtos embutidos. Mas sabe-se que o controle de outras variáveis, como o tipo de madeira, o tempo de defumação e teor de gordura no alimento, são fatores que podem ajudar na redução do teor final de HPAs em produtos defumados (14).

Produtos cárneos com alto teor de gordura animal são mais suscetíveis à formação de HPAs quando submetidos a processos de defumação. Adaptações no processo de defumação, como redução de tempo de defumação e exposição direta a fumaça, são estratégias de boas práticas de produção que podem ser implementadas para a redução das concentrações sem alterar o sabor deste tipo de produto (15).

4.3.4 Conclusões

Dentre os compostos avaliados, a maior concentração foi observada para o criseno, que também foi o mais comum entre as amostras. Em relação ao Regulamento CE nº 835/2011, este estudo mostrou que todas as amostras foram consideradas satisfatórias para o BaP e somente uma amostra (10%) apresentou resultado acima do permitido (18,01 µg/kg) para a soma dos quatro HPAs. Considerando a carcinogenicidade relacionada a estes contaminantes, o monitoramento em alimentos deve ser realizado de maneira contínua, incluindo outros produtos cárneos defumados, com a intenção de estimar o risco de exposição da população por meio do consumo destes alimentos.

AGRADECIMENTOS

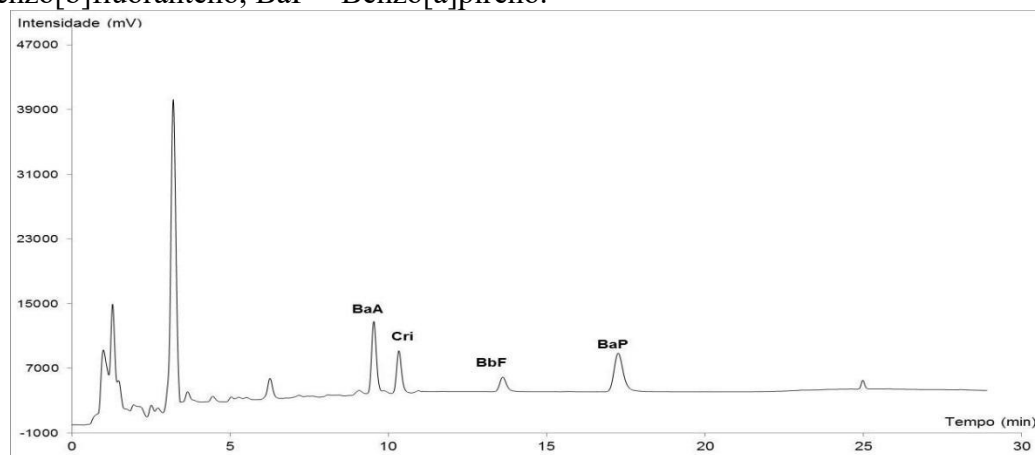
Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo auxílio à pesquisa (2018/19005-6) e a parceria com o Instituto Adolfo Lutz.

4.3.5 Referências

1. Zelinkova Z, Wenzl T. The occurrence of 16 EPA PAHs in food—a review. *Polycyclic Aromat. Compd.* 2015;35(2-4):248-84.
2. Alomirah H, Al-Zenki S, Al-Hooti S, Zaghoul S, Sawaya W, Ahmed N, Kannan K. Concentrations and dietary exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) from grilled and smoked foods. *Food Control.* 2011;22(12):2028-35.
3. Singh L, Varshney JG, Agarwal T. Polycyclic aromatic hydrocarbons' formation and occurrence in processed food. *Food Chem.* 2016;199:768-81.

4. IARC – International Agency for Research on Cancer. Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, overall evaluation of carcinogenicity. Polynuclear Aromatic Compounds. vol. 35. Lyon: IARC; 2010.
5. IARC – International Agency for Research on Cancer. Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, overall evaluation of carcinogenicity. Chemical Agents and Related Occupations. vol. 100F. Lyon: IARC; 2012.
6. CEC – Commission of the European Communities. Commission Regulation (EC) n° 835/2011, of 19 August 2011. Amending Regulation (EC) n° 1881/2006 as regards maximum levels for polycyclic aromatic hydrocarbons in foodstuffs. Official J Eur. Union. 2011;L215:4-8.
7. IBGE. Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) 2017-2018: Análise do Consumo Alimentar Pessoal no Brasil. [Internet]. Rio de Janeiro: IBGE; 2020. [acesso 12 Nov 2021]. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/index.php/biblioteca-catalogo?view=detalhes&id=2101742>
8. Wang C, Xie Y, Wang H, Bai Y, Dai C, Li C, et al. Phenolic compounds in beer inhibit formation of polycyclic aromatic hydrocarbons from charcoal-grilled chicken wings. *Food Chem.* 2019;294:578-86.
9. Bogdanović T, Pleadin J, Petričević S, Listeš E, Sokolić D, Marković K, et al. The occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons in fish and meat products of Croatia and dietary exposure. *J Food Comp Anal.* 2019;75:49–60.
10. Silva SA, Torres EAFS, Almeida AP, Sampaio GR. Polycyclic aromatic hydrocarbons content and fatty acids profile in coconut, safflower, evening primrose and linseed oils. *Food Chem.* 2018;245:798-805.
11. INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. Orientação sobre validação de métodos de ensaios químicos. DOQ-CGRE-008. Revisão 7. [Internet]. 2018. [acesso em 3 Nov 2021]. Disponível em: http://www.inmetro.gov.br/credenciamento/organismos/doc_organismos.asp?tOrganismo=CalibEnsaio
12. Al-Thaiban H, Al-Tamimi N, Helaleh M. Development of QuEChERS method for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked meat products using GC-MS from Qatar. *J. Anal. Chem.* 2018; 9206237:1-11.
13. Codex Alimentarius. RCP 68/2009. Code of practice for the reduction of contamination of food with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) from smoking and direct drying processes. [Internet]. 2009. [acesso em 9 Nov 2021]. Disponível em: http://www.codexalimentarius.org/download/standards/11257/CXP_068e.pdf
14. Ledesma E, Rendueles M, Díaz MJFC. Contamination of meat products during smoking by polycyclic aromatic hydrocarbons: Processes and prevention. *Food Control,* 2016;60:64-87.
15. Kafouris D, Koukkidou A, Christou E, Hadjigeorgiou M, Yiannopoulos S. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in traditionally smoked meat products and charcoal grilled meat in Cyprus. *Meat Sci.* 2020;164:10808849.

Figura 1 - Cromatograma obtido pela análise em UPLC para amostra de peito de peru adicionada de padrão (5,0 ng/g); BaA – Benzo[a]antraceno, Cri – Criseno, BbF – Benzo[b]fluoranteno, BaP – Benzo[a]pireno.



Fonte: Próprio autor (2020)

Tabela 1 - Teores de HPAs (µg/kg) para amostras de peitos de aves defumadas (chester, frango e peru)

Amostras	BaA	Cri	BbF	BaP	Soma 4 HPAs
1	<LQ	3,67	<LQ	<LQ	3,67
2	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
3	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
4	<LQ	1,99	<LQ	<LQ	1,99
5	<LQ	3,38	1,52	<LQ	4,90
6	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
7	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
8	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
9	2,52	<LQ	<LQ	<LQ	2,52
10	4,60	13,41	<LQ	<LQ	18,01
Range	<LQ – 4,60	<LQ – 13,41	<LQ – 1,52	<LQ	<LQ – 18,01

Amostras: (1= Chester); (2 - 5 = Frango); (6 – 10 = Peru); Valores expressos como média de duas replicatas; <LQ: abaixo do limite de quantificação; BaA: benzo[a]antraceno; Cri: criseno; BbF: benzo[b]fluoranteno; BaP: benzo[a]pireno

4.3.6 Material complementar

No Anexo C estão apresentadas a página de rosto do capítulo de livro “Pesquisa e Atualizações em Ciência de Alimentos”, e como caracterização complementar a ficha catalográfica e a página do sumário em que consta o capítulo.

No Anexo D consta a autorização para uso do capítulo de livro na tese.

4.4 QUARTO MANUSCRITO

O quarto artigo descreve as etapas de validação de metodologia para determinação de nove HPAs em produtos embutidos, bem como a ocorrência destes compostos em amostras comerciais e avaliação de risco. Artigo submetido ao periódico Food Chemistry.

Occurrence and exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in traditional dry-cured or smoked meat products from Brazil

Simone Alves da **Silva**^{a,b}, Gustavo Zanetti De **Rossi**^b, Adriana Palma de **Almeida**^b, Glória Maria **Guizellini**^a, Elizabeth Aparecida Ferraz da Silva **Torres**^a, Marcelo Macedo **Rogero**^a, Geni Rodrigues **Sampaio**^{a*}

^a Department of Nutrition, School of Public Health, University of São Paulo, São Paulo - Zip code: 01246-904, Brazil

^b Organic Contaminant Core, Contaminant Centre, Adolfo Lutz Institute, São Paulo - Zip code: 01246-000, Brazil

* genirs@usp.br

Abstract

Meat products are significant diet items in many countries, but they can be contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), especially processed meats. This work investigated the contamination with nine PAHs (PAH9) in 205 meat products. The results indicated that one of PAH9 was detected in 83% of samples, and the concentrations were between <LOQ to 108.24 µg/kg. For PAH4, including benz[a]anthracene, chrysene (Chr), benzo[b]fluoranthene, and benzo[a]pyrene (BaP), the concentration ranged from <LOQ to 48.28 µg/kg, and 18 samples exceed the maximum recommended levels of the European Union (EU), with greater representation to Chr and to smoked sausages category. Three samples exceeded EU limits of BaP. Considering the results of the margin of exposure (MOE) and the incremental lifetime cancer risk (ILCR), the health risks associated with the consumption of Brazilian meat products suggest low significant potential health risk.

Keywords: meat; benzo[a]pyrene; health risk assessment; food safety; chrysene

4.4.1 Introduction

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are organic compounds formed by fused carbon and hydrogen aromatic rings. More than 200 PAHs have been identified. They could be formed through incomplete combustion of organic materials and are categorized as priority contaminants. Humans are exposed to PAHs through inhalation, dermal touch, and diet but ingestion is the principal route (Sampaio et al., 2021; Mallah et al., 2022).

The International Agency for Research on Cancer (IARC) classified carcinogenic substances into four categories: group 1 (carcinogenic to humans), group 2A (probably carcinogenic to humans), group 2B (possibly carcinogenic to humans), and group 3 (not classifiable). For the PAHs, the benzo[a]pyrene (BaP) is classified in Group 1 and has been studied for several decades due to its toxic effects, especially regarding genotoxicity and carcinogenicity. Other compounds such as benz[a]anthracene (BaA), chrysene (Chr), benzo[b]fluoranthene (BbF), benzo[k]fluoranthene (BkF), and indeno[1,2,3-c,d]pyrene (IcdP) are in the Group 2B, and dibenz[a,h]anthracene (DahA) in the Group 2A (IARC, 2010, 2012; Duedahl-Olesen et al. 2015; Mallah et al., 2022).

The effect on human health depends of several factors, including the duration and route of exposure, the volume or concentration of PAHs, the toxicity of PAHs (IARC, 2010, 2012; Sampaio et al., 2021). Other studies indicate that exposure to PAHs may increase the risk of oxidative stress, thrombosis, hypertension, myocardial infarction, and cardiovascular disease (Mirzababaei et al., 2021; Zhang et al., 2020; Mallah et al., 2022).

Regarding the presence of PAHs in food, several categories have been investigated, most frequently meat products. In these, PAHs can be deposited during their processing, as a smoking or drying process. Smoking can be carried out by direct or indirect methods, and the PAHs produced in the direct method, by the incomplete combustion of the fuel used, can be deposited on the food (Onopiuk et al., 2021). Furthermore, meat drying through conventional approaches such as sun or hot air drying is found a slow process and may lead to adverse effects (Aykın-Dinçer, 2021).

However, meat is one of the main sources of protein in the diet in of many countries, and has relevant nutritional benefits such as vitamins, minerals, and fatty acids, as well as all essential amino acids (Dutta et al., 2022; Whitton et al., 2021). Processed meats e.g., bacon, ham, sausage and others, are often associated with industrially produced products that are cured

and/or smoked can contribute to the formation of carcinogenic compounds and lead to adverse health effects (Geiker et al., 2021).

The contamination and concentration of PAHs in meat products will depend on several factors of the process and the meat, including part of meat, lipid content, moisture, fuel type, time, temperature, air flow, food additives, distance and position of the product concerning the heat source, cleanliness and maintenance of equipment, design of the smoking chamber, type of smoke generator, and equipment used to mix smoke and air (Ledesma et al., 2016; Onopiuk et al., 2021).

In 2008, the European Food Safety Authority (EFSA) CONTAM Panel suggested that the analysis of BaP alone was not a good indicator for all the genotoxic and carcinogenic PAHs presented in food and advised the evaluation of four PAHs (PAH4), ie, BaA, Chr, BbF and BaP. They also indicated that there were no significant differences in the concentrations of PAH4 and eight PAHs (PAH8) (PAH4, BkF, IcdP, DahA, and benzo[g,h,i]perylene (BghiP) (EFSA, 2008). The European Commission considers the PAH4 as indicative of the occurrence of these compounds in foods, and a separate maximum level for BaP is also stated, to collect data for future comparison (EFSA, 2008). According to Regulation No. 835/2011, the maximum levels of BaP and PAH4 in smoked meat were set as 2 and 12 µg/kg, respectively (EC, 2011a).

In the risk assessment for PAHs, the incremental lifetime cancer risk (ILCR) method is commonly used. The margin of exposure (MOE) method is suggested in the EFSA CONTAM Panel because both Scientific Committee on Food (SCF) and Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) concluded that a toxic equivalency factor (TEF) has limitations in the available data, and different PAHs present various modes of action (EFSA, 2008). Some authors present both methods in the articles, for comparison purposes (Yan et al., 2022; Wang et al., 2021).

This study aimed to investigate the 9 PAHs concentrations from processed meat products commercialized in Brazil. Additionally, the health risk assessment was estimated for different population groups using the dietary daily intake PAHs exposure, the ILCR and the MOE.

4.4.2 Material and methods

4.4.2.1 Standards, solvents, and materials

The PAHs solution mix (catalog no. 4S8905) was purchased from Supelco (Bellefonte, PA, USA) and contained acenaphthene, acenaphthylene, anthracene, fluoranthene, fluorene,

naphthalene, phenanthrene, pyrene (Pyr), BaA, Chr, BbF, BkF, BaP, IcdP, DahA, and BghiP with concentrations of 2 mg/mL of each compound. A working standard solution (40-160 ng/mL) was prepared in acetonitrile and stored at -18 °C. The solvents used were chromatographic grade including n-hexane, methanol (MeOH) (Merck, Darmstadt, Germany), and acetonitrile (MeCN) (Loba Chemie, Mumbai, IND). Deionized water was obtained with the Milli-Q purification system (Millipore, Bedford, MA, USA). The reagents and solvents of analytical grade and the highest purity were hydroxide potassium (KOH) (Cromoline, São Paulo, Brazil), ethanol and sodium sulfate (Na₂SO₄) (Merck, Darmstadt, Germany). Solid-phase extraction (SPE) cartridges with silica sorbent (500 mg, 6 mL, Discovery DSC-Si, Supelco, Bellefonte, PA, USA) were employed. The glassware was washed with detergent and water, dried, and sequentially rinsed with ethanol, acetone, and n-hexane before analysis.

4.4.2.2 Samples

A total of 205 samples, with different brands and batches, were purchased randomly between 2019-2021 in commercial stores in Brazil, including fresh and smoked sausages (n=55), salami (n=30), smoked bacon (n=23), frankfurter sausage (n=18), ham (n=16), mortadella (n=16), cured poultry breast including turkey, *chester* and chicken (n=15), hamburgers (n=15), *coppa* (n=10), and other products [smoked meats that were not included in the previous categories: shoulder clod (n=2), morcilla (n=2), pastrami (n=1), salmon (n=1), black butifarra (n=1)].

The samples were triturated using a processor, packed in labeled packages protected from light, and stored at -18 °C until the time of analysis. All analyses were performed at the Organic Contaminant Core, Contaminant Centre, Adolfo Lutz Institute and Laboratory of Food Components and Health, School of Public Health (São Paulo, Brazil).

4.4.2.3 PAHs extraction and chromatographic analysis

The steps of methodology were described by Silva et al. (2022). For extraction, 2.0 g of sample were weighed into a glass tube and were hydrolyzed with 5 mL of 2 M ethanolic KOH solution in a water bath for 3 h at 40 °C. After cooling, 5 mL of water were added, and then the PAHs were extracted with 10 mL of n-hexane three times. The combined extracts were transferred into a 125 mL separating funnel, washed with 30 mL MeOH:H₂O (4:1, v/v),

30 mL MeOH:H₂O (1:1, v/v), and 30 mL of water, filtered in Na₂SO₄, and evaporated to dryness using nitrogen gas flow.

The residue was resuspended (concentrate + 3.0 mL of MeCN) and cleaned up using a SPE silica cartridge in the Gilson GX-274 ASPEC system (Gilson Inc., Middleton, WI, USA) which was previously preconditioned with 3 mL of MeCN (maximum flow rate: 2.0 mL/min) and then eluted with 3 mL of MeCN. The eluate was concentrated until drying at 30°C and 1,400 rpm in a rotational vacuum concentrator (model 5301, Eppendorf, Hamburg, Germany), dissolved in 1 mL of acetonitrile, filtered through a 0.20 µm PTFE filter, and analyzed by ultra-high-performance liquid chromatographic (UHPLC).

An UHPLC Shimadzu Nexera® System (Kyoto, Japan) was used equipped with a LC-30AD pump (flow 0.4 mL/min), SIL-30AC automatic injector (2 µL volume), DGU-20A degasser, CTO-20A column oven (30 °C), RF-20A fluorescence detector, Zorbax Eclipse PAH column (100 x 2.1 mm, 1.8 µm, Agilent, Palo Alto, CA, USA), and Eclipse Plus guard column (5 x 2.1 mm, 1.8 µm, Agilent, Palo Alto, CA, USA). A program to excitation and emission wavelength was applied: 270/390 nm (for Pyr, BaA, and Chr), and 290/430 nm (for BbF, BkF, BaP, IcdP, DahA, and BghiP).

For separation, a gradient mobile phase was used with MeCN and water, starting with 55% MeCN for 0.9 min, increasing until 7.0 min to 75% MeCN, maintained for 10.0 min, increasing to 100% MeCN until 18.0 min, maintained isocratic until 23.0 min, when returned to the initial conditions in 27.0 min, stabilized until 34.0 min. Peaks were integrated using LabSolutions software (Shimadzu, Kyoto, Japan).

4.4.2.4 Quality assurance and quality control

The parameters were studied for nine PAHs (PAH9), including Pyr, BaA, Chr, BbF, BkF, BaP, IcdP, DahA, and BghiP. Although the validation parameters for other PAHs present in the PAHs standard solution were tested, the results obtained were not adequate, and we chose the analysis of PAH9.

The blank samples (commercial products with PAHs concentrations below the LOD) and spiked blank samples were used to evaluate the linearity, recovery, precision (repeatability), limits of detection (LOD) and quantification (LOQ), based on the Brazilian Institute of Metrology, Quality and Technology Guidelines (INMETRO, 2020).

Linearity was studied in five different PAHs concentration of PAH9 in MeCN (0.50 to 20.0 ng/mL range), in triplicate, and calibration curves were obtained using peak areas measurements and concentrations by external calibration curve method.

Recovery and precision were evaluated as percentage (%) and relative standard deviation (RSD %), respectively, using spiked black samples at three different concentrations (between 1.0 and 10.0 µg/kg) with three repetitions.

The LOD and LOQ were estimated using the standard deviation (SD) of six replicates at the lowest concentration (between 0.25 to 1.0 µg/kg) and multiplying by the factors 3 (LOD) and 10 (LOQ).

4.4.2.5 Exposure assessment and risk characterization

The health risk assessment was calculated as in previous studies, including Li et al. (2016), Ariseto et al. (2017), Wang et al. (2018), Wang et al. (2021), method of risk assessment by JECFA (JECFA, 2005), and the (EFSA) (EFSA, 2005).

The risk indicators used in this study were: the Dietary Daily Intake (ID), the ILCR and the MOE. The population was divided into three age groups: adolescents (10–19 years old), adults (20–59 years old), and seniors (≥60 years old) (IBGE 2020a, 2020b).

In this study, the MOE was calculated for BaP, PAH4, and PAH8, and the ILCR was determined for PAH4. If the concentrations were lower to LOQ, results such as half of the LOQ were used (Ariseto et al. 2017). Anthropometric, age group and national food consumption data were also used (IBGE 2010, 2011, 2020a, 2020b).

The ID was estimated using the equation:

$$\text{Dietary Daily Intake (ng/day)} = C_i \times IR$$

Where: C_i : concentration of PAHs (ng/g); IR: meat product intake rate, for ham: 0.4 g/day, mortadella: 0.6 g/day, sausage (fresh and smoked): 3.9 g/day, frankfurter sausage: 1.1 g/day, hamburger (as beef-based preparation): 7.5 g/day, and other products (as other cold cuts and sausages): 0.3 g/day (IBGE, 2020a).

The Margin of Exposure (MOE) was calculated using the equation:

$$MOE = \frac{BMDL10 \times BW}{ID}$$

Where: BMDL10 = the lowest bound of a 95% confidence interval of the benchmark dose of PAHs indicators, which causes a 10% tumor incidence in test animals (0.07, 0.34, and 0.49 mg/kg/bw/day for BaP, PAH4 and PAH8) (EFSA, 2008); BW = average body weight (for adolescents: BW = 50.5 kg; for adults: BW = 67.5 kg; for seniors: BW = 64.9 kg) (IBGE, 2010); ID = Dietary Daily Intake (ng/day).

The ILCR was calculated using the equation:

$$ILCR = \frac{TEQ \times IR \times EF \times ED}{BW \times AT} \times SF \times CF$$

Where: TEQ = toxic equivalency quotients ($\mu\text{g}/\text{kg}$); IR = ingestion of meat product (g/day) IBGE (2020a); EF = exposure frequency = 365 days/year; ED = exposure duration (for adolescents: ED = 10 years; for adults: ED = 40; for seniors: ED = 17) (IBGE, 2010, 2020a, 2020b); SF = carcinogenic slope factor for ingestion of BaP (7.3 mg/kg. day) (Wang et al., 2021); CF = unit transformation factor (10^{-6} mg/ng); BW = average body weight (for adolescents: BW = 50.5 kg; for adults: BW = 67.5 kg; for seniors: BW = 64.9 kg) (IBGE, 2010); AT = average life expectancy (76.6 years in Brazil) (IBGE, 2020b).

The toxic equivalency quotients (TEQ) were calculated using the equation:

$$TEQ \text{ (ng/kg)} = \Sigma [C_i \times TEF_i]$$

Where: C_i : concentration of PAHs (ng/g); TEF: 0.1 (BaA and BbF), 0.01 (Chr), and 1 (BaP)

4.4.2.6 Statistical analysis

The 205 commercial samples were analyzed in duplicate. All results were presented as mean. The statistical evaluation was performed using Action 2.5 Software and Statistica 13.4 Software (TIBCO).

4.4.3 Results and discussion

4.4.3.1 Quality assurance and quality control

The dates are presented in **Table 1**, and the parameters were evaluated based on European Commission (EC, 2011b) and INMETRO (2020). The chromatograms of PAH9 standards and blank spiked sample are shown in Figure 1. The linearity of calibration curves was evaluated by least-squares methods, in terms of regression coefficient, and the square correlation coefficients (r^2) were between 0.9964 and 0.9991. The average recoveries ranged from 84.60-101.30 % and the RSDs were 0.63-9.02 % in these kinds of meat products, and were considered adequate, within performance criteria (EC, 2011b).

The limits of detection (LODs) and quantification (LOQ) of the PAH4 were 0.15–0.30 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and 0.50–1.00 $\mu\text{g}/\text{kg}$, respectively. The sensitivity was higher for Chr, BbF, and BaP, which present the lowest LOD.

4.4.3.2 PAHs in processed meat samples

Table 2 presents the PAHs levels found in different products.

The PAHs evaluated were quantified in 83% (170/205) of the samples, especially in the categories of hamburger (15/15) and bacon (23/23), but also found in frankfurter sausages (17/18), *coppa* (8/10), cured poultry breast (12/15), fresh and smoked sausage (52/55), ham (12/16), mortadella (11/16), and salami (16/30), and individual levels ranging from <LOQ to 76.76 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

The highest level of PAH9 was detected in smoked sausage (108.24 $\mu\text{g}/\text{kg}$), followed by morcilla (70.56 $\mu\text{g}/\text{kg}$), and bacon (51.24 $\mu\text{g}/\text{kg}$). By contrast, the categories of ham showed the lowest concentration of PAH9 (mean of 1.83 $\mu\text{g}/\text{kg}$, median 1.48 $\mu\text{g}/\text{kg}$).

The quantification rates of individual PAHs in all 205 samples were: 2.0% (BkF), 8.8% (BaP), 9.8% (BbF), 15.1% (DahA+BghiP+IP), 26.8% (BaA), 53.2% (Chr), 74.1% (Pyr). In all categories, the three quantified PAHs at higher concentrations were Pyr (<LOQ-76.76 $\mu\text{g}/\text{kg}$), Chr (<LOQ-31.66 $\mu\text{g}/\text{kg}$), and BaA (<LOQ-17.42 $\mu\text{g}/\text{kg}$). The BkF presents the lowest concentration (<LOQ-1.63 $\mu\text{g}/\text{kg}$).

BaP and PAH4 concentrations were <LOQ-2.44 $\mu\text{g}/\text{kg}$ and <LOQ-48.98 $\mu\text{g}/\text{kg}$, respectively. In the evaluation regarding the limits stipulated for smoked meat and smoked meat products by Regulation No. 835/2011 of the European Commission (EC, 2011a), three samples

(1.5%) showed unsatisfactory values regarding the concentration of BaP ($>2.0 \mu\text{g}/\text{kg}$), two smoked sausages and one salami. For PAH4, 18 samples (8.7%) had levels greater than $12.0 \mu\text{g}/\text{kg}$, most of which consisted of smoked sausage (6 samples), followed by salami (3 samples), fresh sausage (2 samples), smoked bacon (2 samples), *coppa* (2 samples), hamburger (1 sample), breast turkey cured (1 sample), and smoked salmon (1 sample) (**Table 2**). For the unsatisfactory samples for the sum, most were related to the highest amounts of Chr, followed by BaA, concerning the other PAH4. The samples of frankfurter sausages, ham, mortadella, breast cured (*chester* and chicken) and other smoked products (morcilla, shoulder clod, pastrami and black butifarra) presented satisfactory results, within the values established as safe (EC, 2011a).

In general, the sausages, especially smoked sausages, showed the highest proportion of unsatisfactory results, with PAH4 concentrations ranging from $<\text{LOQ}$ to $48.98 \mu\text{g}/\text{kg}$, which are up to four times higher than the concentration recommended by the European Commission (EC, 2011a).

The BaP results obtained for the samples analyzed showed lower values than other studies published. Kafouris et al. (2020) evaluated the presence of PAHs in meat smoked in the traditional way with charcoal, and the average BaP was $0.77 \mu\text{g}/\text{kg}$. In research conducted in Latvia, with smoked pork meat products, BaP levels ranged from LOQ ($0.05 \mu\text{g}/\text{kg}$) to $6.03 \mu\text{g}/\text{kg}$ (Rozentāle et al., 2015). Zhang et al. (2022) found concentrations ranging from 0.51 to $4.57 \mu\text{g}/\text{kg}$.

In 2015, the percentage of unsatisfactory samples according to Regulation No. 835/2011, for BaP ($> 2 \mu\text{g}/\text{kg}$) in 128 smoked meat samples from Latvian were almost 14% (Rozentāle et al., 2015), while our result was 1.5%, indicating less contamination and greater control of the smoking and drying process.

For PAH4, the results were close to those found by Zhang et al. (2022), who found a range of values between $2.40\text{--}53.56 \mu\text{g}/\text{kg}$, lower than the average of $9.40 \mu\text{g}/\text{kg}$ found by Kafouris et al. (2020), and higher than that found by Lu, Kuhnle and Cheng (2017) in UK smoked bacon samples ($1.75 \mu\text{g}/\text{kg}$).

Among the evaluated PAH4, higher concentrations of BaA and Chr were observed. The same behavior was observed by Rozentāle et al. (2015), and the median values of BaA and Chr were 0.76 and $0.82 \mu\text{g}/\text{kg}$, respectively. The most common compound observed in smoked meat products studied by Onopiuk et al. (2022) was benz[a]anthracene.

In the determination of 16 PAHs in Slavonska slanina (traditionally smoked bacon), produced in industrial conditions, the concentrations of Pyr, BaA, BbF, BkF, and BaP were below the LOQ (Kartalović et al., 2022), smaller than those found in this work.

Considering our results for PAH4 and PAH8, the data were similar for maximum, mean, and median values. These results are consistent with those presented by EFSA (2008), when the CONTAM Panel evaluated that when PAH4 are detected, PAH8 are nearly always present, so, the analysis of PAH4 is a good indicator for the carcinogenic PAHs.

Satisfactory results for ham and smoked and fresh sausages differ from some authors, which can be justified due to the type of smoking used in the product. Zachara, Galkowska and Juszcak (2017), when analyzing smoked fish and meat products available in Polish markets, found that sausages smoked in the traditional way, directly over a wood fire, showed higher values for PAH4 ($35.90 \pm 7.18 \mu\text{g/kg}$), when compared to samples from industrial smoking ($16.83 \pm 3.37 \mu\text{g/kg}$). The same ratio was found for ham samples (traditional smoking: $15.47 \mu\text{g/kg}$ and industrial smoking: $4.77 \mu\text{g/kg}$).

Kartalović et al. (2022) found results below the LOQ for BaP and PAH4 in Slavonska slanina smoked in industrial conditions and, in samples smoked with open fire (the traditional method), the PAH4 were as follows: $14.84 \mu\text{g/kg}$ in the middle, $10.60 \mu\text{g/kg}$ on the surface and $17.37 \mu\text{g/kg}$ in the skin.

Thus, it can be observed that the way of smoking is an important factor in the formation of PAHs in meat products. In smoking, direct and indirect methods can be applied, and in the former, contamination can be higher due to the deposition of PAHs produced by the incomplete combustion of material used in food (Onopiuk et al., 2021).

Food composition is a factor that influences the formation of PAHs when meat products are subjected to smoking processes, since foods with high-fat content are more susceptible to contamination due to the affinity of lipophilic PAHs. As presented by Lu, Kuhnle and Cheng (2017), the reduction of fat from 30% to 20% in smoked pork sausages decreased the levels of PAHs in the samples.

During smoking, some factors can affect the contamination with PAHs. In a direct way, Racovita et al. (2020) observed that concentrations generally increased when temperature and time of smoking were higher in smoked pork sausages, showing the importance of controlling conditions during the process. About the wood, the Betulaceae species (alder and birch) showed higher PAHs levels than Fagaceae species (beech and oak).

With modern technology in the industry, it is common to use smoking under several processes and it is controlled. Adaptations were made in the process such as the use of smoke

generated in external chambers, reduction of smoking time or the use of smoke aroma, strategies of good production practices that can considerably reduce the PAHs levels in foods while maintaining flavor (Kafouris et al., 2020; Rozentāle et al., 2015; Ledesma et al., 2016; Onopiuk et al., 2021). About the aromas, the liquid fumigant can be produced through fractionation and purification; it also can reduce the PAHs content in food (Zhu et al., 2022),

The type of casing that involves the meat product subjected to smoking can also affect the levels of PAHs. In a study carried out by Henríquez-Hernández et al. (2016), sausages wrapped in natural casings had higher levels of BaP than those wrapped in cellulose, because of the lipophilicity of the natural casings, as well as PAHs, which allow these compounds to penetrate the food. The use of nanoparticles in casings can be a strategy to further reduce the contamination of smoked products, Farhadi et al. (2022) verified that casing of sugarcane bagasse containing with nanoclay adsorbed the PAH4 compared to control film (fibrous casings without adsorbent).

4.4.3.3 Exposure assessment and risk characterization

The principal PAHs exposure to humans occurs *via* the ingestion of contaminated food. In all environmental compartments, food, air, water, soil, and cigarettes, the consumption of PAHs-contaminated foods contributed with 96.2% of exposition route for non-smokers, while it varied between 27-37% for smokers (Menzie and Potocki, 1992; Paris et al., 2018).

Table 3 presents the results of ID, MOE, and ILCR.

The products that showed the greatest significance in the daily intake were smoked and fresh sausages, followed by hamburgers. For smoked and fresh sausages, the ID mean values of BaP, PAH4, and PAH8 were 1.65, 24.35, and 29.95 ng/day, respectively. For hamburgers, the ID mean values of BaP, PAH4, and PAH8 were 2.08, 23.03, and 34.36 ng/day, respectively. Daily intakes for PAH4 and PAH8 were about 7-20 times higher than BaP.

The health risk assessment according to ILCR (**Table 3**) indicated that the products were not at considerable health risk for adolescents, adults, and seniors, because the ILCR values were less than 10^{-6} (Wang et al., 2021). The MOE values higher than 10,000 was considered a low public health concern (EFSA, 2008). Our results for meat products are greater than 100,000 (**Table 3**), indicating that the health risks are minimal. Wang et al. (2021) also observed that the health risks associated with the consumption of fried and grilled fish from Shandong (China) were low among children, adolescents, and seniors, considering the MOE and ILCR values.

Likewise, the results obtained for this study, for smoked fish from Romania work by Racovita et al. (2021), no sample showed significant cancer risk as assessed by MOE and ILCR, and the range values were $0.59\text{-}30.21 \times 10^{+6}$ and $0.17\text{-}16.60 \times 10^{-6}$, respectively.

Rozentāle et al. (2015) showed that the intake of smoked meat from Latvian did not present significant toxicological concern according to MOE.

4.4.4 Conclusion

In this work, 205 commercial meat products, including ten categories, were studied for the concentration of nine PAHs. The quantification rates of PAH9 were between 2.0 (BkF) and 74.1% (Pyr) in all 205 samples.

Our results indicated that some meat products were unsatisfactory to the permitted levels in the European Union, 1% of our sample (3/205) for BaP and 9% (18/205) for PAH4, respectively. Chrysene was the predominant hydrocarbon. The sausages had the highest concentrations of PAHs, followed by the hamburgers. Even so, considering the margin of exposures (MOE) values (upper to 10^{+4}) and the incremental life cancer risk (ILCR) values (between 10^{-6} and 10^{-4}), the evaluation of risk assessment suggests low potential health risk to consumers of meat products.

Many PAHs are widely referred to as carcinogens, mutagens, and teratogens. Our data suggests that the routine monitoring of PAHs is essential since data collection from commercial samples can be used by regulatory agencies to normalize and revise safe limits, as well as to investigate the risk exposure of the population.

Acknowledgments

This study was supported by São Paulo Research Foundation, FAPESP, Brazil (N° 2018/19005-6). The authors are grateful for the partnership of Adolfo Lutz Institute (IAL) in the project.

Declaration of competing interest

The authors declare that there is no potential competing interest with respect to the research, authorship, and/or publication of this paper.

4.4.5 References

- Arisseto, A. P., Silva, W. C., Scaranelo, G. R., & Vicente, E. (2017). 3-MCPD and glycidyl esters in infant formulas from the Brazilian market: Occurrence and risk assessment. *Food Control*, 77, 76-81. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.01.028>
- EC - European Communities (2011a). Amending Regulation (EC) no 1881/2006 as regards maximum levels for polycyclic aromatic hydrocarbons in foodstuffs. [Commission Regulation (EC) No. 835/2011, of 19 August 2011]. **Official Journal of the European Union**, L215/4-L215/8. Retrieved from <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:215:0004:0008:En:PDF>. Accessed Nov. 29, 2022.
- EC - European Communities (2011b). Amending Regulation (EC) No. 333/2007 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of lead, cadmium, mercury, inorganic tin, 3-MCPD and benzo(a)pyrene in foodstuffs. [Commission Regulation (EC) No. 836/2011, of 19 August 2011]. **Official Journal of the European Union**, L215/9-L215/16. Retrieved from <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2007:088:0029:0038:EN:PDF>. Accessed Nov, 29, 2022.
- Aykın-Dinçer, E. (2021). Dried meat products obtained by different methods from past to present. *Food Reviews International*, 1-20. <https://doi.org/10.1080/87559129.2021.1956944>
- Duedahl-Olesen, L., Aaslyng, M., Meinert, L., Christensen, T., Jensen, A. H., & Binderup, M. L. (2015). Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in Danish barbecued meat. *Food Control*, 57, 169-176. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.04.012>
- Dutta, K., Shityakov, S., Zhu, W., & Khalifa, I. (2022). High-risk meat and fish cooking methods of polycyclic aromatic hydrocarbons formation and its avoidance strategies. *Food Control*, 142, 109253. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.109253>
- European Food Safety Authority – EFSA. Scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain on a request from the European Commission on polycyclic aromatic hydrocarbons in food. *European Food Safety Authority Journal*, v. 724, p. 1-114, 2008. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2008.724>
- Farhadi, S., Javanmard, M., & Mahdavi, S. (2022). Effects of Nanomaterial Reinforced Fibrous Casing of Sugarcane Bagasse on the Adsorption of Polycyclic Aromatic

Hydrocarbons in Smoked Sausages. *ACS Food Science & Technology*, 2(6), 1009-1017. <https://doi.org/10.1021/acsfoodscitech.2c00073>

Geiker, N. R. W., Bertram, H. C., Mejborn, H., Dragsted, L. O., Kristensen, L., Carrascal, J. R., ... & Astrup, A. (2021). Meat and human health—Current knowledge and research gaps. *Foods*, 10(7), 1556. <https://doi.org/10.3390/foods10071556>

Henríquez-Hernández, L. A., Carretón, E., Camacho, M., Montoya-Alonso, J. A., Boada, L. D., Valerón, P. F., ... & Luzardo, O. P. (2016). Influence of parasitism in dogs on their serum levels of persistent organochlorine compounds and polycyclic aromatic hydrocarbons. *Science of the Total Environment*, 562, 128-135. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.03.204>.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. (2020a) **Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) 2017–2018: análise do consumo alimentar pessoal no Brasil**. [in Portuguese]. Rio de Janeiro: IBGE, 125. Retrieved from <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv101742.pdf>. Accessed Nov. 29, 2022.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. (2020b) **Estatísticas sociais**. Expectativa de vida dos brasileiros aumenta 3 meses e chega a 76,6 anos em 2019. [in Portuguese]. Retrieved from <https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/2012-agencia-de-noticias/noticias/29505-expectativa-de-vida-dos-brasileiros-aumenta-3-meses-e-chega-a-76-6-anos-em-2019>. Accessed Nov. 29, 2022.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE. (2010) Pesquisa de orçamentos familiares (POF) 2008–2009. **Antropometria e estado nutricional de crianças, adolescentes e adultos no Brasil**. [in Portuguese]. Rio de Janeiro: IBGE, 130. Retrieved from <https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv45419.pdf>. Accessed Nov. 29, 2022.

Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. (2020). INMETRO – **Orientação sobre validação de métodos analíticos**. [in Portuguese]. DOQ-CGCRE-008. Revisão 9. Retrieved From: file:///C:/Users/3063604/Downloads/DOQ-Cgcre-8_09.pdf. Accessed November 20, 2022.

International Agency for Research on Cancer (IARC). (2010). Some non-heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons and some related exposures. *IARC Monographs 92*; Lyon, France.

- International Agency for Research on Cancer – IARC. (2012). Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, Overall evaluation of carcinogenicity. Chemical Agents and Related Occupations. (v. 100F). Lyon, France.
- Kafouris, D., Koukkidou, A., Christou, E., Hadjigeorgiou, M., & Yiannopoulos, S. (2020). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in traditionally smoked meat products and charcoal grilled meat in Cyprus. *Meat Science*, 164, 108088. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108088>
- Kartalović, B., Puljić, L., Kovačević, D., Markovčić, M., Vranešević, J., Habschied, K., & Mastanjević, K. (2022). The Content of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in *Slavonska slanina*—Traditionally Smoked and Dry-Cured Bacon. *Processes*, 10(2), 268. <https://doi.org/10.3390/pr10020268>
- Ledesma, E., Rendueles, M., & Díaz, M. J. F. C. (2016). Contamination of meat products during smoking by polycyclic aromatic hydrocarbons: Processes and prevention. *Food Control*, 60, 64-87. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.07.016>
- Li, G., Wu, S., Wang, L., & Akoh, C. C. (2016). Concentration, dietary exposure and health risk estimation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in youtiao, a Chinese traditional fried food. *Food control*, 59, 328-336.
- Lu, F., Kuhnle, G. K., & Cheng, Q. (2017). Heterocyclic amines and polycyclic aromatic hydrocarbons in commercial ready-to-eat meat products on UK market. *Food Control*, 73, 306-315. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.08.021>
- Mallah, M. A., Changxing, L., Mallah, M. A., Noreen, S., Liu, Y., Saeed, M., ...& Zhang, Q. (2022). Polycyclic aromatic hydrocarbon and its effects on human health: an updated review. *Chemosphere*, 133948. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.133948>.
- Menzie, C. A., Potocki, B. B., & Santodonato, J. (1992). Exposure to carcinogenic PAHs in the environment. *Environmental science & technology*, 26(7), 1278-1284. <https://doi.org/10.1021/es00031a002>
- Mirzababaei, A., Daneshzad, E., Moradi, S., Abaj, F., Mehranfar, S., Asbaghi, O., ...& Mirzaei, K. (2021). The association between urinary metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and cardiovascular diseases and blood pressure: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Environmental Science and Pollution Research*, 1-17. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-17091-4>.
- Onopiuk, A., Kołodziejczak, K., Marcinkowska-Lesiak, M., & Poltorak, A. (2022). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons using different extraction methods

- and HPLC-FLD detection in smoked and grilled meat products. *Food Chemistry*, 373, 131506. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.131506>
- Onopiuk, A., Kołodziejczak, K., Szpicer, A., Wojtasik-Kalinowska, I., Wierzbicka, A., & Półtorak, A. (2021). Analysis of factors that influence the PAH profile and amount in meat products subjected to thermal processing. *Trends in Food Science & Technology*, 115, 366-379. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.06.043>
- Paris, A., Ledauphin, J., Poinot, P., & Gaillard, J. L. (2018). Polycyclic aromatic hydrocarbons in fruits and vegetables: Origin, analysis, and occurrence. *Environmental Pollution*, 234, 96-106. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.11.028>
- Racovita, R. C., Secuianu, C., & Israel-Roming, F. (2021). Quantification and risk assessment of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons in retail smoked fish and smoked cheeses. *Food Control*, 121, 107586. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107586>
- Racovita, R. C., Secuianu, C., Ciuca, M. D., & Israel-Roming, F. (2020). Effects of smoking temperature, smoking time, and type of wood sawdust on polycyclic aromatic hydrocarbon accumulation levels in directly smoked pork sausages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(35), 9530-9536. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c04116>
- Rozentāle, I., Stumpe-Vīksna, I., Začs, D., Sikсна, I., Melngaile, A., & Bartkevičs, V. (2015). Assessment of dietary exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons from smoked meat products produced in Latvia. *Food Control*, 54, 16-22. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.01.017>
- Sampaio, G. R., Guizzellini, G. M., da Silva, S. A., de Almeida, A. P., Pinaffi-Langley, A. C. C., Rogero, M. M., ... & Torres, E. A. (2021). Polycyclic aromatic hydrocarbons in foods: Biological effects, legislation, occurrence, analytical methods, and strategies to reduce their formation. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(11), 6010. <https://doi.org/10.3390/ijms22116010>
- Silva, S. A., De Rossi, G. Z., Ossugui, M. M., de Almeida, A. P., Guizzellini, G. M., Sampaio, G. R., & da Silva Torres, E. A. F. (2022). Quantification of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Commonly Consumed Salami in Brazil. *Food Analytical Methods*, 1-11. <https://doi.org/10.1007/s12161-022-02414-z>
- Wang, L., Li, C., Jiao, B., Li, Q., Su, H., Wang, J., & Jin, F. (2018). Halogenated and parent polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetables: levels, dietary intakes, and health risk assessments. *Science of the Total Environment*, 616, 288-295. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.336>

- Wang, Y., Jiao, Y., Kong, Q., Zheng, F., Shao, L., Zhang, T., ...& Gao, X. (2021). Occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons in fried and grilled fish from Shandong China and health risk assessment. *Environmental Science and Pollution Research*, 28(25), 32802-32809. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-13045-y>
- Whitton, C., Bogueva, D., Marinova, D., & Phillips, C. J. (2021). Are we approaching peak meat consumption? Analysis of meat consumption from 2000 to 2019 in 35 countries and its relationship to gross domestic product. *Animals*, 11(12), 3466. <https://doi.org/10.3390/ani11123466>
- Yan, K., Li, W., & Wu, S. (2022). Dietary exposure and risk assessment of European Union priority (EU 15+ 1) polycyclic aromatic hydrocarbons from milks and milk powders in China. *Journal of Dairy Science*, 8(105), 6536-6547. <https://doi.org/10.3168/jds.2021-21438>
- Zachara, A., Gałkowska, D., & Juszczak, L. (2017). Contamination of smoked meat and fish products from Polish market with polycyclic aromatic hydrocarbons. *Food Control*, 80, 45-51. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.04.024>
- Zhang, H., Han, Y., Qiu, X., Wang, Y., Li, W., Liu, J., ... & Zhu, T. (2020). Association of internal exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons with inflammation and oxidative stress in prediabetic and healthy individuals. *Chemosphere*, 253, 126748. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126748>
- Zhang, L., Wu, P., Zhou, H., Hu, Z., Zhang, N., Wang, L., & Zhao, Y. (2022). Determination of 15+ 1 European Priority Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Smoked Meat Products by Saponification/Solid-Phase Extraction and Gas Chromatography–Mass Spectrometry. *Journal of Chromatographic Science*, 60(3), 298-307. <https://doi.org/10.1093/chromsci/bmab087>
- Zhu, Z., Xu, Y., Huang, T., Yu, Y., Basse, A. P., & Huang, M. (2022). The contamination, formation, determination and control of polycyclic aromatic hydrocarbons in meat products. *Food Control*, 141, 109194. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2022.109194>

Table 1 - Linearity, recovery, precision, and limits of detection (LOD) and quantitation (LOQ) for analysis of PAH9 in meat products

Compounds	Linear range (ng/mL)	r ²	LOD (µg/kg)	LOQ (µg/kg)	Recovery (%)	Precision RSD (%)
Pyr	1.00 - 20.00	0.9989	0.30	1.00	101.30	8.27
BaA	2.00 - 20.00	0.9964	0.30	1.00	94.18	0.63
Chr	1.00 - 15.00	0.9989	0.15	0.50	92.71	3.70
BbF	1.00 - 15.00	0.9990	0.15	0.50	84.60	2.68
BkF	1.00 - 20.00	0.9991	0.30	1.00	97.28	9.02
BaP	1.00 - 15.00	0.9981	0.15	0.50	90.43	1.80
IcdP+DahA+BghiP	1.00 - 20.00	0.9990	0.30	1.00	97.68	1.80

Pyr: pyrene, BaA: benz[a]anthracene, Chr: chrysene, BbF: benzo[b]fluoranthene, BkF: benzo[k]fluoranthene, BaP: benzo[a]pyrene, IcdP: indeno[1,2,3-c,d]pyrene, DahA: dibenz[a,h]anthracene, BghiP: benzo[g,h,i]perylene, r²: coefficient of determination

Table 2 - Polycyclic aromatic hydrocarbons mean levels in several types of meat products

Samples	Pyr	BaA	Chr	BbF	BkF	BaP	IcdP + DahA+ BghiP	PAH4	PAH8	PAH9
Sausage (n=55)										
Minimum	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Maximum	76.76	11.77	31.66	3.93	1.63	2.44	2.63	48.98	50.61	108.24
Mean	8.39	1.61	3.28	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	5.40	5.96	14.36
Median	1.89	<LOQ	0.78	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1.38	1.98	5.12
Smoked sausage (n=33)										
Minimum	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Maximum	76.76	11.77	31.66	3.93	1.63	2.44	2.63	48.98	50.61	108.24
Mean	10.99	2.12	3.77	0.53	<LOQ	<LOQ	<LOQ	6.75	7.40	18.38
Median	3.56	<LOQ	1.09	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	2.53	2.60	5.37
Fresh sausage (n=22)										
Minimum	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Maximum	52.61	6.65	19.32	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1.57	25.97	25.97	57.89
Mean	4.51	<LOQ	2.54	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	3.37	3.81	8.31
Median	1.24	<LOQ	0.61	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0.77	1.49	3.29
Salami (n=30)										
Minimum	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Maximum	18.45	17.42	13.37	1.59	<LOQ	2.12	<LOQ	29.07	29.07	30.71
Mean	1.97	<LOQ	1.57	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	2.62	2.62	4.58
Median	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1.09
Smoked bacon (n=23)										
Minimum	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Maximum	37.89	3.59	8.58	0.87	<LOQ	0.89	<LOQ	13.38	13.38	51.24
Mean	7.92	1.05	2.47	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	3.83	3.83	11.75
Median	4.35	<LOQ	1.55	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	3.03	3.03	6.93

continue

continuation

Frankfurter sausage (n=18)

Minimum	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Maximum	24.73	<LOQ	2.93	<LOQ	<LOQ	<LOQ	2.17	2.93	2.93	25.32
Mean	3.26	<LOQ	0.87	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0.87	1.31	4.57
Median	1.97	<LOQ	0.64	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0.64	1.36	3.70

Ham (n=16)

Minimum	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Maximum	3.99	2.58	3.44	0.64	<LOQ	0.55	2.40	3.44	3.44	7.21
Mean	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0.75	0.90	1.83
Median	1.08	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1.48

Mortadella (n=16)

Minimum	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Maximum	32.07	4.11	2.60	<LOQ	<LOQ	<LOQ	3.73	6.58	6.58	38.66
Mean	3.19	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0.75	1.42	4.61
Median	1.23	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0.32	2.09

Cured poultry breast (n=15)

Minimum	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Maximum	15.45	4.60	13.41	1.52	<LOQ	<LOQ	1.34	18.01	18.01	19.27
Mean	2.13	<LOQ	1.68	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	2.45	2.54	4.67
Median	1.44	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1.34	3.43

Hamburger (n=15)

Minimum	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Maximum	24.29	6.20	9.64	1.86	<LOQ	0.67	2.63	17.70	18.77	29.65
Mean	3.97	<LOQ	1.00	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	2.10	2.71	6.69
Median	2.19	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	1.33	3.72

Coppa (n=10)

Minimum	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Maximum	22.79	5.61	16.19	1.31	<LOQ	0.97	<LOQ	20.58	20.58	22.79
Mean	3.18	1.31	2.83	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	4.36	4.36	7.54
Median	1.19	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0.70	0.70	3.42

continuation

Other Products (n=7)										
Minimum	1.31	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	2.03
Maximum	66.35	3.67	9.08	0.88	<LOQ	0.81	<LOQ	14.44	14.44	70.56
Mean	20.70	1.98	2.14	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	4.36	4.36	25.06
Median	3.90	3.34	1.16	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	3.89	3.89	15.83
Total (n=205)										
Minimum	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ
Maximum	76.76	17.42	31.66	3.93	1.63	2.44	3.73	48.98	50.61	108.24
Mean	5.54	<LOQ	1.94	0.15	<LOQ	<LOQ	<LOQ	3.15	3.45	8.99
Median	1.57	<LOQ	0.57	<LOQ	<LOQ	<LOQ	<LOQ	0.78	1.34	3.43

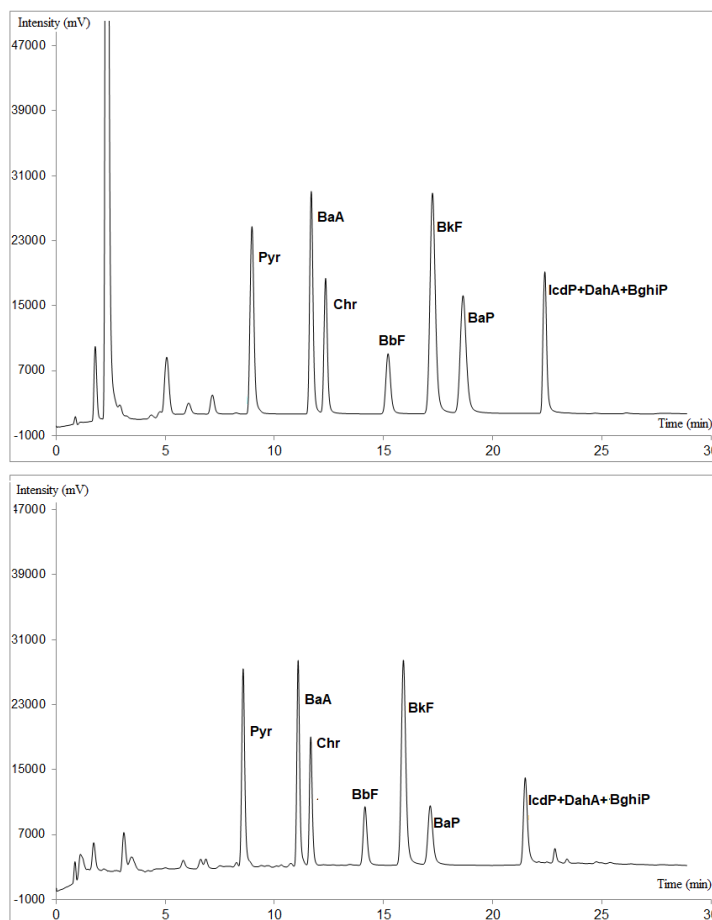
BaA: benz[a]anthracene, Chr: chrysene, BbF: benzo[b]fluoranthene, BkF: benzo[k]fluoranthene, BaP: benzo[a]pyrene, IcdP: indeno[1,2,3-c,d]pyrene, DahA: dibenz[a,h]anthracene, BghiP: benzo[g,h,i]perylene, PAH4: BaA, Chr, BbF, and BaP; PAH8: PAH4, BkF, DahA, BghiP, IcdP, PAH9: Pyr, PAH8

Table 3 - Mean values for dietary daily intake (ID), margin of exposure (MOE), and incremental lifetime cancer risk (ILCR) in different meat products

Products	ID (ng/day)			MOE x 10 ⁺⁶			ILCR x 10 ⁻⁹ for PAH4		
	BaP	PAH4	PAH8	BaP	PAH4	PAH8	Adolescents	Adults	Seniors
Smoked and fresh sausage (n=55)	1.65	24.35	29.95	2.59	0.85	1.00	4.10	9.22	5.43
Salami (n=30)	0.10	1.10	1.40	43.14	18.89	21.35	5.30	11.91	7.01
Smoked bacon (n=23)	0.11	1.41	1.72	40.40	14.76	17.39	7.79	17.50	10.31
Frankfurter sausage (n=18)	0.28	2.19	3.69	15.52	9.49	8.10	3.82	8.59	5.06
Ham (n=16)	0.11	0.75	1.21	39.67	27.65	24.65	2.53	5.68	3.34
Mortadella (n=16)	0.15	1.47	2.41	28.46	14.11	12.38	2.79	6.27	3.69
Cured poultry breast (n=15)	0.08	1.05	1.37	56.91	19.82	21.78	3.13	7.04	4.14
Hamburger (n=15)	2.08	23.03	34.36	2.05	0.90	0.87	4.17	9.37	5.52
Coppa (n=10)	0.10	1.59	1.91	44.24	13.01	15.65	3.09	6.94	4.08
Other products (n=7)	0.98	1.51	1.81	43.08	13.71	16.49	3.42	7.69	4.53

BaP: benzo[a]pyrene, PAH4: BaA, Chr, BbF, and BaP; PAH8: PAH4, BkF: benzo[k]fluoranthene, IcdP: indeno[1,2,3-c,d]pyrene, DahA: dibenz[a,h]anthracene, BghiP: benzo[g,h,i]perylene

Figure 1 - Chromatograms of PAH9 standards (5.0 ng/mL) and a sample of ham spiked with 5.0 ng/g. Pyr: pyrene, BaA: benz[a]anthracene, Chr: chrysene, BbF: benzo[b]fluoranthene, BkF: benzo[k]fluoranthene, BaP: benzo[a]pyrene, IcdP: indeno[1,2,3-c,d]pyrene, DahA: dibenz[a,h]anthracene, BghiP: benzo[g,h,i]perylene



4.4.6 Material complementar

São apresentados os Apêndice F e G. No primeiro estão apresentados resultados complementares de validação para produtos cárneos. No segundo, constam os resultados individuais dos nove HPAs para produtos defumados comerciais.

No Anexo E está apresentado o e-mail comprovando a submissão do manuscrito no periódico Food Chemistry.

4.5 QUINTO MANUSCRITO

O quinto artigo descreve etapas de validação e aplicação de metodologia para avaliação de HPAs em condimentos. Artigo a ser submetido para periódico após a avaliação da banca examinadora.

METODOLOGIA PARA ANÁLISE DE HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS (HPAs) EM CONDIMENTOS

Resumo

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) são contaminantes que podem ser encontrados no ambiente, na água e em diversos alimentos. Especiarias podem ser contaminadas por HPAs devido à contaminação ambiental, ou durante o processo de secagem ou de defumação. Ainda que as especiarias sejam utilizadas em pequenas quantidades nos alimentos, elas podem trazer riscos à saúde se contaminadas com níveis elevados de HPAs, cujos efeitos são altamente tóxicos ao organismo humano. O objetivo deste estudo foi aplicar metodologia para avaliar os teores de quatro HPAs, incluindo benzo[a]antraceno, criseno, benzo[b]fluoranteno e benzo[a]pireno, em condimentos. Foram avaliados seis condimentos, incluindo orégano, alecrim, manjericão, cebola em pó, alho em pó e limão em pó. Os procedimentos analíticos empregados foram extração líquido-líquido, purificação com cartuchos de extração em fase sólida e quantificação por cromatografia líquida de ultra eficiência com detecção por fluorescência. Os limites de detecção e quantificação foram, respectivamente, 0,30 e 1,00 µg/kg. As recuperações foram de 83,10 a 103,53%, com CV de 1,97–7,21%. Dos condimentos avaliados, todos apresentaram resultados abaixo do LQ para a soma dos quatro avaliados, e foram considerados satisfatórios de acordo o Regulamento nº 1933/2015 da Comunidade Europeia. O método mostrou-se sensível, exato e preciso, com possibilidade de aplicação em diversos condimentos.

Palavras-chave especiarias, contaminantes, extração em fase sólida (SPE), cromatografia líquida,

4.5.1 Introdução

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) representam um grupo de mais de 200 diferentes compostos orgânicos, contendo dois ou mais anéis aromáticos condensados, formados a partir da combustão incompleta da matéria orgânica. Podem afetar o organismo por meio de diversas ações tóxicas (SAMPAIO *et al.*, 2021). Dentre os HPAs monitorados pela Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC), o benzo[a]pireno (BaP) é o único comprovadamente carcinogênico para humanos (IARC, 2012). Compostos como benzo[a]antraceno (BaA), benzo[b]fluoranteno (BbF) e criseno (Chr) estão no grupo 2B, possíveis carcinogênicos para humanos (IARC, 2010).

Os alimentos podem ser contaminados por HPAs devido à presença no solo, ar e água. Também podem ser depositados nestes produtos durante o processo de defumação ou de secagem. Além disso, podem ser formados nos alimentos durante certos tipos de processamento, como secagem, grelha, tostagem, torrefação e fritura, devido à pirólise direta dos nutrientes (BANSAL; KIM, 2015).

A contaminação dos condimentos por HPAs pode ocorrer durante o processamento. A principal etapa é a secagem da matéria-prima, uma das primeiras utilizadas com o objetivo de controle de umidade e aumento do tempo de prateleira. Esta secagem pode ocorrer de forma natural (ar/vento) ou artificial (ar aquecido com diferentes combustíveis). Na primeira, a principal origem dos HPAs é o meio ambiente (solo, água ou ar), enquanto na segunda é devido aos produtos de combustão que podem contaminar o ar e assim contaminar o produto (BANSAL, KIM, 2015; CEC, 2015).

Condimentos são muito empregados na culinária e preparo de alimentos, para agregar sabor, aroma e cor. Possuem compostos bioativos com atividades antioxidantes, como compostos fenólicos incluindo flavonóides, ácidos fenólicos, terpenos e terpenóides, ou compostos que confere cor, como curcuminóides, carotenóides e betacianinas, que são encontrados em cascas, sementes, folhas e resíduos e subprodutos de hortaliças (BELLUCCI *et al.*, 2022). Vêm sendo utilizados como alternativa durante o processamento e a estocagem de alimentos processados industriais, como por exemplo, carnes, em especial para retardar ou inibir a oxidação lipídica destes produtos, uma vez que a oxidação é responsável pela redução da qualidade, valor nutricional e alterações de aspectos sensoriais, além de comprometer de forma significativa a aceitação do consumidor. A oxidação de alimentos pode ser responsável pela formação de substâncias tóxicas associadas a problemas de saúde como doenças circulatórias e câncer (DE OLIVEIRA *et al.*, 2018; MANHANI *et al.*, 2018).

Embora condimentos sejam empregados geralmente em quantidades relativamente baixas, muitas vezes são utilizados em diversos pratos e atende às novas demandas dos consumidores, que devido a maior preocupação com a saúde têm priorizado o uso de alimentos com menos conservantes (BELLUCCI *et al.*, 2022). Mas, caso os condimentos estejam contaminados, podem afetar a qualidade do produto e representar uma ameaça à saúde do consumidor (SCHAARSCHMIDT, 2016).

Considerando o risco relacionado aos hidrocarbonetos, o Regulamento nº 1933/2015 da Comunidade Europeia, estabeleceu os limites tolerados para BaP e para a soma de quatro abrangendo BaP, BbF, Chr e BaA (HPA4), utilizados como marcadores da presença destes contaminantes nos alimentos, e o limite máximo para o BaP e para HPA4 é de 10,0 e 50,0 µg/kg, respectivamente (CEC, 2015).

Este trabalho teve como objetivo validar metodologia para avaliar os teores de quatro HPAs em condimentos.

4.5.2 Material e métodos

Para identificação e quantificação dos HPAs, foram utilizados os seguintes padrões: solução de benzo[a]antraceno (código: 40070), solução de criseno (código: 40074), solução de benzo[b]fluoranteno (código: 40072), solução de benzo[a]pireno (código: 40071), da marca Supelco (Bellefonte, PA, EUA). Foram preparadas soluções individuais, em acetonitrila, na concentração aproximada de 40 µg/mL (para BbF, Chr e BaP) e 36 µg/mL (para BaA), e mantidas em frasco âmbar a -18°C. As soluções de trabalho constituíram em soluções individuais e mix com quatro HPAs (BaA, Chr, BbF e BaP) com concentração de 200 ng/mL em acetonitrila, preparadas a cada necessidade analítica, mantidas a -18°C por no máximo um mês.

Amostras comerciais de diferentes condimentos foram adquiridas a granel na cidade de São Paulo, incluindo cebola em pó (*Allium cepa* L.), alho em pó (*Allium sativum* L.), limão em pó (*Citrus limonium*, contendo ácido cítrico como ingrediente), orégano desidratado (*Origanum vulgare* L.), manjeriço desidratado (*Ocimum basilicum* L.), alecrim desidratado (*Rosmarinus officinalis* L.).

A metodologia utilizada foi fundamentada no trabalho de Shang *et al.* (2019), com adaptações de Silva *et al.* (2018). Em cerca de um grama do condimento, pesado em tubo de vidro, previamente misturado em processador e passado em peneira com 16 *mesh*, foram

adicionados 20 mL de n-hexano. O tubo foi agitado em vortex por 30 s e deixado em repouso no escuro por 24 h. Após este tempo, foi colocado no ultrasonicador por 10 min, e então filtrado, sendo a fase orgânica recolhida em béquer e levada à completa evaporação. O extrato foi dissolvido em 5 mL de n-hexano, transferidos para funil de separação 125 mL, e os HPAs foram extraídos com duas porções de 5 mL de mistura de dimetilformamida (DMF)-água (9:1, v/v). Os extratos combinados foram diluídos com água para a proporção de 1:2 (v/v) de DMF-água e a solução foi submetida à etapa de limpeza, usando cartucho de extração em fase sólida.

O procedimento de limpeza consistiu no uso de SPE de C18 (500 mg, 6 mL, Bond Elut, Agilent), pré-condicionado com 5 mL de metanol e 5 mL de mistura de DMF-água (1:2, v/v). O extrato da amostra foi então passado pelo cartucho, seguido por limpeza com 10 mL de mistura de DMF-água (1:2, v/v) e 10 mL de água. O cartucho foi seco com ajuda de centrifugação por 25 min (Concentrador e centrífuga a vácuo, modelo 5301, marca Eppendorf). Os analitos foram eluídos do SPE usando 10 mL de n-hexano, com fluxo máximo de 2 mL/min, e concentrados sob gás N₂. O resíduo foi dissolvido em 500 µL de acetonitrila (MeCN), filtrado em membrana de 0,22 µm e acondicionado em vials para posterior análise cromatográfica.

O procedimento para identificação e quantificação dos quatro HPAs foi aquele utilizado em trabalhos anteriores deste mesmo grupo (SILVA *et al.*, 2018). Os padrões e amostras foram analisados em cromatógrafo a líquido de ultra eficiência (UPLC), marca Shimadzu, composto pelos módulos e modelos: bomba LC-30AD, injetor automático SIL-30AC, degaseificador DGU-20A, forno CTO-20A e detector de fluorescência (FL) RF-20A. As condições cromatográficas aplicadas foram: temperatura do forno 30 °C, injeção automática 2 µL, fluxo 0,4 mL/min, fase móvel MeCN:H₂O, com gradiente de eluição: 0-0,9 min, 55% MeCN; 0,9-7 min, gradiente linear 55-75% MeCN; 7-17 min, 75% MeCN; 17-18 min, gradiente linear 75-100% MeCN; 18-23 min, 100% MeCN; retornando às condições iniciais.

A separação dos compostos ocorreu na coluna Zorbax Eclipse PAH (100 mm x 2,1 mm, 1,8 µm, Agilent), protegida por coluna de guarda (5 mm x 2,1 mm, 1,8 µm, Eclipse Plus, Agilent). A detecção foi obtida com detector de fluorescência, e os comprimentos de onda de excitação e emissão empregados foram: 270/390 nm (para BaA e Chr) e 290/430 nm (para BbF e BaP). Os compostos foram identificados pela comparação dos tempos de retenção com padrões individuais dos HPAs. Os picos foram integrados e quantificados usando software LabSolutions (Shimadzu). A quantificação foi realizada por padronização externa com curva de calibração, construída a partir da injeção de soluções-padrão com concentrações variadas, preparadas em MeCN a partir da solução de trabalho.

Para avaliação de desempenho da metodologia, foram avaliados os limites de detecção, quantificação, exatidão, precisão (repetitividade). A exatidão foi verificada por meio da recuperação, em que uma amostra de orégano foi adicionada de padrão em três níveis de concentração (1,00; 5,00 e 10,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Para avaliar a precisão do método (repetitividade), foi avaliado o coeficiente de variação (CV) dos testes de exatidão. Os limites de quantificação (LQ) foram definidos como a menor concentração de padrão adicionado, nível em que os compostos foram quantificados com precisão e exatidão, e os limites de detecção (LD) foram definidos como o LQ dividido por 3,3.

4.5.3 Resultados e discussão

A **Tabela 1** apresenta os resultados de recuperação, precisão (CV), LD e LQ encontrados. Os valores de LD e LQ foram, respectivamente, 0,30 e 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$. As recuperações variaram entre 83,10-103,53%, com CV entre 1,97–7,21%. A exatidão foi considerada adequada, já que os dados estavam dentro dos critérios de desempenho aceitáveis para métodos de análise de HPAs, com valores entre 50 e 120%. A precisão avaliada como repetitividade também estava satisfatória, com CV inferiores a 8% (CEC, 2011; INMETRO, 2020).

O artigo original, usado como base para aplicação no nosso estudo, foi desenvolvido por Shang *et al.* (2019) para análise de 3 HPAs (fenantreno, naftaleno e acenafteno) em chás, com quantificação por espectroscopia de fluorescência combinada com métodos de calibração multivariados, e as recuperações médias variaram de 96,0 a 100,9%, consideradas satisfatórias, com limites de detecção entre 0,026 e 0,14 $\mu\text{g}/\text{L}$.

Tabela 1 - Recuperação, coeficiente de variação (CV), limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) dos quatro HPAs analisados

		BaA	Chr	BbF	BaP
Adição padrão 1,00 ng/g	Recuperação (%)	93,97	84,87	90,19	83,10
	CV (%)	3,86	4,85	2,89	3,42
Adição padrão 5,00 ng/g	Recuperação (%)	101,73	99,54	89,53	95,43
	CV (%)	5,97	7,21	1,97	5,92
Adição padrão 10,00 ng/g	Recuperação (%)	96,63	103,53	86,02	92,86
	CV (%)	5,26	5,33	3,89	4,75
LD ($\mu\text{g}/\text{kg}$)		0,30	0,30	0,30	0,30
LQ ($\mu\text{g}/\text{kg}$)		1,00	1,00	1,00	1,00

BaA: benzo[a]antraceno, Chr: criseno, BbF: benzo[b]fluoranteno, BaP: benzo[a]pireno

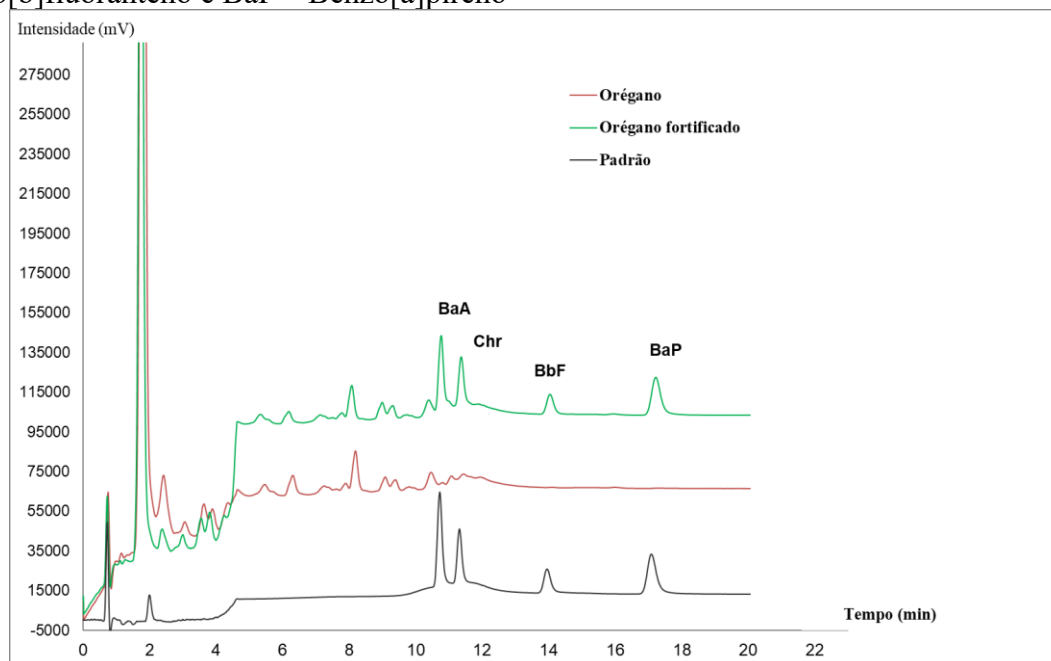
Para aplicação do método, foram avaliadas amostras comerciais de orégano, manjericão, alecrim, cebola em pó, alho em pó, limão em pó. Os resultados das amostras são apresentados na **Tabela 2**, assim como a **Figura 1** apresenta os cromatogramas sobrepostos de amostra de orégano, amostra adicionada de padrão e solução de padrão dos quatro HPAs em MeCN. Todos os resultados para HPAs ficaram abaixo de 1,00 µg/kg (valor do LQ). Desta forma, todas as amostras estavam satisfatórias quanto ao Regulamento nº 1933/2015 da Comunidade Europeia (CEC, 2015).

Tabela 2 - Teores de HPAs (µg/kg) para amostras de condimentos

Amostra	BaA	Chr	BbF	BaP	HPA4
Manjericão	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Orégano	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Alecrim	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Cebola em pó	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Limão em pó	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Alho em pó	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ

BaA: benzo[a]antraceno, Chr: criseno, BbF: benzo[b]fluoranteno, BaP: benzo[a]pireno, HPA4: BaA, Chr, BbF, BaP, <LQ: abaixo do limite de quantificação (LQ: 1,00 µg/kg)

Figura 1 - Cromatogramas sobrepostos obtido pela análise em UPLC/FL para amostra de orégano, amostra de orégano com adição de padrão (5,0 ng/g) e solução padrão contendo quatro HPAs em acetonitrila (5,0 ng/mL); BaA – Benzo[a]antraceno, Chr – Criseno, BbF – Benzo[b]fluoranteno e BaP – Benzo[a]pireno



Fonte: Próprio autor (2022)

Os resultados deste trabalho foram inferiores aos encontrados por Szternfeld *et al.* (2022), que, na avaliação de quatro HPAs em 120 especiarias e ervas da Bélgica, verificaram que o BaP foi detectado em 56% das amostras, e HPA4 em 96% das amostras. Três amostras excederam os limites máximos da Comunidade Europeia e, pelo cálculo de avaliação de risco usando a margem de exposição (MOE), todos os resultados indicaram baixa preocupação para a população por meio do consumo destes produtos.

Já Rozentale *et al.* (2018) avaliaram os níveis de quatro HPAs em 150 amostras de ervas secas e especiarias, incluindo orégano, manjeriço, tomilho, pimenta preta, páprica e noz-moscada, e os compostos foram detectados em 86% das amostras. Nenhuma das amostras excedeu os níveis aceitáveis da Comunidade Europeia, assim como os resultados do presente trabalho.

Bogdanovic *et al.* (2019), avaliando ervas secas e especiarias, verificaram que os níveis mais baixos de HPAs foram encontrados em alecrim (BaP: 0,21 µg/kg, HPA4: 1,24 µg/kg, HPA8: 3,63 µg/kg), sendo que o hidrocarboneto predominante foi o Chr.

As principais fontes de contaminação de HPAs em condimentos incluem o processo de secagem e defumação dos produtos, bem como, a absorção e acúmulo desses contaminantes existentes no ambiente circundante. No entanto, a literatura indica, para especiarias e vários tipos de suplementos alimentares, que os níveis mais significativos de HPAs referem-se aos processos de secagem inadequados (CEC, 2015; SCHAARSCHMIDT, 2016; ROZENTALE *et al.*; 2018). Segundo encontrado por Bogdanovic *et al.* (2019), métodos tradicionais de defumação e processamento aplicados na produção de páprica defumada resultaram em níveis mais elevados de HPAs (BaP: 21,88 µg/kg, HPA4: 113,12 µg/kg, HPA8: 207,46 µg/kg), e por este motivo a páprica e o cardamomo defumados foram isentos de limites máximos pela legislação (CEC, 2015).

4.5.4 Conclusão

O método proposto para análise dos quatro HPAs, que envolveu a purificação usando SPE e quantificação por UPLC-FL, mostrou-se sensível, preciso e exato, com possibilidade de análise de vários condimentos. Todas as amostras avaliadas estavam satisfatórias, com resultados abaixo do limite de quantificação. No entanto, este é um estudo preliminar e mais produtos comerciais deverão ser analisados, considerando o constante uso na dieta e preparo de alimentos, com o objetivo de avaliar a exposição da população a estes contaminantes.

Financiamento

Este trabalho teve financiamento da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), processo nº 2018/19005-6

4.5.5 Referências

- BANSAL, V.; KIM, K. H. Review of PAH contamination in food products and their health hazards. **Environment International**, v. 84, p. 26-38, 2015.
- BELLUCCI, E. R. B. *et al.* Addition of natural extracts with antioxidant function to preserve the quality of meat products. **Biomolecules**, v. 12, n. 10, p. 1506, 2022.
- BOGDANOVIĆ, T. *et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbons in selected food items coming from the Croatian market. **Italian Journal of Food Science**, v. 31, n. 3, 2019.
- CEC - COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES - Commission Regulation (EC) No. 836/2011, of 19 August 2011. Amending Regulation (EC) No. 333/2007 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels of lead, cadmium, mercury, inorganic tin, 3-MCPD and benzo(a)pyrene in foodstuffs. **Official Journal of the European Union**, L215/9-L215/16, 2011.
- CEC - COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES. Commission Regulation (EC) No. 1933/2015, of 15 October 2015. Amending Regulation (EC) amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels for polycyclic aromatic hydrocarbons in cocoa fibre, banana chips, food supplements, dried herbs and dried spices. **Official Journal of the European Union**, L282/11-13, 2015.
- DE OLIVEIRA, V. S. *et al.* Use of natural antioxidants in the inhibition of cholesterol oxidation: A review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 17, n. 6, p. 1465-1483, 2018.
- IARC - International Agency for Research on Cancer. **Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, Overall evaluation of carcinogenicity. Polynuclear Aromatic Compounds**. Lyon: IARC, 2010, v. 35.
- IARC - International Agency for Research on Cancer. **Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, Overall evaluation of carcinogenicity. Chemical Agents and Related Occupations**. Lyon: IARC, 2012, v. 100F.

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. **Orientação sobre Validação de Métodos de Ensaios Químicos**. DOQ-CGRE-008, revisão 9, 2020. Disponível em: <
http://www.inmetro.gov.br/credenciamento/organismos/doc_organismos.asp?torganismo=calibensaio>. Acesso em: 10 mar. 2022.

MANHANI, M. R. *et al.* Antioxidant action of rosemary and oregano extract in pre-cooked meat hamburger. **Food and Nutrition Sciences**, v. 9, n. 7, p. 806-817, 2018.

ROZENTALE, I. *et al.* The occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons in dried herbs and spices. **Food Control**, v. 83, p. 45-53, 2018.

SAMPAIO, G. R. *et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbons in foods: Biological effects, legislation, occurrence, analytical methods, and strategies to reduce their formation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 11, p. 6010, 2021.

SCHAARSCHMIDT, S. Public and private standards for dried culinary herbs and spices—part I: standards defining the physical and chemical product quality and safety. **Food Control**, v. 70, p. 339-349, 2016.

SHANG, F. *et al.* Determination of three polycyclic aromatic hydrocarbons in tea using four-way fluorescence data coupled with third-order calibration method. **Microchemical Journal**, v. 146, p. 957-964, 2019.

SILVA, S. A. *et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbons content and fatty acids profile in coconut, safflower, evening primrose and linseed oils. **Food Chemistry**, v. 245, p. 798-805, 2018.

SZTERNFELD, P. *et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbons in spices and dried herbs and associated risk for the Belgian population. **Food Additives & Contaminants: Part B**, p. 1-9, 2022.

4.5.6 Material complementar

No Apêndice H estão apresentados resultados complementares de HPAs em condimentos.

4.6 SEXTO MANUSCRITO

O sexto artigo descreve os resultados das análises de HPAs em produtos cárneos em diferentes cocções. Artigo a ser submetido para periódico após a avaliação da banca examinadora.

Determinação de hidrocarbonetos aromáticos policíclicos em carne bovina e linguiça defumada submetidas a diferentes métodos de cocção

Resumo

Os métodos de cocção são usados nos produtos cárneos para melhorar a digestibilidade, a palatabilidade e a conservação, no entanto eles podem atuar como uma fonte provável de formação de contaminantes carcinogênicos, como os hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HPAs). Este trabalho teve como objetivo avaliar, em carne bovina e linguiça defumada, a influência dos métodos de cocção (*grill* elétrico, frigideira a gás, forno a gás, *air fryer* e churrasqueira a carvão), da temperatura e do pré-tratamento das amostras (mix de condimentos para carne bovina e cozimento em meio ácido para linguiça) na formação de HPAs. A metodologia para análise de HPAs incluiu saponificação, extração líquido-líquido, purificação com cartuchos de extração em fase sólida e quantificação por cromatografia líquida de ultraeficiência com detecção por fluorescência. Os maiores teores HPA9 foram observados para a linguiça, e entre as técnicas de cocção, a *air fryer* formou mais compostos, devido aos teores mais elevados de pireno, e o *grill* elétrico formou menos. O benzo[a]pireno (BaP) não foi observado em todas as amostras investigadas. Uma maior temperatura formou mais HPAs, sugerindo que o preparo seja realizado com temperaturas mais brandas. Na carne bovina, as diferentes cocções não formaram HPAs de forma significativa. Depois processamento, a perda de massa mais significativa foi observada na carne bovina, em especial nas cocções forno a gás e churrasqueira. Os teores para BaP (carne bovina e linguiça) e HPA4 (para carne bovina) foram abaixo dos limites definidos pela EC, enquanto os teores de HPA4 para linguiça excederam nos métodos *grill* elétrico 100°C, frigideira 100°C, forno a gás em todas as condições, *air fryer* 180°C, churrasqueira 100°C. Na avaliação de risco, valores de MOE foram superiores a 1×10^4 e de ILCR inferiores a 1×10^{-6} , por isso considerados como baixa preocupação de saúde pública para a população brasileira.

Palavras-chave métodos de cocção, alcatra, HPAs, benzo[a]pireno

4.6.1 Introdução

Os produtos cárneos sempre tiveram um papel importante na alimentação humana em todo o mundo, sendo que os tipos e a quantidade de carnes consumidos foram influenciados por diferentes fatores, como religião, condição social e oferta ao longo dos anos (GRUJIC, 2010).

A carne é considerada uma satisfatória fonte de nutrientes, fornecendo vitaminas, minerais, aminoácidos essenciais e ácidos graxos (GEIKER *et al.*, 2021). O consumo de carne no Brasil é considerado elevado, como a maior parte dos países ocidentais, e a carne bovina é considerada uma das principais fontes de proteínas da população brasileira (GEIKER *et al.*, 2021; IBGE, 2020a)

As indústrias têm desenvolvido tecnologias de preservação da carne, como secagem, cura e defumação, combinadas com tratamento térmico, como alternativa para produzir uma grande variedade de produtos cárneos processados e aumentar a durabilidade dos alimentos (GEIKER *et al.*, 2021).

Diferentes processos de cocção podem ser empregados nos produtos cárneos como grelhar, defumar, aquecer, secar, assar, cozinhar com ar quente, infravermelho ôhmico, com o objetivo de forma a melhorar a digestibilidade, a palatabilidade e a conservação dos alimentos (NEVES *et al.*, 2021; ADEYEYE; ASHAOLU, 2022). Na carne submetida à cocção, fatores compõem qualidades sensoriais únicas como, por exemplo, maciez e suculência resultantes da marinação, e o sabor e a cor resultantes dos compostos formados pela reação de Maillard de proteínas e carboidratos em altas temperaturas (HU *et al.*, 2022). No entanto, altas temperaturas utilizadas durante o processamento podem produzir diversos compostos carcinogênicos, especialmente os HPAs (HAMIDI *et al.*, 2016; HU *et al.*, 2022; PAZ *et al.*, 2017; SIDDIQUE *et al.*, 2021). Um número crescente de pessoas vem se preocupando com questões da alimentação e nutrição devido ao aumento da prevalência de doenças crônicas relacionadas à dieta em muitos países. Desta forma, prevalece a busca por métodos de cocção que mantenham os nutrientes, a qualidade e não formem compostos indesejáveis (MIRZAZADEH; SADEGHI; BEIGMOHAMMADI, 2021; WANG *et al.*, 2021a).

Durante o processamento térmico de carnes, existem três vias principais para formação dos HPAs: 1) a fumaça produzida pela fonte de calor, que pode ser a fonte de contaminação e contaminar a superfície do alimento; 2) pirólise dos compostos orgânicos dos alimentos, bem como dos nutrientes existentes como lipídios e carboidratos, que podem originar HPAs devido

a reações de pirólise e ciclização em altas temperaturas; 3) a gordura da carne que, durante o cozimento, pode pingar na fonte de calor e sofrer pirólise formando HPAs, que podem ser carregados nas partículas da fumaça e contaminar a superfície do alimento (ALOMIRAH *et al.*, 2010; KIM; CHO; JANG, 2021; HU *et al.*, 2022).

Os HPAs representam um grupo de mais de 200 diferentes compostos orgânicos, com dois ou mais anéis aromáticos condensados (SAMPAIO *et al.*, 2021). Eles podem ser classificados de diferentes formas, como, por exemplo, o número de anéis aromáticos, podendo ser leves (2-3 anéis) ou pesados (4-6 anéis) (PURCARO; MORET; CONTE, 2013).

Estudos já apresentaram a correlação dos HPAs e o aumento da incidência de câncer de pele, pulmão, bexiga e gastrointestinal (PURCARO; MORET; CONTE, 2013; RENGARAJAN *et al.*, 2015). Devido à característica lipofílica, os HPAs entram no organismo por meio de substâncias lipídicas, e se ligam às proteínas celulares e ao DNA, interferindo nas membranas celulares e no funcionamento normal do sistema de membranas, resultando em dano celular, desenvolvimento anormal e indução de tumores e cânceres (WANG *et al.*, 2019a, 2019b; ZHU *et al.*, 2022). O câncer é considerado um problema de saúde pública, no Brasil e no mundo, e o aumento de casos está relacionado com a maior exposição dos indivíduos a fatores de risco carcinogênicos (INCA, 2019). Dentre os HPAs, o benzo[a]pireno (BaP) é o mais estudado e classificado no Grupo 1 da IARC, como carcinogênico para humanos, enquanto compostos como benzo[a]antraceno (BaA), benzo[b]fluoranteno (BbF) e criseno (Chr) estão no Grupo 2B, possíveis carcinogênicos para humanos (IARC, 2010, 2012).

A formação de HPAs em carnes depende de vários fatores, como por exemplo, o tipo de carne, o teor de gordura, composição de ácidos graxos, tempo, temperatura, umidade, pH, uso de condimentos, técnica de cozimento, distância da fonte de calor e o tipo de contato com a fonte de calor (direto ou indireta) (NEVES *et al.*, 2021). Em relação ao teor de gordura, estudos observaram o aumento dos níveis de HPAs com o aumento do teor de gordura nos alimentos, o que poderia estar relacionado ao processo de pirólise da gordura (HAMIDI *et al.*, 2016).

Ingredientes adicionados às carnes podem apresentar efeitos na formação de HPAs. (FARHADIAN *et al.*, 2011, CORDEIRO *et al.*, 2020; JANOSZKA, 2011; LAI *et al.*, 2022; WONGMANEEPRATIP; VANGNAI, 2017; WANG *et al.*, 2019a; WANG *et al.*, 2019b). Uma variedade de especiarias, ervas, extratos de frutas, extratos de plantas, vinagres e bebidas, podem ser incorporadas à carne, durante o pré-preparo ou na marinação, e foram relacionados com as concentrações de HPAs, além de melhorar a maciez, a suculência e o sabor da carne (WONGMANEEPRATIP; VANGNAI, 2017).

A incorporação de antioxidantes nos alimentos pode ser uma estratégia para evitar a formação ou o acúmulo de HPAs nestes produtos, pois são conhecidos por sua capacidade satisfatória em eliminar ou extinguir os radicais livres (SINGH, AGARWAL, SIMALGANDARA, 2023).

Antioxidantes sintéticos podem ser adicionados como uma forma eficaz para retardar ou prevenir a oxidação e formação de HPAs (LU; KUHNLE; CHENG, 2017). Gong *et al.* (2018) relataram uma redução de 71,75% nos HPAs quando terc-butilhidroquinona (TBHQ) foi adicionado ao óleo de fritura, atribuída às propriedades antioxidantes do TBHQ. Min; Patra; Shin (2018) indicaram que HPA8 diminuíram com a adição de antioxidantes em sistemas modelo de carne aquecida em comparação com o controle, sendo a maior redução relacionada ao butil-hidroxitolueno (BHT) e sesamol. No entanto, estas substâncias sintéticas possuem limitações comerciais, pois contêm certa toxicidade e odor característico, e desta forma a indústria de alimentos têm interesse em substituir por substâncias naturais que possam atender a demanda do consumidor (MANHANI *et al.*, 2018).

Fontes naturais de antioxidantes têm sido exploradas para uso em produtos cárneos e podem exercer relação com a redução da formação de HPAs. Alho e cebola, ambos da família *Allium*, contêm um alto nível de antioxidantes, principalmente organossulfetos, e na cebola está presente a quercetina, com capacidade antioxidante e propriedades antibacterianas. Ervas e condimentos têm sido estimulados pelo fato de conterem compostos fenólicos, capazes de desativar os radicais livres. A Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) estimula o uso de sal de ervas secas em substituição ao sal tradicional, o que contribui a ingestão de cloreto de sódio, contendo uma parte de sal para três partes de ervas, citando-se orégano, manjeriço, manjerona, louro, alecrim, entre outros (BRASIL, 2014). O uso de ervas proporciona a melhora da qualidade dos alimentos, já que produtos como orégano, tomilho, alecrim, manjerona e sálvia apresentaram elevados teores de compostos fenólicos e atividades antioxidantes (MANHANI *et al.*, 2018; ULEWICZ-MAGULSKA; WESOLOWSKI *et al.*, 2019; BELLUCCI *et al.*, 2022).

A *European Food Safety Authority* (EFSA) propôs a avaliação em alimentos de quatro HPAs (HPA4), incluindo BaA, Chr, BbF e BaP, e oito HPAs (HPA8), incluindo HPA4, benzo[k]fluoranteno (BkF), dibenzo[a,h]antraceno (DahA), benzo[g,h,i]perileno (BghiP) e indeno[1,2,3-c,d]pireno (IcdP) (EFSA, 2008). A Comissão Europeia considera HPA4 como indicativo da ocorrência destes compostos nos alimentos, segundo o Regulamento nº 835/2011, e apresenta um nível máximo separado para o BaP, com o intuito de levantar dados para comparação futura (EFSA, 2008; CEC, 2011). Os valores máximos permitidos para carnes defumadas são de 2,0 µg/kg para BaP e 12,0 µg/kg para HPA4, e para carnes tratadas

termicamente vendidas ao consumidor final são de 5,0 µg/kg para BaP e 30,0 µg/kg para HPA4 (CEC, 2011). Alguns países da União Europeia não conseguiram reduzir os teores de HPAs em produtos cárneos defumados pelo método tradicional, e foi permitido através do Regulamento nº 1255/2020 manter os limites de BaP e HPA4 de 5,0 e 30,0 µg/kg, respectivamente, para carnes de produção e consumo local para estes Estados-Membros (CEC, 2020; SAMPAIO *et al.*, 2021).

Este estudo teve como objetivo avaliar a influência das técnicas de cocção na formação de nove HPAs em dois tipos de produtos cárneos, carne bovina e linguiça defumada. Entre os parâmetros a serem avaliados, foram incluídos métodos de cocção (*grill* elétrico, frigideira a gás, forno a gás, *air fryer* e churrasqueira a carvão), temperatura e pré-tratamento (condimentos para carne bovina e cozimento em meio ácido para linguiça) anterior às etapas de cozimento.

4.6.2 Material e métodos

4.6.2.1 Reagentes e padrões

Dentre os solventes e reagentes que foram empregados, estão incluídos, como grau analítico: etanol, éter etílico, hidróxido de potássio (KOH) e sulfato de sódio (Na₂SO₄), sulfato de potássio, sulfato de cobre, ácido clorídrico, ácido bórico e reagente de Kjeldal. Foram utilizados os seguintes solventes grau cromatográfico: n-hexano, metanol (MeOH) e acetonitrila (MeCN). Água deionizada (H₂O) por meio do sistema de purificação Milli-Q, filtrada em membrana de nylon de 0,22 µm, também foi utilizada. Para identificação e quantificação dos HPAs, foram utilizados os seguintes padrões individuais: BaA, Chr, BbF e BaP, da marca Supelco (Bellefonte, PA, EUA). Foram preparadas soluções individuais de HPAs, em MeCN, na concentração aproximada de 40 µg/mL (para BbF, Chr e BaP) e 36 µg/mL (para BaA). Como soluções de trabalho, foram preparadas soluções contendo quatro HPAs e dezesseis HPAs em MeCN, com concentrações individuais de 200 ng/mL, preparado a cada necessidade analítica, e mantido a -18°C por no máximo um mês.

4.6.2.2 Amostras

Foi realizada a aquisição da carne bovina alcatra em bifés, sem osso, congelados individualmente em embalagens de 900 g, todas do mesmo lote, fabricadas em 09/11/20 em Andradina/SP, com validade 09/11/21. Também foi adquirida a linguiça mista cozida e defumada tipo fininha, congelada em embalagens de 215 g contendo quatro unidades (gomos),

fabricada em 07/01/21 em Bom Retiro do Sul/RS, com validade 07/05/21. Esta linguiça foi selecionada para as técnicas de cocção por ter apresentado previamente elevados teores de HPAs. As amostras foram armazenadas em suas embalagens originais, protegidas de luz, em freezer a -18°C até o momento da análise. As amostras que passaram pelo processo de cocção foram pesadas (antes e após cocção), trituradas e homogeneizadas em multiprocessador, acondicionadas em embalagens identificadas a -20°C e analisadas no máximo uma semana após a cocção.

Também foram adquiridos na cidade de São Paulo óleo de soja e diferentes condimentos a granel para o preparo do tempero da carne e cozimento da linguiça, incluindo cebola em pó (*Allium cepa* L.), alho em pó (*Allium sativum* L.), limão em pó (*Citrus limonium*, contendo ácido cítrico como ingrediente), orégano desidratado (*Origanum vulgare* L.), manjericão desidratado (*Ocimum basilicum* L.), alecrim desidratado (*Rosmarinus officinalis* L.) e sal de cozinha (cloreto de sódio). São condimentos geralmente utilizados nas condições de preparo caseiro dos brasileiros, além de serem recomendados pela ANVISA para uso no sal de ervas secas em substituição ao sal tradicional (BRASIL, 2014).

4.6.2.3 Pré-preparo e tratamento de cocção das amostras

4.6.2.3.1 Pré-preparo dos produtos cárneos

Os pré-preparos foram fundamentados nas publicações de Janoszka (2011), Farhadian *et al.* (2012), Brasil (2014) e Wongmaneepratip e Vangnai (2017), com modificações.

Quanto à linguiça, metade das amostras foi separada e levada ao pré-tratamento com meio ácido. Cada seis gomos (~320 g) foram colocados em 1,2 L de água fervente contendo 10% de limão em pó, e cozidos por 5 min. A água foi descartada e cada gomo (cerca de 50 g) foi levado individualmente ao tratamento de cocção.

Para a carne bovina, os bifês de alcatra foram cortados em pedaços menores, com aproximadamente 50 g, e as capas de gordura foram retiradas a fim de obter padronização entre as amostras. Metade das amostras foi separada e levada ao pré-tratamento com tempero. Para cada 50 g de carne bovina, foram adicionados 0,50 g da mistura de temperos com as seguintes quantidades de cada condimento: cloreto de sódio (0,22 g), limão desidratado (0,08 g), orégano desidratado (0,035 g), alecrim desidratado (0,06 g), manjericão desidratado (0,06 g), alho desidratado (0,025 g) e cebola desidratada (0,025 g). Os temperos foram previamente

misturados em um processador por 2 min, passados em peneira com 16 *mesh*, pesados e acrescentados às carnes imediatamente antes da cocção.

4.6.2.3.2 Tratamento de cocção dos produtos cárneos

As análises e tratamentos de cocção foram realizados no laboratório da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, no Núcleo de Contaminantes Orgânicos do Centro de Contaminantes e no Núcleo de Química, Física e Sensorial do Centro de Alimentos do Instituto Adolfo Lutz.

Tanto a linguiça, quanto os bifes foram cortados, divididos e numerados conforme os tratamentos de cocção e as condições de cocção (**Figuras 1 e 2**). As variáveis do estudo foram:

- a) Uso de tempero (contendo especiarias, sal e limão) para carne bovina, e cozimento em meio ácido para linguiça;
- b) Tratamento de cocção;
- c) Temperatura de cocção.

Os tratamentos de cocção foram fundamentados no trabalho de Trevisan *et al.* (2016) e Carvalho *et al.* (2021), e instruções dos equipamentos, simulando o uso doméstico, e são os mais comumente usados para preparo de cárneos pelos brasileiros, conforme descritos a seguir:

- **Cocção 1:** cocção sob calor seco (grelhar) em *grill* elétrico antiaderente marca Philco, modelo Super Grill Duo, potência 1500W, com termopar tipo J (G Controls sistemas Ltda) conectado a indicador digital de temperatura (modelo GC 2109T, G Controls Sistemas Ltda) até que o centro geométrico do alimento atingisse 80 e 100°C;
- **Cocção 2:** cocção sob calor seco (grelhar) em frigideira antiaderente de 21 cm de diâmetro, com termopar tipo J (G Controls sistemas Ltda). Fogão a gás de seis bocas de embutir marca Brastemp, modelo De Ville Clean e chama mínima do fogão. Uso de termopar tipo J (G Controls sistemas Ltda) conectado a indicador digital de temperatura (modelo GC 2109T, G Controls Sistemas Ltda). Quando o centro geométrico do alimento alcançou 30°C, alimento foi trocado de lado a cada 30 s até que atingisse 80 e 100°C;
- **Cocção 3:** cocção sob calor seco (assar) usando forma antiaderente retangular de dimensões 24 x 34 cm em forno de fogão a gás de seis bocas de embutir marca Brastemp, modelo De Ville Clean. Sensor de temperatura mantido entre 150-180°C (valor médio medido de 175°C) e 180-210°C (valor médio medido de 200°C), por

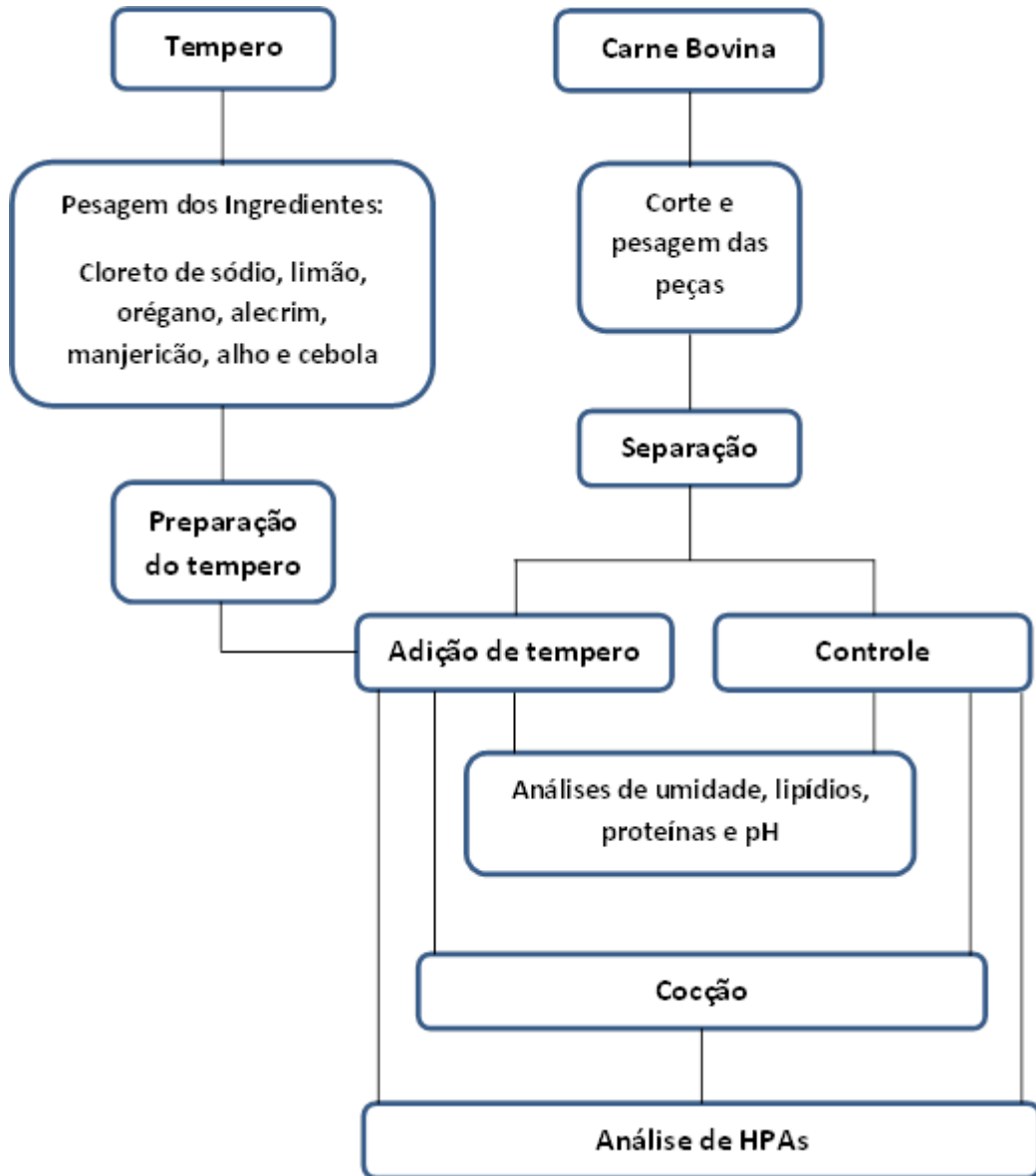
30 min. Uso de termopar tipo J (G Controls sistemas Ltda) conectado a indicador digital de temperatura (modelo GC 2109T,G Controls Sistemas Ltda) para conferência de temperatura;

- **Cocção 4:** cocção sob ar quente em fritadeira elétrica (*air fryer*), marca Mondial, modelo NAF-03-4470-12, 3,2 L, potência 1500W. Pré-aquecida por 5 min iniciais com temperatura de 200°C, conforme recomendado no manual do fabricante. Sensor de temperatura do equipamento mantido em 180°C (valor médio medido de 180°C) e em 200°C (valor médio medido de 200°C), por 7 min, sendo que na metade do tempo (3,5 min), o alimento foi trocado de lado. Uso de termopar tipo J (G Controls sistemas Ltda) conectado a indicador digital de temperatura (modelo GC 2109T,G Controls Sistemas Ltda) para conferência de temperatura;
- **Cocção 5:** cocção sob calor seco (assar) em grelha disposta em churrasqueira com carvão de eucalipto, distância da carne ao material combustível de 12 cm, com termopar tipo J (G Controls sistemas Ltda) conectado a indicador digital de temperatura (modelo GC 2109T,G Controls Sistemas Ltda). Quando o centro geométrico do alimento alcançou 30°C, alimento foi trocado de lado a cada 2 min até que atingisse 80 e 100°C.

Antes de todos os métodos de cocção, foram acrescentados 0,5 mL de óleo de soja de forma a retratar a cocção doméstica. Cada tratamento foi avaliado em triplicata. As amostras que passaram pelo processo de cocção foram pesadas, homogeneizadas em multiprocessador, acondicionadas em embalagens metalizadas com zíper e seladas a vácuo. Cada unidade foi numerada e identificada com rótulo e estocada a -20°C até o momento da análise

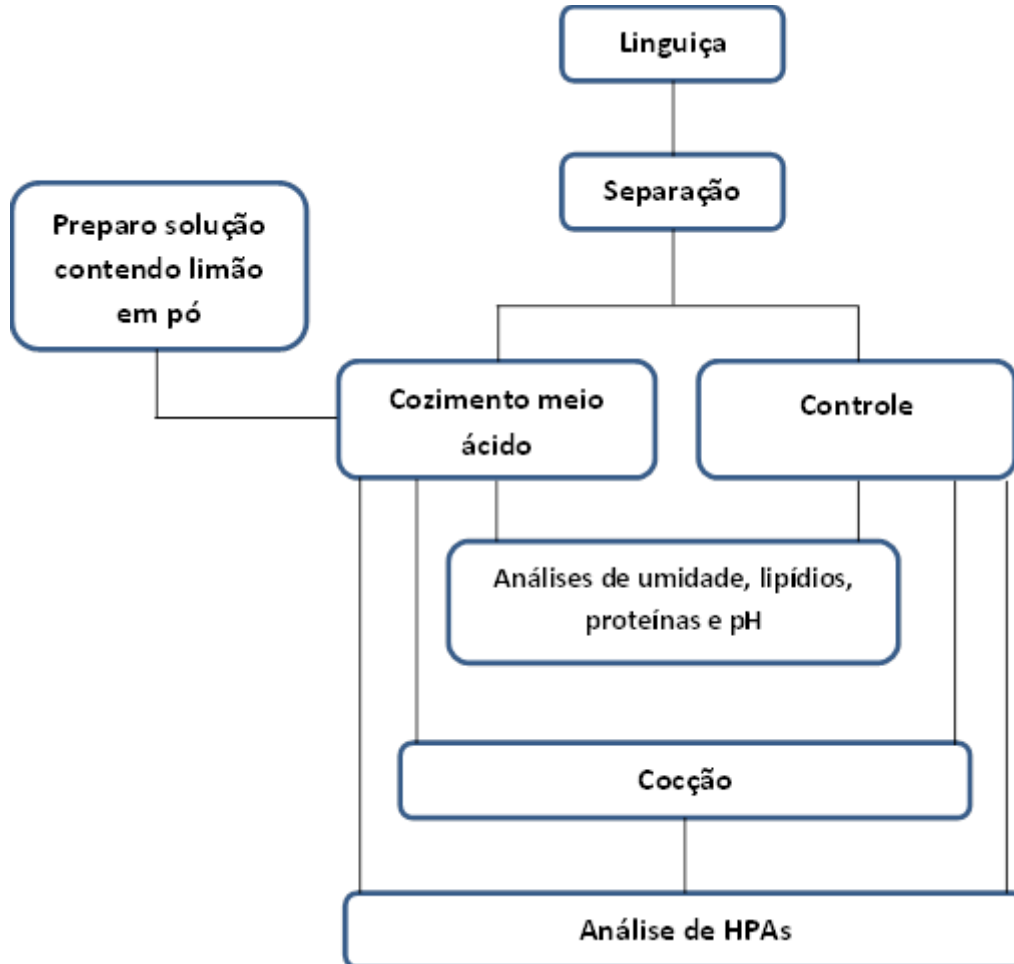
Para comparação, as amostras cruas e com o pré-preparo foram analisadas quanto aos teores de HPAs.

Figura 1 - Representação esquemática do preparo da carne bovina (adição de temperos e cocção)



Fonte: Próprio autor (2022)

Figura 2 - Representação esquemática do processo de preparo da linguiça (pré-tratamento com meio ácido e cocção)



Fonte: Próprio autor (2022)

4.6.2.4 Métodos

4.6.2.4.1 Composição centesimal para caracterização das amostras cruas

Para caracterizar os produtos submetidos a diferentes processos de cocção, foram realizados ensaios, em triplicata, dos teores de umidade, lipídeos, proteínas e pH. Os procedimentos aplicados foram os descritos pela AOAC (2012), e para pH em Farhadian *et al.* (2012):

- Umidade: dessecação em estufa a 105°C (Thermo Scientific) até peso constante;
- Lipídeos: extraídos com éter por Soxhlet após secagem prévia da amostra;
- Proteínas: método de Kjeldahl, com a determinação do nitrogênio total utilizando o fator de conversão para proteína de 6,25.
- pH: usando pHmetro marca Digimed, pela medida de uma mistura de 5 g de carne com 45 mL de água destilada.

4.6.2.4.2 Perda de massa por cocção

As carnes e linguiças foram pesadas em balança analítica e as massas determinadas, imediatamente antes e após cocção. A perda de massa foi calculada de acordo com a equação abaixo, e expressa em redução percentual.

$$\text{Perda de massa (\%)} = \frac{(m \text{ inicial} - m \text{ final})}{m \text{ inicial}} \times 100$$

4.6.2.4.3 Análise de HPAs

A metodologia incluiu saponificação, extração, purificação e quantificação segundo Silva *et al.* (2022). Dois gramas de amostra, triturada e homogeneizada, foram pesados em tubo de vidro e adicionou-se 5 mL de KOH 2M em etanol. A mistura foi colocada previamente no ultrassom por 10 minutos, e em seguida no banho-maria a 40°C por 3 h. Após resfriar, foram adicionados 5 mL de H₂O e 10 mL de n-hexano. Depois de alguns segundos, quando as fases orgânica e aquosa estavam completamente separadas, retirou-se a fase orgânica e depositou-se no funil de separação, repetindo-se por mais duas vezes com n-hexano. A esse funil, para limpeza da fase orgânica, foi realizada uma sequência de lavagem com 30 mL de MeOH:H₂O

(4:1, v/v), 30 mL de MeOH:H₂O (1:1, v/v) e 30 mL de H₂O, conforme proposto por Wretling *et al.* (2010). A fase aquosa foi então descartada, e a fase orgânica filtrada em Na₂SO₄, recolhida em bquer e levada à completa evaporação.

Após secagem com nitrogênio, o extrato da amostra foi ressuscendido em 4 mL de MeCN e iniciou-se a fase de limpeza em SPE de sílica (6 mL, 500 mg, Discovery DSC-Si, Supelco) em sistema automatizado de SPE Gilson GX-274 ASPEC (Gilson Inc., Middleton, WI, USA). O cartucho foi pré-condicionado com 3 mL de MeCN, em seguida foram passados 3 mL do extrato da amostra e por último foi feita uma lavagem com 3 mL de MeCN, com fluxo máximo de 2 mL/min. O extrato final foi colocado em concentrador a vácuo a 30°C até completa evaporação. O resíduo foi dissolvido em 1 mL de MeCN, sendo posteriormente filtrado em membrana de politetrafluoretileno (PTFE) 0,22 µm e acondicionado em vial para análise cromatográfica.

A quantificação foi realizada usando cromatógrafo a líquido de ultra eficiência (UPLC), marca Shimadzu, composto pelos seguintes módulos e modelos: bomba LC-30AD, injetor automático SIL-30AC, degaseificador DGU-20A, forno CTO-20A e detector de fluorescência (FL) RF-20A. As condições cromatográficas aplicadas foram: temperatura do forno 30°C, injeção automática 2 µL, fluxo 0,4 mL/min, fase móvel MeCN:H₂O, com gradiente de eluição: 0-0,9 min, 55% MeCN; 0,9-7,0 min, gradiente linear 55-75% MeCN; 7,0-17,0 min, 75% MeCN; 17,0-18,0 min, gradiente linear 75-100% MeCN; 18-23 min, 100% MeCN; retornando às condições iniciais em 27 min, e estabilizando em 34 min. A separação dos compostos ocorreu na coluna Zorbax Eclipse PAH (100 mm x 2,1 mm, 1,8 µm, Agilent), protegida por coluna de guarda (5 mm x 2,1 mm, 1,8 µm, Eclipse Plus, Agilent). A detecção foi obtida com detector de fluorescência, e os comprimentos de onda de excitação e emissão empregados foram: 270/390 nm (para Pyr, BaA e Chr) e 290/430 nm (para BbF, BkF, BaP, IcdP, DahA e BghiP).

Os picos foram integrados e quantificados usando software *LabSolutions* (Shimadzu). A quantificação foi realizada por padronização externa com curva de calibração, construída a partir da injeção de soluções-padrão com concentrações variadas, preparadas em MeCN a partir da solução de trabalho.

4.6.2.5 Exposição e avaliação de risco

Os cálculos para avaliação de risco para a saúde humana por meio da ingestão de HPAs fundamentaram-se nos estudos de Li *et al.* (2016), Ariseto *et al.* (2017), Wang *et al.* (2018) e Wang *et al.* (2021b), JECFA (2005) e EFSA (2008), usando dados de consumo, idade e peso

corporal apresentados pelo IBGE (2010, 2020a, 2020b). Os indicadores de risco utilizados neste estudo foram: Ingestão Dietética Diária (ID), o Incremento de Risco de Câncer no Tempo de Vida (ILCR), para HPA4 e a Margem de Exposição (MOE), para BaP, HPA4 e HPA8. Quando as concentrações estavam inferiores ao LOQ, foram usados resultados como metade do LOQ (ARISSETO *et al.*, 2017).

O cálculo da ingestão diária (ID) dos HPAs foi estimado segundo equação:

$$\text{Ingestão diária de HPAs (ng/dia)} = C_i \times IR$$

onde C_i : concentração individual de cada HPA e IR: consumo alimentar diário médio (g/dia), segundo dados médios de consumo entre homens e mulheres no Brasil, carne bovina: 50,2 g/dia, linguiça: 3,9 g/dia (IBGE, 2020).

O quociente de equivalência tóxica (TEQ) dos HPAs foi calculado pela fórmula:

$$TEQ(ng/kg) = \sum [C_i \times TEF_i]$$

onde TEF: 0,1 (BaA e BbF) e 0,01 (Chr) e 1 (BaP) (Wang *et al.*, 2021b) e C_i : concentração individual de cada hidrocarboneto.

O incremento de risco de câncer no tempo de vida (ILCR) foi calculado usando a fórmula:

$$ILCR = \frac{TEQ \times IR \times EF \times ED}{BW \times AT} \times SF \times CF$$

onde TEQ: quocientes de equivalência tóxica ($\mu\text{g}/\text{kg}$); IR: consumo alimentar diário médio (g/dia) segundo IBGE (2020a); EF: frequência de exposição (365 dias/ano); ED: duração da exposição (para adolescentes 10 anos, adultos 40 anos e idosos 17 anos) (IBGE, 2010, 2020a, 2020b); BW: peso corporal médio (kg), para adolescentes 50,5 kg, para adultos 67,5 kg, para idosos 64,9 kg (IBGE, 2010); AT: expectativa média de vida, 76,6 anos, 27959 dias (IBGE, 2020b); SF: fator potencial oral (média geométrica de 7,3 por mg/kg dia); CF: fator de conversão de unidades (10^{-6} mg/ng).

A Margem de Exposição (MOE) foi calculada pela equação:

$$MOE = \frac{BMDL10 \times BW}{ID}$$

onde BMDL10 = limite inferior do intervalo de confiança de 95% da Dose de Referência (Benchmark Dose Lower Confidence Limit, BMDL), que causou um aumento de 10% na incidência de tumores (0,07, 0,34 e 0,49 mg/kg/bw/day para BaP, HPA4 e HPA8, respectivamente) (EFSA, 2008); BW = peso corporal médio (kg), para adolescentes 50,5 kg, para adultos 67,5 kg, para idosos 64,9 kg (IBGE, 2010); ID = ingestão diária dos HPAs (ng/dia).

4.6.2.6 Análise estatística

Para comparação das médias, a avaliação estatística foi realizada por análise de variância (ANOVA), seguida do Teste de Tukey com 5% de significância usando o Programa SPSS®.

4.6.3 Resultados e discussão

4.6.3.1 Composição centesimal para caracterização das amostras cruas

A **Tabela 1** apresenta os resultados das composições dos produtos cárneos. Segundo relatado por Kim, Cho e Jang (2021), a formação de HPAs em carnes pode mudar dependendo da composição original do produto. A linguiça teve os maiores teores de gorduras totais, cinzas e pH ($p < 0,05$), enquanto a alcatra teve os maiores teores de umidade ($p < 0,05$). Para proteínas, houve diferença significativa para a linguiça com preparo prévio, que apresentou um menor resultado. Esta mesma linguiça apresentou teor maior de umidade, referente ao cozimento realizado em meio ácido. Também foi avaliado o pH da água de cozimento com adição de meio ácido (limão em pó), e o valor médio foi de 2,5.

Tabela 1 - Composição centesimal e pH das carnes de alcatra e linguiça usados no processo de cocção

Composição	Alcatra sem preparo prévio	Alcatra com preparo prévio	Linguiça sem preparo prévio	Linguiça com preparo prévio
Umidade (g/100g)	71,4 ^c	72,8 ^c	50,8 ^a	53,1 ^b
Proteína (g/100g)	21,7 ^b	20,2 ^b	21,2 ^b	16,5 ^a
Gorduras totais (g/100g)	4,3 ^a	3,1 ^a	22,9 ^b	23,1 ^b
Cinzas (g/100g)	1,1 ^a	1,5 ^a	4,7 ^c	4,1 ^b
pH	5,4 ^a	5,3 ^a	6,6 ^b	6,6 ^b

Pré-tratamento - Linguiças: prévio cozimento com limão desidratado; Carnes: tempero com condimentos e sal. Valores expressos como média de três replicatas; Médias seguidas da mesma letra nas linhas não diferem significativamente entre si ($p > 0,05$)

4.6.3.2 Perda de massa por cocção

Os resultados médios obtidos para a perda de massa por cocção são apresentados na **Tabela 2**.

O tipo de cocção assado foi o que apresentou as maiores porcentagens de perda, em especial no forno. A perda na alcatra foi superior à linguiça, o que está relacionado à quantidade de água inicial presente nas amostras, avaliada pela composição dos produtos. Em estudo realizado por Siddique *et al.* (2021) em carne de coelho, as perdas em forno foram de 50% e em grelha 49%, e Cordeiro *et al.* (2020) em bifés de lombo de porco encontraram perdas variando de 50-60% em churrasqueira, resultados superiores aos obtidos neste trabalho.

Segundo Alfaia *et al.* (2010) e Siddique *et al.* (2021), a perda durante a cocção depende de vários fatores, incluindo o tipo de cozimento utilizado, a superfície de cozimento, o tempo, a temperatura, o tamanho da carne, bem como características da carne, incluindo teor de gordura, proteína, água e pH.

Tabela 2 - Médias obtidas para perda de massa por cocção para as amostras de carne alcatra e linguiça avaliadas

Cocção - Temperatura	Perda alcatra (%)	Perda linguiça (%)
Grill elétrico – 80°C	25,5 ^{g,h}	1,9 ^f
Grill elétrico – 100°C	36,9 ^{a,b,c,d,e}	7,4 ^{c,d,e}
Grill elétrico – 80°C – com preparo prévio	26,4 ^{f,g,h}	2,9 ^f
Grill elétrico – 100°C – com preparo prévio	38,1 ^{a,b,c,d,e}	10,3 ^{b,c}
Frigideira – 80°C	26,5 ^{f,g,h}	1,5 ^f
Frigideira – 100°C	33,2 ^{c,d,e,f}	5,0 ^{d,e,f}
Frigideira – 80°C – com preparo prévio	26,6 ^{f,g,h}	2,3 ^f
Frigideira – 100°C – com preparo prévio	37,7 ^{a,b,c,d,e}	8,2 ^{c,d}
Forno - 175°C	35,4 ^{c,d,e}	7,7 ^{c,d}
Forno - 200°C	42,5 ^{a,b}	14,9 ^a
Forno - 175°C – com preparo prévio	36,0 ^{b,c,d,e}	13,6 ^{a,b}
Forno - 200°C – com preparo prévio	39,1 ^{a,b,c,d}	17,9 ^a
Air fryer - 180°C	31,6 ^{e,f,g}	1,2 ^f
Air fryer - 200°C	36,7 ^{b,c,d,e}	3,3 ^{e,f}
Air fryer - 180°C – com preparo prévio	24,7 ^h	4,3 ^{d,e,f}
Air fryer - 200°C – com preparo prévio	39,6 ^{a,b,c}	7,7 ^{c,d}
Churrasqueira - 80°C	37,3 ^{a,b,c,d,e}	5,5 ^{d,e,f}
Churrasqueira - 100°C	43,5 ^a	10,1 ^{b,c}
Churrasqueira - 80°C – com preparo prévio	32,7 ^{d,e,f}	4,3 ^{d,e,f}
Churrasqueira - 100°C – com preparo prévio	34,9 ^{c,d,e}	11,6 ^{a,b,c}

Pré-tratamento - Linguiças: prévio cozimento com limão desidratado; Carnes: tempero com condimentos e sal. Valores expressos como média de três replicatas

4.6.3.3 Análise de HPAs em produtos cárneos submetidos a diferentes cocções

A **Tabela 3** apresenta os resultados das cocções realizadas para a carne alcatra. Para comparação, foram usados os dados da alcatra crua como controle. A única cocção em que não foram encontradas quantidades significativas dos HPA9 (abaixo do LQ) foi a frigideira. No *grill* elétrico, DahA+BghiP+IcdP foram formados nas duas temperaturas de estudo, mas a adição de tempero retardou a formação destes compostos. Na *air fryer* e churrasqueira, houve formação de Pyr nas duas temperaturas, e da mesma maneira a adição do sal de ervas contribuiu na redução ou não formação destes compostos.

Os dados das cocções para linguiça são apresentados na **Tabela 4**. Para comparação, foram usados os dados da linguiça crua como controle. Todos os ensaios apresentaram resultados para BbF, BkF, BaP e DahA+BghiP+IcdP abaixo do LQ, assim foram avaliados dados para Pyr, BaA e Chr.

Os teores de HPAs foram menores na linguiça cozida no meio ácido, indicando que os HPAs foram retirados no cozimento prévio. Lee *et al.* (2020) indicou a limitação da formação de compostos cancerígenos por meio do uso de métodos de pré-cozimento, como pré-descongelamento por micro-ondas, pré-secagem e fritura a baixa pressão.

Na avaliação dos hidrocarbonetos, Pyr se formou mais na *air fryer*, BaA no *grill* 100°C sem pré-tratamento, Chr no forno a 200°C sem pré-tratamento, HPA4 e HPA8 na *air fryer* a 200°C com tempero, e HPA9 na *air fryer* em todos os tratamentos.

Na linguiça, para o *grill* elétrico, os teores foram maiores a 100°C. Quanto às amostras pré-cozidas em meio ácido, os teores de HPAs não tiveram diferença em relação às amostras cruas, mas sim em relação às amostras cozidas. Na frigideira, houve formação de HPAs nas duas temperaturas e nas amostras pré-cozidas, os teores foram maiores para Chr em relação às amostras cruas, e para BaA e Chr em relação às amostras cozidas, mas não diferem em relação às amostras que não passaram por pré-tratamento. No forno a gás, houve formação de HPAs nas duas temperaturas e nas amostras pré-cozidas os teores de BaA e Chr foram maiores, mas não diferem em relação às amostras que não passaram por pré-tratamento. Na *air fryer*, houve formação de HPAs nas duas temperaturas, com uma diferença expressiva superior para o Pyr, chegando a uma porcentagem de aumento de 263%. Na churrasqueira, houve formação de BaA e Chr nas duas temperaturas de uma maneira geral, e nas amostras pré-cozidas não houve diferença para estes HPAs em relação às amostras cruas, mas sim em relação às passaram por pré-tratamento. O teor de Pyr foi mais baixo em relação ao controle.

Tabela 3 - Concentração (média ± desvio padrão) de HPAs em amostras de alcatra, segundo tipo de cocção, temperatura e adição de condimentos

Processamento	T (°C)	Adição de tempero	CONCENTRAÇÃO (µg/kg)									
			Pyr	BaA	Chr	BbF	BkF	BaP	DahA+BghiP+IcdP	HPA4	HPA8	HPA9
Crua	Não	Não	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	80	Não	-	-	-	-	-	-	1,65± 0,06 ^b	-	1,65± 0,06 ^b	1,65± 0,06 ^b
Grill Elétrico	100	Não	-	-	-	-	-	-	1,40± 0,09 ^a	-	1,40± 0,09 ^a	1,40± 0,09 ^a
	80	Sim	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	100	Sim	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	80	Não	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Frigideira	100	Não	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	80	Sim	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	100	Sim	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	175	Não	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Forno	200	Não	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	175	Sim	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	200	Sim	1,11± 0,02 ^a	-	-	-	-	-	-	-	-	1,11± 0,02 ^a
	180	Não	1,33± 0,26 ^{a,b}	-	-	-	-	-	-	-	-	1,33± 0,26 ^{a,b}
Air fryer	200	Não	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	180	Sim	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	200	Sim	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	80	Não	2,29± 0,26 ^c	-	-	-	-	-	-	-	-	2,29± 0,26 ^c
Churrasqueira	100	Não	2,22± 0,29 ^c	-	-	-	-	-	-	-	-	2,22± 0,29 ^c
	80	Sim	1,65± 0,04 ^b	-	-	-	-	-	-	-	-	1,65± 0,04 ^b
	100	Sim	1,35± 0,24 ^{a,b}	-	-	-	-	-	-	-	-	1,35± 0,24 ^{a,b}

Amostras com traço: não quantificado; n=3; Pyr – pireno (LQ: 1,00 µg/kg), BaA – benzo[a]antraceno (LQ: 1,00 µg/kg), Chr – criseno (LQ: 0,50 µg/kg), BbF – benzo[b]fluoranteno (LQ: 0,50 µg/kg), BkF – benzo[k]fluoranteno (LQ: 1,00 µg/kg), BaP – benzo[a]pireno (LQ: 0,50 µg/kg), DahA - dibenzo[a,h]antraceno, BghiP: benzo[g,h,i]perileno, IcdP: indeno[1,2,3-c,d]pireno (LQ: 1,00 µg/kg); Médias seguidas da mesma letra nas linhas não diferem significativamente entre si (p>0,05).

Tabela 4 - Concentração (média ± desvio padrão) de HPAs em amostras de linguça segundo pré-tratamento em meio ácido, tipo de cocção e temperatura

Processamento	T (°C)	Meio ácido	CONCENTRAÇÃO (µg/kg)									
			Pyr	BaA	Chr	BbF	BkF	BaP	DahA + BghiP +IcdP	HPA4	HPA8	HPA9
Crua	Não	Não	15,87±0,93 ^{a,b,c,d}	5,13±0,11 ^b	3,79±0,15 ^b	-	-	-	-	8,93±0,24 ^b	8,93±0,24 ^b	24,80±1,12 ^{a,b,c,d}
Cozimento meio ácido	Não	Sim	11,10±1,18 ^a	2,46±0,59 ^a	1,15±0,35 ^a	-	-	-	-	3,61±0,94 ^a	3,61±0,94 ^a	14,71±1,96 ^a
Grill Elétrico	80	Não	12,59±2,00 ^{a,b,c}	5,34±0,29 ^{b,c}	3,63±0,49 ^b	-	-	-	-	8,97±0,78 ^b	8,97±0,78 ^b	21,56±1,81 ^{a,b,c}
	100	Não	23,85±3,24 ^d	8,69±0,47 ^g	5,24±0,38 ^{b,c}	-	-	-	-	13,94±0,85 ^{e,f,g,h}	13,94±0,85 ^{e,f,g,h}	37,79±4,08 ^f
	80	Sim	15,70±1,59 ^{a,b,c,d}	5,68±0,37 ^{b,c,d,e}	3,65±0,35 ^b	-	-	-	-	9,33±0,72 ^{b,c}	9,33±0,72 ^{b,c}	25,03±2,26 ^{a,b,c,d}
Frigideira	100	Sim	15,63±2,39 ^{a,b,c,d}	5,97±0,92 ^{b,c,d,e}	4,06±0,61 ^b	-	-	-	-	10,03±1,52 ^{b,c,d,e}	10,03±1,52 ^{b,c,d,e}	25,66±3,91 ^{b,c,d,e}
	80	Não	18,14±0,77 ^{a,b,c,d}	6,51±0,12 ^{b,c,d,e,f}	5,27±0,14 ^{b,c}	-	-	-	-	11,78±0,27 ^{b,c,d,e,f,g,h}	11,78±0,27 ^{b,c,d,e,f,g,h}	30,25±0,39 ^{b,c,d,e,f}
	100	Não	23,02±3,91 ^{c,d}	6,92±0,24 ^{b,c,d,e,f,g}	5,51±0,44 ^{b,c}	-	-	-	-	12,43±0,35 ^{b,c,d,e,f,g,h}	12,43±0,35 ^{b,c,d,e,f,g,h}	35,45±3,58 ^{d,e,f}
	80	Sim	10,52±1,79 ^a	5,84±0,10 ^{b,c,d,e}	5,25±0,33 ^{b,c}	-	-	-	-	11,10±0,39 ^{b,c,d,e,f,g,h}	11,10±0,39 ^{b,c,d,e,f,g,h}	21,61±1,70 ^{a,b,c}
Forno	100	Sim	15,28±1,62 ^{a,b,c,d}	6,41±0,21 ^{b,c,d,e,f}	5,24±0,38 ^{b,c}	-	-	-	-	11,64±0,59 ^{b,c,d,e,f,g,h}	11,64±0,59 ^{b,c,d,e,f,g,h}	26,92±2,13 ^{b,c,d,e,f}
	175	Não	17,30±2,87 ^{a,b,c,d}	7,37±0,88 ^{d,e,f,g}	5,80±0,49 ^{b,c}	-	-	-	-	13,16±1,36 ^{c,d,e,f,g,h}	13,16±1,36 ^{c,d,e,f,g,h}	30,46±4,23 ^{c,d,e,f}
	200	Não	21,71±4,64 ^{b,c,d}	8,03±0,68 ^{f,g}	6,53±0,58 ^d	-	-	-	-	14,56±1,25 ^{g,h}	14,56±1,25 ^{g,h}	36,27±5,79 ^{e,f}
	175	Sim	9,63±1,14 ^a	7,34±0,55 ^{d,e,f,g}	5,52±0,33 ^{b,c}	-	-	-	-	12,86±0,88 ^{b,c,d,e,f,g,h}	12,86±0,88 ^{b,c,d,e,f,g,h}	22,49 ±1,39 ^{a,b,c}
Air fryer	200	Sim	13,56±3,94 ^{a,b,c,d}	8,51±0,25 ^g	5,92±0,26 ^{b,c}	-	-	-	-	14,43±0,51 ^{f,g,h}	14,43±0,51 ^{f,g,h}	27,98±3,56 ^{b,c,d,e,f}
	180	Não	41,79±5,59 ^e	6,50±0,94 ^{b,c,d,e,f}	4,59±0,76 ^{b,c}	-	-	-	-	11,09±1,59 ^{b,c,d,e,f,g,h}	11,09±1,59 ^{b,c,d,e,f,g,h}	52,87±6,29 ^g
	200	Não	43,63±3,10 ^e	6,08±1,26 ^{b,c,d,e,f}	3,76±1,54 ^b	-	-	-	-	9,85±2,73 ^{b,c,d}	9,85±2,73 ^{b,c,d}	53,47±4,82 ^g
	180	Sim	45,16±9,15 ^e	7,14±0,91 ^{c,d,e,f,g}	5,40±1,97 ^{b,c}	-	-	-	-	11,71±2,67 ^{b,c,d,e,f,g,h}	11,71±2,67 ^{b,c,d,e,f,g,h}	61,33±4,63 ^g
Churrasqueira	200	Sim	51,18±3,25 ^e	8,77±1,33 ^g	5,92±1,66 ^{b,c}	-	-	-	-	14,69±2,66 ^h	14,69±2,66 ^h	65,87±5,82 ^h
	80	Não	10,91±1,54 ^a	6,09±0,11 ^{b,c,d,e,f}	4,51±0,26 ^{b,c}	-	-	-	-	10,60±0,37 ^{b,c,d,e,f,g}	10,60±0,37 ^{b,c,d,e,f,g}	21,51±1,90 ^{a,b,c}
	100	Não	12,23±1,69 ^{a,b}	7,54±0,30 ^{e,f,g}	6,03±0,65 ^{b,c}	-	-	-	-	13,57±0,90 ^{d,e,f,g,h}	13,57±0,90 ^{d,e,f,g,h}	25,80±0,98 ^{b,c,d,e}
	80	Sim	8,83±2,26 ^a	5,92±0,40 ^{b,c,d,e}	4,50±0,29 ^{b,c}	-	-	-	-	10,42±0,69 ^{b,c,d,e,f}	10,42±0,69 ^{b,c,d,e,f}	19,25±2,14 ^{a,b}
	100	Sim	8,83±1,23 ^a	5,42±0,19 ^{b,c,d}	4,92±0,75 ^{b,c}	-	-	-	-	10,34±0,69 ^{b,c,d,e}	10,34±0,69 ^{b,c,d,e}	19,17±1,59 ^{a,b}

Amostras com traço: não quantificado; Replicatas n=3; Pyr – pireno (LQ: 1,00 µg/kg), BaA – benzo[a]antraceno (LQ: 1,00 µg/kg), Chr – criseno (LQ: 0,50 µg/kg), BbF – benzo[b]fluoranteno (LQ: 0,50 µg/kg), BkF – benzo[k]fluoranteno (LQ: 1,00 µg/kg), BaP – benzo[a]pireno (LQ: 0,50 µg/kg), DahA - dibenzo[a,h]antraceno + BghiP: benzo[g,h,i]perileno + IcdP: indeno[1,2,3-c,d]pireno (LQ: 1,00 µg/kg); Médias seguidas da mesma letra nas linhas não diferem significativamente entre si (p>0,05)

Assim, na linguiça, foi possível verificar que, de uma forma geral, a cocção levou à formação dos HPAs, em especial com temperaturas mais elevadas.

Assim, para linguiça, a menor temperatura formou menos HPAs. Na avaliação da menor temperatura, de acordo com o tipo de cocção, nas amostras sem pré-tratamento as concentrações em ordem crescente para HPA4 foram *grill* elétrico<churrasqueira a carvão<*air fryer*<frigideira<forno a gás, e para HPA9 foram *grill* elétrico=churrasqueira a carvão<frigideira=forno a gás<*air fryer*. Nas amostras com pré-tratamento (cozimento meio ácido), os menores teores de HPA4 e HPA9 foram encontrados para *grill* elétrico e churrasqueira, respectivamente.

Nenhuma amostra excedeu o Regulamento da Comunidade Europeia (CEC, 2011) para BaP (2 µg/kg), mas para as linguiças alguns métodos de cocção excederam os HPA4 (12 µg/kg), a dizer: *grill* elétrico 100°C, frigideira 100°C, forno a gás em todas as condições, *air fryer* 180°C, churrasqueira 100°C.

A carne bovina possuía uma quantidade de água elevada, cerca de 70%, enquanto a linguiça apresentou cerca de 50% (**Tabela 1**). A perda de massa na alcatra foi mais elevada em relação à linguiça (**Tabela 2**). Segundo reportado pela literatura, a água pode apresentar um efeito inibidor na formação de HPAs, pois fornece uma fonte de oxigênio durante o aquecimento evitando a combustão incompleta (MIN; PATRA; SHIN, 2018). Esta informação confirma os dados encontrados, já que a alcatra apresentou os menores teores de HPAs.

Para a carne bovina, não houve diferença significativa para a concentração de HPAs nas duas temperaturas avaliadas, mas para a linguiça as cocções, de uma forma geral, levaram a formação de HPAs, em especial em temperaturas mais elevadas. A formação de HPAs em carnes é influenciada por diferentes processos de cozimento e técnicas de processamento, como assar, grelhar, cozinhar, aquecer, secar, assar, etc. Nas diferentes técnicas, os níveis de HPAs dependerão de fatores como a composição do alimento, a técnica de cocção usada, a distância do alimento com a fonte de calor, fonte de combustível, duração e tempo de cozimento (ADEYEYE; ASHAOLU, 2022).

Min, Patra e Shin (2018) indicaram, considerando dados em condições secas e úmidas, que a formação de HPAs pode ser mais afetada por mudanças na temperatura do que pelo tempo. Lai *et al.* (2023), avaliando charque suíno, indicou que o produto assado em forno a 220°C por 10 min gerou mais HPAs do que a 180°C. Em embutido defumado avaliado por Mirzazadeh, Sadeghi e Beigmohammadi (2021), não houve diferença significativa de BaA e

Chr entre amostras cruas e cozimento no micro-ondas, mas houve diferenças no tratamento de grelha na frigideira.

Um fator importante na formação de HPAs em carne grelhada é o teor de lipídios, já que estes contaminantes podem se originar durante a pirólise da matéria orgânica. As maiores concentrações de HPAs têm origem na pirólise da gordura, o que pode explicar os níveis mais altos nas amostras de linguiça encontrados no presente trabalho, cujos teores de lipídios foram mais elevados (**Tabela 1**) (LEE *et al.*, 2020). Logo, o tipo de produto e sua composição lipídica apresentam efeitos consideráveis na concentração de HPAs produzidos no processamento térmico do alimento.

As carnes bovinas são compostas na maior parte por ácidos graxos saturados, como ácido esteárico e ácido palmítico, logo a possibilidade de oxidação dos ácidos graxos torna-se menor para este produto. Mas no tratamento térmico podem ser adicionados óleos vegetais, simulando as condições domésticas.

Assim, na pirólise dos lipídios, a formação de HPAs irá depender dos ácidos graxos presentes, número de átomos de carbono e o grau de insaturação dos ácidos graxos (LU; KUHNLE; CHENG, 2017; MIN; PATRA; SHIN, 2018, ONOPIUK *et al.* 2022; ZHU *et al.*, 2022). Durante a cocção, os ácidos graxos insaturados são mais suscetíveis à oxidação, em especial os poli-insaturados, formando os peróxidos que, por meio de reações de ciclização intramolecular, podem polimerizar e formar monômeros ou dímeros cíclicos (MIN; PATRA; SHIN, 2018; ONOPIUK *et al.* 2022; ZHU *et al.*, 2022).

Quanto à adição de óleos vegetais na cocção, pesquisas apresentaram resultados contraditórios para concentrações de HPAs em relação a diferentes óleos vegetais. Farhadian *et al.* (2012) descobriram que a adição de óleo de cozinha no marinado aumentou os teores de HPAs na carne bovina grelhada no carvão, sugerindo que os ácidos graxos presentes no óleo poderiam ser os principais precursores dos HPAs. Lu, Kuhnle e Cheng (2017) utilizaram, para substituir parte da gordura animal, óleos de oliva, girassol e semente de uva em hambúrgueres de porco assados, porém não verificaram resultados consistentes entre os diferentes óleos na formação de HPAs, o que pode ser atribuído à complexidade das reações de decomposição dos óleos e a presença de antioxidantes nos mesmos. Lee *et al.* (2020), ao realizar frituras de frango em óleo de soja, indicaram que os ácidos graxos insaturados presentes no óleo promoveram a produção de HPAs. Estas discrepâncias podem estar relacionadas à contaminação própria dos óleos vegetais, uma vez que os HPAs possuem características lipofílicas e tendem a contaminar mais estes produtos, e conseqüentemente aumentarem os teores desses contaminantes nas

carnes processadas termicamente com óleo vegetal (CAMARGO *et al.*, 2011; MOLLE *et al.*, 2017). Outros fatores a serem considerados são a composição dos ácidos graxos, a presença de compostos fenólicos, com capacidade antioxidante, ou a adição de antioxidantes sintéticos (HU *et al.*, 2022).

Wongmaneepratip e Vangnai (2017) investigaram os efeitos dos óleos de palma e de girassol, e perceberam uma diferença sutil de concentração de 16 HPAs em frango, embora fosse esperada uma maior concentração para o óleo de girassol, que contém mais ácidos graxos poli-insaturados, mas na composição deste estavam presentes antioxidantes naturais (especialmente tocoferóis) e sintéticos (como butil-hidroxianisol, butil-hidroxitolueno e terc-butilhidroquinona), que foram relacionados ao resultado encontrado.

O método de cocção *air fryer* foi o que apresentou maior quantidade de Pyr, HPA4, HPA8 e HPA9 para a linguiça. Lee *et al.* (2020) observaram que diferentes cortes de frango preparados na *air fryer* apresentaram HPA4 variando de 1,96 a 2,71 µg/kg. Tais valores, quando comparados com os do presente estudo, foram superiores para as amostras de carne bovina e inferiores para as amostras de linguiça. Kim *et al.* (2021) estudaram a presença de HPA8 em amostras de queijo e as concentrações encontradas foram 0,045, 0,316 e 0,182 µg/kg para amostra original, grelhada em frigideira e em *air fryer*, respectivamente, indicando a menor formação de HPA8 em relação à grelha tradicional, contradizendo os nossos resultados, em que não houve diferença para os dois tipos de cozimento na linguiça. Para Choi *et al.* (2022), em carnes de porco, não houve diferença significativa para a formação de HPA8 em *air fryer*, frigideira a gás, forno a gás, entre outras cocções, resultados semelhantes aos deste estudo.

As concentrações de 12 HPAs foram significativamente menores em carnes grelhadas a gás do que em carnes grelhadas no carvão (MASUDA *et al.*, 2019). Os resultados foram similares no estudo de Mirzazadeh, Sadeghi e Beigmohammadi (2021), que encontraram menores teores de BaP e BaA em salsichas defumadas grelhadas a gás em relação às grelhadas no carvão de carvalho. Nossos resultados foram semelhantes para as duas técnicas (frigideira e churrasqueira), o que pode ser justificado pelo uso de carvão de eucalipto (vegetal).

O uso de churrasqueira a carvão é um método comum de cozimento (KIM; CHO; JANG, 2021). No nosso estudo, usamos carvão de eucalipto (vegetal). A escolha do tipo de combustível na churrasqueira é um fator importante na formação dos HPAs. Oz (2021) indicou o uso de carvão vegetal no churrasco para pescado, uma vez que os resultados para HPA8 foram inferiores aos obtidos pelo carvão do tipo briquete (madeira). Segundo Dias Junior *et al.* (2017), amostras de carvão de eucalipto não apresentaram quantidades significativas de HPAs. O efeito

da grelha na churrasqueira na formação de 16 HPAs em três tipos de carne (lombo bovino, barriga de porco e coxa de frango) foi avaliado por Kim, Cho e Jang (2021) usando três tipos de carvão vegetal, branco, preto e carvão extrusado (compressão de resíduos orgânicos, como cascas de coco). As carnes grelhadas com carvão extrusado apresentaram os maiores teores de HPAs entre os diferentes carvões. Além disso, níveis mais altos de HPA4 foram encontrados na barriga de porco do que na carne de lombo e frango, devido ao maior teor de lipídios.

O pH é um fator que vem sendo relacionado com a formação de HPAs em alimentos grelhados. Wongmaneepratip e Vangnai (2017) usaram ácido cítrico e bicarbonato de sódio para marinar peito de frango grelhados em carvão, e o maior valor de pH (7,51, marinada alcalina) resultou em um aumento superior a 70% dos níveis de HPAs. Farhadian *et al.* (2012) mostraram que a carne bovina tratada com marinada ácida (contendo 1,2% de suco de limão) apresentou redução em 70% dos HPAs e que o tempo de duração do marinado pode ser um fator importante para a formação de HPAs na cocção. No presente trabalho, os ingredientes foram adicionados e a cocção foi realizada de forma instantânea.

Farhadian *et al.* (2011) propôs o uso de tratamento marinado com sucos ácidos, incluindo limão e tamarindo, para a grelha de carne bovina, e a redução nas concentrações de BaP chegou a 48 e 70% respectivamente com tamarindo e suco de limão em relação ao controle. Deve-se considerar que a carne bovina é composta na sua maior parte por ácidos graxos saturados, assim a possibilidade de oxidação dos ácidos graxos torna-se menor para este produto.

Cordeiro *et al.* (2020) encontraram uma redução significativa na formação de HPA4 em lombo de porco grelhado na brasa borrifado com diferentes tipos de vinagre. O vinagre de sabugueiro exibiu a maior inibição (82%), seguido do vinagre de vinho branco (79%), vinagre de vinho tinto e cidra (66%) e vinagre de frutas com suco de framboesa (55%).

Recentemente, Zhang *et al.* (2023) mostraram que os vinagres fermentados e destilados inibiram a formação de BaP (26,8%–82,3%) em salsichas de porco grelhadas., tanto pela diminuição do pH, quanto pela eliminação de radicais livres. Um intermediário da reação de Maillard (hidroximetilfurfural) (0,14–2,34 mg/kg), possivelmente associado à geração de BaP, foi inibido devido à diminuição do pH. Já os vinagres fermentados, ricos em fenóis (1787,09–3089,60 mg GRE/L) e flavonóides (622,54–2167,97 mg RE/L), inibiram a formação de BaP ao sequestrar espécies reativas de óxidos (1,1-difenil-2- picrilhidrazina (DPPH) (85,50-96,73%) e atividades de eliminação de radicais livres de hidroxil (34,56-66,30%) em embutidos suínos (ZHANG *et al.*, 2023)

Os condimentos são usados em carnes com o objetivo de agregar sabor e aroma, além de trazer maciez ao produto (FARHADIAN *et al.*, 2012). Estudos indicam que eles podem agir como aceleradores ou inibidores na formação dos HPAs (PAZ *et al.*, 2017). Janoszka (2011) indicou que cebola e alho usados como condimentos diminuiu o total de HPAs após cocção. El-Badry (2010) também avaliou diversos preparos e ingredientes antes da cocção da carne de frango, e o marinado composto de suco de tomate, pasta de alho, cebola, sal e especiarias (cominho, coentro e pimenta do reino) foi o que mais contribuiu na redução da formação de HPAs.

Min, Patra e Shin (2018) observaram redução nos teores de HPA8 quando antioxidantes sintéticos (BHT e BHA) e naturais (α -tocoferol e sesamol) foram usados nos sistemas modelo de carne aquecida. Antioxidantes naturais como compostos fenólicos presentes nos condimentos também podem ter relação com a formação de HPAs em carne processada. A presença de compostos bioativos sugere mecanismos de ação distintos que podem afetar a oxidação lipídica protegendo os lipídios dos iniciadores da reação oxidativa, ou mesmo inibindo as reações oxidativas em cadeia durante a fase de propagação de oxidação (CARVALHO *et al.*, 2021). Uma vez que o lipídio é um importante precursor para a geração de HPAs, os antioxidantes podem ser usados para diminuir a formação dos mesmos, evitando a oxidação de lipídios (MIN; PATRA; SHIN, 2018).

Shen *et al.* (2022) avaliaram o uso de extratos naturais com efeitos antioxidantes em pato assado, e os melhores efeitos inibitórios sobre BaP e HPA4 foram obtidos com extrato de chá verde (taxas de inibição de 75,8% e 79,7%, respectivamente), que também apresentou o maior teor total de fenóis (277 mg equivalente de ácido gálico (GAE)/g), enquanto o extrato de alecrim apresentou o menor teor total de fenóis (85 mg GAE/g) e as taxas de inibição mais baixas (32,7% e 43,6%, respectivamente).

No trabalho de Janoszka *et al.* (2011), a adição de cebola (30%) reduziu em aproximadamente em 60% a formação de HPAs em carne de porco frita, enquanto o alho (15%) reduziu em 54%. O uso de alho e cebola para preparo da carne é comum em diversos países, e a redução de HPAs encontrada pode estar relacionada com a presença de compostos organossulfurados e compostos fenólicos. Os principais compostos organossulfurados presentes no alho e cebola são sulfeto de dialila, dissulfeto de dialila, dipropildissulfeto, cisteína, cistina e N-acetil-cisteína, que podem ser responsáveis por inibir as fases iniciais da reação de Maillard e supressão da formação de espécies reativas. Os compostos fenólicos, como a alicina (alho) e quercetina (cebola), também podem suprimir as espécies reativas, interagindo

com produtos intermediários da oxidação que contribuem para a síntese de HPAs (JANOSZKA *et al.*, 2011; NEVES *et al.*, 2020).

Wang *et al.* (2019b) demonstram que os compostos fenólicos presentes na cerveja seriam os principais componentes a inibir a formação de oito HPAs em asas de frango grelhadas, e a atividade antioxidante dos ácidos fenólicos dependerá da posição e do número de grupos funcionais hidroxila e carboxila entre o mesmo tipo de composto. Quanto maior o conteúdo fenólico total das cervejas, maior a atividade de eliminação de DPPH e menor o teor de HPAs. Neste estudo, descobriram que o efeito inibitório dos ácidos fenólicos é geralmente maior do que outros compostos fenólicos, uma vez que o composto fenólico mais eficaz na redução foi o ácido homovanílico, seguido pelo ácido ferúlico e trolox, podendo reduzir em mais da metade os HPA8 em comparação com os teores presentes na amostra controle.

Wang *et al.* (2019a), usando oito compostos fenólicos puros, indicaram que estes são eficazes na inibição da formação de HPAs. Antioxidantes fenólicos mais fracos na atividade de eliminação no ensaio DPPH mostraram inibição da formação de HPAs em asas de frango grelhadas no carvão. Esses achados estão de acordo os resultados encontrados por Cordeiro *et al.* (2020), que encontraram vinagre de sabugueiro com DPPH de 2238,2 μM equivalentes Trolox e vinagre de vinho branco com 34,8 μM equivalentes Trolox, que exibiram respectivamente 82% e 79% de inibição na formação de HPA4 em lombo de porco grelhado na brasa.

Cordeiro *et al.* (2020) encontraram uma redução significativa na formação de HPA4 em carnes grelhadas com diferentes tipos de vinagre, sendo o vinagre de sabugueiro o que exibiu a maior inibição em relação ao controle (82%), seguido do vinagre de vinho branco (79%), vinagre de vinho tinto e cidra (66%) e vinagre de frutas com suco de framboesa (55%). No entanto, os autores relacionaram a redução à maior presença de compostos fenólicos totais (vinagre de sabugueiro: $7849,7 \pm 278,5$ GAE mg L^{-1}), antocianinas (vinagre de sabugueiro: $452,6 \pm 10,80$ mg L^{-1} , equivalentes Cy3glc) e capacidade antioxidante (DPPH: $2238,2 \pm 51,4$ μM e FRAP: $2180,7 \pm 17,3$ μM equivalente Trolox).

Estudos mais recentes vêm avaliando estratégias para redução da formação de HPAs em alimentos, além do uso de ingredientes no preparo (CORDEIRO *et al.*; 2020; FARHADIAN *et al.*, 2011; JANOSZKA, 2011; SINGH, AGARWAL, SIMAL-GANDARA, 2023; WONGMANEEPRAITIP; VANGNAI, 2017).

Farhadian *et al.* (2011) sugerem uma técnica simples para reduzir a formação de BaP, envolvendo a carne bovina em alumínio e em folha de bananeira e assando em churrasqueira a carvão, e não foram detectados o componente nas amostras avaliadas. A criação de uma barreira entre o alimento e a fumaça gerada pelo material combustível pode ser uma estratégia para reduzir a formação de HPAs na churrasqueira, uma vez evita o gotejamento dos sucos dos alimentos (ZHU *et al.*, 2022).

Li *et al.* (2021) sugere a aplicação da irradiação de raios γ como um meio eficaz para reduzir a formação de HPAs durante o cozimento de salsichas, já que a irradiação causa a redução de ácidos graxos poli-insaturados e consequentemente a formação de HPAs. Uso de probióticos na formulação de carnes vem sendo também uma alternativa, mas ainda foram pouco estudados (SINGH, AGARWAL, SIMAL-GANDARA, 2023). Cordeiro *et al.* (2020) propôs modelos de regressão com equações polinomiais entre compostos fenólicos/atividades antioxidantes e concentração de HPAs, mas segundo apontado pelos autores, os mecanismos de inibição desses contaminantes são mais complexos do que apenas a atividade de eliminação de radicais, já que deve levar em consideração a composição dos ingredientes adicionados (neste estudo, diferentes composições de vinagres), os diferentes perfis fenólicos, pH e as interações que podem ocorrer entre os componentes da carne e do vinagre. Desta forma, segundo reforçado por Singh, Agarwal, Simal-Gandara (2023), informações sobre mecanismos ainda foram pouco ilustradas, indicando desafios e propostas de estudos futuros nesta área.

4.6.3.4 Exposição e avaliação de risco

A **Tabela 5** apresenta os resultados de ID, MOE e ILCR para carne bovina e linguiça, apresentando os valores médios e máximos.

A média de ingestão diária para carne bovina foi de 12,55, 62,75 e 118,10 ng/dia para BaP, HPA4 e HPA8, respectivamente, enquanto para linguiça 0,98, 48,11 e 52,01 ng/dia para BaP, HPA4 e HPA8, respectivamente. Os valores de IR médios e máximos foram iguais para BaP já que este componente não foi encontrado nas amostras. Embora as concentrações de HPAs nas carnes bovinas submetidas a diferentes cocções tenham sido abaixo do LQ, os maiores valores nestes índices para este alimento estão relacionados ao maior consumo da população brasileira de carne bovina.

Tabela 5 - Ingestão diária estimada (ID), valores de margem de exposição (MOE) e incremento de risco de câncer no tempo de vida (ILCR)

Produtos	ID (ng/dia)			MOE			ILCR para HPA4		
	BaP	HPA4	HPA8	BaP	HPA4	HPA8	Adolescentes	Adultos	Idosos
Carne bovina (n=60)									
Média	12,55	62,75	118,10	$3,40 \times 10^{+5}$	$3,30 \times 10^{+5}$	$2,53 \times 10^{+5}$	$2,47 \times 10^{-9}$	$5,55 \times 10^{-9}$	$3,27 \times 10^{-9}$
Máximo	12,55	62,75	173,69	$3,40 \times 10^{+5}$	$3,30 \times 10^{+5}$	$1,72 \times 10^{+5}$	$2,47 \times 10^{-9}$	$5,55 \times 10^{-9}$	$3,27 \times 10^{-9}$
Linguiça defumada (n=60)									
Média	0,98	48,11	52,01	$4,38 \times 10^{+6}$	$4,31 \times 10^{+5}$	$5,75 \times 10^{+5}$	$7,59 \times 10^{-9}$	$1,71 \times 10^{-8}$	$1,00 \times 10^{-8}$
Máximo	0,98	68,87	72,77	$4,38 \times 10^{+6}$	$3,01 \times 10^{+5}$	$4,11 \times 10^{+5}$	$1,04 \times 10^{-8}$	$2,33 \times 10^{-8}$	$1,37 \times 10^{-8}$

BaP: benzo[a]pireno, HPA4: BaA: benzo[a]antraceno, Chr: criseno, BbF: benzo[b]fluoranteno e BaP; HPA8: HPA4, BkF: benzo[k]fluoranteno, IcdP: indeno[1,2,3-c,d]pireno, DahA: dibenz[a,h]antraceno, BghiP: benzo[g,h,i]perileno

Na avaliação do MOE, valores superiores a 10.000 são considerados como uma baixa preocupação de saúde pública (EFSA, 2008). Os resultados deste trabalho para BaP, HPA4 e HPA8 foram superiores para carne bovina e linguiça (**Tabela 5**), indicando preocupação baixa de riscos à saúde.

Na interpretação dos resultados do cálculo ILCR, valores inferiores a 10^{-6} indicam um nível de risco aceitável, enquanto entre 10^{-6} e 10^{-4} indicam um risco potencial à saúde (WANG *et al.*, 2021b). Os valores encontrados neste estudo, para diferentes faixas etárias (adolescentes, adultos e idosos), indicaram que não existe um potencial risco significativo à saúde pelo consumo dos produtos cárneos avaliados (**Tabela 5**).

4.6.4 Conclusões

Quanto aos procedimentos de cocção para a alcatra, as concentrações para a maior parte dos HPAs avaliados foram abaixo do LQ, e não houve diferença nos resultados entre produtos grelhados em diferentes tratamentos, assim como com o uso de condimentos. Para a linguiça, o método de *grill* elétrico formou a menor quantidade HPA9. A análise de avaliação de risco, pelos resultados de MOE e ILCR, indica que o consumo de carnes bovinas e linguiças defumadas submetidas a diferentes processos de cocção apresenta baixo potencial de risco à saúde. Como questão de saúde pública, este trabalho traz as discussões acerca das formas de preparo dos produtos cárneos e formação de HPAs, já que estes compostos estão relacionados com desenvolvimento de câncer. Uma maneira de reduzir a exposição aos HPAs seria sugerir o preparo de carnes com temperaturas mais brandas, que ocasionaram a menor formação de HPAs. Torna-se importante a disseminação destas informações aos consumidores, para que sejam realizadas mudanças de hábitos e preparos mais saudáveis. Podem ser utilizados para orientar os alimentos preparados nos domicílios, restaurantes e indústrias de alimentos. Como sugestão de novos trabalhos, sugere-se estudo de cocção de mais produtos cárneos e mais especiarias, incluindo a quantificação dos compostos bioativos, de forma a avaliar o efeito de cada ingrediente e componente para a formação dos HPAs.

Financiamento

Este trabalho teve financiamento da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), processo nº 2018/19005-6

4.6.5 Referências

- ADEYEYE, S. A. O.; ASHAOLU, T. J. Polycyclic aromatic hydrocarbons formation and mitigation in meat and meat products. **Polycyclic Aromatic Compounds**, v. 42, n. 6, p. 3401-3411, 2022.
- ALFAIA, C. M. M. *et al.* Effect of cooking methods on fatty acids, conjugated isomers of linoleic acid and nutritional quality of beef intramuscular fat. **Meat Science**, v. 84(4), p. 769– 777, 2010.
- ALOMIRAH *et al.* Benzo[a]pyrene and total polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) levels in vegetable oils and fats do not reflect the occurrence of the eight genotoxic PAHs. **Food Additives and Contaminants**, v. 27 (6), p. 869-878, 2010.
- AOAC – Association of Official Analytical Chemistry. **Official Methods of Analysis of AOAC**. 19 th. Gaithersburg: Aspen, 2012.
- ARISSETO, A. P. *et al.* 3-MCPD and glycidyl esters in infant formulas from the Brazilian market: occurrence and risk assessment. **Food Control**, v. 77, p. 76-81, 2017.
- BELLUCCI, E. R. B. *et al.* Addition of Natural Extracts with Antioxidant Function to Preserve the Quality of Meat Products. **Biomolecules**, v. 12, n. 10, p. 1506, 2022.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Guia de Boas Práticas Nutricionais – Restaurantes Coletivos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2014, 13 p. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/boas-praticas-nutricionais>>. Acesso em: 01 jul. 2021.
- CAMARGO, M. C. *et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbons in Brazilian commercial soybean oils and dietary exposure. **Food Additives and Contaminants: Part B**, v. 4, n. 2, p. 152-159, 2011.
- CARVALHO, I. O. A. M. *et al.* The use of lemon juice and its role on polyunsaturated fatty acids and cholesterol oxides formation in thermally prepared sardines. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 104, p. 104087, 2021.
- CEC - COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES. Commission Regulation (EC) No. 835/2011, of 19 August 2011. Amending Regulation (EC) No. 1881/2006 as regards maximum levels for polycyclic aromatic hydrocarbons in foodstuffs. **Official Journal of the European Union**, L215/4-8, 2011.

CEC - COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES. Commission Regulation (EC) n° 1255/2020, of 7 September 2020. Amending Regulation (EC) No. 1881/2006 as regards maximum levels of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in traditionally smoked meat and smoked meat products and traditionally smoked fish and smoked fishery products and establishing a maximum level of PAHs in powders of food of plant origin used for the preparation of beverages. **Official Journal of the European Union**, L293/1-4, 2020.

CHOI, J. et al. Risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons in meat and edible oils: results of a total diet study in South Korea. **Food Science and Biotechnology**, v. 31, n. 12, p. 1523-1535, 2022.

CORDEIRO, T. *et al.* Inhibitory effect of vinegars on the formation of polycyclic aromatic hydrocarbons in charcoal-grilled pork. **Meat Science**, v. 167, p. 108083, 2020.

DIAS JUNIOR, A. F. *et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbons in the organic phase extracted from charcoal for barbecue. **Revista Árvore**, v. 41(5), 2017.

EFSA - EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. Scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain on a request from the European Commission on polycyclic aromatic hydrocarbons in food. **European Food Safety Authority Journal**, v. 724, p. 1-114, 2008.

EL-BADRY, N. *et al.* Effect of household cooking methods and some food additives on polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) formation in chicken meat. **World Applied Sciences Journal**, v. 9 (9), p. 963-974, 2010.

FARHADIAN, A. *et al.* Effects of meat preheating and wrapping on the levels of polycyclic aromatic hydrocarbons in charcoal-grilled meat. **Food Chemistry**, v. 124, n. 1, p. 141-146, 2011.

FARHADIAN, A. *et al.* Effects of marinating on the formation of polycyclic aromatic hydrocarbons (benzo[a]pyrene, benzo[b]fluoranthene and fluoranthene) in grilled beef meat. **Food Control**, v. 28, n. 2, p. 420-425, 2012.

GEIKER, N. R. W. *et al.* Meat and human health—Current knowledge and research gaps. **Foods**, v. 10, n. 7, p. 1556, 2021.

- GONG, G. *et al.* Effect of natural antioxidants on inhibition of parent and oxygenated polycyclic aromatic hydrocarbons in Chinese fried bread youtiao. **Food Control**, v. 87, p. 117-125, 2018.
- GRUJIĆ, R. Meat in human nutrition. **Quality of life**, v. 1, n. 1, 2010.
- HAMIDI, E. N. *et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and their bioaccessibility in meat: A tool for assessing human cancer risk. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 17, n. 1, p. 15-23, 2016.
- HU, Y. *et al.* The effect of in-package cold plasma on the formation of polycyclic aromatic hydrocarbons in charcoal-grilled beef steak with different oils or fats. **Food Chemistry**, v. 371, p. 131384, 2022.
- IARC - International Agency for Research on Cancer. **Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, Overall evaluation of carcinogenicity. Polynuclear Aromatic Compounds**. Lyon: IARC, 2010, v. 35.
- IARC - International Agency for Research on Cancer. **Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, Overall evaluation of carcinogenicity. Chemical Agents and Related Occupations**. Lyon: IARC, 2012, v. 100F.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa de orçamentos familiares (POF) 2008–2009**. Antropometria e estado nutricional de crianças, adolescentes e adultos no Brasil. Rio de Janeiro: IBGE, 130 p., 2010. Disponível em: <<https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv45419.pdf>>. Acesso em: 02 ago 2021.
- IBGE – INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA. **Pesquisa de orçamentos familiares (POF) 2017–2018**. Análise do consumo alimentar pessoal no Brasil. Rio de Janeiro: IBGE, 125 p., 2020a.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Estatísticas sociais**. Expectativa de vida dos brasileiros aumenta 3 meses e chega a 76,6 anos em 2019. IBGE, 2020b. Disponível em: <<https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/2012-agencia-de-noticias/noticias/29505-expectativa-de-vida-dos-brasileiros-aumenta-3-meses-e-chega-a-76-6-anos-em-2019>>. Acesso em: 02 ago. 2021.
- INCA – Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva. **Estimativa 2020: incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro: INCA, 2019. 120 p. Disponível em:

<<https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files//media/document//estimativa-2020-incidencia-de-cancer-no-brasil.pdf>>. Acesso em: 9 dez. 2022.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATISTICA. **Pesquisa nacional da saúde 2013**: percepção do estado de saúde, estilos de vida e doenças crônicas. Rio de Janeiro: IBGE, 2015.180 p.

JANOSZKA, B. HPLC-fluorescence analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in pork meat and its gravy fried without additives and in the presence of onion and garlic. **Food Chemistry**, v. 126, n. 3, p. 1344-1353, 2011.

JECFA - Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Evaluation of certain food additives. In: Sixty-third report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Geneva, Switzerland: World Health Organization & Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2005. Disponível em: <<https://apps.who.int/iris/handle/10665/43141>>. Acesso em: 10 dez. 2022.

KIM, H. J., CHO, J., JANG, A. Effect of charcoal type on the formation of polycyclic aromatic hydrocarbons in grilled meats. **Food Chemistry**, v. 343, 128453, 2021.

KIM, H. *et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbons in beverage and dairy products in South Korea: a risk characterization using the total diet study. **Food Science and Biotechnology**, v. 30, n. 7, p. 989-1002, 2021.

LAI, Y. W. *et al.* Extraction of heterocyclic amines and polycyclic aromatic hydrocarbons from pork jerky and the effect of flavoring on formation and inhibition. **Food Chemistry**, v. 402, p. 134291, 2023.

LAI, Y. W. *et al.* Formation and Inhibition of Heterocyclic Amines and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Ground Pork during Marinating. **Foods**, v. 11, n. 19, p. 3080, 2022.

LEE, J. S. *et al.* Effects of thawing and frying methods on the formation of acrylamide and polycyclic aromatic hydrocarbons in chicken meat. **Foods**, v. 9, n. 5, p. 573, 2020.

LI, G. *et al.* Concentration, dietary exposure and health risk estimation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in youtiao, a Chinese traditional fried food. **Food Control**, v. 59, p. 328-336, 2016.

LI, Y. Z. *et al.* γ -ray irradiation reduces the formation of polycyclic aromatic hydrocarbons during the baking of sausage. **Radiation Physics and Chemistry**, v. 183, p. 109406, 2021.

- LU, F.; KUHNLE, G. K.; CHENG, Q. Heterocyclic amines and polycyclic aromatic hydrocarbons in commercial ready-to-eat meat products on UK market. **Food Control**, v. 73, p. 306-315, 2017.
- MANHANI, M. R. *et al.* Antioxidant action of rosemary and oregano extract in pre-cooked meat hamburger. **Food and Nutrition Sciences**, v. 9, n. 7, p. 806-817, 2018.
- MASUDA, M. *et al.* Simultaneous determination of polycyclic aromatic hydrocarbons and their chlorinated derivatives in grilled foods. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 178, p. 188-194, 2019.
- MIN, S.; PATRA, J. K.; SHIN, H. S. Factors influencing inhibition of eight polycyclic aromatic hydrocarbons in heated meat model system. **Food Chemistry**, v. 239, p. 993-1000, 2018.
- MIRZAZADEH, M.; SADEGHI, E.; BEIGMOHAMMADI, F. Comparison of the effects of microwave cooking by two conventional cooking methods on the concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons and volatile N-nitrosamines in beef cocktail smokies (smoked sausages). **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 45(6), e15560, 2021.
- MOLLE, D. R.D. *et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbons in canola, sunflower and corn oils and estimated daily intake. **Food Control**, v. 81, p. 96-100, 2017.
- NEVES, T. M. *et al.* Effects of seasoning on the formation of heterocyclic amines and polycyclic aromatic hydrocarbons in meats: A meta-analysis. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 20, n. 1, p. 526-541, 2021.
- ONOPIUK, A. *et al.* Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons using different extraction methods and HPLC-FLD detection in smoked and grilled meat products. **Food Chemistry**, v. 373, p. 131506, 2022.
- OZ, E. The impact of fat content and charcoal types on quality and the development of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons and heterocyclic aromatic amines formation of barbecued fish. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 56, n. 2, p. 954-964, 2021.
- PAZ, A. P. S. *et al.* Presença de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em produtos alimentícios e a sua relação com o método de cocção e a natureza do alimento. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v. 20, e2016102, 2017.

- PURCARO, G.; MORET, S.; CONTE, L. S. Overview on polycyclic aromatic hydrocarbons: occurrence, legislation and innovative determination in foods. **Talanta**, v. 105, p. 292-305, 2013.
- RENGARAJAN, T. et al. Exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons with special focus on cancer. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 5, n. 3, p. 182-189, 2015.
- SAMPAIO, G. R. *et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbons in foods: Biological effects, legislation, occurrence, analytical methods, and strategies to reduce their formation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 11, p. 6010, 2021.
- SHEN, X. *et al.* The Effects of Different Natural Plant Extracts on the Formation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Roast Duck. **Foods**, v. 11, n. 14, p. 2104, 2022.
- SIDDIQUE, R. *et al.* Impact of different cooking methods on polycyclic aromatic hydrocarbons in rabbit meat. **Food Science & Nutrition**, v. 9, n. 6, p. 3219-3227, 2021.
- SILVA, S. A. *et al.* Quantification of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Commonly Consumed Salami in Brazil. **Food Analytical Methods**, p. 1-11, 2022.
- SINGH, L., AGARWAL, T., SIMAL-GANDARA, J. Summarizing minimization of polycyclic aromatic hydrocarbons in thermally processed foods by different strategies. **Food Control**, v. 146, p. 109514, 2023.
- TREVISAN, A. J. B. et al. Influence of home cooking conditions on Maillard reaction products in beef. **Food Chemistry**, v. 196, p. 161-169, 2016.
- ULEWICZ-MAGULSKA, B.; WESOLOWSKI, M. Total phenolic contents and antioxidant potential of herbs used for medical and culinary purposes. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 74, n. 1, p. 61-67, 2019.
- WANG, L. *et al.* Halogenated and parent polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetables: Levels, dietary intakes, and health risk assessments. **Science of the Total Environment**, v. 616, p. 288-295, 2018.
- WANG, C. *et al.* The influence of natural antioxidants on polycyclic aromatic hydrocarbon formation in charcoal-grilled chicken wings. **Food Control**, v. 98, p. 34-41, 2019a.

- WANG, C. *et al.* Phenolic compounds in beer inhibit formation of polycyclic aromatic hydrocarbons from charcoal-grilled chicken wings. **Food Chemistry**, v. 294, p. 578-586, 2019b.
- WANG, Y. *et al.* Effect of new frying technology on starchy food quality. **Foods**, v. 10, n. 8, p. 1852, 2021a.
- WANG, Y. *et al.* Occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons in fried and grilled fish from Shandong China and health risk assessment. **Environmental Science and Pollution Research**, p. 1-8, 2021b.
- WONGMANEEPRATIP, W.; VANGNAI, K. Effects of oil types and pH on carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in grilled chicken. **Food Control**, v. 79, p. 119-125, 2017.
- WRETLING, S. *et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Swedish smoked meat and fish. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 23 (3), p. 264-272, 2010.
- ZHANG, X. *et al.* Vinegars inhibiting of the generation of BaP in barbecued pork sausages by decreasing the pH and free radical scavenging. **Food Control**, v. 145, p. 109404, 2023.
- ZHU, Z. *et al.* The contamination, formation, determination and control of polycyclic aromatic hydrocarbons in meat products. **Food Control**, p. 109194, 2022.

4.6.6 Material complementar

São apresentados os Apêndices I, J, K e L. No Apêndice I estão apresentados os resultados complementares de HPAs em condimentos usados nas cocções das carnes. No Apêndice J estão apresentadas figuras das cocções para os diferentes produtos cárneos avaliados. No Apêndice K estão apresentados resultados das análises de HPAs e cromatogramas para carne bovina. No Apêndice L estão apresentados resultados das análises de HPAs e cromatogramas para linguiça.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os parâmetros de saponificação foram otimizados e investigados pelo planejamento experimental fatorial fracionado, com vantagens de realizar poucos testes, diminuindo custos, geração de resíduos químicos e tempo para otimização da análise. O modelo de regressão foi considerado satisfatório ($r^2=0,998$) e o solvente de diluição do KOH teve maior impacto para soma das áreas dos quatro HPAs prioritários (BaA, Chr, BbF e BaP).

O método analítico foi validado, com resultados considerados adequados e dentro dos critérios de aceitação, com limites de detecção, quantificação, recuperação e precisão variando entre 0,15–0,30 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 0,50–1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 76,71–116,61%, e 0,23–10,19%, respectivamente, para nove HPAs estudados. O método mostrou-se seguro, repetitivo e confiável, com flexibilidade para uso em diversos produtos cárneos. A incerteza de medição foi inferior a 34,6% para os quatro HPAs.

Foram adquiridas entre 2019-2021, 205 amostras comerciais de embutidos e defumados, incluindo dez categorias, e avaliadas quanto aos teores de nove HPAs. Os valores variaram entre <LQ a 108,24 $\mu\text{g}/\text{kg}$, o pireno foi o hidrocarboneto mais frequente (74%). As maiores concentrações foram observadas nas linguiças defumadas, seguida pelos hambúrgueres. Na avaliação dos produtos em relação aos limites estipulados pelo Regulamento nº 835/2011 da Comunidade Europeia, estavam insatisfatórias 1% das amostras para BaP e 9% para HPA4.

Carne bovina (alcatra) e linguiça defumada foram submetidas a cinco diferentes métodos de cocção (*grill* elétrico, frigideira a gás, forno a gás, *air fryer* e churrasqueira a carvão) com objetivo de avaliar a influência do método, da temperatura e do pré-tratamento das amostras (mix de condimentos para carne bovina e cozimento em meio ácido para linguiça) na formação de HPAs.

Os condimentos foram avaliados quanto aos teores de HPAs antes do emprego nas cocções, e os resultados foram abaixo do LQ. A metodologia validada foi considerada sensível, exata e precisa, propondo versatilidade para que mais especiarias possam ser analisadas usando a técnica.

As concentrações para a carne bovina foram, em sua maioria, abaixo do LQ, e não houve diferença nos resultados entre as diferentes cocções, assim como o uso de condimentos. Para a linguiça, na avaliação de HPA9, a *air fryer* formou mais compostos, devido aos teores mais elevados de pireno, e o *grill* elétrico formou menos. Os dados foram satisfatórios para BaP

quanto ao Regulamento nº 835/2011 (resultados abaixo do LQ), e insatisfatórios para HPA4 em algumas cocções: grill elétrico 100°C, frigideira 100°C, forno a gás em todas as condições, *air fryer* 180°C e churrasqueira 100°C. O cozimento da linguiça em meio ácido indicou que a concentração de HPAs nas amostras cozidas reduziu, mas após cocção ficaram próximas ou iguais às amostras cruas, em sua maior parte. Nas amostras sem cozimento, em todas as cocções, uma maior temperatura formou mais HPAs, sugerindo que o preparo seja realizado com temperaturas mais brandas.

Na avaliação de risco, considerando todos os produtos cárneos analisados (205 embutidos e defumados, 60 carnes bovinas e 60 linguiças após diferentes técnicas de cocção), os valores de MOE e ILCR, indicaram baixa preocupação de saúde pública para a população brasileira por meio do consumo destes alimentos.

Quanto aos produtos defumados, os fabricantes artesanais e as indústrias devem adotar boas práticas de fabricação, de forma a minimizar a contaminação, em especial quando for utilizada a defumação tradicional.

Considerando que existe a possibilidade de desenvolvimento de câncer associado ao consumo de HPAs oriundos da dieta, como questão de saúde pública, é essencial a avaliação contínua de alimentos oferecidos comercialmente. Uma vez que a legislação brasileira apresenta dados limitados para HPAs, restritos à alguns alimentos e ao BaP, os resultados deste estudo poderão ser utilizados pelos órgãos oficiais para revisão da legislação e controle dos produtos.

Como sugestão de trabalhos futuros, para avaliação das cocções, recomenda-se a avaliação de mais produtos com diferentes composições, e uso de mais especiarias com quantificação dos compostos bioativos, de forma a intenção de avaliar o efeito de cada ingrediente e componente para a formação dos HPAs. Sugere-se fortemente a avaliação de outras categorias de alimentos, de forma a ter um panorama mais completo da contaminação e o risco de exposição à saúde associados ao consumo dos produtos oferecidos à população.

6 REFERÊNCIAS

- ABBALLE, C. *et al.* Cocoa beans and derived products: Effect of processing on polycyclic aromatic hydrocarbons levels. **LWT**, v. 135, p. 110019, 2021.
- ABIEC – Associação Brasileira das Indústrias Exportadoras de Carnes. **Perfil da pecuária no Brasil 2022**. ABIEC, 2022. Disponível em: <<https://www.abiec.com.br/publicacoes/beef-report-2022/>> Acesso em: 21 nov. 2022.
- ABPA – Associação Brasileira de Proteína Animal. **Relatório anual 2022**. ABPA, 2022. Disponível em: <<https://abpa-br.org/wp-content/uploads/2022/05/Relatorio-Anual-ABPA-2022-1.pdf>>. Acesso em: 21 nov. 2022.
- ADESINA, O. A. Level of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon in Smoked Food Materials from Roadside Barbeque Spots in Western Nigeria and Health Implication. **Polycyclic Aromatic Compounds**, p. 1972-1977, 2020.
- AOAC – Association of Official Analytical Chemistry. Official Methods of Analysis of AOAC. 19th. Gaithersburg: Aspen, 2012.
- AOAC - Association of Official Analytical Chemistry. Official Methods of Analysis. **AOAC 973.30. Polycyclic aromatic hydrocarbons and benzo[a]pyrene in food**. 20th. Washington (DC): Association of Analytical Chemists; 2015a.
- AOAC - Association of Official Analytical Chemistry. Official Methods of Analysis. **AOAC 2014.08. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Seafood**. 20th. Washington (DC): Association of Analytical Chemists; 2015b.
- ARISSETO, A. P. *et al.* 3-MCPD and glycidyl esters in infant formulas from the Brazilian market: occurrence and risk assessment. **Food Control**, v. 77, p. 76-81, 2017.
- BERTOZ, V. *et al.* A review on the occurrence and analytical determination of PAHs in olive oils. **Foods**, v. 10, n. 2, p. 324, 2021.
- BINELLO, A. *et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbons in coffee samples: Enquiry into processes and analytical methods. **Food Chemistry**, v. 344, p. 128631, 2021.
- BOADA, L. D.; HENRÍQUEZ-HERNÁNDEZ, L. A.; LUZARDO, O. P. The impact of red and processed meat consumption on cancer and other health outcomes: Epidemiological evidences. **Food and Chemical Toxicology**, v. 92, p. 236-244, 2016.

- BOGDANOVIĆ, T. *et al.* The occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons in fish and meat products of Croatia and dietary exposure. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 75, p. 49-60, 2019.
- BOUVARD, V. *et al.* Carcinogenicity of consumption of red and processed meat. **The Lancet Oncology**, London, v. 16, n. 16, p. 1599-1600, 2015.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 2, de 15 de janeiro de 2007. Regulamento técnico sobre aditivos aromatizantes. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 17 jan. 2007.
- BRASIL. Casa Civil. Decreto nº 9013, de 29 de março de 2017 (a). Regulamento sobre a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal, que disciplina a fiscalização e a inspeção industrial e sanitária de produtos de origem animal, instituídas pela Lei nº 1.283, de 18 de dezembro de 1950, e pela Lei nº 7.889, de 23 de novembro de 1989. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 30 mar. 2017.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria de Consolidação nº 5, de 28 de setembro de 2017 (b). Dispõe sobre consolidação das normas sobre as ações e os serviços de saúde do Sistema Único de Saúde. Procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 03 out. 2017, p. 377-399.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Instrução Normativa IN nº 160, de 01 de julho de 2022. Estabelece os limites máximos tolerados (LMT) de contaminantes em alimentos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 06 jul. 2022.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Estatística de câncer**. Brasil, Ministério da Saúde, 2022b. Disponível em: < <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/numeros/> > Acesso em: 21 nov. 2022.
- CALADO, V.; MONTGOMERY, D. C. **Planejamento de experimentos usando o Statistica**. Rio de Janeiro: E-Papers Serviços Editoriais, 2003. 260 p.
- CAMARGO, M. C. R. **Avaliação da ingestão de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos através da dieta**. 2000. 267f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) - Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, 2000.

- CAMARGO, M. C. R. *et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbons in brazilian commercial soybean oils and dietary exposure. **Food Additives and Contaminants: Part B**, v. 4, n. 2, p. 152-159, 2011.
- CAMARGO, M. C. R.; TOLEDO, M. C. F. Dietary polycyclic aromatic hydrocarbon intakes in some Brazilian metropolitan areas. **Revista Brasileira de Toxicologia**, v. 14, n. 2, p. 23-30, 2001.
- CARR, P. R. *et al.* Meat subtypes and their association with colorectal cancer: systematic review and meta-analysis. **International Journal of Cancer**, v. 138, n. 2, p. 293-302, 2016.
- CARVALHO, I. O. A. M. *et al.* The use of lemon juice and its role on polyunsaturated fatty acids and cholesterol oxides formation in thermally prepared sardines. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 104, p. 104087, 2021.
- CEC - COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES. Commission Regulation (EC) No. 835/2011, of 19 August 2011. Amending Regulation (EC) No. 1881/2006 as regards maximum levels for polycyclic aromatic hydrocarbons in foodstuffs. **Official Journal of the European Union**, L215/4-8, 2011.
- CEC - COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES - Commission Regulation (EC) n° 1327/2014, of 12 December 2014. Amending Regulation (EC) No. 1881/2006 as regards maximum levels of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in traditionally smoked meat and meat products and traditionally smoked fish and fishery products. **Official Journal of the European Union**, L358/13, 2014.
- CEC - COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES. Commission Regulation (EC) No. 1933/2015, of 15 October 2015. Amending Regulation (EC) amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels for polycyclic aromatic hydrocarbons in cocoa fibre, banana chips, food supplements, dried herbs and dried spices. **Official Journal of the European Union**, L282/11-13, 2015.
- CEC - COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES. Commission Regulation (EC) n° 1255/2020, of 7 September 2020. Amending Regulation (EC) No. 1881/2006 as regards maximum levels of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in traditionally smoked meat and smoked meat products and traditionally smoked fish and smoked fishery products and establishing a maximum level of PAHs in powders of food of plant origin used for the preparation of beverages. **Official Journal of the European Union**, L293/1-4, 2020.

- CHATTERJEE, N. S. *et al.* Multiresidue analysis of multiclass pesticides and polyaromatic hydrocarbons in fatty fish by gas chromatography tandem mass spectrometry and evaluation of matrix effect. **Food Chemistry**, v. 196, p. 1-8, 2016.
- CHIANG, C. F. *et al.* Evaluation of optimal QuEChERS conditions of various food matrices for rapid determination of EU priority polycyclic aromatic hydrocarbons in various foods. **Food Chemistry**, v. 334, p. 1 – 13, 2021.
- CODEX, 2009. Comissão do Codex Alimentarius. CAC/RCP 68/2009: Código de Prática para Redução da Contaminação de Alimentos com Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPA) Provenientes dos Processos de Fumagem e Secagem Direta. Disponível em: <<http://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/codes-of-practice/en/>>. Acesso em: 11 abr. 2022.
- CORDEIRO, T. *et al.* Inhibitory effect of vinegars on the formation of polycyclic aromatic hydrocarbons in charcoal-grilled pork. **Meat Science**, v. 167, p. 108083, 2020.
- CUNHA, S. C. *et al.* Effect of processing smoked salmon on contaminant contents. **Food and Chemical Toxicology**, v. 153, p. 112276, 2021.
- DJINOVIC, J.; POPOVIC, A.; JIRA, W. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in different types of smoked meat products from Serbia. **Meat Science**, v. 80, n. 2, p. 449-456, 2008.
- DOMINGO, J. L. *et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbons in food and estimated intake by the population of Catalonia, Spain: temporal trend. **Environment International**, v. 36, p. 424-432, 2010.
- DOMINGO, J. L.; NADAL, M. Human dietary exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons: a review of the scientific literature. **Food and Chemical Toxicology**, v. 86, p. 144-153, 2015.
- DOMINGO, J. L.; NADAL, M. Carcinogenicity of consumption of red meat and processed meat: A review of scientific news since the IARC decision. **Food and Chemical Toxicology**, v. 105, p. 256-261, 2017.
- DUEDAHL-OLESEN, L.; WHITE, S.; BINDERUP, M.L. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in Danish smoked fish and meat products. **Polycyclic Aromatic Compounds**, v. 26, n. 3, p. 163-184, 2006.
- DUEDAHL-OLESEN, L. *et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in Danish barbecued meat. **Food Control**, v. 57, p. 169-176, 2015.

- EFSA - European Food Safety Authority. Scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain on a request from the European Commission on polycyclic aromatic hydrocarbons in food. **European Food Safety Authority Journal**, v. 724, p. 1–114, 2008.
- ELLISON, S. L. R. *et al.* Eurachem/CITAC guide - Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement. Eurachem, 2012. Disponível em: <<https://eurachem.org/index.php/publications/guides/quam>>. Acesso em: 13 mar. 2022.
- EL BADRY, N. Effect of household cooking methods and some food additives on polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) formation in chicken meat. **World Applied Sciences Journal**, v. 9, n. 9, p. 963-974, 2010.
- EMBRAPA 2021. **Cárneos**. Publicado Conteúdo migrado na íntegra em: 09/12/2021. Autor Renata Tiekó Nassu - Embrapa Pecuária Sudeste. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/en/agencia-de-informacao-tecnologica/tematicas/tecnologia-de-alimentos/processos/grupos-de-alimentos/carneos>>. Acesso 20 dez 2022
- EPA - Environmental Protection Agency. **Toxicological Review of Benzo[a]pyrene**. EPA, 2017. Disponível em: <https://cfpub.epa.gov/ncea/iris/iris_documents/documents/toxreviews/0136tr.pdf>. Acesso em: 13 jan. 2018.
- FARHADIAN, A. *et al.* Effects of marinating on the formation of polycyclic aromatic hydrocarbons (benzo [a] pyrene, benzo [b] fluoranthene and fluoranthene) in grilled beef meat. **Food Control**, v. 28, n. 2, p. 420-425, 2012.
- FLORES, M. *et al.* Risk assessment of chemical substances of safety concern generated in processed meats. **Food Science and Human Wellness**, v. 8, n. 3, p. 244-251, 2019.
- GARCIA, L. P. A. *et al.* Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em alimentos: uma revisão. **PUBVET, Publicações em Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 8, n. 19, p. 2292-2450, 2014.
- GRIMMER, G.; BÖHNKE, H. Polycyclic aromatic hydrocarbon profile analysis of high-protein foods, oils, and fats by gas chromatography. **Journal Association of Official Analytical Chemists**, v. 58, n. 4, p. 725-733, 1975.
- HALAGARDA, M.; WÓJCIAK, K.M. Health and safety aspects of traditional European meat products. A review. **Meat Science**, v. 184, p. 108623, 2022.

- HAMIDI, E. N. *et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and their bioaccessibility in meat: a tool for assessing human cancer risk. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 17, n. 1, p. 15-23, 2016.
- HOLLOSI, L.; WENZL, T. Development and optimisation of a dopant assisted liquid chromatographic-atmospheric pressure photo ionisation-tandem mass spectrometric method for the determination of 15+ 1 EU priority PAHs in edible oils. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, n. 1, p. 23-31, 2011.
- IARC – International Agency for Research on Cancer. Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, overall evaluation of carcinogenicity. **Polynuclear Aromatic Compounds**. Lyon: IARC, vol. 35, 2010.
- IARC – International Agency for Research on Cancer. Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, overall evaluation of carcinogenicity. **Chemical Agents and Related Occupations**. Lyon: IARC, vol. 100F, 2012.
- IARC – International Agency for Research on Cancer. Monographs Evaluate Consumption of **Red Meat and Processed Meat**. Press release No. 240, World Health Organization (2015). Disponível em: <http://www.iarc.fr/en/mediacentre/pr/2015/pdfs/pr240_E.pdf>. Acesso em: 02 ago 2022.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa de orçamentos familiares (POF) 2008–2009**. Antropometria e estado nutricional de crianças, adolescentes e adultos no Brasil. Rio de Janeiro: IBGE, 130 p., 2010. Disponível em: <<https://biblioteca.ibge.gov.br/visualizacao/livros/liv45419.pdf>>. Acesso em: 02 ago 2022.
- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa de orçamentos familiares (POF) 2017–2018**. Análise do consumo alimentar pessoal no Brasil. Rio de Janeiro: IBGE, 125 p., 2020a. Disponível em: <<https://biblioteca.ibge.gov.br/index.php/biblioteca-catalogo?view=detalhes&id=2101742>>. Acesso em: 21 nov. 2022.
- IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Estatísticas sociais**. Expectativa de vida dos brasileiros aumenta 3 meses e chega a 76,6 anos em 2019. IBGE, 2020b. Disponível em: <<https://agenciadenoticias.ibge.gov.br/agencia-noticias/2012-agencia-de-noticias/noticias/29505-expectativa-de-vida-dos-brasileiros-aumenta-3-meses-e-chega-a-76-6-anos-em-2019>>. Acesso em: 02 ago. 2022.

- IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Estatística da produção pecuária**. IBGE, 2022. Disponível em: <https://ftp.ibge.gov.br/Producao_Pecuaria/Fasciculo_Indicadores_IBGE/abate-leite-couro-ovos_202201caderno.pdf> Acesso em: 21 nov. 2022.
- INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. **Orientação sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos**. DOQ-CGRE-008, revisão 9, 2020. Disponível em: <http://www.inmetro.gov.br/credenciamento/organismos/doc_organismos.asp?torganismo=calibensaio>. Acesso em: 10 mar. 2022.
- JANOSZKA, B. HPLC-fluorescence analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in pork meat and its gravy fried without additives and in the presence of onion and garlic. **Food Chemistry**, v. 126, n. 3, p. 1344-1353, 2011.
- JARDIM, A. N. O.; CALDAS, E. D. Exposição humana a substâncias químicas potencialmente tóxicas na dieta e os riscos para saúde. **Química Nova**, v. 32, n. 7, p. 1898-1909, 2009.
- JECFA - Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. **Evaluation of certain food additives**. In: Sixty-third report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Geneva, Switzerland: World Health Organization & Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2005. Disponível em: <<https://apps.who.int/iris/handle/10665/43141>>. Acesso em: 10 dez. 2022.
- JIANG, D. *et al.* Quantitative analysis and health risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons in edible vegetable oils marketed in Shandong of China. **Food and Chemical Toxicology**, v. 83, p. 61-67, 2015.
- KAFORIS, D. *et al.* Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in traditionally smoked meat products and charcoal grilled meat in Cyprus. **Meat Science**, v. 164, p. 1- 6, 2020.
- KARTALOVIĆ, B. *et al.* The Content of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Slavonska slanina—Traditionally Smoked and Dry-Cured Bacon. **Processes**, v. 10, n. 2, p. 268, 2022.
- KAZEROUNI, N. *et al.* Analysis of 200 food items for benzo[a]pyrene and estimation of its intake in an epidemiologic study. **Food and Chemical Toxicology**, v. 39, n. 5, p. 423-436, 2001.

- KIM, K. H. *et al.* A review of airborne polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and their human health effects. **Environment International**, v. 60, p. 71-80, 2013.
- KIM, L. *et al.* Review of the QuEChERS method for the analysis of organic pollutants: Persistent organic pollutants, polycyclic aromatic hydrocarbons, and pharmaceuticals. **Trends in Environmental Analytical Chemistry**, v. 22, p. e00063, 2019.
- KIM, H. *et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbons in beverage and dairy products in South Korea: a risk characterization using the total diet study. **Food Science and Biotechnology**, v. 30, n. 7, p. 989-1002, 2021.
- KRAJIAN, H. Estimation of the dietary exposure of polycyclic aromatic hydrocarbons in Syria and their health risks assessment. **International Journal of Food Studies**, v. 9, n. 2, 2020.
- LAI, Y. W. *et al.* Extraction of heterocyclic amines and polycyclic aromatic hydrocarbons from pork jerky and the effect of flavoring on formation and inhibition. **Food Chemistry**, v. 402, p. 134291, 2023.
- LAI, Y. W. *et al.* Formation and Inhibition of Heterocyclic Amines and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Ground Pork during Marinating. **Foods**, v. 11, n. 19, p. 3080, 2022.
- LEDESMA, E.; RENDUELES, M.; DÍAZ, M. J. F. C. Contamination of meat products during smoking by polycyclic aromatic hydrocarbons: Processes and prevention. **Food Control**, v. 60, p. 64-87, 2016.
- LEDESMA, E.; RENDUELES, M.; DÍAZ, M. Spanish smoked meat products: benzo(a)pyrene (BaP) contamination and moisture. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 37, p. 87-94, 2015.
- LEE, J. S. *et al.* Effects of thawing and frying methods on the formation of acrylamide and polycyclic aromatic hydrocarbons in chicken meat. **Foods**, v. 9, n. 5, p. 573, 2020.
- LI, G. *et al.* Concentration, dietary exposure and health risk estimation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in youtiao, a Chinese traditional fried food. **Food Control**, v. 59, p. 328-336, 2016.
- LOUZADA, M. L. C. *et al.* Ultra-processed foods and the nutritional dietary profile in Brazil. **Revista de Saúde Pública**, v. 49, 38, 2015.

- LU, F.; KUHNLE, G. K.; CHENG, Q. Heterocyclic amines and polycyclic aromatic hydrocarbons in commercial ready-to-eat meat products on UK market. **Food Control**, v. 73, p. 306-315, 2017.
- LU, F.; KUHNLE, G. K.; CHENG, Q. The effect of common spices and meat type on the formation of heterocyclic amines and polycyclic aromatic hydrocarbons in deep-fried meatballs. **Food Control**, v. 92, p. 399-411, 2018.
- LUNG, S.C.; LIU, C. Fast analysis of 29 polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and nitro-PAHs with ultra-high performance liquid chromatography-atmospheric pressure photoionization-tandem mass spectrometry. **Scientific Reports**, v. 5, n. 1, p. 1-13, 2015.
- MALARUT, J.; VANGNAI, K. Influence of wood types on quality and carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) of smoked sausages. **Food Control**, v. 85, p. 98-106, 2018.
- MALLAH, M. A. *et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbon and its effects on human health: an updated review. **Chemosphere**, p. 133948, 2022.
- MARÇAL, D. A. *et al.* Consumo da carne suína no Brasil: aspectos simbólicos como determinantes dos comportamentos. **Revista em Agronegócio e Meio Ambiente**, v. 9, n. 4, p. 989-1005, 2016.
- MASTANJEVIĆ, K. *et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbons in the traditional smoked sausage Slavonska kobasica. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 83, p. 103282, 2019.
- MERLO, T.C. *et al.* Alternative pressurized liquid extraction using a hard cap espresso machine for determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked bacon. **Food Control**, v. 120, p. 107565, 2021.
- MICULIS, J. *et al.* Polycyclic aromatic hydrogen carbonates content investigations in smoked meat and fish. In: BALTIC ANIMAL BREEDING CONFERENCE, 15, 2010. **Proceedings**. Riga (Latvia): State Agency Agricultural data centre, 2010.
- MIN, S.; PATRA, J. K.; SHIN, H. S. Factors influencing inhibition of eight polycyclic aromatic hydrocarbons in heated meat model system. **Food Chemistry**, v. 239, p. 993-1000, 2018.
- MIRZAZADEH, M.; SADEGHI, E.; BEIGMOHAMMADI, F. Comparison of the effects of microwave cooking by two conventional cooking methods on the concentrations of polycyclic aromatic hydrocarbons and volatile N-nitrosamines in beef cocktail smokies (smoked sausages). **Journal of Food Processing and Preservation**, v. 45(6), e15560, 2021.

- MOLOGNONI, L. *et al.* Interactions of preservatives in meat processing: Formation of carcinogenic compounds, analytical methods, and inhibitory agents. **Food Research International**, v. 125, p.1-17, 2019.
- NEVES, T. M. *et al.* Effects of seasoning on the formation of heterocyclic amines and polycyclic aromatic hydrocarbons in meats: A meta-analysis. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 20, n. 1, p. 526-541, 2021.
- NETO, B. B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos**. 3. ed. Campinas, SP: Editora da Unicamp, 2007. 480 p.
- OLATUNJI, O.S. *et al.* Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons [PAHs] in processed meat products using gas chromatography–Flame ionization detector. **Food Chemistry**, v. 156, p. 296-300, 2014.
- OLIVEIRA, C. C. *et al.* Incerteza de medição em ensaios físico-químicos: uma abordagem prática. São Paulo: SES/SP, 2015. 140 p. Disponível em: <<http://www.ial.sp.gov.br/ial/publicacoes/livros/incerteza-de-medicao-em-ensaios-fisico-quimicos-uma-abordagem-pratica>>. Acesso em: 16 jan. 2022.
- OTOO, E. A. *et al.* Reduction of polycyclic aromatic hydrocarbons concentrations in smoked guinea fowl (*Numida meleagris*) meat using gamma irradiation. **CyTA-Journal of Food**, v. 20, n. 1, p. 343-354, 2022.
- OZ, F., YUZER, M. O. The effects of cooking on wire and stone barbecue at different cooking levels on the formation of heterocyclic aromatic amines and polycyclic aromatic hydrocarbons in beef steak. **Food Chemistry**, v. 203, p. 59 – 66, 2016.
- PARK, K. C. *et al.* Effects of cooking methods and tea marinades on the formation of benzo[a]pyrene in grilled pork belly (Samgyeopsal). **Meat Science**, v. 129, p. 1-8, 2017.
- PAZ, A.P.S. *et al.* Presença de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em produtos alimentícios e a sua relação com o método de cocção e a natureza do alimento. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 20, 2017.
- PURCARO, G. *et al.* Ultra-highperformance liquid chromatographic method for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in a passive environmental sampler. **Journal of Separation Science**, v. 35, n. 8, p. 922-928, 2012.

- PURCARO, G.; MORET, S. CONTE, L. S. Overview on polycyclic aromatic hydrocarbons: occurrence, legislation, and innovative determination in foods. **Talanta**, v. 105, p. 292-305, 2013.
- PURCARO, G.; MORET, S.; CONTE, L. S. Optimisation of microwave assisted extraction (MAE) for polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) determination in smoked meat. **Meat Science**, v. 81, n. 1, p. 275-280, 2009.
- QUEQUETO, W. D. *et al.* Drying of soybean grains with direct-fired furnace using wood chips: Performance, quality and polycyclic aromatic hydrocarbons. **Drying Technology**, p. 1-11, 2021.
- RACOVITA, R. C.; SECUIANU, C.; ISRAEL-ROMING, F. Quantification and risk assessment of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons in retail smoked fish and smoked cheeses. **Food Control**, v. 121, p. 107586, 2021.
- RENGARAJAN, T. *et al.* Exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons with special focus on cancer. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 5, n.3, p. 182-189, 2015.
- ROSE, M. *et al.* Investigation into the formation of PAHs in foods prepared in the home to determine the effects of frying, grilling, barbecuing, toasting and roasting. **Food and Chemical Toxicology**, v. 78, Supplement C, p. 1-9, 2015.
- ROSEIRO, L. C.; GOMES, A.; SANTOS, C. Influence of processing in the prevalence of polycyclic aromatic hydrocarbons in a portuguese traditional meat product. **Food and Chemical Toxicology**, v. 49, p. 1340-1345, 2011.
- ROZENTALE, I. *et al.* Assessment of dietary exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons from smoked meat products produced in Latvia. **Food Control**, v.54, p. 16-22. 2015.
- ROZENTALE, I.; ZACS, D.; BARTKEVICS, V. Application of dopant-assisted atmospheric pressure photoionisation HPLC–MS method for the sensitive determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in dark chocolate. **Journal of Chromatographic Science**, v. 57, n. 3, p. 220-229, 2019.
- SAMPAIO, G. R. *et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbons in foods: Biological effects, legislation, occurrence, analytical methods, and strategies to reduce their formation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 11, p. 6010, 2021.

- SALDANHA, T. *et al.* HPLC separation and determination of 12 cholesterol oxidation products in fish: comparative study of RI, UV, and APCI-MS detectors. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, n. 12, p. 4107-4113, 2006.
- SCHWERT, R. *et al.* Effect of Liquid Smoke Extract on the Oxidative Stability, Benzopyrene and Sensory Quality of Calabrese Sausage. **Current Nutrition & Food Science**, v. 16, n. 3, p. 343-353, 2020.
- SILVA, S. A. *et al.* Quantification of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Commonly Consumed Salami in Brazil. **Food Analytical Methods**, p. 1-11, 2022.
- SILVA, S. A. *et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbons content and fatty acids profile in coconut, safflower, evening primrose and linseed oils. **Food Chemistry**, v. 245, p. 798-805, 2018.
- SILVA, S. A.; SAMPAIO, G. R.; TORRES, E. A. F. Optimization and validation of a method using UHPLC-fluorescence for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in cold-pressed vegetable oils. **Food Chemistry**, v. 221, p. 809-814, 2017.
- SILVEIRA, E. T. F. *et al.* Capítulo 11 – **Industrialização de produtos cárneos**. In: Associação Brasileira de Criadores de Suínos. Manual de industrialização dos suínos / Associação Brasileira de Criadores de Suínos, coordenação editorial. Brasília, DF, 2014. 378p. Disponível em: <<https://ital.agricultura.sp.gov.br/ctc/publicacoes>>. Acesso 21 dez 2022.
- SINGH, L; AGARWAL, T.; SIMAL-GANDARA, J. Summarizing minimization of polycyclic aromatic hydrocarbons in thermally processed foods by different strategies. **Food Control**, n. 109514, 2022.
- SKALJAC, S. *et al.* Influence of smoking in traditional and industrial conditions on colour and content of polycyclic aromatic hydrocarbons in dry fermented sausage “Petrovská klobása”. **Food Control**, v. 87, p. 158-162, 2014.
- STUMPE-VĪKSNA, I. *et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbons in meat smoked with different types of wood. **Food Chemistry**, v. 110, n. 3, p. 794-797, 2008.
- SUN, Y.; WU, S.; GONG, G. Trends of research on polycyclic aromatic hydrocarbons in food: A 20-year perspective from 1997 to 2017. **Trends in food science & technology**, v. 83, p. 86-98, 2019.
- TFOUNI, S.A.V *et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbons in coffee brew: Influence of roasting and brewing procedures in two *Coffea* cultivars. **LWT-Food Science and Technology**, v. 50, n. 2, p. 526-530, 2013.

- TFOUNI, S.A.V. *et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbons in teas using QuEChERS and HPLC-FLD. **Food Additives & Contaminants: Part B**, v. 11, n. 2, p. 146-152, 2018.
- TRAVASSOS, G. F.; COELHO, A. B. Padrão de substituição entre carnes no consumo domiciliar do Brasil. **Revista de Economia e Sociologia Rural**, v. 55, n. 2, p. 285-304, 2017.
- USEPA - U.S. Environmental Protection Agency. **Risk assessment guidance for superfund volume I: Human health evaluation manual** (Part E, Supplemental Guidance for Dermal Risk Assessment). USEPA 2004.
- WANG, L. *et al.* Halogenated and parent polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetables: Levels, dietary intakes, and health risk assessments. **Science of the Total Environment**, v. 616, p. 288-295, 2018.
- WANG, C. *et al.* Phenolic compounds in beer inhibit formation of polycyclic aromatic hydrocarbons from charcoal-grilled chicken wings. **Food Chemistry**, v. 294, p. 578-586, 2019.
- WANG, Y. *et al.* Occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons in fried and grilled fish from Shandong China and health risk assessment. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 28, n. 25, p. 32802-32809, 2021b.
- WENZL, T.; ZELINKOVA Z. **Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Food and Feed**, in: Melton L, Shahidi F & Varelis P (Eds), Encyclopedia of Food Chemistry. Academic Press, p. 455-469. 2019.
- WONGMANEEPRATIP, W.; VANGNAI, K. Effects of oil types and pH on carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in grilled chicken. **Food Control**, v. 79, p. 119-125, 2017.
- WRETLING, S. *et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Swedish smoked meat and fish. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 23, n. 3, p. 264-272, 2010.
- XIA, Z. *et al.* Health risk assessment on dietary exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Taiyuan, China. **Science of the Total Environment**, v. 408, n. 22, p. 5331-5337, 2010.
- YAN, K.; LI, W.; WU, S. Dietary exposure and risk assessment of European Union priority (EU 15+ 1) polycyclic aromatic hydrocarbons from milks and milk powders in China. **Journal of Dairy Science**, v. 105, n. 8, p. 6536-6547, 2022.

- YU, Y. *et al.* Inhibitory effect of coriander (*Coriandrum sativum* L.) extract marinades on the formation of polycyclic aromatic hydrocarbons in roasted duck wings. **Food Science and Human Wellness**, v. 12, n. 4, p. 1128-1135, 2023.
- ZELINKOVA, Z.; WENZL, T. The occurrence of 16 EPA PAHs in food—a review. **Polycyclic Aromatic Compounds**, v. 35, n. 2-4, p. 248-284, 2015.
- ZHANG, X. *et al.* Vinegars inhibiting of the generation of BaP in barbecued pork sausages by decreasing the pH and free radical scavenging. **Food Control**, v. 145, p. 109404, 2023.
- ZHU, Z. *et al.* The contacamination, formation, determination and control of polycyclic aromatic hydrocarbons in meat products. **Food Control**, p. 109194, 2022.

APÊNDICE

APÊNDICE A - Características dos produtos cárneos defumados comerciais estudados

Quadro 1 - Características das amostras comerciais de linguiça (defumada e fresca)

Código	Descrição do produto	Marca	Local de fabricação	Validade
1	Defumada Calabresa	O	Três Rios/RJ	04/09/2019
2	Defumada Calabresa	AA	Quitandinha/PR	20/02/2020
3	Defumada Calabresa	AI	Prudentópolis/PR	06/04/2020
4	Defumada Calabresa	I	NC	07/05/2020
5	Defumada Calabresa	A	NC	NC
6	Defumada Calabresa	D	NC	16/09/2020
7	Defumada Calabresa	NC	Marília/SP	NC
8	Defumada Calabresa	R	Cajamar/SP	13/12/2020
9	Defumada Calabresa	G	Rio do Sul/SC	06/09/2021
10	Defumada Calabresa	AP	Santa Catarina	07/05/2021
11	Defumada Chorizo	AJ	São Paulo/SP	13/01/2021
12	Defumada Chorizo	AJ	São Paulo/SP	17/04/2021
13	Defumada Chorizo	AJ	São Paulo/SP	13/03/2021
14	Defumada Chorizo	AJ	São Paulo/SP	14/12/2020
15	Defumada Paio	AP	NC	08/07/2020
16	Defumada Paio	AF	Levy Gasparian/RJ	08/11/2020
17	Defumada Paio	H	Jaguariúna/SP	10/10/2020
18	Defumada Paio	R	Laranjal Paulista/SP	18/10/2020
19	Defumada Paio	AK	Cajamar/SP	20/10/2020
20	Defumada Paio	G	Rio do Sul/SC	13/09/2021
21	Defumada Paio	D	NC	13/04/2022
22	Defumada Paio	H	NC	10/04/2022
23	Defumada Paio	M	NC	23/03/2022
24	Defumada Paio	D	NC	07/03/2022
25	Defumada Paio	NC	NC	27/02/2022
26	Defumada Portuguesa	B	Concórdia/SC	19/10/2020
27	Defumada Portuguesa	A	Concórdia/SC	28/11/2020
28	Defumada Portuguesa	AK	NC	03/11/2020
29	Defumada Portuguesa	B	Concórdia/SC	23/08/2021
30	Defumada Portuguesa	D	Chapecó/SC	04/10/2021
31	Defumada Portuguesa	B	NC	21/03/2022
32	Defumada Portuguesa	D	NC	09/03/2022
33	Defumada Portuguesa	NC	NC	27/02/2022

continua

Quadro 1 - Características das amostras comerciais de linguiça (defumada e fresca)*continuação*

Código	Descrição do produto	Marca	Local de fabricação	Validade
34	Fresca suína	AP	NC	16/01/2021
35	Fresca suína	A	NC	NC
36	Fresca suína	W	NC	08/11/2020
37	Fresca suína	U	Bragança Paulista/SP	NC
38	Fresca suína	B	NC	24/11/2020
39	Fresca suína	A	NC	01/12/2020
40	Fresca suína	D	NC	24/11/2020
41	Fresca suína	AK	Cajamar/SP	03/11/2020
42	Fresca suína	AM	Santo Amaro/SP	10/11/2020
43	Fresca suína	D	NC	28/10/2021
44	Fresca suína	B	NC	11/08/2021
45	Fresca suína	G	Rio do Sul/SC	10/01/2022
46	Fresca frango	AP	Seara/SC	19/08/2020
47	Fresca frango	AK	Cajamar/SP	25/11/2020
48	Fresca frango	AK	Cajamar/SP	23/12/2020
49	Fresca frango	AX	NC	02/08/2021
50	Fresca frango	H	Jundiaí/SP	30/09/2021
51	Fresca frango	D	NC	04/05/2022
52	Fresca frango	B	NC	25/05/2022
53	Fresca frango	AP	NC	11/05/2022
54	Fresca frango	H	NC	NC
55	Fresca frango	NC	NC	06/03/2022

Abreviaturas: NC - não consta; PR – Paraná; RJ: Rio de Janeiro; SC – Santa Catarina; SP - São Paulo

Quadro 2 - Características das amostras comerciais de salame

Código	Descrição do produto	Marca	Local de fabricação	Validade
1	Salame	A	Marau/RS	18/12/2019
2	Salame	B	Marau/RS	08/10/2019
3	Salame	C	Itapui/SP	24/11/2019
4	Salame	D	Erechim/RS	27/10/2019
5	Salame	E	Samanduva/RS	30/12/2019
6	Salame	F	Erechim/RS	14/11/2019
7	Salame	B	Marau/RS	08/10/2019
8	Salame	B	Marau/RS	08/10/2019
9	Salame	G	Rio do Sul/RS	08/12/2019
10	Salame	G	Rio do Sul/RS	28/11/2019
11	Salame	H	NC	08/10/2019
12	Salame	A	Concordia/SC	15/12/2019
13	Salame	I	NC	14/10/2019
14	Salame	D	NC	22/10/2019
15	Salame	J	Piumhi/MG	10/12/2019
16	Salame	K	Medianeira/PR	18/11/2019
17	Salame	L	São Paulo/SP	NC
18	Salame	L	São Paulo/SP	NC
19	Salame	L	São Paulo/SP	NC
20	Salame	L	São Paulo/SP	NC
21	Salame	ND	Campo Grande/MS	NC
22	Salame	ND	Pato Branco/PR	NC
23	Salame	J	NC	27/02/2020
24	Salame	AI	Dourados/MS	14/02/2020
25	Salame	AD	NC	07/02/2020
26	Salame	AB	NC	09/01/2020
27	Salame	X	Montevidéu/Uruguai	07/02/2020
28	Salame	I	Castro/PR	02/01/2020
29	Salame	A	Concordia/SC	25/10/2020
30	Salame	NC	Marília/SP	NC

Abreviaturas: NC - não consta; MG: Minas Gerais; MS – Mato Grosso do Sul; PR – Paraná; RS - Rio Grande do Sul; SC – Santa Catarina; SP - São Paulo

Quadro 3 - Características das amostras comerciais de bacon

Código	Descrição do produto	Marca	Local de fabricação	Validade
1	Bacon	H	NC	NC
2	Bacon	F	NC	20/09/2020
3	Bacon	B	NC	NC
4	Bacon	P	NC	02/11/2020
5	Bacon	A	NC	08/12/2020
6	Bacon	Q	NC	24/09/2020
7	Bacon	R	NC	17/11/2020
8	Bacon	AG	Cajamar/SP	14/11/2020
9	Bacon	A	NC	27/10/2020
10	Bacon	H	NC	22/11/2020
11	Bacon	AG	Cajamar/SP	25/10/2020
12	Bacon	AK	Cajamar/SP	08/11/2020
13	Bacon	AO	Patos de Minas/MG	30/11/2020
14	Bacon	AK	Cajamar/SP	21/12/2020
15	Bacon	AC	Cotia/SP	14/01/2021
16	Bacon	AC	Cotia/SP	14/01/2021
17	Bacon	AO	Patos de Minas/MG	30/11/2020
18	Bacon	AC	Cotia/SP	14/01/2021
19	Bacon	AC	Cotia/SP	14/01/2021
20	Bacon	F	Erechim/RS	09/11/2020
21	Bacon	V	São Caetano do Sul/SP	23/12/2020
22	Bacon	G	Rio do Sul - RS	02/02/2021
23	Bacon	AS	NC	NC

Abreviaturas: NC - não consta; MG: Minas Gerais; RS - Rio Grande do Sul; SP - São Paulo

Quadro 4 - Características das amostras comerciais de salsicha

Código	Descrição do produto	Marca	Local de fabricação	Validade
1	Salsicha suína	D	Tatui/SP	03/10/2020
2	Salsicha suína	A	NC	21/08/2020
3	Salsicha suína	H	NC	11/07/2020
4	Salsicha suína	I	NC	NC
5	Salsicha suína/bovina	S	NC	11/10/2020
6	Salsicha suína	S	NC	18/10/2020
7	Salsicha suína	F	NC	02/10/2020
8	Salsicha suína/bovina	S	NC	12/10/2020
9	Salsicha suína/bovina	S	NC	20/10/2020
10	Salsicha suína	R	NC	02/11/2020
11	Salsicha suína	I	NC	04/08/2021
12	Salsicha suína	D	NC	07/08/2021
13	Salsicha frango	H	Duque de Caxias/RS	04/10/2021
14	Salsicha suína	B	NC	29/01/2022
15	Salsicha suína	B	NC	21/02/2022
16	Salsicha suína	A	NC	19/04/2022
17	Salsicha suína	A	NC	11/03/2022
18	Salsicha frango	A	NC	01/03/2022

Abreviaturas: NC – não consta; RS - Rio Grande do Sul; SP - São Paulo

Quadro 5 - Características dos diferentes tipos de amostras comerciais de presunto

Código	Descrição do produto	Marca	Local de fabricação	Validade
1	Presunto cozido	B	Tatui/SP	14/09/2020
2	Presunto italiano	I	NC	07/11/2020
3	Presunto tipo parma	A	NC	15/10/2020
4	Presunto cozido	H	NC	10/09/2020
5	Presunto cozido	R	Cajamar/SP	15/10/2020
6	Presunto cozido	A	NC	30/11/2020
7	Presunto italiano	I	NC	17/01/2021
8	Presunto cozido	I	Vinhedo/SP	15/12/2020
9	Presunto cozido	A	NC	27/12/2020
10	Presunto cozido	H	NC	21/11/2020
11	Presunto cozido	K	Medianeira/PR	01/01/2021
12	Presunto cozido	B	NC	31/07/2021
13	Presunto cozido	D	NC	03/08/2021
14	Presunto cozido	D	Chapecó/SC	03/09/2021
15	Presunto cozido	G	NC	03/08/2021
16	Presunto cozido	H	NC	01/10/2021

Abreviaturas: NC - não consta; PR – Paraná; RS - Rio Grande do Sul; SP - São Paulo

Quadro 6 - Características das amostras comerciais de mortadela

Código	Descrição do produto	Marca	Local de fabricação	Validade
1	Mortadela	B	NC	17/10/2019
2	Mortadela	M	NC	24/10/2019
3	Mortadela	D	NC	23/11/2019
4	Mortadela	A	NC	15/11/2019
5	Mortadela	R	NC	04/10/2020
6	Mortadela	M	NC	18/09/2020
7	Mortadela	B	NC	28/09/2020
8	Mortadela	H	NC	18/09/2020
9	Mortadela	B	NC	06/10/2020
10	Mortadela	Y	Bom Retiro do Sul/RS	28/10/2020
11	Mortadela	I	NC	03/08/2021
12	Mortadela	B	NC	27/01/2022
13	Mortadela	I	NC	12/03/2022
14	Mortadela	B	NC	13/03/2022
15	Mortadela	I	NC	24/02/2022
16	Mortadela	I	NC	NC

Abreviaturas: NC - não consta; RS - Rio Grande do Sul

Quadro 7 - Características das amostras comerciais de peito de aves defumadas (chester, frango e peru)

Código	Descrição do produto	Marca	Local de fabricação	Validade
1	Peito de Peru	A	Tatui/SP	05/10/2019
2	Peito de Peru	N	NC	17/10/2019
3	Peito de Frango	I	NC	19/10/2019
4	Peito de Frango	R	NC	26/09/2020
5	Peito de Peru	A	NC	19/09/2020
6	Peito de Frango	H	NC	04/10/2020
7	Peito de Peru	H	Osasco/SP	03/12/2020
8	Peito de Peru	H	NC	19/11/2020
9	Peito de Chester	B	NC	19/11/2020
10	Peito de Frango	I	Vinhedo/SP	19/11/2020
11	Peito de Frango	I	Vinhedo/SP	05/09/2021
12	Peito de Peru	A	NC	NC
13	Peito de Peru	A	NC	26/02/2022
14	Peito de Frango	I	Vinhedo/SP	31/03/2022
15	Peito de Peru	H	NC	06/03/2022

Abreviaturas: NC - não consta; SP - São Paulo

Quadro 8 - Características das amostras comerciais de hambúrgueres

Código	Descrição do produto	Marca	Local de fabricação	Validade
1	Carne ave/bovina	H	Salto Veloso/SC	30/10/2021
2	Carne ave/bovina - sabor churrasco	D	São Gabriel do Oeste/MS	21/10/2021
3	Carne ave/bovina - defumado	B	Itajai/SC	01/09/2021
4	Carne bovina - sabor churrasco	A	Itajai/SC	02/09/2021
5	Carne bovina - sabor tradicional	A	Itajai/SC	30/10/2021
6	Carne ave	D	NC	NC
7	Carne bovina - sabor defumado	B	Itajai/SC	14/05/2021
8	Carne ave	R	Itapira/SP	18/11/2021
9	Carne bovina	R	Itapira/SP	16/11/2021
10	Carne ave	H	Salto Veloso/SC	05/11/2021
11	Carne bovina - sabor tradicional	A	NC	04/01/2022
12	Carne ave/bovina	H	NC	07/05/2022
13	Carne ave/suína/bovina	H	NC	NC
14	Carne ave/bovina	AU	NC	NC
15	Carne ave/bovina - sabor picanha	AV	Elias Fausto/SP	05/06/2022

Abreviaturas: NC - não consta; MS - Mato Grosso do Sul; SC - Santa Catarina; SP - São Paulo

Quadro 9 - Características das amostras comerciais de copa

Código	Descrição do produto	Marca	Local de fabricação	Validade
1	Copa	D	NC	NC
2	Copa	AN	Catanduva/SP	28/10/2020
3	Copa	A	Concordia/SC	15/10/2020
4	Copa	H	NC	11/10/2020
5	Copa	I	Vinhedo/SP	02/11/2020
6	Copa	AR	São Paulo/SP	23/11/2020
7	Copa	AJ	São Paulo/SP	28/01/2021
8	Copa	AE	Sananduva/RS	08/03/2021
9	Copa	AR	São Paulo/SP	30/12/2020
10	Copa	I	Vinhedo/SP	03/01/2021

Abreviaturas: NC - não consta; RS - Rio Grande do Sul; SC - Santa Catarina; SP - São Paulo

Quadro 10 - Características das amostras comerciais de produtos defumados variados

Código	Descrição do produto	Marca	Local de fabricação	Validade
1	Paleta	I	NC	02/11/2020
2	Paleta	I	NC	18/10/2020
3	Pastrami	AC	Cotia/SP	14/01/2021
4	Salmão	AT	Osasco/SP	15/07/2021
5	Butifarra negra	AJ	São Paulo/SP	NC
6	Morcilla de Burgos	AJ	São Paulo/SP	NC
7	Morcilla Doce	AJ	São Paulo/SP	NC

Abreviaturas: NC – não consta; SP - São Paulo

APÊNDICE B - Pré-tratamentos e cocções para carnes bovinas e linguiças

Quadro 11 - Pré-tratamentos e cocções para carnes bovinas e linguiças

Tratamento	Preparo prévio do produto?*	Cocção	Processo de cocção	Temperaturas (°C)
1	Não	Não	-	-
2	Não	Cocção sob calor seco - Grelhado (Cocção 1)	Em <i>grill</i> elétrico ^a antiaderente até que centro geométrico do alimento atingisse a T desejada ^b	No centro geométrico do alimento: 80
3	Não	Cocção sob calor seco - Grelhado (Cocção 1)	Em <i>grill</i> elétrico ^a antiaderente até que centro geométrico do alimento atinja a T desejada ^b	No centro geométrico do alimento: 100
4	Não	Cocção sob calor seco - Grelhado (Cocção 2)	Em frigideira antiaderente, com chama do fogão mínima ^c . Quando o centro geométrico do alimento alcançou 30°C, foram trocados de lado a cada 30 s ^d até que atingisse a T desejada ^b	No centro geométrico do alimento: 80
5	Não	Cocção sob calor seco - Grelhado (Cocção 2)	Em frigideira antiaderente, com chama do fogão mínima ^c . Quando o centro geométrico do alimento alcançou 30°C, foram trocados de lado a cada 30 s ^d até que atingisse a T desejada ^b	No centro geométrico do alimento: 100
6	Não	Cocção sob calor seco - Assado (Cocção 3)	Em forno doméstico a gás ^e , por 30 min na T desejada ^b	No indicador do termopar: 175
7	Não	Cocção sob calor seco - Assado (Cocção 3)	Em forno doméstico a gás ^e , por 30 min na T desejada ^b	No indicador do termopar: 200
8	Não	Cocção sob calor seco - Assado (Cocção 4)	Em fritadeira elétrica (<i>Air Fryer</i>) ^f , por 7 min na T desejada ^b . Na metade do tempo, amostras foram trocados de lado	No indicador do termopar: 180

Quadro 11 - Pré-tratamentos e cocções para carnes bovinas e linguças

continuação

Tratamento	Preparo prévio do produto?*	Cocção	Processo de cocção	Temperaturas (°C)
9	Não	Cocção sob calor seco - Assado (Cocção 4)	Em fritadeira elétrica (<i>Air Fryer</i>) ^f , por 7 min na T desejada ^b . Na metade do tempo, amostras foram trocados de lado	No indicador do termopar: 200
10	Não	Cocção sob calor seco - Assado (Cocção 5)	Em grelha de churrasqueira com carvão ^g . Quando o centro geométrico do alimento alcançou 30°C, foram trocados de lado a cada 2 min, até que atingisse a T desejada ^b	No centro geométrico do alimento: 80
11	Não	Cocção sob calor seco - Assado (Cocção 5)	Em grelha de churrasqueira com carvão ^g . Quando o centro geométrico do alimento alcançou 30°C, foram trocados de lado a cada 2 min, até que atingisse a T desejada ^b	No centro geométrico do alimento: 100
12	Sim	Não	-	-
13	Sim	Cocção sob calor seco - Grelhado (Cocção 1)	Em <i>grill</i> elétrico ^a antiaderente até que centro geométrico do alimento atingisse a T desejada ^b	No centro geométrico do alimento: 80
14	Sim	Cocção sob calor seco - Grelhado (Cocção 1)	Em <i>grill</i> elétrico ^a antiaderente até que centro geométrico do alimento atingisse a T desejada ^b	No centro geométrico do alimento: 100
15	Sim	Cocção sob calor seco - Grelhado (Cocção 2)	Em frigideira antiaderente, com chama do fogão mínima ^c . Quando o centro geométrico do alimento alcançou 30°C, foram trocados de lado a cada 30 s ^d até que atingisse a T desejada ^b	No centro geométrico do alimento: 80
16	Sim	Cocção sob calor seco - Grelhado (Cocção 2)	Em frigideira antiaderente, com chama do fogão mínima ^c . Quando o centro geométrico do alimento alcançou 30°C, foram trocados de lado a cada 30 s até que atingisse a T desejada ^b	No centro geométrico do alimento: 100

Quadro 11 - Pré-tratamentos e cocções para carnes bovinas e linguças

continuação

Tratamento	Preparo prévio do produto?*	Cocção	Processo de cocção	Temperaturas (°C)
17	Sim	Cocção sob calor seco - Assado (Cocção 3)	Em forno doméstico a gás ^d , por 30 min na T desejada ^b	No indicador do termopar: 175
18	Sim	Cocção sob calor seco - Assado (Cocção 3)	Em forno doméstico a gás ^d , por 30 min na T desejada ^b	No indicador do termopar: 200
19	Sim	Cocção sob calor seco - Assado (Cocção 4)	Em fritadeira elétrica (<i>Air Fryer</i>) ^e , por 7 min na T desejada ^b . Na metade do tempo, amostras foram trocados de lado	No indicador do termopar: 180
20	Sim	Cocção sob calor seco - Assado (Cocção 4)	Em fritadeira elétrica (<i>Air Fryer</i>) ^e , por 7 min na T desejada ^b . Na metade do tempo, amostras foram trocados de lado	No indicador do termopar: 200
21	Sim	Cocção sob calor seco - Assado (Cocção 5)	Em grelha de churrasqueira com carvão ^f . Quando o centro geométrico do alimento alcançou 30°C, foram trocados de lado a cada 2 min, até que atingisse a T desejada ^b	No centro geométrico do alimento: 80
22	Sim	Cocção sob calor seco - Assado (Cocção 5)	Em grelha de churrasqueira com carvão ^f . Quando o centro geométrico do alimento alcançou 30°C, foram trocados de lado a cada 2 min, até que atingisse a T desejada ^b	No centro geométrico do alimento: 100

^a Grill elétrico antiaderente marca Philco, modelo Super Grill Duo, potência de 1500 W.

^b Temperaturas avaliadas usando termopar (tipo J, G Controls sistemas Ltda) conectado a indicador digital de temperatura (modelo GC 2109T, G Controls sistemas Ltda)

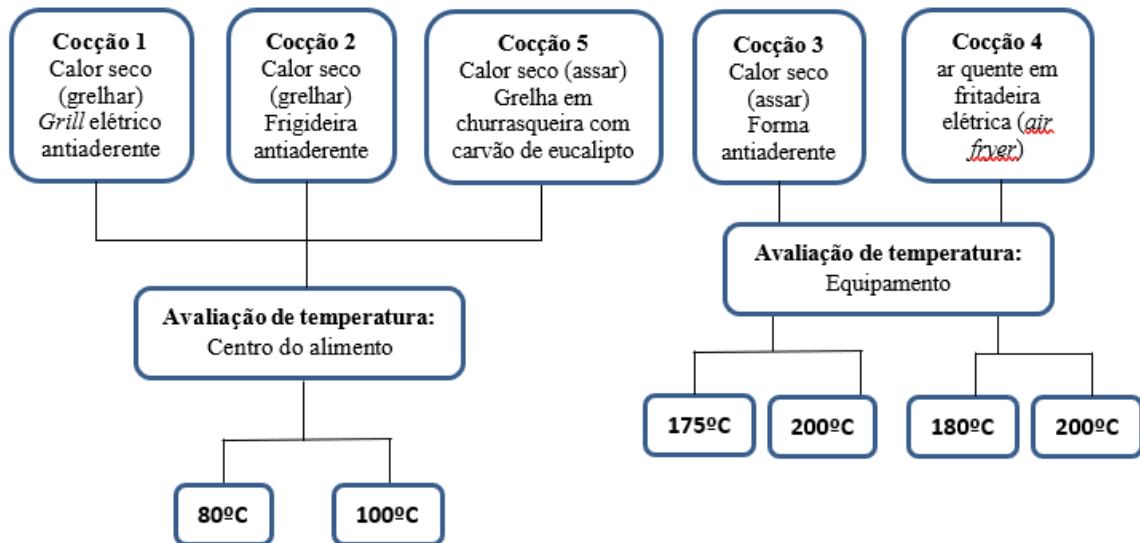
^c Fritadeira antiaderente de diâmetro 21 cm. Fogão a gás de seis bocas de embutir marca Brastemp, modelo De Ville Clean.

^d Forma antiaderente retangular de dimensões 24 x 34 cm em forno a gás. Fogão de seis bocas de embutir marca Brastemp, modelo De Ville Clean. Sensor de temperatura mantido entre 150-180°C e 180-210°C.

^e Fritadeira elétrica (*Air Fryer*), marca Mondial, modelo NAF-03 – 4470-12, 3,2 litros, potência 1500W.

^f Distância da carne ao material combustível (carvão de eucalipto): 12 cm.

Figura 1 - Representação esquemática das cocções e temperaturas usadas para carne bovina e linguiça



Fonte: Próprio autor (2023)

APÊNDICE C - Otimização das condições analíticas para análise dos quatro HPAs em produtos cárneos

Foi realizado um levantamento em artigos científicos publicados sobre as principais metodologias de extração utilizadas para análise de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em produtos cárneos. Alguns exemplos estão apresentados no Anexo A. Primeiramente, foram investigadas as diferentes condições de saponificação encontradas nos artigos, a fim de verificar qual melhor desempenhava sua função, não degradando os HPAs. Foram testados diferentes tempos e temperaturas durante a saponificação. Para isso, em soluções contendo 10 ng/mL de cada hidrocarboneto, foram adicionados 5 mL de solução de hidróxido de sódio (KOH) 2M em etanol, passando por 10 min de ultrassom, e deixadas em banho-maria nas condições:

- a) 2 horas a 40°C (STUMPE-VĪKSNA *et al.*, 2008);
- b) 2 horas a 70°C (BOGDANOVIĆ *et al.*, 2019), com modificações);
- c) 30 minutos a 60°C (DUEDAHL-OLESEN; WHITE; BINDERUP, 2006);
- d) 22 horas (*overnight*) a frio/temperatura ambiente (SALDANHA *et al.*, 2006).

As etapas de extração com n-hexano e limpeza usando SPE-sílica foram executadas conforme procedimento descrito no item Material e Métodos. As recuperações médias dos quatro HPAs foram: a) 96%, b) 40%, c) 58% e d) 83%. Embora o último dado de recuperação tenha sido considerado satisfatório, a formação de emulsão em grande quantidade prejudicou a extração, aumentando o tempo de análise. Como os resultados foram bem diversificados, optou-se por realizar o planejamento experimental para esta etapa analítica.

A extração líquido-líquido (ELL) com ciclohexano foi testada por ser utilizada na maioria das referências consultadas, e apresentou recuperação média de 70%. No entanto, formou muita emulsão, o que impossibilitou o uso na rotina. Optou-se pela ELL com n-hexano.

Foi avaliada a necessidade de lavagem da fase orgânica (n-hexano) da ELL. Foram testados: a) a ausência de lavagem, b) a lavagem com 30 mL de água deionizada, e c) a lavagem com sequência de solventes: 30 mL de metanol (MeOH):H₂O (4:1, v/v), 30 mL de MeOH:H₂O (1:1, v/v) e 30 mL de água deionizada. Verificou-se que os melhores resultados (recuperação) foram obtidos com a sequência usando metanol e água, segundo sugerido por Wretling *et al.* (2010).

Na etapa de purificação, usando como proposta a metodologia empregada por Bogdanović *et al.* (2019), verificou-se o volume adequado de acetonitrila (MeCN) para

lavagem e eluição dos componentes do cartucho de extração em fase sólida (SPE) de sílica. Foi avaliada uma amostra contaminada com os quatro HPAs, e o volume de MeCN testado foi de 9 mL, separado em três frações de 3 mL (3, 6 e 9 mL). O volume de 3 mL já foi adequado para limpeza e eluição, com recuperações superiores a 90%, sendo este volume mantido na metodologia.

Analizou-se a eficiência do SPE de sílica conforme metodologia descrita no item Material e Métodos, utilizando uma solução em acetonitrila contendo 10 ng/mL de cada hidrocarboneto (BaA, Chr, BbF e BaP). O extrato foi recolhido, levado à secagem e ressuspenso. Os valores de recuperação encontrados foram superiores a 90%, indicando a eficiência do cartucho.

Também, na etapa de purificação, além da metodologia descrita no item Material e Métodos, que utiliza SPE de sílica, foi avaliada a metodologia utilizada por Silva, Sampaio e Torres (2017), que emprega SPE de C18 (6 mL/500 mg). Neste método, utilizou-se 5 mL do extrato da amostra em n-hexano (após saponificação), no qual foi feita a ELL por duas vezes com 5 mL N-N-dimetilformamida (DMF):água (9:1, v/v), e o extrato foi diluído com água para proporção de 1:2 (v/v) de DMF:água. O pré-condicionamento do SPE de C18 foi realizado com 5 mL de metanol, 5 mL de DMF:água (1:2, v/v), e em seguida, o extrato foi adicionado ao cartucho, posteriormente lavado com 10 mL de DMF:água (1:2, v/v) e 10 mL de água. Secou-se bem o cartucho em centrífuga, e a eluição dos HPAs foi feita com 10 mL de n-hexano. O extrato foi seco, ressuspenso em 1 mL MeCN, filtrado em membrana de PTFE e acondicionado em vial para análise cromatográfica. O cromatograma do método que utilizou SPE-C18 exibiu menos interferentes, mas a recuperação média obtida foi de 70%, inferior ao resultado obtido com cartucho de sílica. Logo, optou-se pelo uso do SPE-sílica.

Foi testada a temperatura adequada para secagem do eluente (acetonitrila) em concentrador, utilizando 30°C, 40°C e 45°C, sendo que as melhores recuperações foram obtidas a 30°C. Assim, essa menor temperatura foi adotada no método.

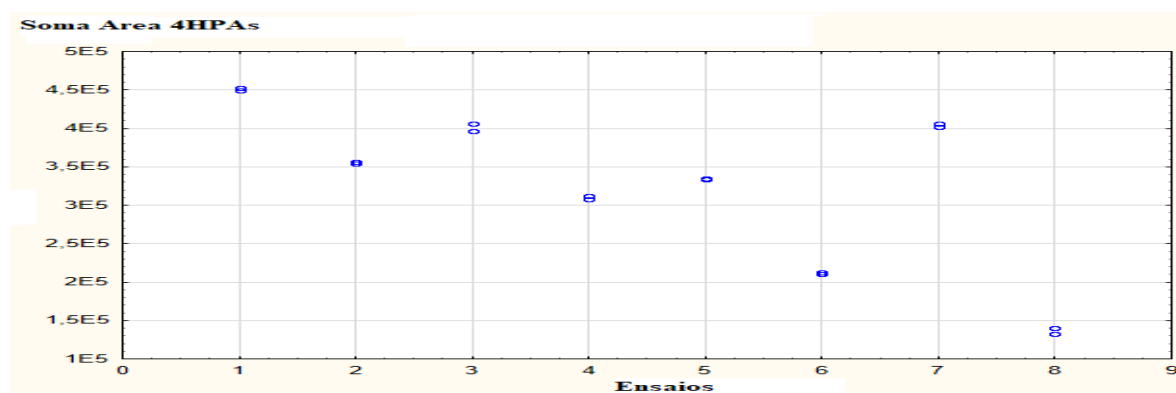
APÊNDICE D - Planejamento experimental da etapa de saponificação em salame: Resultados complementares

Tabela 1 – Planejamento fatorial no estudo de saponificação para extração de HPAs em salame

Ensaio	F1 Solvente de dissolução do KOH	F2 Concentração de KOH	F3 Volume de KOH	F4 (F1 x F2) Tempo banho-maria	F5 (F1 x F3) Temperatura banho-maria	Soma das áreas
1.1	-1 (EtOH)	-1 (2 M)	-1 (5 mL)	+1 (3 h)	+1 (70°C)	449370
1.2	-1 (EtOH)	-1 (2 M)	-1 (5 mL)	+1 (3 h)	+1 (70°C)	452174
2.1	+1 (MeOH)	-1 (2 M)	-1 (5 mL)	-1 (1 h)	-1 (40°C)	353702
2.2	+1 (MeOH)	-1 (2 M)	-1 (5 mL)	-1 (1 h)	-1 (40°C)	355810
3.1	-1 (EtOH)	+1 (4 M)	-1 (5 mL)	-1 (1 h)	+1 (70°C)	395884
3.2	-1 (EtOH)	+1 (4 M)	-1 (5 mL)	-1 (1 h)	+1 (70°C)	406511
4.1	+1 (MeOH)	+1 (4 M)	-1 (5 mL)	+1 (3 h)	-1 (40°C)	307693
4.2	+1 (MeOH)	+1 (4 M)	-1 (5 mL)	+1 (3 h)	-1 (40°C)	311483
5.1	-1 (EtOH)	-1 (2 M)	+1 (10 mL)	+1 (3 h)	-1 (40°C)	333606
5.2	-1 (EtOH)	-1 (2 M)	+1 (10 mL)	+1 (3 h)	-1 (40°C)	334875
6.1	+1 (MeOH)	-1 (2 M)	+1 (10 mL)	-1 (1 h)	+1 (70°C)	212965
6.2	+1 (MeOH)	-1 (2 M)	+1 (10 mL)	-1 (1 h)	+1 (70°C)	210113
7.1	-1 (EtOH)	+1 (4 M)	+1 (10 mL)	-1 (1 h)	-1 (40°C)	401462
7.2	-1 (EtOH)	+1 (4 M)	+1 (10 mL)	-1 (1 h)	-1 (40°C)	405603
8.1	+1 (MeOH)	+1 (4 M)	+1 (10 mL)	+1 (3 h)	+1 (70°C)	140438
8.2	+1 (MeOH)	+1 (4 M)	+1 (10 mL)	+1 (3 h)	+1 (70°C)	132482

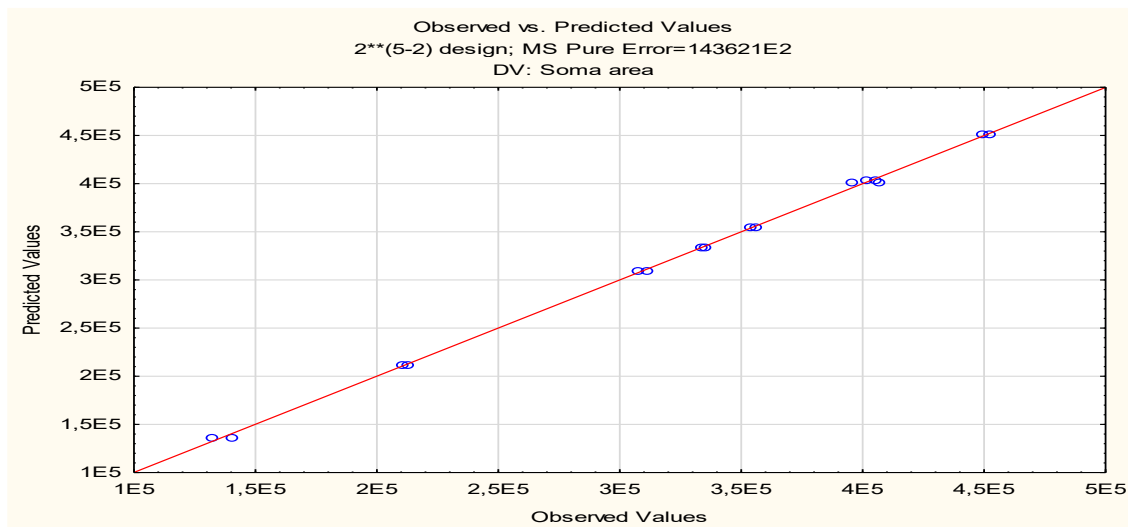
Abreviaturas: EtOH: etanol; KOH: hidróxido de potássio; MeOH: metanol

Figura 2 - Gráfico de dispersão das somas de áreas obtidos durante o planejamento experimental



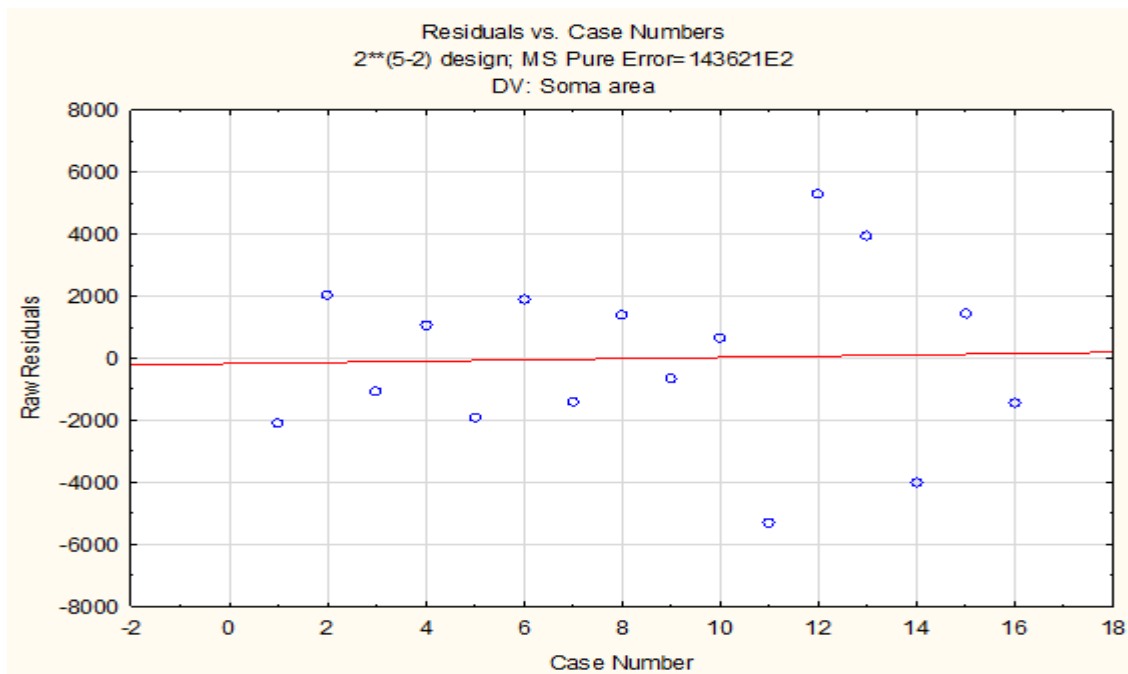
Fonte: Próprio autor (2019)

Figura 3 - Valores previstos e observados obtidos a partir do planejamento experimental fatorial fracionado



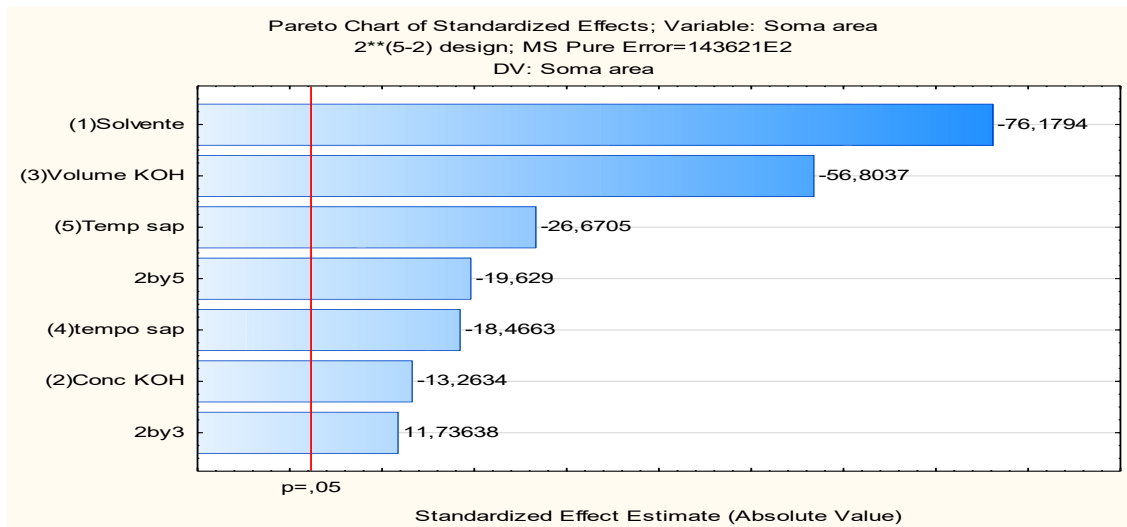
Fonte: Próprio autor (2019)

Figura 4 – Gráfico de resíduos para o planejamento experimental fatorial fracionado



Fonte: Próprio autor (2019)

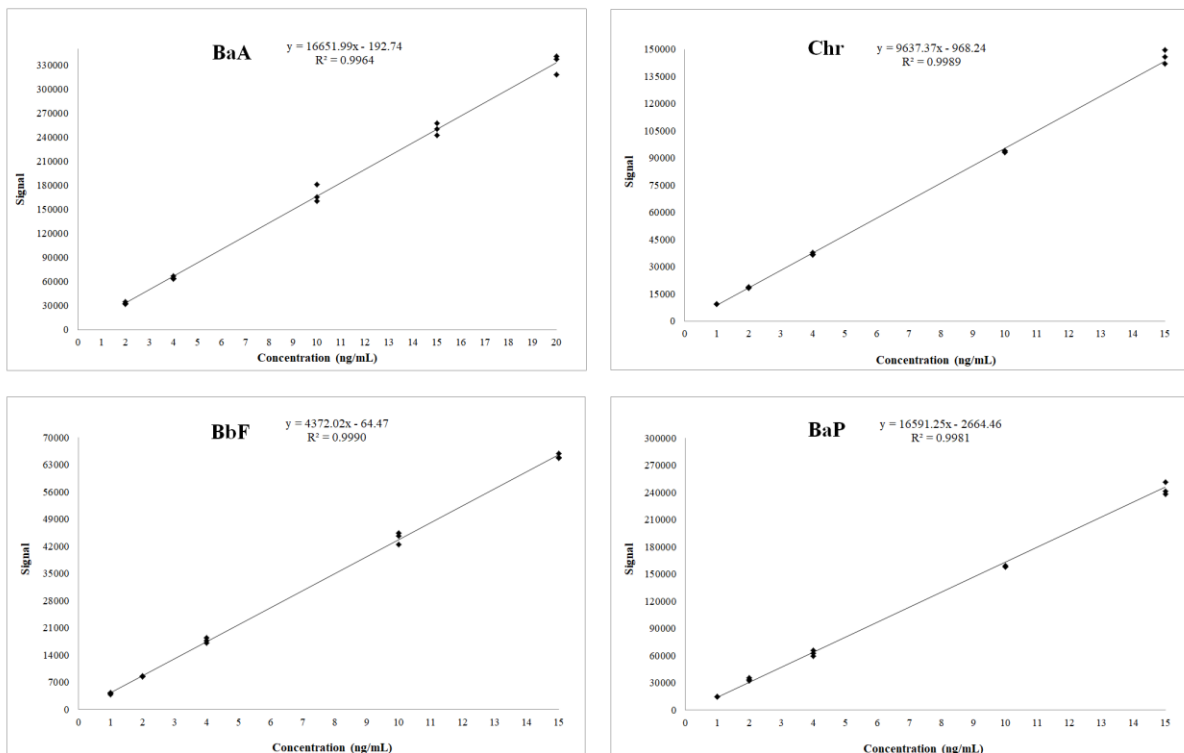
Figura 5 – Diagrama de Pareto com os efeitos principais obtidos pelo planejamento fatorial fracionado



Fonte: Próprio autor (2019)

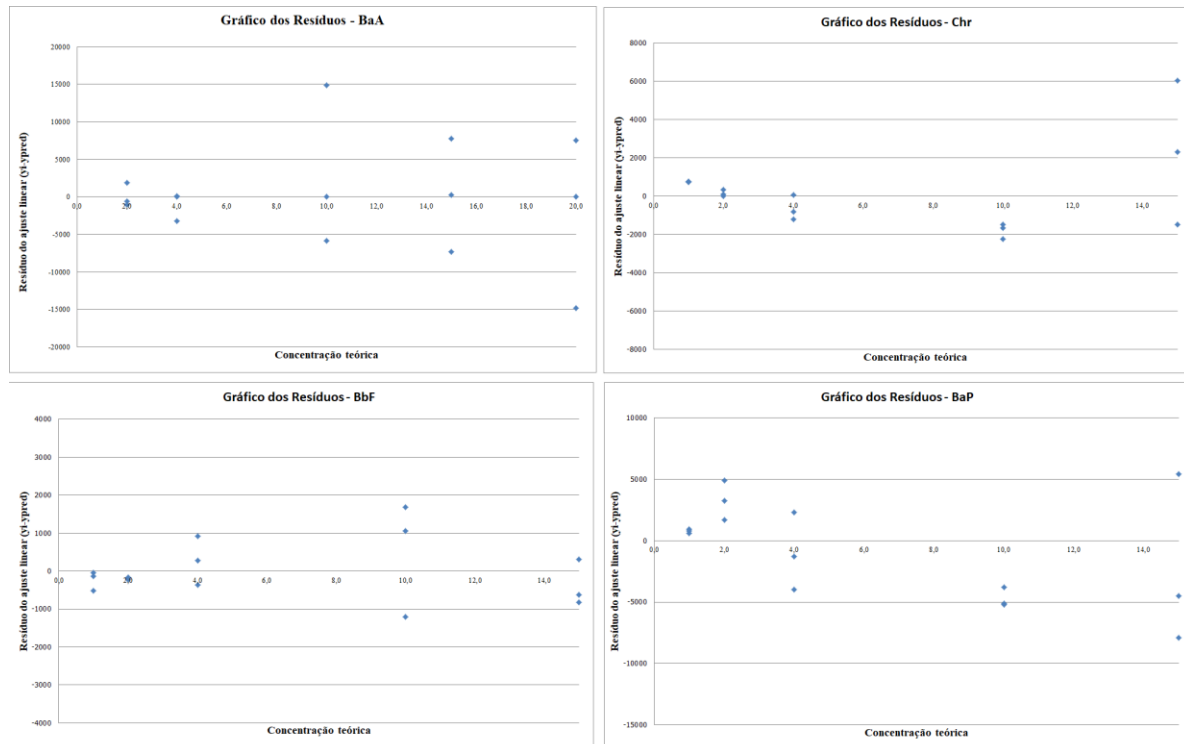
APÊNDICE E - Validação para análise de quatro HPAs em salame: Resultados complementares

Figura 6 - Linearidade - Curvas de calibração para a determinação de HPAs: benzo[a]antraceno (BaA), criseno (Chr), benzo[b]fluoranteno (BbF) e benzo(a)pireno (BaP). Usando padrões preparados em acetonitrila, resposta em área, concentração em ng/mL



Fonte: Próprio autor (2019)

Figura 7 - Gráfico de resíduos das curvas de calibração para a determinação dos HPAs: benzo[a]antraceno (BaA), criseno (Chr), benzo[b]fluoranteno (BbF) e benzo(a)pireno (BaP). Usando padrões preparados em acetonitrila, concentração em ng/mL



Fonte: Próprio autor (2019)

APÊNDICE F - Validação para análise de nove HPAs em carnes: Resultados complementares

Tabela 2 – Resultados do estudo de recuperação do método para a determinação dos nove HPAs

	HPAs	Nível de fortificação (ng/g)			
		1,0	5,0	7,5	10,0
Recuperação (%)	Pyr	113,83	90,11	-	99,96
	BaA	116,61	85,70	80,25	-
	Chr	103,52	88,15	80,65	-
	BbF	79,19	76,71	97,90	-
	BkF	96,19	94,84	-	100,80
	BaP	97,32	90,30	83,68	-
	DahA+BghiP+IcdP	102,38	90,11	-	100,54
Precisão CV (%)	Pyr	8,72	12,76	-	3,32
	BaA	0,78	0,68	0,42	-
	Chr	5,40	1,42	4,28	-
	BbF	0,47	3,06	4,52	-
	BkF	10,43	13,96	-	2,66
	BaP	1,89	0,23	3,28	-
	DahA+BghiP+IcdP	10,42	10,13	-	10,23

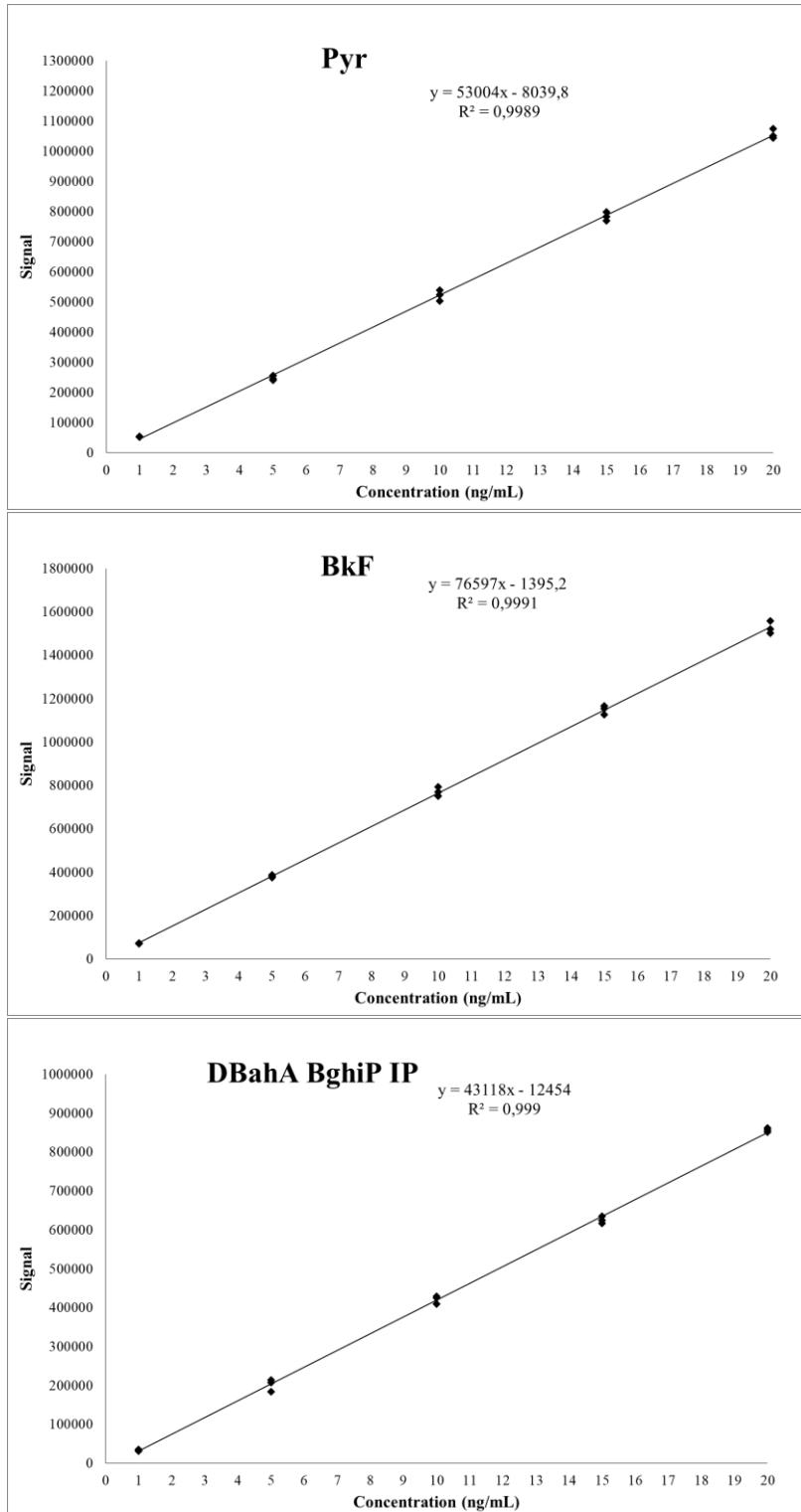
Valores expressos como média de três replicatas; Abreviaturas: BaA: benzo[a]antraceno, BbF: benzo[b]fluoranteno, BkF: benzo[k]fluoranteno, BaP: benzo[a]pireno, BghiP: benzo[g,h,i]perileno, Chr: criseno, CV: coeficiente de variação, DahA: dibenzo[a,h]antraceno, IcdP: indeno[1,2,3-c,d]pireno, Pyr: pireno, HPAs: hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

Tabela 3 – Parâmetros de recuperação (%) e precisão (%) dos nove HPAs em diferentes produtos cárneos avaliados

	Linguiça		Presunto		Salsicha		Bacon		Copa		Salame		Hamburguer		Mortadela		Peito de aves	
	Rec (%)	CV (%)	Rec (%)	CV (%)	Rec (%)	CV (%)	Rec (%)	CV (%)	Rec (%)	CV (%)	Rec (%)	CV (%)	Rec (%)	CV (%)	Rec (%)	CV (%)	Rec (%)	CV (%)
Pyr	85,88	12,49	94,43	10,54	101,67	12,57	105,02	18,31	108,42	7,07	90,11	12,76	94,64	6,74	91,82	3,76	92,96	4,59
BaA	89,63	9,85	103,86	2,00	103,78	17,11	97,12	12,57	108,41	8,08	85,70	0,68	86,7	7,85	79,25	0,65	88,33	2,17
Chr	88,24	10,18	107,89	1,09	104,80	17,23	92,24	12,89	103,54	7,33	88,15	1,42	85,08	5,25	85,31	2,55	95,42	1,99
BbF	80,97	12,70	104,41	8,37	101,03	16,92	96,58	14,19	107,25	8,55	76,71	3,06	92,46	4,97	84,58	5,06	85,91	5,23
BkF	80,33	12,59	102,32	10,59	99,61	17,36	95,54	14,32	106,50	8,37	94,84	13,96	93,96	7,64	95,77	7,01	98,76	6,54
BaP	89,43	12,45	86,91	0,29	116,82	15,71	96,10	14,53	111,54	9,71	90,30	0,23	89,57	6,57	85,97	2,00	82,46	0,88
DahA+																		
BghiP+	85,86	11,80	90,31	1,63	95,95	15,94	95,66	18,76	109,77	6,64	90,11	15,02	97,54	8,54	92,39	4,55	96,43	5,87
IP																		

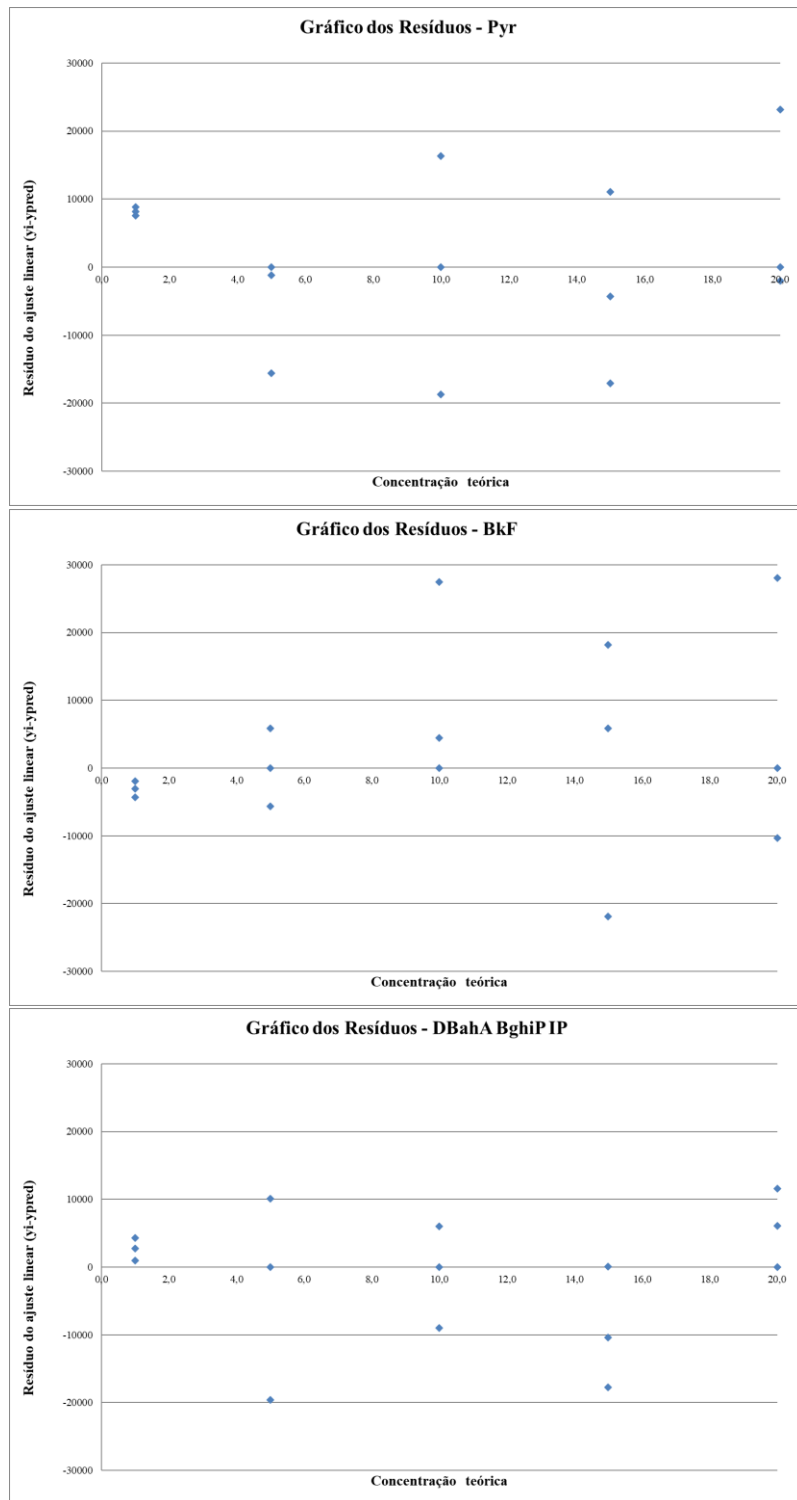
Valores expressos como média de três replicatas; Nível de fortificação: 5,0 ng/g; Abreviaturas: BaA: benzo[a]antraceno, BbF: benzo[b]fluoranteno, BkF: benzo[k]fluoranteno, BaP: benzo[a]pireno, BghiP: benzo[g,h,i]perileno, Chr: criseno, CV: coeficiente de variação, DahA: dibenzo[a,h]antraceno, IcdP: indeno[1,2,3-c,d]pireno, Pyr: pireno, HPAs: hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, Rec: recuperação

Figura 8 - Linearidade - Curvas de calibração para a determinação de HPAs: pireno (Pyr), benzo[k]fluoranteno (BkF), e dibenzo[a,h]antraceno (DahA) + benzo[g,h,i]perileno (BghiP) + indeno[1,2,3-c,d]pireno (IcdP). Usando padrões preparados em acetonitrila, resposta em área, concentração em ng/mL



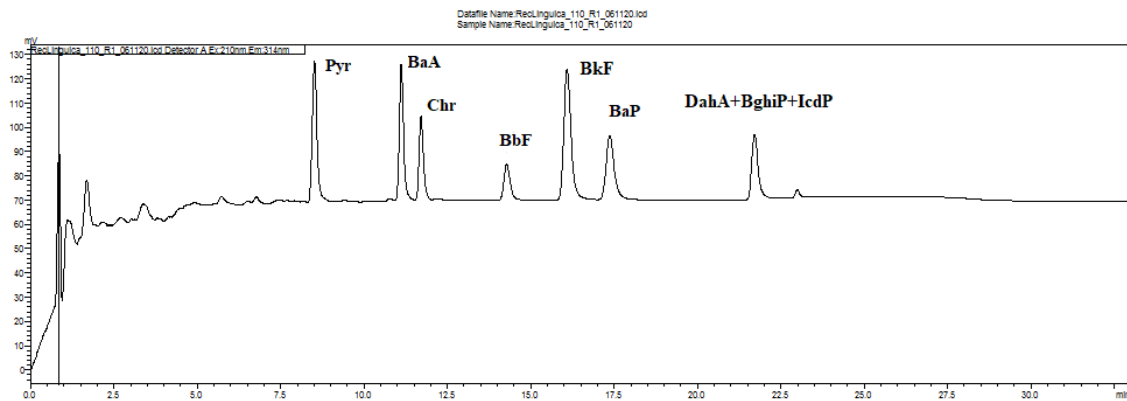
Fonte: Próprio autor (2021)

Figura 9 - Gráfico de resíduos das curvas de caliBahAbração para a determinação dos HPAs: pireno (Pyr), benzo[k]fluoranteno (BkF), e dibenzo[a,h]antraceno (DahA) + benzo[g,h,i]perileno (BghiP) + indeno[1,2,3-c,d]pireno (IcdP). Usando padrões preparados em acetonitrila, concentração em ng/mL



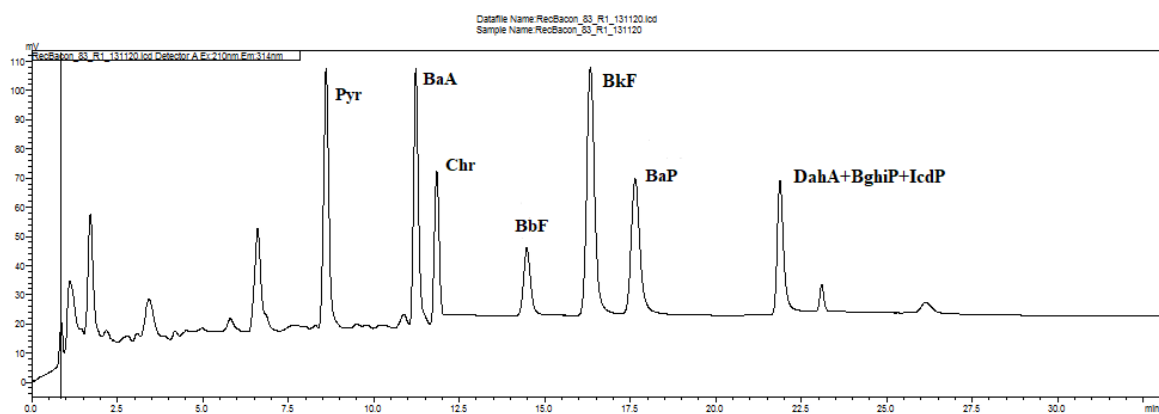
Fonte: Próprio autor (2021)

Figura 10 - Cromatograma obtido pela análise de HPAs em UPLC para a amostra de linguiça fortificada; BaA: benzo[a]antraceno, BbF: benzo[b]fluoranteno, BkF: benzo[k]fluoranteno, BaP: benzo[a]pireno, BghiP: benzo[g,h,i]perileno, Chr: criseno, DahA: dibenzo[a,h]antraceno, IcdP: indeno[1,2,3-c,d]pireno, Pyr: pireno



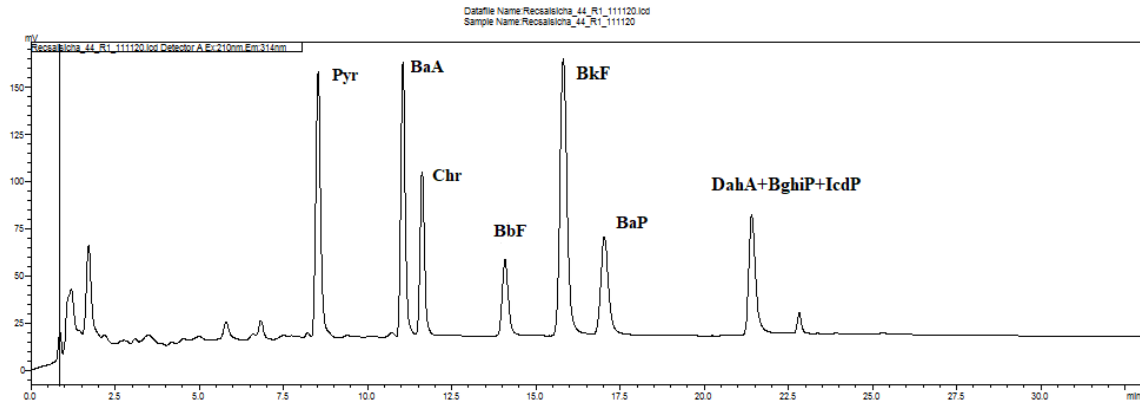
Fonte: Próprio autor (2021)

Figura 11 - Cromatograma obtido pela análise em UPLC para a amostra de bacon fortificada; BaA: benzo[a]antraceno, BbF: benzo[b]fluoranteno, BkF: benzo[k]fluoranteno, BaP: benzo[a]pireno, BghiP: benzo[g,h,i]perileno, Chr: criseno, DahA: dibenzo[a,h]antraceno, IcdP: indeno[1,2,3-c,d]pireno, Pyr: pireno



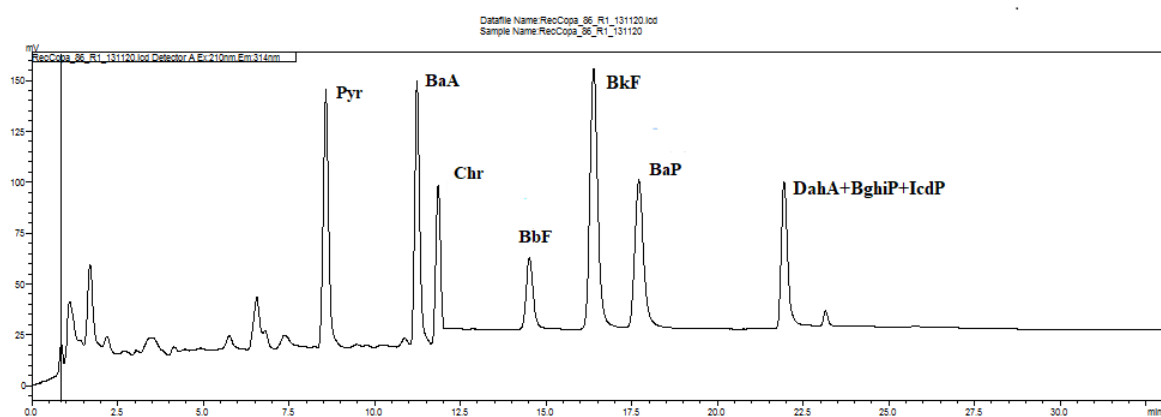
Fonte: Próprio autor (2021)

Figura 12 - Cromatograma obtido pela análise em UPLC para a amostra de salsicha fortificada; BaA: benzo[a]antraceno, BbF: benzo[b]fluoranteno, BkF: benzo[k]fluoranteno, BaP: benzo[a]pireno, BghiP: benzo[g,h,i]perileno, Chr: criseno, DahA: dibenzo[a,h]antraceno, IcdP: indeno[1,2,3-c,d]pireno, Pyr: pireno



Fonte: Próprio autor (2021)

Figura 13 - Cromatograma obtido pela análise em UPLC de para a amostra de copa fortificada; BaA: benzo[a]antraceno, BbF: benzo[b]fluoranteno, BkF: benzo[k]fluoranteno, BaP: benzo[a]pireno, BghiP: benzo[g,h,i]perileno, Chr: criseno, DahA: dibenzo[a,h]antraceno, IcdP: indeno[1,2,3-c,d]pireno, Pyr: pireno



Fonte: Próprio autor (2021)

APÊNDICE G - Produtos defumados comerciais – Resultados das análises de HPAs

Tabela 4 – Teores de HPAs ($\mu\text{g}/\text{kg}$) para amostras de linguiças

Amostras	Pyr	BaA	Chr	BbF	BkF	BaP	DahA +BghiP +IcdP	PAH4	PAH8	PAH9
1	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
2	3,97	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	3,97
3	28,04	6,65	13,78	0,94	<LQ	1,16	<LQ	22,54	22,54	50,58
4	1,89	1,00	2,06	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	3,06	3,06	4,96
5	2,51	<LQ	0,66	3,93	<LQ	<LQ	<LQ	4,59	4,59	7,09
6	3,40	<LQ	1,93	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,93	1,93	5,33
7	6,72	<LQ	4,98	2,68	1,40	2,44	2,32	10,10	13,82	20,53
8	1,37	3,21	0,79	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	4,00	4,00	5,37
9	<LQ	1,23	1,86	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	3,09	3,09	3,09
10	23,86	7,86	7,11	<LQ	<LQ	<LQ	2,63	14,97	17,59	41,45
11	55,05	5,73	14,94	1,77	<LQ	1,65	<LQ	24,09	24,09	79,14
12	76,06	10,55	16,00	2,57	1,28	1,78	<LQ	30,90	32,18	108,24
13	76,76	6,82	14,18	2,32	1,25	1,68	<LQ	25,00	26,26	103,01
14	9,50	11,77	31,66	3,25	1,63	2,31	<LQ	48,98	50,61	60,11
15	1,19	<LQ	2,90	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	2,90	2,90	4,08
16	1,06	<LQ	1,72	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,72	1,72	2,78
17	3,70	<LQ	2,53	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	2,53	2,53	6,23
18	1,29	<LQ	1,20	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,20	1,20	2,48
19	1,23	<LQ	1,09	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,09	1,09	2,32
20	1,51	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,51
21	14,39	6,01	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	6,01	6,01	20,40
22	3,56	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	2,60	<LQ	2,60	6,15
23	4,42	<LQ	0,70	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,70	0,70	5,12
24	11,47	1,84	0,72	<LQ	<LQ	<LQ	1,68	2,56	4,24	15,71
25	2,75	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,08	<LQ	1,08	3,83
26	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
27	1,53	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,53
28	1,24	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,78	0,78	2,02
29	6,36	3,64	1,31	<LQ	<LQ	<LQ	1,38	4,95	6,33	12,69
30	2,34	1,04	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,04	1,04	3,38
31	4,20	2,76	1,34	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	4,10	4,10	8,30
32	4,16	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,61	<LQ	1,61	5,77
33	7,10	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	2,41	<LQ	2,41	9,52
34	1,01	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,01
35	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
36	1,48	<LQ	4,05	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	4,05	4,05	5,52

continua

Tabela 4 – Teores de HPAs ($\mu\text{g}/\text{kg}$) para amostras de linguças*continuação*

Amostras	Pyr	BaA	Chr	BbF	BkF	BaP	DahA +BghiP +IcdP	PAH4	PAH8	PAH9
37	<LQ	<LQ	0,57	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,57	0,57	0,57
38	<LQ	<LQ	1,98	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,98	1,98	1,98
39	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
40	<LQ	<LQ	0,64	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,64	0,64	0,64
41	1,12	1,46	2,91	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	4,37	4,37	5,49
42	<LQ	6,65	19,32	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	25,97	25,97	25,97
43	17,67	1,11	0,54	<LQ	<LQ	<LQ	1,48	1,65	3,13	20,79
44	52,61	1,33	2,83	<LQ	<LQ	<LQ	1,12	4,16	5,28	57,89
45	5,46	<LQ	0,75	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,75	0,75	6,21
46	1,04	<LQ	0,59	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,59	0,59	1,62
47	1,36	<LQ	1,50	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,50	1,50	2,86
48	1,43	6,28	18,59	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	24,87	24,87	26,30
49	<LQ	1,38	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,38	1,38	1,38
50	6,82	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	6,82
51	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,47	<LQ	1,47	1,47
52	1,44	<LQ	0,84	<LQ	<LQ	<LQ	1,55	0,84	2,39	3,83
53	2,11	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,57	<LQ	1,57	3,68
54	3,70	<LQ	0,80	<LQ	<LQ	<LQ	1,46	0,80	2,26	5,96
55	1,87	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,02	<LQ	1,02	2,89
Mínimo	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Máximo	76,76	11,77	31,66	3,93	1,63	2,44	2,63	48,98	50,61	108,24
Média	8,39	1,61	3,28	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	5,40	5,96	14,36
Mediana	1,89	<LQ	0,78	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,38	1,98	5,12

Valores expressos como média de duas replicatas; Amostras em negrito: fora da faixa permitida pela legislação; Abreviações: <LQ: abaixo do limite de quantificação, Pyr: pireno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BaA: benzo[a]antraceno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), Chr: criseno (LQ: 0,50 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BbF: benzo[b]fluoranteno (LQ: 0,50 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BkF: benzo[k]fluoranteno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BaP: benzo[a]pireno (LQ: 0,50 $\mu\text{g}/\text{kg}$), DahA - dibenzo[a,h]antraceno, BghiP: benzo[g,h,i]perileno, IcdP: indeno[1,2,3-c,d]pireno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), HPAs: hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

Tabela 5 - Teores de HPAs ($\mu\text{g}/\text{kg}$) para amostras de salame

Amostras	Pyr	BaA	Chr	BbF	BkF	BaP	DahA + BghiP +IcdP	PAH4	PAH8	PAH9
1	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
2	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
3	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
4	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
5	<LQ	1,07	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,07	1,07	1,07
6	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
7	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
8	<LQ	17,42	9,54	<LQ	<LQ	2,12	<LQ	29,07	29,07	29,07
9	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
10	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
11	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
12	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
13	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
14	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
15	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
16	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
17	2,75	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	2,75
18	2,17	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	2,17
19	5,06	1,94	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,94	1,94	7,00
20	5,00	2,77	13,37	1,59	<LQ	0,78	<LQ	18,51	18,51	23,51
21	5,28	<LQ	1,87	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,87	1,87	7,15
22	1,94	1,02	0,93	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,95	1,95	3,89
23	5,43	<LQ	1,78	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,78	1,78	7,21
24	3,57	<LQ	3,28	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	3,28	3,28	6,85
25	4,65	<LQ	1,65	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,65	1,65	6,30
26	18,45	2,86	9,40	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	12,26	12,26	30,71
27	1,15	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,15
28	1,24	<LQ	4,61	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	4,61	4,61	5,85
29	1,16	<LQ	0,52	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,52	0,52	1,68
30	1,12	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,12
Mínimo	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Máximo	18,45	17,42	13,37	1,59	<LQ	2,12	<LQ	29,07	29,07	30,71
Média	1,97	<LQ	1,57	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	2,62	2,62	4,58
Mediana	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,09

Valores expressos como média de duas replicatas; Amostras em negrito: fora da faixa permitida pela legislação; Abreviações: <LQ: abaixo do limite de quantificação, Pyr: pireno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BaA: benzo[a]antraceno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), Chr: criseno (LQ: 0,50 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BbF: benzo[b]fluoranteno (LQ: 0,50 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BkF: benzo[k]fluoranteno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BaP: benzo[a]pireno (LQ: 0,50 $\mu\text{g}/\text{kg}$), DahA - dibenzo[a,h]antraceno, BghiP: benzo[g,h,i]perileno, IcdP: indeno[1,2,3-c,d]pireno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), HPAs: hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

Tabela 6 - Teores de HPAs ($\mu\text{g}/\text{kg}$) para amostras de bacon defumados

Amostras	Pyr	BaA	Chr	BbF	BkF	BaP	DahA +			
							BghiP +IcdP	PAH4	PAH8	PAH9
1	6,30	2,65	5,10	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	7,75	7,75	14,05
2	37,89	3,24	8,34	0,87	<LQ	0,89	<LQ	13,35	13,35	51,24
3	19,56	3,59	8,58	0,56	<LQ	0,64	<LQ	13,38	13,38	32,95
4	27,04	2,59	5,81	0,69	<LQ	0,66	<LQ	9,76	9,76	36,80
5	22,79	1,36	5,29	0,60	<LQ	0,63	<LQ	7,88	7,88	30,67
6	8,54	1,32	2,97	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	4,30	4,30	12,84
7	1,20	<LQ	0,66	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,66	0,66	1,86
8	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
9	4,35	<LQ	1,05	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,05	1,05	5,39
10	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
11	1,23	<LQ	0,75	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,75	0,75	1,98
12	2,79	<LQ	2,77	0,83	<LQ	0,78	<LQ	4,38	4,38	7,17
13	4,32	<LQ	0,51	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,51	0,51	4,83
14	1,84	<LQ	0,79	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,79	0,79	2,63
15	4,97	1,44	1,85	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	3,29	3,29	8,26
16	4,40	1,72	2,71	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	4,43	4,43	8,83
17	2,27	<LQ	0,71	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,71	0,71	2,97
18	2,50	<LQ	1,98	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,98	1,98	4,48
19	11,46	1,48	3,22	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	4,70	4,70	16,16
20	9,89	1,51	1,52	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	3,03	3,03	12,92
21	<LQ	3,32	0,56	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	3,88	3,88	3,88
22	3,43	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	3,43
23	5,38	<LQ	1,55	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,55	1,55	6,93
Mínimo	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Máximo	37,89	3,59	8,58	0,87	<LQ	0,89	<LQ	13,38	13,38	51,24
Média	7,92	1,05	2,47	0,16	<LQ	0,16	<LQ	3,83	3,83	11,75
Mediana	4,35	<LQ	1,55	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	3,03	3,03	6,93

Valores expressos como média de duas replicatas; Amostras em negrito: fora da faixa permitida pela legislação; Abreviações: <LQ: abaixo do limite de quantificação, Pyr: pireno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BaA: benzo[a]antraceno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), Chr: criseno (LQ: 0,50 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BbF: benzo[b]fluoranteno (LQ: 0,50 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BkF: benzo[k]fluoranteno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BaP: benzo[a]pireno (LQ: 0,50 $\mu\text{g}/\text{kg}$), DahA - dibenzo[a,h]antraceno, BghiP: benzo[g,h,i]perileno, IcdP: indeno[1,2,3-c,d]pireno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), HPAs: hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

Tabela 7 - Teores de HPAs ($\mu\text{g}/\text{kg}$) para amostras de salsicha

Amostras	Pyr	BaA	Chr	BbF	BkF	BaP	DahA + BghiP +IcdP	PAH4	PAH8	PAH9
1	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
2	1,19	<LQ	1,38	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,38	1,38	2,57
3	3,06	<LQ	1,37	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,37	1,37	4,43
4	<LQ	<LQ	0,70	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,70	0,70	0,70
5	1,33	<LQ	1,66	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,66	1,66	3,00
6	1,38	<LQ	2,27	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	2,27	2,27	3,65
7	1,51	<LQ	1,21	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,21	1,21	2,72
8	1,67	<LQ	2,83	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	2,83	2,83	4,50
9	3,62	<LQ	2,93	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	2,93	2,93	6,55
10	1,68	<LQ	0,81	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,81	0,81	2,49
11	3,23	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,35	<LQ	1,35	4,58
12	3,20	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,38	<LQ	1,38	4,59
13	24,73	<LQ	0,58	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,58	0,58	25,32
14	1,80	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	2,17	<LQ	2,17	3,97
15	2,51	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,23	<LQ	1,23	3,75
16	2,14	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	2,14
17	2,82	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	2,82
18	2,73	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,77	<LQ	1,77	4,51
Mínimo	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Máximo	24,73	<LQ	2,93	<LQ	<LQ	<LQ	2,17	2,93	2,93	25,32
Média	3,26	<LQ	0,87	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,87	1,31	4,57
Mediana	1,97	0,00	0,64	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,64	1,36	3,70

Valores expressos como média de duas replicatas; Amostras em negrito: fora da faixa permitida pela legislação; Abreviações: <LQ: abaixo do limite de quantificação, Pyr: pireno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BaA: benzo[a]antraceno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), Chr: criseno (LQ: 0,50 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BbF: benzo[b]fluoranteno (LQ: 0,50 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BkF: benzo[k]fluoranteno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BaP: benzo[a]pireno (LQ: 0,50 $\mu\text{g}/\text{kg}$), DahA - dibenzo[a,h]antraceno, BghiP: benzo[g,h,i]perileno, IcdP: indeno[1,2,3-c,d]pireno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), HPAs: hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

Tabela 8 - Teores de HPAs ($\mu\text{g}/\text{kg}$) para amostras de presunto

Amostras	Pyr	BaA	Chr	BbF	BkF	BaP	DahA + BghiP +IcdP	PAH4	PAH8	PAH9
1	<LQ	<LQ	1,06	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,06	1,06	1,06
2	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
3	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
4	1,59	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,59
5	1,17	<LQ	0,89	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,89	0,89	2,06
6	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
7	1,15	<LQ	0,82	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,82	0,82	1,96
8	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
9	<LQ	2,58	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	2,58	2,58	2,58
10	1,02	<LQ	3,44	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	3,44	3,44	4,46
11	3,99	1,15	0,87	0,64	<LQ	0,55	<LQ	3,22	3,22	7,21
12	1,38	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,38
13	1,19	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,19
14	1,76	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,76
15	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
16	1,57	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	2,40	<LQ	2,40	3,97
Mínimo	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Máximo	3,99	2,58	3,44	0,64	0,00	0,55	2,40	3,44	3,44	7,21
Média	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,75	0,90	1,83
Mediana	1,08	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,48

Valores expressos como média de duas replicatas; Amostras em negrito: fora da faixa permitida pela legislação; Abreviações: <LQ: abaixo do limite de quantificação, Pyr: pireno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BaA: benzo[a]antraceno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), Chr: criseno (LQ: 0,50 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BbF: benzo[b]fluoranteno (LQ: 0,50 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BkF: benzo[k]fluoranteno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BaP: benzo[a]pireno (LQ: 0,50 $\mu\text{g}/\text{kg}$), DahA - dibenzo[a,h]antraceno, BghiP: benzo[g,h,i]perileno, IcdP: indeno[1,2,3-c,d]pireno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), HPAs: hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

Tabela 9 - Teores de HPAs ($\mu\text{g}/\text{kg}$) para amostras de mortadelas

Amostras	Pyr	BaA	Chr	BbF	BkF	BaP	DahA + BghiP +IcdP	PAH 4	PAH 8	PAH 9
1	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
2	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
3	1,24	<LQ	1,31	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,31	1,31	2,54
4	1,04	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,04
5	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
6	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
7	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
8	1,22	<LQ	0,80	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,80	0,80	2,02
9	<LQ	<LQ	0,63	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,63	0,63	0,63
10	2,16	<LQ	0,00	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	2,16
11	32,07	4,11	2,48	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	6,58	6,58	38,66
12	1,97	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	3,73	0,00	3,73	5,70
13	2,42	<LQ	2,60	<LQ	<LQ	<LQ	1,53	2,60	4,13	6,56
14	2,19	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	2,52	<LQ	2,52	4,71
15	2,97	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	2,97
16	3,75	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	2,98	<LQ	2,98	6,73
Mínimo	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Máximo	32,07	4,11	2,60	<LQ	<LQ	<LQ	3,73	6,58	6,58	38,66
Média	3,19	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,67	0,75	1,42	4,61
Mediana	1,23	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,32	2,09

Valores expressos como média de duas replicatas; Amostras em negrito: fora da faixa permitida pela legislação; Abreviações: <LQ: abaixo do limite de quantificação, Pyr: pireno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BaA: benzo[a]antraceno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), Chr: criseno (LQ: 0,50 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BbF: benzo[b]fluoranteno (LQ: 0,50 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BkF: benzo[k]fluoranteno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BaP: benzo[a]pireno (LQ: 0,50 $\mu\text{g}/\text{kg}$), DahA - dibenzo[a,h]antraceno, BghiP: benzo[g,h,i]perileno, IcdP: indeno[1,2,3-c,d]pireno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), HPAs: hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

Tabela 10 - Teores de HPAs ($\mu\text{g}/\text{kg}$) para amostras de peito de aves

Amostras	Pyr	BaA	Chr	BbF	BkF	BaP	DahA + BghiP +IcdP	PAH4	PAH8	PAH9
1	<LQ	3,00	1,32	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	4,32	4,32	4,32
2	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
3	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
4	0,87	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
5	1,47	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,47
6	1,44	<LQ	1,99	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,99	1,99	3,43
7	15,45	2,52	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	2,52	2,52	17,97
8	1,26	4,60	13,41	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	18,01	18,01	19,27
9	1,10	<LQ	3,67	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	3,67	3,67	4,77
10	<LQ	<LQ	3,38	1,52	<LQ	<LQ	<LQ	4,90	4,90	4,90
11	1,57	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,57
12	2,49	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	2,49
13	2,48	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,34	<LQ	1,34	3,82
14	2,33	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	2,33
15	2,34	<LQ	1,39	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,39	1,39	3,73
Mínimo	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Máximo	15,45	4,60	13,41	1,52	<LQ	<LQ	1,34	18,01	18,01	19,27
Média	2,13	<LQ	1,68	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	2,45	2,54	4,67
Mediana	1,44	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,34	3,43

Valores expressos como média de duas replicatas; Amostras em negrito: fora da faixa permitida pela legislação; Abreviações: <LQ: abaixo do limite de quantificação, Pyr: pireno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BaA: benzo[a]antraceno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), Chr: criseno (LQ: 0,50 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BbF: benzo[b]fluoranteno (LQ: 0,50 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BkF: benzo[k]fluoranteno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BaP: benzo[a]pireno (LQ: 0,50 $\mu\text{g}/\text{kg}$), DahA - dibenzo[a,h]antraceno, BghiP: benzo[g,h,i]perileno, IcdP: indeno[1,2,3-c,d]pireno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), HPAs: hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

Tabela 11 - Teores de HPAs ($\mu\text{g}/\text{kg}$) para amostras de hambúrgueres

Amostras	Pyr	BaA	Chr	BbF	BkF	BaP	DahA + BghiP +IcdP	PAH4	PAH8	PAH9
1	1,95	6,20	9,64	1,86	<LQ	<LQ	1,07	17,70	18,77	20,72
2	1,52	1,32	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,32	1,32	2,84
3	1,64	<LQ	0,57	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,57	0,57	2,21
4	1,55	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,55
5	1,38	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,38
6	2,43	<LQ	1,67	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,67	1,67	4,10
7	24,29	3,90	1,46	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	5,36	5,36	29,65
8	2,19	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,77	<LQ	1,77	3,96
9	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
10	3,68	<LQ	0,92	<LQ	<LQ	<LQ	2,36	0,92	3,28	6,97
11	10,38	1,23	0,71	1,42	<LQ	0,67	<LQ	4,02	4,02	14,40
12	2,38	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	2,63	<LQ	2,63	5,01
13	2,40	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,33	<LQ	1,33	3,72
14	2,31	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	2,31
15	1,47	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,47
Mínimo	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Máximo	24,29	6,20	9,64	1,86	<LQ	0,67	2,63	17,70	18,77	29,65
Média	3,97	<LQ	1,00	<LQ	<LQ	<LQ	0,61	2,10	2,71	6,69
Mediana	2,19	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,33	3,72

Valores expressos como média de duas replicatas; Amostras em negrito: fora da faixa permitida pela legislação; Abreviações: <LQ: abaixo do limite de quantificação, Pyr: pireno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BaA: benzo[a]antraceno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), Chr: criseno (LQ: 0,50 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BbF: benzo[b]fluoranteno (LQ: 0,50 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BkF: benzo[k]fluoranteno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BaP: benzo[a]pireno (LQ: 0,50 $\mu\text{g}/\text{kg}$), DahA - dibenzo[a,h]antraceno, BghiP: benzo[g,h,i]perileno, IcdP: indeno[1,2,3-c,d]pireno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), HPAs: hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

Tabela 12 - Teores de HPAs ($\mu\text{g}/\text{kg}$) para amostras de copa lombo

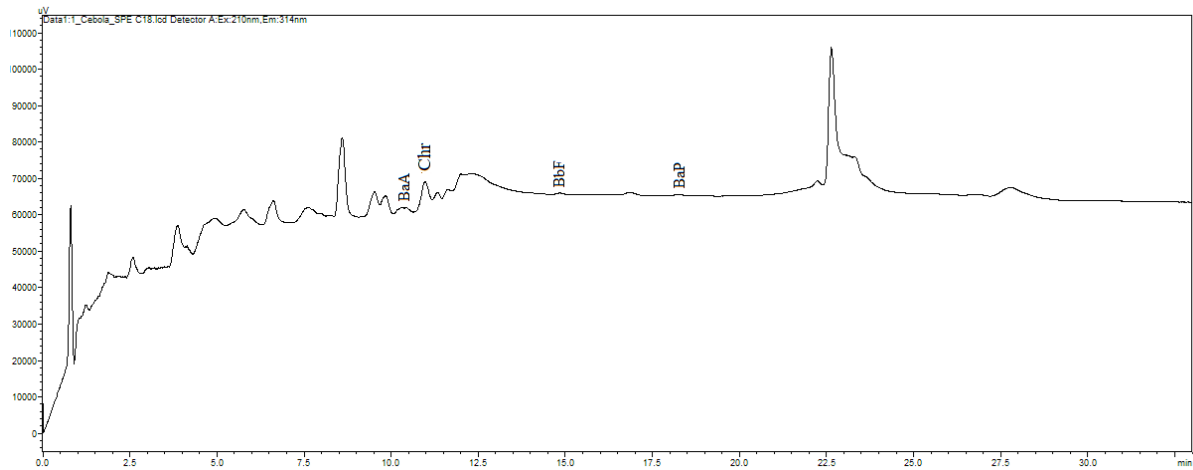
Amostras	Pyr	BaA	Chr	BbF	BkF	BaP	DahA + BghiP +IcdP	PAH4	PAH8	PAH9
1	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
2	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
3	1,04	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,04
4	22,79	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	22,79
5	1,19	<LQ	1,41	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,41	1,41	2,60
6	1,16	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,16
7	1,19	5,61	7,79	1,31	<LQ	0,97	<LQ	15,68	15,68	16,86
8	1,20	3,08	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	3,08	3,08	4,28
9	1,84	4,38	16,19	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	20,58	20,58	22,41
10	1,39	<LQ	2,86	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	2,86	2,86	4,25
Mínimo	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Máximo	22,79	5,61	16,19	1,31	<LQ	0,97	<LQ	20,58	20,58	22,79
Média	3,18	1,31	2,83	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	4,36	4,36	7,54
Mediana	1,19	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	0,70	0,70	3,42

Valores expressos como média de duas replicatas; Amostras em negrito: fora da faixa permitida pela legislação; Abreviações: <LQ: abaixo do limite de quantificação, Pyr: pireno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BaA: benzo[a]antraceno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), Chr: criseno (LQ: 0,50 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BbF: benzo[b]fluoranteno (LQ: 0,50 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BkF: benzo[k]fluoranteno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BaP: benzo[a]pireno (LQ: 0,50 $\mu\text{g}/\text{kg}$), DahA - dibenzo[a,h]antraceno, BghiP: benzo[g,h,i]perileno, IcdP: indeno[1,2,3-c,d]pireno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), HPAs: hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

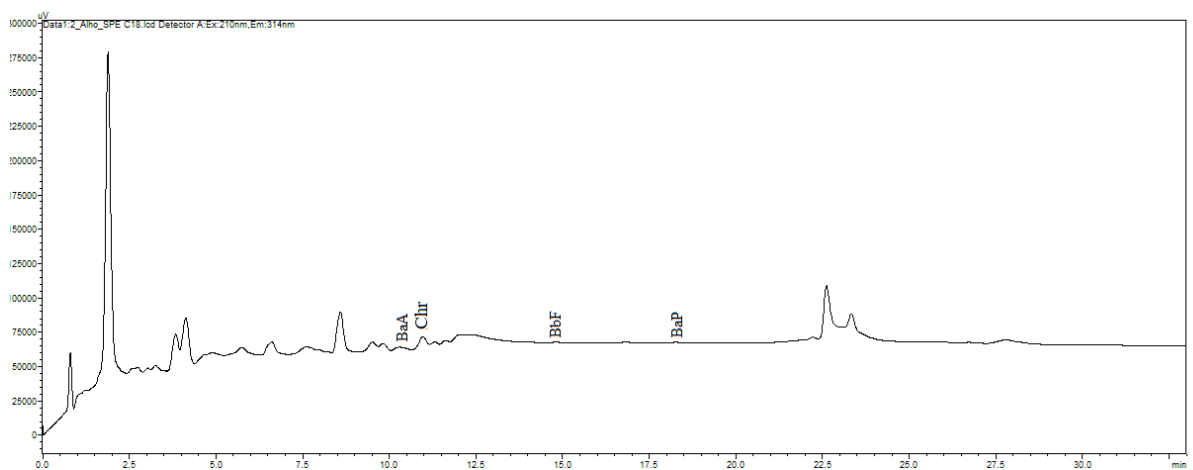
Tabela 13 - Teores de HPAs ($\mu\text{g}/\text{kg}$) para amostras de produtos defumados variados

Amostras	Pyr	BaA	Chr	BbF	BkF	BaP	DahA + BghiP +IcdP	PAH4	PAH8	PAH9
1	1,31	<LQ	1,16	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,16	1,16	2,46
2	2,03	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	2,03
3	3,90	<LQ	1,68	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,68	1,68	5,58
4	1,39	3,67	9,08	0,88	<LQ	0,81	<LQ	14,44	14,44	15,83
5	40,75	3,50	1,65	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	5,15	5,15	45,90
6	29,16	3,34	0,55	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	3,89	3,89	33,05
7	66,35	3,36	0,85	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	4,21	4,21	70,56
Mínimo	1,31	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	2,03
Máximo	66,35	3,67	9,08	0,88	<LQ	0,81	<LQ	14,44	14,44	70,56
Média	20,70	1,98	2,14	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	4,36	4,36	25,06
Mediana	3,90	3,34	1,16	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	3,89	3,89	15,83

Valores expressos como média de duas replicatas; Amostras em negrito: fora da faixa permitida pela legislação; Abreviações: <LQ: abaixo do limite de quantificação, Pyr: pireno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BaA: benzo[a]antraceno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), Chr: criseno (LQ: 0,50 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BbF: benzo[b]fluoranteno (LQ: 0,50 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BkF: benzo[k]fluoranteno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BaP: benzo[a]pireno (LQ: 0,50 $\mu\text{g}/\text{kg}$), DahA - dibenzo[a,h]antraceno, BghiP: benzo[g,h,i]perileno, IcdP: indeno[1,2,3-c,d]pireno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), HPAs: hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

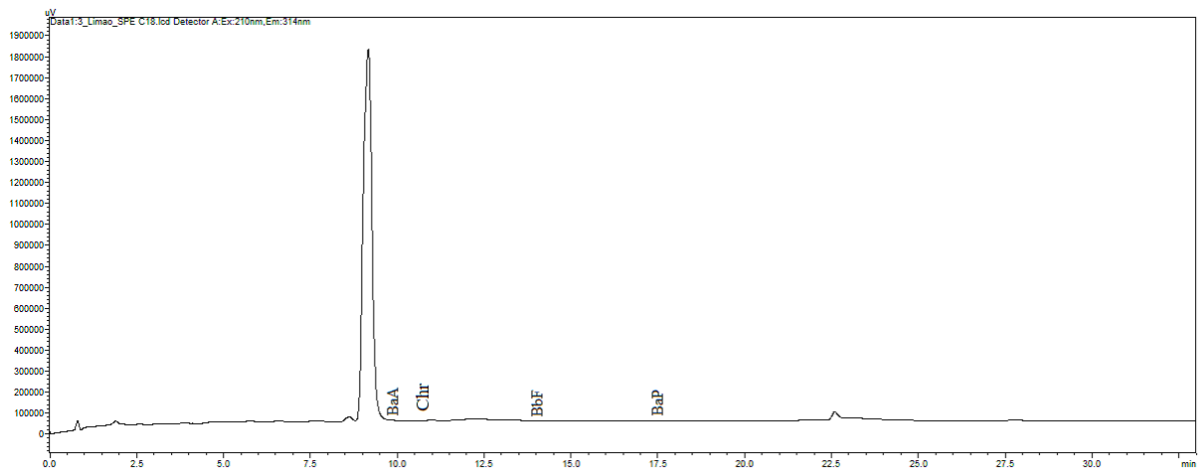
APÊNDICE H - Condimentos: Resultados para análise de HPAs**Figura 14** - Cromatograma obtido pela análise de HPAs em UPLC para a amostra de cebola em pó; BaA: benzo[a]antraceno, BbF: benzo[b]fluoranteno, BaP: benzo[a]pireno, Chr: criseno

Fonte: Próprio autor (2021)

Figura 15 - Cromatograma obtido pela análise de HPAs em UPLC de alho em pó; BaA: benzo[a]antraceno, BbF: benzo[b]fluoranteno, BaP: benzo[a]pireno, Chr: criseno

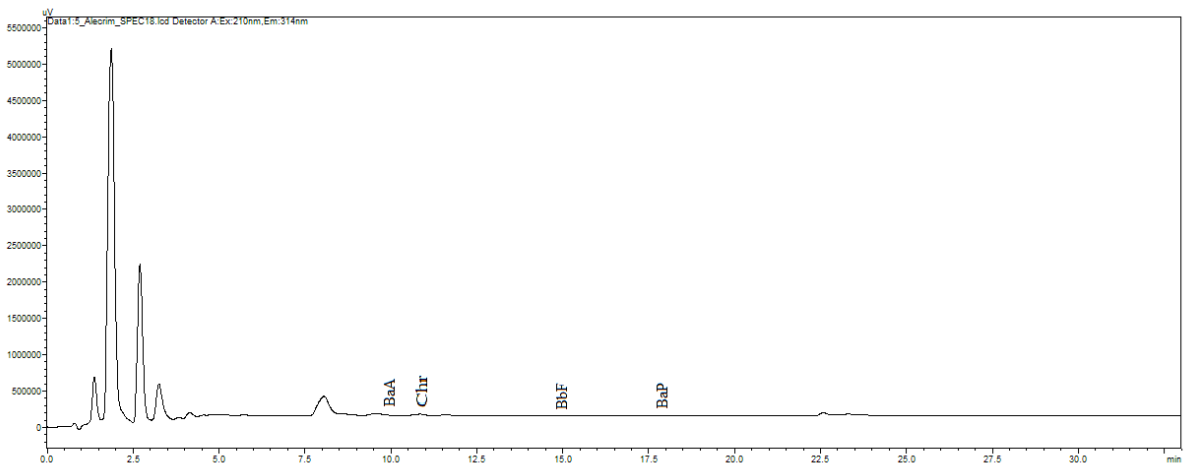
Fonte: Próprio autor (2021)

Figura 16 - Cromatograma obtido pela análise de HPAs em UPLC do limão em pó; BaA: benzo[a]antraceno, BbF: benzo[b]fluoranteno, BaP: benzo[a]pireno, Chr: criseno



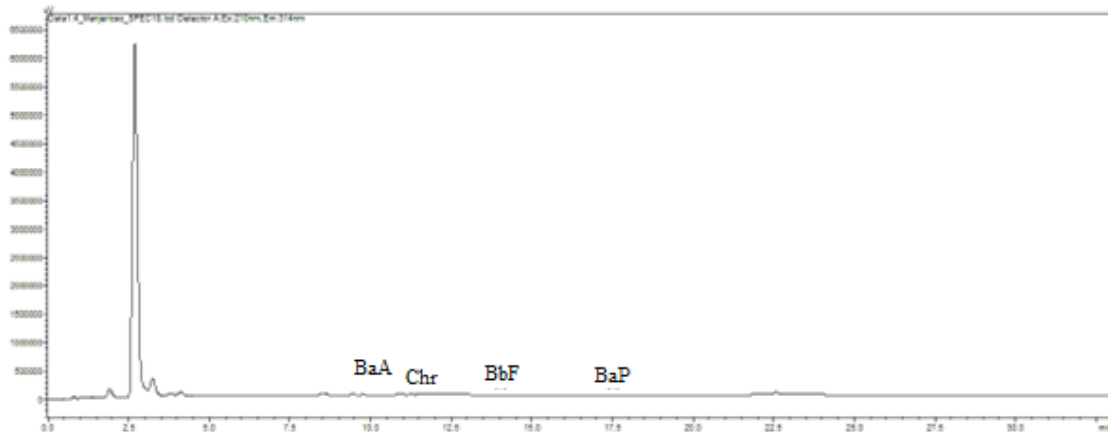
Fonte: Próprio autor (2021)

Figura 17 - Cromatograma obtido pela análise de HPAs em UPLC do alecrim; BaA: benzo[a]antraceno, BbF: benzo[b]fluoranteno, BaP: benzo[a]pireno, Chr: criseno



Fonte: Próprio autor (2021)

Figura 18 - Cromatograma obtido pela análise de HPAs em UPLC do manjericão; BaA: benzo[a]antraceno, BbF: benzo[b]fluoranteno, BaP: benzo[a]pireno, Chr: criseno



Fonte: Próprio autor (2021)

APÊNDICE I - Ingredientes usados na cocção: Resultados para análise de HPAs

Tabela 14 - Teores de HPAs ($\mu\text{g}/\text{kg}$) para amostras de óleos de soja

Amostra	Marca	BaA	Chr	BbF	BaP	PAH4
1	A	3,18	11,48	<LQ	0,94	15,60
2	B	3,92	11,81	1,29	0,95	17,97
3	C	2,25	11,47	1,80	1,58	17,10
4	D	<LQ	1,66	<LQ	0,83	2,49

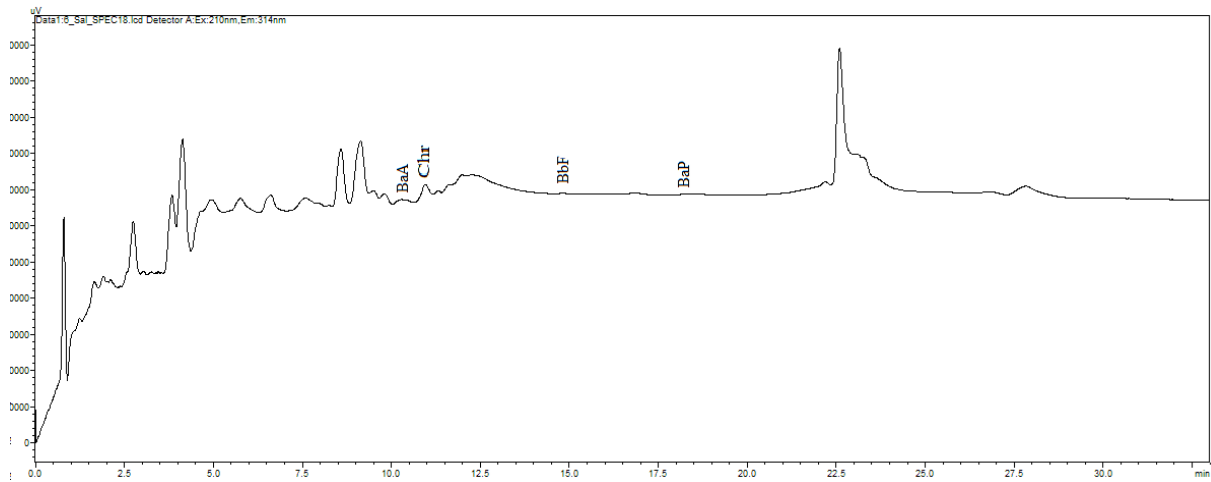
Abreviações: <LQ: abaixo do limite de quantificação; BaA: benzo[a]antraceno (LQ: 0,25 $\mu\text{g}/\text{kg}$), Chr: criseno, BbF: benzo[b]fluoranteno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BaP: benzo[a]pireno. A amostra 4 foi escolhida.

Tabela 15 - Teores de HPAs ($\mu\text{g}/\text{kg}$) para amostras de condimentos

Amostra	BaA	Chr	BbF	BaP	PAH4
Cebola em pó	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Alho em pó	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Limão em pó	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Manjericão	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Alecrim	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Orégano	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Cloreto de sódio (NaCl)	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
Mistura de temperos	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ

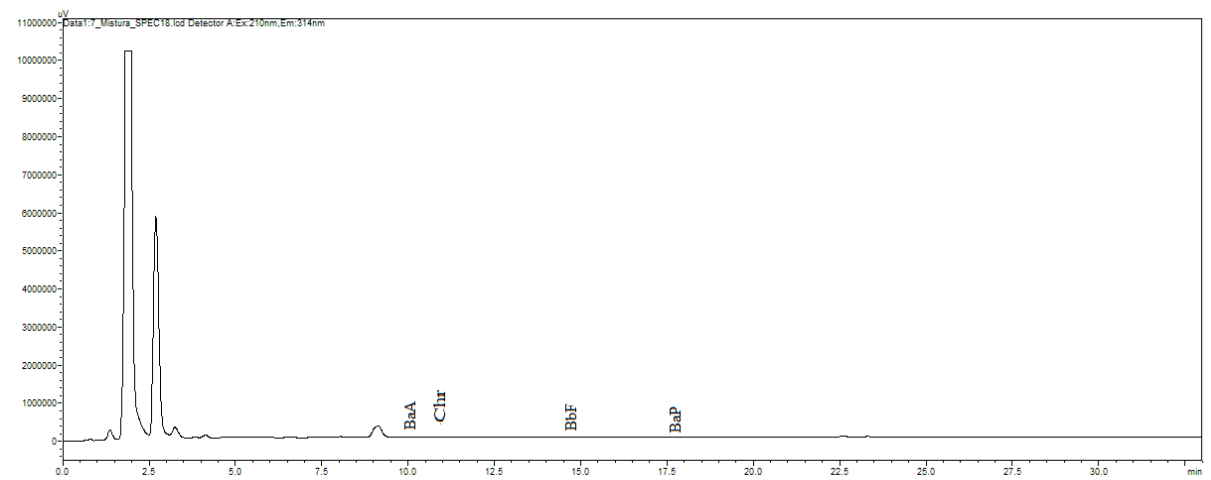
Valores expressos como média de duas replicatas; Abreviações: <LQ: abaixo do limite de quantificação; BaA: benzo[a]antraceno (LQ: 0,25 $\mu\text{g}/\text{kg}$), Chr: criseno, BbF: benzo[b]fluoranteno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BaP: benzo[a]pireno.

Figura 19 - Cromatograma obtido pela análise de HPAs em UPLC do cloreto de sódio (NaCl); BaA: benzo[a]antraceno, BbF: benzo[b]fluoranteno, BaP: benzo[a]pireno, Chr: criseno



Fonte: Próprio autor (2021)

Figura 20 - Cromatograma obtido pela análise de HPAs em UPLC da mistura de temperos utilizada na preparação da carne bovina alcatra; BaA: benzo[a]antraceno, BbF: benzo[b]fluoranteno, BaP: benzo[a]pireno, Chr: criseno



Fonte: Próprio autor (2021)

APÊNDICE J - Cocção para os diferentes produtos cárneos avaliados**Figura 21 - Linguiça durante cocção em *grill* elétrico**

Fonte: Próprio autor (2021)

Figura 22 – Carne alcatra durante cocção em *grill* elétrico

Fonte: Próprio autor (2021)

Figura 23 – Linguiça após cocção em *grill* elétrico (80°C)



Fonte: Próprio autor (2021)

Figura 24 – Carne alcatra após cocção em *grill* elétrico (100°C)



Fonte: Próprio autor (2021)

Figura 25 - Linguiça durante cocção em frigideira antiaderente



Fonte: Próprio autor (2021)

Figura 26 – Carne alcatra durante cocção em frigideira antiaderente



Fonte: Próprio autor (2021)

Figura 27 – Linguiça após cocção em frigideira antiaderente (80°C)



Fonte: Próprio autor (2021)

Figura 28 – Carne alcatra após cocção em frigideira antiaderente (80°C)



Fonte: Próprio autor (2021)

Figura 29 - Linguiça e carne bovina alcatra durante cocção usando forma antiaderente em forno a gás



Fonte: Próprio autor (2021)

Figura 30 – Linguiça após cocção usando forma antiaderente em forno a gás (175°C)



Fonte: Próprio autor (2021)

Figura 31 – Carne alcatra após cocção usando forma antiaderente em forno a gás (200°C)



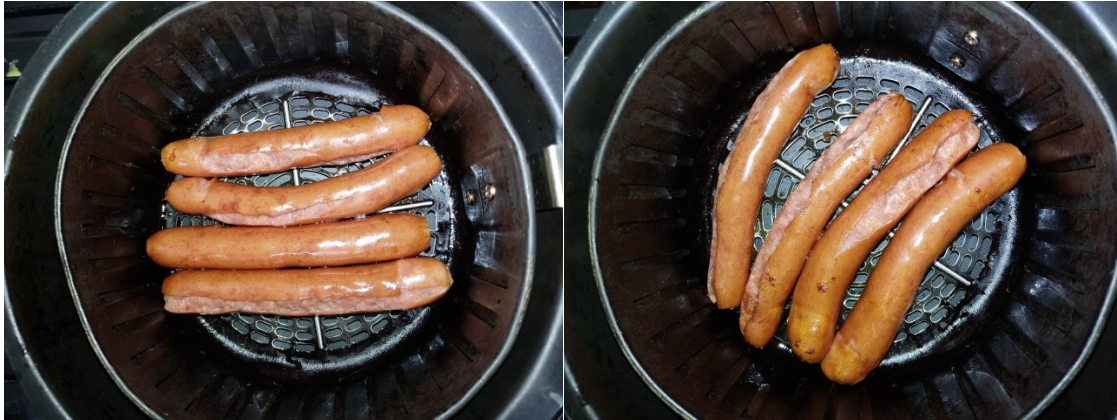
Fonte: Próprio autor (2021)

Figura 32 – Linguiça após cocção em *air fryer* (180 e 200°C)



Fonte: Próprio autor (2022)

Figura 33 – Linguiça cozida em meio ácido após cocção em *air fryer* (180 e 200°C)



Fonte: Próprio autor (2022)

Figura 34 – Carne alcatra após cocção sob calor seco (assar) em *air fryer* (180 e 200°C)



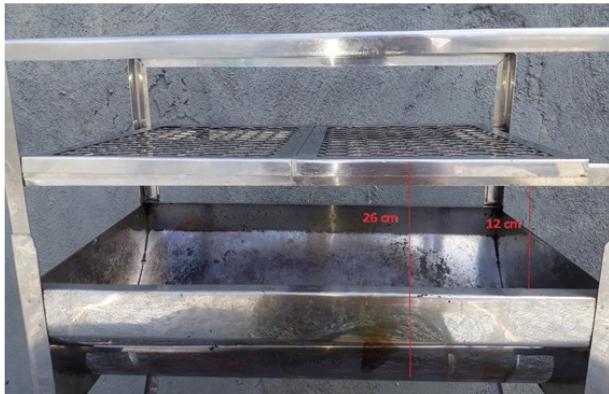
Fonte: Próprio autor (2022)

Figura 35 – Carne alcatra com temperos após cocção em *air fryer* (180 e 200°C)



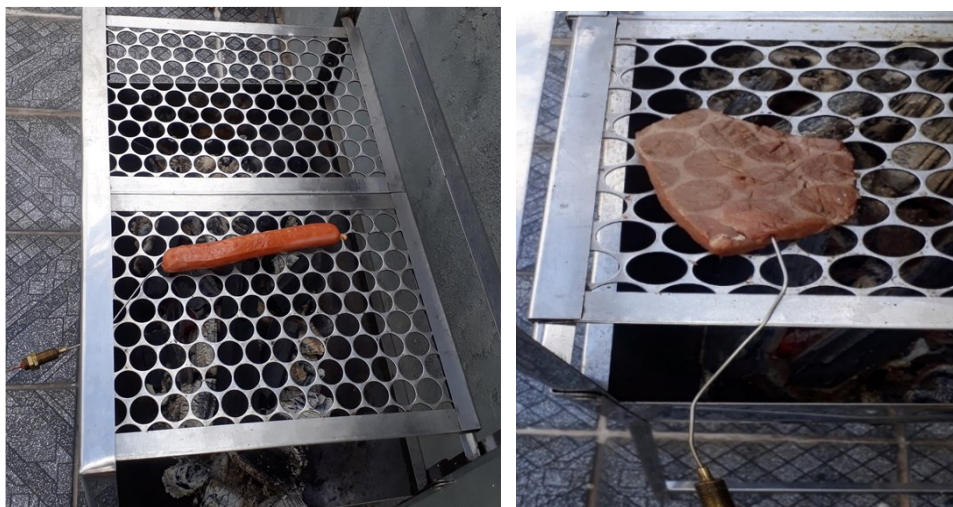
Fonte: Próprio autor (2022)

Figura 36 – Churrasqueira utilizada no experimento



Fonte: Próprio autor (2021)

Figura 37 – Linguiça e carne bovina durante cocção em grelha disposta em churrasqueira com carvão



Fonte: Próprio autor (2021)

Figura 38 – Linguiça e carne bovina após cocção em grelha disposta em churrasqueira com carvão



Fonte: Próprio autor (2021)

Figura 39 – Ingredientes utilizados nos processos de cocção



Fonte: Próprio autor (2021)

APÊNDICE K - Carne bovina em diferentes cocções: Resultados das análises de HPAs

Tabela 16 - Teores de HPAs ($\mu\text{g}/\text{kg}$) para carne bovina alcatra, segundo tipo de cocção, temperatura e adição de condimentos

Amostras	Processamento	T (°C)	Adição de tempero	Pyr	BaA	Chr	BbF	BkF	BaP	DahA+ BghiP +IcdP	PAH4	PAH8	PAH9	
1	Nenhum (crua)	Não	Não	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	
2				<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
3				<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
4	Grill Elétrico	80	Não	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,65	<LQ	1,65	1,65	
5				<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,60	<LQ	1,60	1,60	
6				<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,71	<LQ	1,71	1,71	
7	Grill Elétrico	100	Não	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,50	<LQ	1,50	1,50	
8				<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,34	<LQ	1,34	1,34	
9				<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,36	<LQ	1,36	1,36	
10	Grill Elétrico	80	Sim	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	
11				<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	
12				<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	
13	Grill Elétrico	100	Sim	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	
14				<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	
15				<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	
16	Frigideira	80	Não	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	
17				<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	
18				<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	

Continua

Tabela 16 - Teores de HPAs ($\mu\text{g}/\text{kg}$) para carne bovina alcatra, segundo tipo de cocção, temperatura e adição de condimentos*Continuação*

Amostras	Processamento	T (°C)	Adição de tempero	Pyr	BaA	Chr	BbF	BkF	BaP	DahA+ BghiP +IcdP	PAH4	PAH8	PAH9	
19	Frigideira	100	Não	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	
20				<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
21				<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
22	Frigideira	80	Sim	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	
23				<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
24				<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
25	Frigideira	100	Sim	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	
26				<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
27				<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
28	Forno	175	Não	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	
29				<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
30				<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
31	Forno	200	Não	1,04	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,04	
32				<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
33				1,00	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,00
34	Forno	175	Sim	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	
35				<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
36				<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
37	Forno	200	Sim	1,12	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,12	
38				1,12	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,12
39				1,08	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,08

Continua

Tabela 16 - Teores de HPAs ($\mu\text{g}/\text{kg}$) para carne bovina alcatra, segundo tipo de cocção, temperatura e adição de condimentos*Continuação*

Amostras	Processamento	T (°C)	Adição de tempero	Pyr	BaA	Chr	BbF	BkF	BaP	DahA+ BghiP +IcdP	PAH4	PAH8	PAH9	
40	<i>Air fryer</i>	180	Não	1,43	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,43	
41				1,03	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,03
42				1,52	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
43	<i>Air fryer</i>	200	Não	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	
44				1,11	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,11
45				1,47	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
46	<i>Air fryer</i>	180	Sim	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	
47				<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
48				<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
49	<i>Air fryer</i>	200	Sim	1,14	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,14	
50				<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
51				1,38	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
52	Churrasqueira	80	Não	2,54	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	2,54	
53				2,30	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	2,30
54				2,02	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	2,02
55	Churrasqueira	100	Não	2,5	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	2,50	
56				1,92	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,92
57				2,23	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	2,23
58	Churrasqueira	80	Sim	1,64	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,64	
59				1,62	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,62
60				1,69	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,69

Continua

Tabela 16 - Teores de HPAs ($\mu\text{g}/\text{kg}$) para carne bovina alcatra, segundo tipo de cocção, temperatura e adição de condimentos*Continuação*

Amostras	Processamento	T (°C)	Adição de tempero	Pyr	BaA	Chr	BbF	BkF	BaP	DahA+B ghiP +IcdP	PAH4	PAH8	PAH9
61				1,59	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,59
62	Churrasqueira	100	Sim	1,11	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,11
63				1,35	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,35

Análises realizadas em triplicata; Abreviações: <LQ: abaixo do limite de quantificação, Pyr: pireno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BaA: benzo[a]antraceno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), Chr: criseno (LQ: 0,50 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BbF: benzo[b]fluoranteno (LQ: 0,50 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BkF: benzo[k]fluoranteno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BaP: benzo[a]pireno (LQ: 0,50 $\mu\text{g}/\text{kg}$), DahA - dibenzo[a,h]antraceno, BghiP: benzo[g,h,i]perileno, IcdP: indeno[1,2,3-c,d]pireno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), HPAs: hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

Tabela 17 - Teores de HPAs ($\mu\text{g}/\text{kg}$) para carne bovina alcatra, em base seca, segundo tipo de cocção, temperatura e adição de condimentos

Amostras	Processamento	T (°C)	Adição de tempero	Pyr	BaA	Chr	BbF	BkF	BaP	DahA+ BghiP +IcdP	HPA4	HPA8	HPA9
4	Grill Elétrico	80	Não	1,19	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	2,32	<LQ	2,32	3,51
5				<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	2,21	<LQ	2,21	2,21
6				1,51	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	2,15	<LQ	2,15	3,66
7	Grill Elétrico	100	Não	1,81	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	2,39	<LQ	2,39	4,20
8				1,48	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	2,38	<LQ	2,38	3,85
9				1,31	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	2,13	<LQ	2,13	3,43
10	Grill Elétrico	80	Sim	1,64	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,62	<LQ	1,62	3,25
11				1,26	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,86	<LQ	1,86	3,12
12				1,49	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,58	<LQ	1,58	3,07
13	Grill Elétrico	100	Sim	1,81	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,40	<LQ	1,40	3,21
14				1,71	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,41	<LQ	1,41	3,11
15				1,74	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,47	<LQ	1,47	3,21
16	Frigideira	80	Não	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
17				<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
18				<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
19	Frigideira	100	Não	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
20				<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
21				<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ

Continua

Tabela 17 - Teores de HPAs ($\mu\text{g}/\text{kg}$) para carne bovina alcatra, em base seca, segundo tipo de cocção, temperatura e adição de condimentos*Continuação*

Amostras	Processamento	T (°C)	Adição de tempero	Pyr	BaA	Chr	BbF	BkF	BaP	DahA+ BghiP +IcdP	HPA4	HPA8	HPA9	
22	Frigideira	80	Sim	1,09	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,09	
23				<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
24				<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
25	Frigideira	100	Sim	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	
26				<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,03	<LQ	<LQ	1,03	
27				<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
28	Forno	175	Não	1,44	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,44	
29				1,43	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,43
30				1,37	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,37
31	Forno	200	Não	1,59	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,59	
32				1,81	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,81
33				1,75	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,75
34	Forno	175	Sim	1,24	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,24	
35				1,17	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,17
36				1,24	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,24
37	Forno	200	Sim	1,84	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,84	
38				1,84	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,84
39				1,78	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,78
40	<i>Air fryer</i>	180	Não	2,09	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	2,09	
41				1,50	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,50
42				2,22	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	2,22

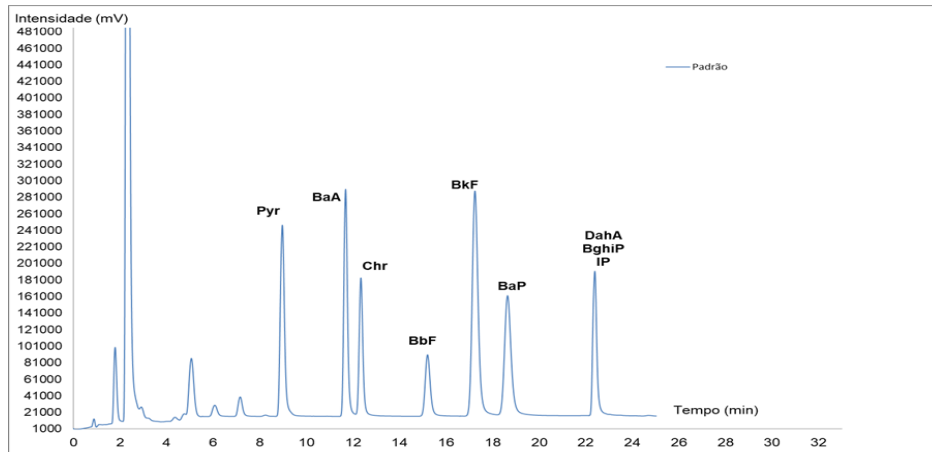
Continua

Tabela 17 - Teores de HPAs ($\mu\text{g}/\text{kg}$) para carne bovina alcatra, em base seca, segundo tipo de cocção, temperatura e adição de condimentos*Continuação*

Amostras	Processamento	T (°C)	Adição de tempero	Pyr	BaA	Chr	BbF	BkF	BaP	DahA+ BghiP +IcdP	HPA4	HPA8	HPA9
43				1,53	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,53
44	<i>Air fryer</i>	200	Não	1,75	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,75
45				2,32	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	2,32
46				<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
47	<i>Air fryer</i>	180	Sim	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
48				1,25	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,25
49				1,88	1,07	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,07	1,07	2,95
50	<i>Air fryer</i>	200	Sim	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
51				<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ
53				4,05	<LQ	<LQ	<LQ	0,50	<LQ	<LQ	0,50	0,50	4,55
53	Churrasqueira	80	Não	3,66	<LQ	1,09	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,09	4,76
54				2,19	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	2,19
55				4,42	<LQ	<LQ	<LQ	0,64	<LQ	<LQ	0,64	0,64	5,06
56	Churrasqueira	100	Não	3,41	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	3,41
57				3,95	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	3,95
58				2,44	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	2,44
59	Churrasqueira	80	Sim	2,41	<LQ	1,56	<LQ	0,51	<LQ	<LQ	0,51	2,07	4,48
60				2,51	<LQ	1,32	<LQ	0,57	<LQ	<LQ	0,57	1,89	4,40
61				2,44	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	2,44
62	Churrasqueira	100	Sim	1,71	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	1,71
63				2,07	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	2,07

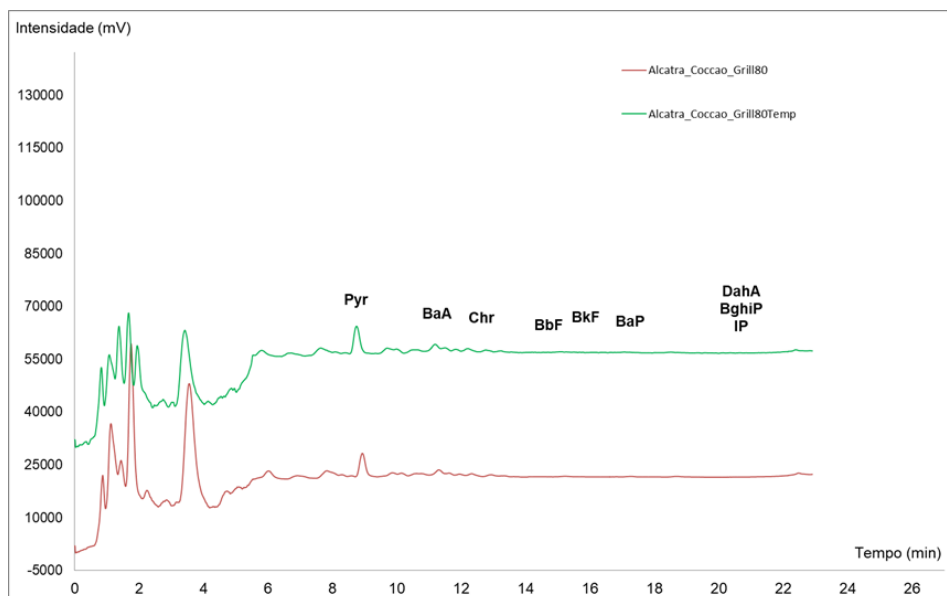
Análises realizadas em triplicata; Abreviações: <LQ: abaixo do limite de quantificação, Pyr: pireno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BaA: benzo[a]antraceno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), Chr: criseno (LQ: 0,50 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BbF: benzo[b]fluoranteno (LQ: 0,50 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BkF: benzo[k]fluoranteno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BaP: benzo[a]pireno (LQ: 0,50 $\mu\text{g}/\text{kg}$), DahA - dibenzo[a,h]antraceno, BghiP: benzo[g,h,i]perileno, IcdP: indeno[1,2,3-c,d]pireno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), HPAs: hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

Figura 40 - Cromatograma obtido pela análise de HPAs em UPLC para padrão; BaA: benzo[a]antraceno, BbF: benzo[b]fluoranteno, BkF: benzo[k]fluoranteno, BaP: benzo[a]pireno, BghiP: benzo[g,h,i]perileno, Chr: criseno, DahA: dibenzo[a,h]antraceno, IcdP: indeno[1,2,3-c,d]pireno, Pyr: pireno



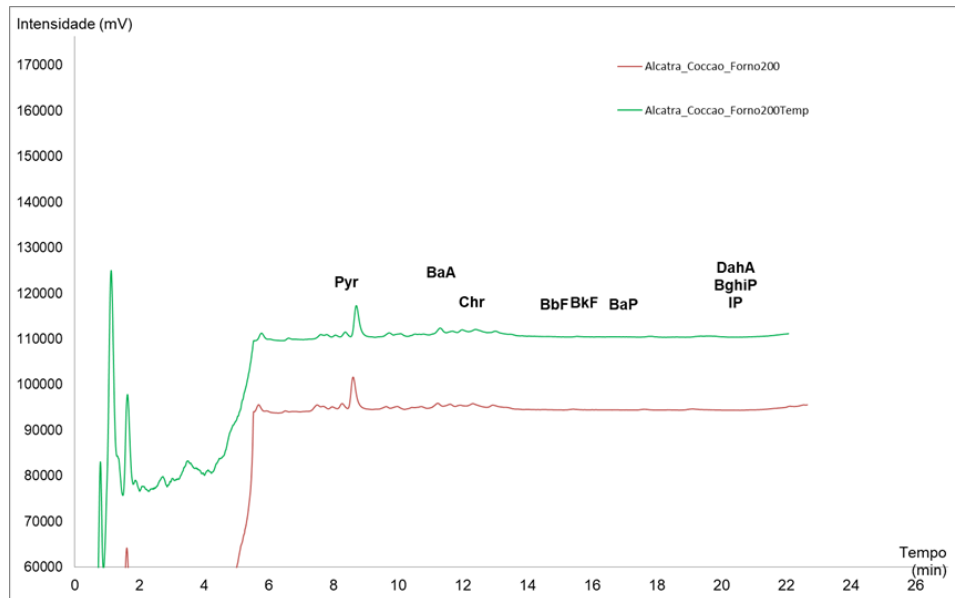
Fonte: Próprio autor (2022)

Figura 41 - Cromatograma obtido pela análise de HPAs em UPLC para carne bovina alcatra submetida a cocção em *grill* elétrico a 80°C; BaA: benzo[a]antraceno, BbF: benzo[b]fluoranteno, BkF: benzo[k]fluoranteno, BaP: benzo[a]pireno, BghiP: benzo[g,h,i]perileno, Chr: criseno, DahA: dibenzo[a,h]antraceno, IcdP: indeno[1,2,3-c,d]pireno, Pyr: pireno



Fonte: Próprio autor (2022)

Figura 42 - Cromatograma obtido pela análise de HPAs em UPLC para carne bovina alcatra submetida a cocção em forno a 200°C; BaA: benzo[a]antraceno, BbF: benzo[b]fluoranteno, BkF: benzo[k]fluoranteno, BaP: benzo[a]pireno, BghiP: benzo[g,h,i]perileno, Chr: criseno, DahA: dibenzo[a,h]antraceno, IcdP: indeno[1,2,3-c,d]pireno, Pyr: pireno



Fonte: Próprio autor (2022)

APÊNDICE L - Linguiça em diferentes cocções: Resultados para análise de HPAs

Tabela 18 - Teores de HPAs ($\mu\text{g}/\text{kg}$) para linguiça, segundo pré-tratamento (meio ácido), tipo de cocção e temperatura

Amostras	Processamento	T (°C)	Meio ácido	Pyr	BaA	Chr	BbF	BkF	BaP	DahA + BghiP +IcdP	PAH4	PAH8	PAH9
1	Nenhum (crua)	Não	Não	15,88	5,17	3,94	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	9,11	9,11	24,99
2				14,93	5,01	3,64	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	8,65	8,65	23,59
3				16,79	5,22	3,80	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	9,01	9,01	25,80
4	Linguíça cozida meio ácido	Não	Sim	9,92	2,26	1,04	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	3,30	3,30	13,22
5				12,27	3,12	1,54	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	4,66	4,66	16,93
6				11,11	2,00	0,86	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	2,86	2,86	13,97
7	Grill Elétrico	80	Não	13,26	5,59	4,04	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	9,64	9,64	22,89
8				10,34	5,39	3,76	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	9,16	9,16	19,50
9				14,17	5,03	3,08	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	8,11	8,11	22,28
10	Grill Elétrico	100	Não	20,24	8,23	4,83	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	13,07	13,07	33,31
11				24,78	8,68	5,31	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	13,99	13,99	38,76
12				26,53	9,17	5,59	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	14,18	14,18	41,29
13	Grill Elétrico	80	Sim	14,25	5,50	3,45	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	8,95	8,95	23,20
14				15,44	5,44	3,44	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	8,88	8,88	24,32
15				17,40	6,11	4,05	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	10,17	10,17	27,56
16	Grill Elétrico	100	Sim	18,10	6,87	4,58	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	11,45	11,45	29,55
17				13,32	5,04	3,39	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	8,42	8,42	21,74
18				15,48	6,00	4,21	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	10,21	10,21	25,69

Continua

Tabela 18 - Teores de HPAs ($\mu\text{g}/\text{kg}$) para linguiça, segundo pré-tratamento (meio ácido), tipo de cocção e temperatura*Continuação*

Amostras	Processamento	T (°C)	Meio ácido	Pyr	BaA	Chr	BbF	BkF	BaP	DahA + BghiP +IcdP	PAH4	PAH8	PAH9
19	Frigideira	80	Não	18,33	6,37	5,11	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	11,48	11,48	30,00
20				15,28	6,53	5,30	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	11,83	11,83	30,05
21				20,82	6,62	5,40	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	12,01	12,01	30,70
22	Frigideira	100	Não	18,52	7,01	5,81	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	12,81	12,81	31,33
23				25,66	7,11	5,01	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	12,12	12,12	37,78
24				24,87	6,65	5,72	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	12,37	12,37	37,24
25	Frigideira	80	Sim	11,64	5,78	4,88	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	10,66	10,66	23,75
26				11,45	5,96	5,45	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	11,41	11,41	22,86
27				8,46	5,79	5,43	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	11,22	11,22	22,86
28	Frigideira	100	Sim	13,53	6,16	4,82	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	10,98	10,98	24,51
29				16,73	6,51	5,32	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	11,83	11,83	28,56
30				15,57	6,55	5,57	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	12,12	12,12	27,69
31	Forno	175	Não	17,21	7,45	5,72	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	13,17	13,17	30,38
32				14,47	6,45	5,34	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	11,80	11,80	26,27
33				20,21	8,20	6,32	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	14,52	14,52	34,73
34	Forno	200	Não	22,14	7,84	6,19	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	14,03	14,03	36,17
35				16,87	7,46	6,20	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	13,67	13,67	30,54
36				26,12	8,79	7,20	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	15,99	15,99	42,11
37	Forno	175	Sim	10,92	7,40	5,60	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	12,99	12,99	23,91
38				9,21	6,77	5,16	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	11,92	11,92	21,13
39				8,76	7,86	5,81	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	13,67	13,67	22,43

Continua

Tabela 18 - Teores de HPAs ($\mu\text{g}/\text{kg}$) para linguiça, segundo pré-tratamento (meio ácido), tipo de cocção e temperatura*Continuação*

Amostras	Processamento	T (°C)	Meio ácido	Pyr	BaA	Chr	BbF	BkF	BaP	DahA + BghiP +IcdP	PAH4	PAH8	PAH9
40				14,26	8,63	6,09	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	14,72	14,72	28,98
41	Forno	200	Sim	9,31	8,67	6,05	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	14,72	14,72	24,03
42				17,10	8,22	5,61	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	13,84	13,84	30,94
43				48,12	6,99	4,34	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	11,34	11,34	59,46
44	<i>Air fryer</i>	180	Não	37,55	5,41	3,97	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	9,39	9,39	46,94
45				39,69	7,10	5,44	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	12,54	12,54	52,22
46				40,08	5,42	3,68	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	9,09	9,09	49,17
47	<i>Air fryer</i>	200	Não	44,99	5,30	2,27	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	7,57	7,57	52,56
48				45,81	7,54	5,34	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	12,87	12,87	58,68
49				34,73	8,08	7,65	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	15,74	15,74	50,46
50	<i>Air fryer</i>	180	Sim	51,84	7,06	4,53	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	11,60	11,60	63,44
51				48,90	6,26	4,00	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	10,26	10,26	59,16
52				48,45	7,87	3,99	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	11,86	11,86	60,31
53	<i>Air fryer</i>	200	Sim	54,77	10,30	6,84	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	17,14	17,14	71,91
54				50,33	8,15	6,91	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	15,06	15,06	65,39
55				9,57	5,98	4,24	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	10,23	10,23	19,80
56	Churrasqueira	80	Não	10,56	6,08	4,54	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	10,62	10,62	21,18
57				12,59	6,20	4,76	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	10,96	10,96	23,55
58				13,53	7,32	5,28	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	12,61	12,61	26,14
59	Churrasqueira	100	Não	10,32	7,88	6,49	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	14,37	14,37	24,70
60				12,82	7,43	6,31	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	13,74	13,74	26,56

Continua

Tabela 18 - Teores de HPAs ($\mu\text{g}/\text{kg}$) para linguiça, segundo pré-tratamento (meio ácido), tipo de cocção e temperatura*Continuação*

Amostras	Processamento	T (°C)	Meio ácido	Pyr	BaA	Chr	BbF	BkF	BaP	DahA + BghiP +IcdP	PAH4	PAH8	PAH9
61				7,51	6,36	4,83	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	11,19	11,19	18,70
62	Churrasqueira	80	Sim	11,44	5,82	4,35	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	10,17	10,17	21,61
63				7,55	5,57	4,31	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	9,88	9,88	17,44
64				10,00	5,63	4,47	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	10,11	10,11	20,10
65	Churrasqueira	100	Sim	7,54	5,30	4,50	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	9,79	9,79	17,33
66				8,94	5,33	5,79	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	11,12	11,12	20,06

Análises realizadas em triplicata; Abreviações: <LQ: abaixo do limite de quantificação, Pyr: pireno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BaA: benzo[a]antraceno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), Chr: criseno (LQ: 0,50 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BbF: benzo[b]fluoranteno (LQ: 0,50 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BkF: benzo[k]fluoranteno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BaP: benzo[a]pireno (LQ: 0,50 $\mu\text{g}/\text{kg}$), DahA - dibenzo[a,h]antraceno, BghiP: benzo[g,h,i]perileno, IcdP: indeno[1,2,3-c,d]pireno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), HPAs: hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

Tabela 19 - Teores de HPAs ($\mu\text{g}/\text{kg}$) para linguiça, em base seca, segundo pré-tratamento (meio ácido), tipo de cocção e temperatura

Amostras	Processamento	T (°C)	Meio ácido	Pyr	BaA	Chr	BbF	BkF	BaP	DahA + BghiP +IcdP	HPA4	HPA8	HPA9
7	Grill Elétrico	80	Não	13,51	5,70	4,12	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	9,82	9,82	23,34
8				10,54	5,50	3,84	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	9,33	9,33	19,87
9				14,44	5,13	3,14	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	8,27	8,27	22,71
10	Grill Elétrico	100	Não	21,86	8,89	5,22	0,62	<LQ	<LQ	<LQ	14,74	14,74	36,59
11				26,76	9,38	5,73	0,57	<LQ	<LQ	<LQ	15,68	15,68	42,43
12				28,65	9,90	6,04	0,55	<LQ	0,54	<LQ	17,03	17,03	45,67
13	Grill Elétrico	80	Sim	14,68	5,66	3,55	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	9,22	9,22	23,90
14				15,90	5,60	3,54	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	9,15	9,15	25,05
15				17,92	6,30	4,18	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	10,47	10,47	28,39
16	Grill Elétrico	100	Sim	20,18	7,66	5,11	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	12,77	12,77	32,94
17				14,84	5,61	3,77	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	9,39	9,39	24,23
18				17,25	6,69	4,69	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	11,38	11,38	28,64
19	Frigideira	80	Não	18,61	6,47	5,19	0,87	<LQ	0,64	<LQ	13,17	13,17	31,78
20				15,51	6,63	5,38	0,53	<LQ	<LQ	<LQ	12,54	12,54	28,05
21				21,14	6,72	5,48	0,77	<LQ	0,59	<LQ	13,56	13,56	34,69
22	Frigideira	100	Não	19,49	7,37	6,11	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	13,49	13,49	32,98
23				27,01	7,49	5,27	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	12,76	12,76	39,77
24				26,18	7,00	6,02	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	13,02	13,02	39,20
25	Frigideira	80	Sim	11,92	5,92	4,99	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	10,91	10,91	22,83
26				11,72	6,10	5,58	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	11,68	11,68	23,40
27				8,65	5,92	5,56	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	11,48	11,48	20,14

Continua

Tabela 19 - Teores de HPAs ($\mu\text{g}/\text{kg}$) para linguiça, em base seca, segundo pré-tratamento (meio ácido), tipo de cocção e temperatura*Continuação*

Amostras	Processamento	T (°C)	Meio ácido	Pyr	BaA	Chr	BbF	BkF	BaP	DahA + BghiP +IcdP	HPA4	HPA8	HPA9
28	Frigideira	100	Sim	14,73	6,71	5,25	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	11,97	11,97	26,70
29				18,23	7,09	5,79	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	12,89	12,89	31,12
30				16,97	7,13	6,07	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	13,20	13,20	30,17
31	Forno	175	Não	18,64	8,07	6,20	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	14,27	14,27	32,91
32				15,68	6,99	5,79	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	12,77	12,77	28,45
33				21,90	8,88	6,85	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	15,73	15,73	37,63
34	Forno	200	Não	26,02	9,21	7,27	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	16,48	16,48	42,50
35				19,82	8,77	7,29	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	16,06	16,06	35,88
36				30,69	9,66	6,60	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	16,26	16,26	46,95
37	Forno	175	Sim	12,64	8,56	6,48	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	15,04	15,04	27,68
38				10,66	7,83	5,97	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	13,80	13,80	24,46
39				10,14	9,09	6,73	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	15,82	15,82	25,96
40	Forno	200	Sim	17,37	10,52	7,41	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	17,93	17,93	35,30
41				11,34	10,57	7,37	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	17,93	17,93	29,27
42				20,83	10,01	6,82	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	16,83	16,83	37,66
43	<i>Air fryer</i>	180	Não	48,70	7,08	4,40	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	11,47	11,47	60,18
44				38,01	5,48	4,02	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	9,50	9,50	47,51
45				40,17	7,18	5,51	0,50	<LQ	<LQ	<LQ	13,19	13,19	53,36
46	<i>Air fryer</i>	200	Não	41,44	5,60	3,80	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	9,40	9,40	50,85
47				46,53	5,48	2,35	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	7,83	7,83	54,36
48				47,37	7,79	5,52	0,63	<LQ	<LQ	<LQ	13,94	13,94	61,31

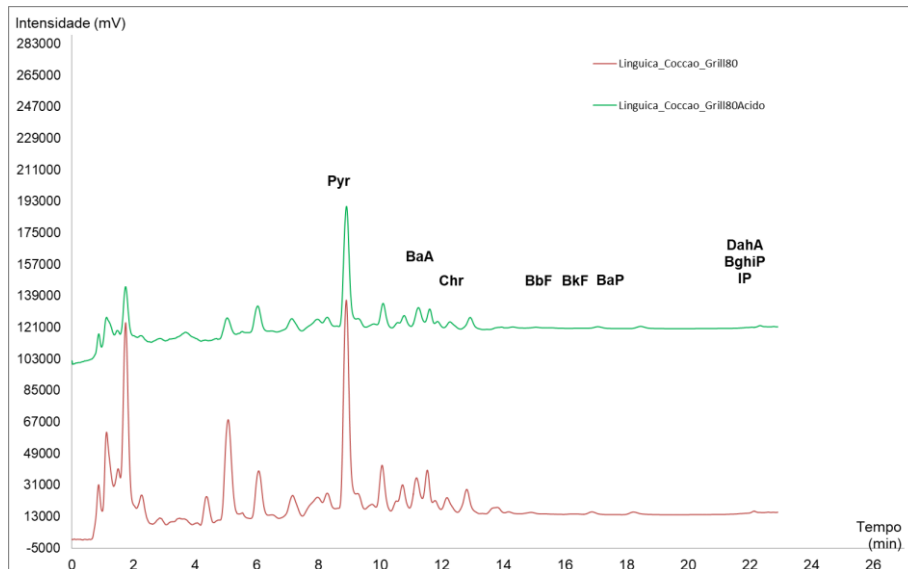
Continua

Tabela 19 - Teores de HPAs ($\mu\text{g}/\text{kg}$) para linguiça, em base seca, segundo pré-tratamento (meio ácido), tipo de cocção e temperatura*Continuação*

Amostras	Processamento	T (°C)	Meio ácido	Pyr	BaA	Chr	BbF	BkF	BaP	DahA + BghiP +IcdP	HPA4	HPA8	HPA9
49	<i>Air fryer</i>	180	Sim	36,29	8,44	8,00	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	16,44	16,44	52,73
50				54,17	7,38	4,74	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	12,12	12,12	66,29
51				51,10	6,54	4,18	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	10,72	10,72	61,82
52	<i>Air fryer</i>	200	Sim	52,49	8,52	4,33	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	12,85	12,85	65,34
53				59,34	11,16	7,41	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	18,57	18,57	77,91
54				54,53	8,83	7,48	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	16,31	16,31	70,84
55	Churrasqueira	80	Não	10,13	6,33	4,49	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	10,82	10,82	20,95
56				11,17	6,43	4,81	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	11,24	11,24	22,41
57				13,33	6,56	5,03	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	11,60	11,60	24,93
58	Churrasqueira	100	Não	15,05	8,14	5,88	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	14,02	14,02	29,07
59				11,48	8,77	7,22	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	15,99	15,99	27,47
60				14,26	8,26	7,02	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	15,28	15,28	29,55
61	Churrasqueira	80	Sim	7,84	6,64	5,05	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	11,69	11,69	19,54
62				11,95	6,08	4,55	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	10,63	10,63	22,58
63				7,89	5,82	4,50	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	10,33	10,33	18,22
64	Churrasqueira	100	Sim	11,31	6,37	5,06	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	11,43	11,43	22,74
65				8,53	5,99	5,09	2,15	<LQ	<LQ	<LQ	13,23	13,23	21,76
66				10,12	7,02	5,38	<LQ	<LQ	<LQ	<LQ	12,40	12,40	22,52

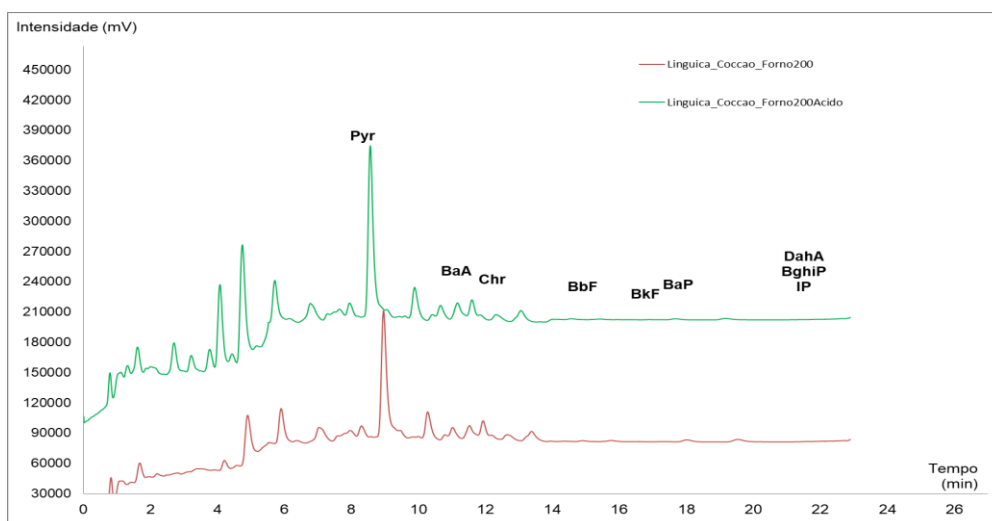
Análises realizadas em triplicata; Abreviações: <LQ: abaixo do limite de quantificação, Pyr: pireno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BaA: benzo[a]antraceno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), Chr: criseno (LQ: 0,50 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BbF: benzo[b]fluoranteno (LQ: 0,50 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BkF: benzo[k]fluoranteno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), BaP: benzo[a]pireno (LQ: 0,50 $\mu\text{g}/\text{kg}$), DahA - dibenzo[a,h]antraceno, BghiP: benzo[g,h,i]perileno, IcdP: indeno[1,2,3-c,d]pireno (LQ: 1,00 $\mu\text{g}/\text{kg}$), HPAs: hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

Figura 43 - Cromatograma obtido pela análise de HPAs em UPLC para linguiça submetida a cocção em *grill* elétrico a 80°C; BaA: benzo[a]antraceno, BbF: benzo[b]fluoranteno, BkF: benzo[k]fluoranteno, BaP: benzo[a]pireno, BghiP: benzo[g,h,i]perileno, Chr: criseno, DahA: dibenzo[a,h]antraceno, IcdP: indeno[1,2,3-c,d]pireno, Pyr: pireno



Fonte: Próprio autor (2022)

Figura 44 - Cromatograma obtido pela análise de HPAs em UPLC para linguiça submetida a cocção em forno a 200°C; BaA: benzo[a]antraceno, BbF: benzo[b]fluoranteno, BkF: benzo[k]fluoranteno, BaP: benzo[a]pireno, BghiP: benzo[g,h,i]perileno, Chr: criseno, DahA: dibenzo[a,h]antraceno, IcdP: indeno[1,2,3-c,d]pireno, Pyr: pireno



Fonte: Próprio autor (2022)

ANEXO

ANEXO A - Folha de rosto do manuscrito publicado no periódico Food Analytical Methods

Food Analytical Methods
<https://doi.org/10.1007/s12161-022-02404-z>



Quantification of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Commonly Consumed Salami in Brazil

Simone Alves da Silva^{1,2} · Gustavo Zanetti De Rossi² · Marina Missae Ossugui² · Adriana Palma de Almeida² · Glória Maria Guizellini¹ · Geni Rodrigues Sampaio¹ · Elizabeth Aparecida Ferraz da Silva Torres¹

Received: 21 March 2022 / Accepted: 20 September 2022

© The Author(s), under exclusive license to Springer Science+Business Media, LLC, part of Springer Nature 2022

Abstract

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are organic compounds that have been found in different food categories, and meat products can have high concentrations of PAHs, since the technological processes to which they are subjected, such as smoking, can produce several compounds. Considering the risk that these compounds can bring to the population's health, it is essential to develop an accurate and reliable method to evaluate the contamination of PAHs in products of animal origin. The objective of this study was to optimize and validate a method for the quantification of 4 PAHs (benzo(a)anthracene, chrysene, benzo(b)fluoranthene, and benzo(a)pyrene) in salami. The methodology included saponification, liquid-liquid extraction, solid-phase purification, and quantification by ultra-high-performance liquid chromatography. The effects of saponification parameters were investigated by experimental design, whereas the model obtained by regression analysis was considered satisfactory with the dissolution solvent of potassium hydroxide providing the highest global sum of areas. In validation, the parameters studied were adequate and within European and INMETRO Guidelines limits. The evaluation of 22 samples indicated that 27% were contaminated with at least one of the 4 PAHs, and benzo(a)anthracene being the prevalent one with content varying between < 1.00 and 17.58 µg/kg. Two samples showed PAHs contamination above the maximum tolerable limit in the European Commission Regulation.

Keywords Benzo(a)pyrene · Smoked meat · Chemometric approach · Ultra-high-performance liquid chromatography (UHPLC)

Elizabeth Aparecida Ferraz da Silva Torres
enortorres@usp.br

Simone Alves da Silva
simone.alves.silva@usp.br

Gustavo Zanetti De Rossi
junk.gustavo@gmail.com

Marina Missae Ossugui
ossugui.marina@gmail.com

Adriana Palma de Almeida
adriana.almeida@fal.sp.gov.br

Glória Maria Guizellini
gloriaguizellini@usp.br

Geni Rodrigues Sampaio
geniro@usp.br

¹ Department of Nutrition, School of Public Health, University of São Paulo, USP, Avenida Doutor Arnaldo, 715, Conquiza César, São Paulo, SP 01246-904, Brazil

² Organic Contaminant Com, Contaminant Com, Adolfo Lutz Institute, Avenida Doutor Arnaldo, 355, Conquiza César, São Paulo, SP 01246-000, Brazil

Introduction

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) have two or more fused aromatic rings in the structure and have already been identified in at least 200 organic compounds (Domingo and Nadal 2015; Sampaio et al. 2021). They are formed during the incomplete combustion of organic matter (Hamidi et al. 2016).

The PAHs can be present in the food due to environmental contamination (present in air, soil, or water), food processing, and cooking. Among the food categories, meat products were considered to have the highest levels of contamination (Martorell et al. 2010; Wretling et al. 2010; Roscio et al. 2011; Olutunji et al. 2014; Ledevna et al. 2015). Food processed through charcoal grilling, gas stove grilling, and smoking could produce higher levels of PAHs (Chiang et al. 2021).

Salami is a cured type of sausage, generally dry and tough compared to other types of sausage, and can be made with different types of meat, mixed with fat and additives such as salt, spices, sugar, and starter culture. They are stuffed

Published online: 10 October 2022

Springer

ANEXO B - Autorização para uso na tese do manuscrito publicado no periódico Food Analytical Method

30/12/2022 16:12

E-mail de Universidade de São Paulo - Thank you for your order with RightsLink / Springer Nature



Simone Alves da Silva <simone.alves.silva@usp.br>

Thank you for your order with RightsLink / Springer Nature

no-reply@email.copyright.com <no-reply@email.copyright.com>
Para: simone.alves.silva@usp.br

30 de dezembro de 2022 às 16:01

SPRINGER NATURE

Thank you for your order!

Dear Mrs. Simone Alves da Silva,

Thank you for placing your order through Copyright Clearance Center's RightsLink® service.

Order Summary

Licensee: Mrs. Simone Alves da Silva
Order Date: Dec 30, 2022
Order Number: 5458900936789
Publication: Food Analytical Methods
Title: Quantification of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Commonly Consumed Salami in Brazil
Type of Use: Thesis/Dissertation
Order Ref: 184
Order Total: 0.00 USD

View or print complete [details](#) of your order and the publisher's terms and conditions.

Sincerely,

Copyright Clearance Center

Tel: +1-855-239-3415 / +1-978-646-2777
customer@copyright.com
<https://myaccount.copyright.com>



CONTINUAÇÃO ANEXO B

30/12/2022 16:08

RightsLink Printable License

SPRINGER NATURE LICENSE
TERMS AND CONDITIONS

Dec 30, 2022

This Agreement between Mrs. Simone Alves da Silva ("You") and Springer Nature ("Springer Nature") consists of your license details and the terms and conditions provided by Springer Nature and Copyright Clearance Center.

License Number	5458900936789
License date	Dec 30, 2022
Licensed Content Publisher	Springer Nature
Licensed Content Publication	Food Analytical Methods
Licensed Content Title	Quantification of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Commonly Consumed Salami in Brazil
Licensed Content Author	Simone Alves da Silva et al
Licensed Content Date	Oct 10, 2022
Type of Use	Thesis/Dissertation
Requestor type	academic/university or research institute
Format	electronic
Portion	full article/chapter
Will you be translating?	no
Circulation/distribution	30 - 99
Author of this Springer Nature content	yes
Title	Influência das técnicas de preparo e cocção na formação dos contaminantes hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em

<https://is100.copyright.com/CustomAdmin/PLF.jsp?ref=7403fd75-283c-45a1-b085-4e96b415ede4>

1/6

CONTINUAÇÃO ANEXO B

30/12/2022 16:08

RightsLink Printable License

carnes e embutidos: fatores de risco associados ao consumo

Institution name Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo - Brazil

Expected presentation date Jan 2023

Order reference number 184

Mrs. Simone Alves da Silva
AV DR ARNALDO 375

Requestor Location
São Paulo, São Paulo State 01246904
Brazil
Attn: Universidade de São Paulo

Total 0.00 USD

Terms and Conditions

Springer Nature Customer Service Centre GmbH Terms and Conditions

The following terms and conditions ("Terms and Conditions") together with the terms specified in your [RightsLink] constitute the License ("License") between you as Licensee and Springer Nature Customer Service Centre GmbH as Licensor. By clicking 'accept' and completing the transaction for your use of the material ("Licensed Material"), you confirm your acceptance of and obligation to be bound by these Terms and Conditions.

1. Grant and Scope of License

1. 1. The Licensor grants you a personal, non-exclusive, non-transferable, non-sublicensable, revocable, world-wide License to reproduce, distribute, communicate to the public, make available, broadcast, electronically transmit or create derivative works using the Licensed Material for the purpose(s) specified in your RightsLink Licence Details only. Licenses are granted for the specific use requested in the order and for no other use, subject to these Terms and Conditions. You acknowledge and agree that the rights granted to you under this License do not include the right to modify, edit, translate, include in collective works, or create derivative works of the Licensed Material in whole or in part unless expressly stated in your RightsLink Licence Details. You may use the Licensed Material only as permitted under this Agreement and will not reproduce, distribute, display, perform, or otherwise use or exploit any Licensed Material in any way, in whole or in part, except as expressly permitted by this License.

1. 2. You may only use the Licensed Content in the manner and to the extent permitted by these Terms and Conditions, by your RightsLink Licence Details and by any applicable laws.

1. 3. A separate license may be required for any additional use of the Licensed Material, e.g. where a license has been purchased for print use only, separate permission must be obtained for electronic re-use. Similarly, a License is only valid in the language selected and does not apply for editions in other languages unless

<https://s100.copyright.com/CustomerAdmin/PLF.jsp?ref=7403fd75-283c-45a1-b085-4e96b415ede4>

2/6

CONTINUAÇÃO ANEXO B

30/12/2022 16:08

RightsLink Printable License

additional translation rights have been granted separately in the License.

1. 4. Any content within the Licensed Material that is owned by third parties is expressly excluded from the License.

1. 5. Rights for additional reuses such as custom editions, computer/mobile applications, film or TV reuses and/or any other derivative rights requests require additional permission and may be subject to an additional fee. Please apply to journalpermissions@springernature.com or bookpermissions@springernature.com for these rights.

2. Reservation of Rights

Licensor reserves all rights not expressly granted to you under this License. You acknowledge and agree that nothing in this License limits or restricts Licensor's rights in or use of the Licensed Material in any way. Neither this License, nor any act, omission, or statement by Licensor or you, conveys any ownership right to you in any Licensed Material, or to any element or portion thereof. As between Licensor and you, Licensor owns and retains all right, title, and interest in and to the Licensed Material subject to the license granted in Section 1.1. Your permission to use the Licensed Material is expressly conditioned on you not impairing Licensor's or the applicable copyright owner's rights in the Licensed Material in any way.

3. Restrictions on use

3. 1. Minor editing privileges are allowed for adaptations for stylistic purposes or formatting purposes provided such alterations do not alter the original meaning or intention of the Licensed Material and the new figure(s) are still accurate and representative of the Licensed Material. Any other changes including but not limited to, cropping, adapting, and/or omitting material that affect the meaning, intention or moral rights of the author(s) are strictly prohibited.

3. 2. You must not use any Licensed Material as part of any design or trademark.

3. 3. Licensed Material may be used in Open Access Publications (OAP), but any such reuse must include a clear acknowledgment of this permission visible at the same time as the figures/tables/illustration or abstract and which must indicate that the Licensed Material is not part of the governing OA license but has been reproduced with permission. This may be indicated according to any standard referencing system but must include at a minimum 'Book/Journal title, Author, Journal Name (if applicable), Volume (if applicable), Publisher, Year, reproduced with permission from SNCSC'.

4. STM Permission Guidelines

4. 1. An alternative scope of license may apply to signatories of the STM Permissions Guidelines ("STM PG") as amended from time to time and made available at <https://www.stm-assoc.org/intellectual-property/permissions/permissions-guidelines/>.

4. 2. For content reuse requests that qualify for permission under the STM PG, and which may be updated from time to time, the STM PG supersedes the terms and conditions contained in this License.

4. 3. If a License has been granted under the STM PG, but the STM PG no longer apply at the time of publication, further permission must be sought from the Rightsholder. Contact journalpermissions@springernature.com or bookpermissions@springernature.com for these rights.

5. Duration of License

5. 1. Unless otherwise indicated on your License, a License is valid from the date of purchase ("License Date") until the end of the relevant period in the below table:

<https://s100.copyright.com/CustomAdmin/PLF.jsp?ref=7403fd75-283c-45a1-b085-4e96b415ede4>

3/6

CONTINUAÇÃO ANEXO B

30/12/2022 16:08

RightsLink Printable License

Reuse in a medical communications project	Reuse up to distribution or time period indicated in License
Reuse in a dissertation/thesis	Lifetime of thesis
Reuse in a journal/magazine	Lifetime of journal/magazine
Reuse in a book/textbook	Lifetime of edition
Reuse on a website	1 year unless otherwise specified in the License
Reuse in a presentation/slide kit/poster	Lifetime of presentation/slide kit/poster. Note: publication whether electronic or in print of presentation/slide kit/poster may require further permission.
Reuse in conference proceedings	Lifetime of conference proceedings
Reuse in an annual report	Lifetime of annual report
Reuse in training/CME materials	Reuse up to distribution or time period indicated in License
Reuse in newsmedia	Lifetime of newsmedia
Reuse in coursepack/classroom materials	Reuse up to distribution and/or time period indicated in license

6. Acknowledgement

6. 1. The Licensor's permission must be acknowledged next to the Licensed Material in print. In electronic form, this acknowledgement must be visible at the same time as the figures/tables/illustrations or abstract and must be hyperlinked to the journal/book's homepage.

6. 2. Acknowledgement may be provided according to any standard referencing system and at a minimum should include "Author, Article/Book Title, Journal name/Book imprint, volume, page number, year, Springer Nature".

7. Reuse in a dissertation or thesis

7. 1. Where 'reuse in a dissertation/thesis' has been selected, the following terms apply: Print rights of the Version of Record are provided for; electronic rights for use only on institutional repository as defined by the Sherpa guideline (www.sherpa.ac.uk/romeo/) and only up to what is required by the awarding institution.

7. 2. For theses published under an ISBN or ISSN, separate permission is required. Please contact journalpermissions@springernature.com or bookpermissions@springernature.com for these rights.

7. 3. Authors must properly cite the published manuscript in their thesis according to current citation standards and include the following acknowledgement: '*Reproduced with permission from Springer Nature*'.

8. License Fee

You must pay the fee set forth in the License Agreement (the "License Fees"). All amounts payable by you under this License are exclusive of any sales, use, withholding, value added or similar taxes, government fees or levies or other assessments. Collection and/or remittance of such taxes to the relevant tax authority shall be the responsibility of the party who has the legal obligation to do so.

9. Warranty

<https://s100.copyright.com/CustomerAdmin/PLF.jsp?ref=7403fd75-283c-45a1-b085-4e96b415ede4>

4/6

CONTINUAÇÃO ANEXO B

30/12/2022 16:08

RightsLink Printable License

9. 1. The Licensor warrants that it has, to the best of its knowledge, the rights to license reuse of the Licensed Material. **You are solely responsible for ensuring that the material you wish to license is original to the Licensor and does not carry the copyright of another entity or third party (as credited in the published version).** If the credit line on any part of the Licensed Material indicates that it was reprinted or adapted with permission from another source, then you should seek additional permission from that source to reuse the material.

9. 2. EXCEPT FOR THE EXPRESS WARRANTY STATED HEREIN AND TO THE EXTENT PERMITTED BY APPLICABLE LAW, LICENSOR PROVIDES THE LICENSED MATERIAL "AS IS" AND MAKES NO OTHER REPRESENTATION OR WARRANTY. LICENSOR EXPRESSLY DISCLAIMS ANY LIABILITY FOR ANY CLAIM ARISING FROM OR OUT OF THE CONTENT, INCLUDING BUT NOT LIMITED TO ANY ERRORS, INACCURACIES, OMISSIONS, OR DEFECTS CONTAINED THEREIN, AND ANY IMPLIED OR EXPRESS WARRANTY AS TO MERCHANTABILITY OR FITNESS FOR A PARTICULAR PURPOSE. IN NO EVENT SHALL LICENSOR BE LIABLE TO YOU OR ANY OTHER PARTY OR ANY OTHER PERSON OR FOR ANY SPECIAL, CONSEQUENTIAL, INCIDENTAL, INDIRECT, PUNITIVE, OR EXEMPLARY DAMAGES, HOWEVER CAUSED, ARISING OUT OF OR IN CONNECTION WITH THE DOWNLOADING, VIEWING OR USE OF THE LICENSED MATERIAL REGARDLESS OF THE FORM OF ACTION, WHETHER FOR BREACH OF CONTRACT, BREACH OF WARRANTY, TORT, NEGLIGENCE, INFRINGEMENT OR OTHERWISE (INCLUDING, WITHOUT LIMITATION, DAMAGES BASED ON LOSS OF PROFITS, DATA, FILES, USE, BUSINESS OPPORTUNITY OR CLAIMS OF THIRD PARTIES), AND WHETHER OR NOT THE PARTY HAS BEEN ADVISED OF THE POSSIBILITY OF SUCH DAMAGES. THIS LIMITATION APPLIES NOTWITHSTANDING ANY FAILURE OF ESSENTIAL PURPOSE OF ANY LIMITED REMEDY PROVIDED HEREIN.

10. Termination and Cancellation

10. 1. The License and all rights granted hereunder will continue until the end of the applicable period shown in Clause 5.1 above. Thereafter, this license will be terminated and all rights granted hereunder will cease.

10. 2. Licensor reserves the right to terminate the License in the event that payment is not received in full or if you breach the terms of this License.

11. General

11. 1. The License and the rights and obligations of the parties hereto shall be construed, interpreted and determined in accordance with the laws of the Federal Republic of Germany without reference to the stipulations of the CISG (United Nations Convention on Contracts for the International Sale of Goods) or to Germany's choice-of-law principle.

11. 2. The parties acknowledge and agree that any controversies and disputes arising out of this License shall be decided exclusively by the courts of or having jurisdiction for Heidelberg, Germany, as far as legally permissible.

11. 3. This License is solely for Licensor's and Licensee's benefit. It is not for the benefit of any other person or entity.

Questions? For questions on Copyright Clearance Center accounts or website issues please contact springernaturesupport@copyright.com or +1-855-239-3415 (toll free in the US) or +1-978-646-2777. For questions on Springer Nature licensing please visit <https://www.springernature.com/gp/partners/rights-permissions-third-party-distribution>

<https://s100.copyright.com/CustomerAdmin/PLF.jsp?ref=7403fd75-283c-45a1-b085-4e96b415ede4>

5/6

CONTINUAÇÃO ANEXO B

30/12/2022 16:08

RightsLink Printable License

Other Conditions:

Version 1.4 - Dec 2022

Questions? customercare@copyright.com or +1-855-239-3415 (toll free in the US) or +1-978-646-2777.

<https://s100.copyright.com/CustomAdmin/PLF.jsp?ref=7403fd75-283c-45a1-b085-4e96b415ede4>

6/6

ANEXO C - Capítulo publicado no livro Pesquisa e Atualizações em Ciência de Alimentos

<https://doi.org/10.53934/9786599539657-36>. Livro disponível em:
<https://agronfoodacademy.com/9786599539657/>



<https://doi.org/10.53934/9786599539657-36>

Capítulo 36

CONTAMINAÇÃO DE AMOSTRAS DE PEITO DE AVES DEFUMADAS POR HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS

Wagner Alves da Silva¹, Adriana Palma de Almeida², Gustavo Zanetti de Rosa³, Glória Maria Castro-Ribeiro⁴, Elisabete Aparecida Pereira da Silva Torres⁵, e Gisele Rodrigues Sampaio⁶

¹Titulante de doutorado da FAPESP - USP e Pesquisadora do Núcleo de Contaminantes Orgânicos - LAL/OP, E-mail: wagner.alves.silva@usp.br; ²Pesquisadora do Núcleo de Contaminantes Orgânicos - LAL/OP, E-mail: adriana.palma@fal.usp.br; ³Titulante de doutorado da FAPESP - USP, E-mail: gustavo.zanetti@usp.br; ⁴Titulante de doutorado da FAPESP - USP, E-mail: gloria@lalaop.com; ⁵Titulante de doutorado da FAPESP - USP, E-mail: elisabete@fal.usp.br; ⁶Docente do Depto de Nutrição - FAPESP - USP, E-mail: gisele@usp.br; ⁷Docente do Depto de Nutrição - FAPESP - USP, E-mail: gisele@usp.br.

Resumo: Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) podem ser encontrados em produtos cárneos defumados e, devido aos efeitos altamente tóxicos que podem causar no organismo humano, o monitoramento em produtos alimentícios é fundamental. O objetivo desta estudo foi avaliar os teores de quatro HPAs em produtos de aves defumados, incluindo churrasco, frango e peru. Os procedimentos analíticos empregados foram saponificação, extração líquido-líquido e purificação com cartuchos de extração em fase sólida de sílica. A quantificação foi realizada por cromatografia líquida de ultra eficiência com detecção por fluorescência. Os resultados mostraram que o hidrocarboneto encontrado com maior frequência foi o criseno e apenas uma amostra de peito de peru foi considerada insatisfatória, com teores dos quatro HPAs acima da preconizada na legislação.

Palavras-chave: contaminantes, cromatografia líquida, produtos cárneos

INTRODUÇÃO

Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) são compostos com dois ou mais anéis aromáticos fundidos em sua estrutura. Estes são formados a partir da combustão incompleta de matéria orgânica, como madeira, carvão, óleo, gás ou alimentos, permanecendo nas cadeias tróficas e perpetuando a contaminação de alimentos (1). Os HPAs são classificados de acordo com o número de anéis e grau de solubilidade: os HPAs leves (até quatro anéis) são mais voláteis e hidrofílicos, e os HPAs pesados (mais de quatro anéis) apresentam maior estabilidade química, estrutura lipofílica e maior toxicidade, contribuindo para sua permanência no meio ambiente e em tecidos ricos em lipídios (2,3).

CONTINUAÇÃO ANEXO C



Capítulo 36	318
Contaminação de AMOSTRAS DE PEITO DE AVES DEFUMADAS por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos	
Simone Alves da Silva ¹ ; Adriana Palma de Almeida ² ; Gustavo Zanetti de Rossi ³ ; Glória Maria Guzelini ⁴ ; Elizabeth Aparecida Ferraz da Silva Torres ⁵ ; Geni Rodrigues Sampaio ⁶	
Capítulo 37	324
AVALIAÇÃO DA ROTULAGEM DE ALIMENTOS FABRICADOS EM INHUMAS-GO	
Lethicya Lucas Pires da SILVA ¹ e Simone Silva MACHADO ²	
Capítulo 38	332
RESISTÊNCIA ANTIMICROBIANA DE <i>Salmonella</i> TYPHIMURIUM ISOLADAS DE ALIMENTOS E HUMANOS NO BRASIL	
Ana Laura Martins Ferreira ¹ ; Guilherme Paz Monteiro ² ; Eliane Pereira Mendonça ³ ; Fernanda Aparecida Longato dos Santos ⁴ ; Dália dos Prazeres Rodrigues ⁵ ; Daise Aparecida Rossi ⁶ ; Roberta Torres de Melo ⁷	
Capítulo 39	341
AVALIAÇÃO DAS AÇÕES PARA IMPLEMENTAÇÃO DA ROTULAGEM NUTRICIONAL EM PRODUTOS AGROINDUSTRIAIS NA POLIFEIRA DO AGRICULTOR	
Márcia Liliane Rippel Silveira ¹ ; Vanessa Pires da Rosa ² ; Andréia Cirolini ²	
Capítulo 40	350
QUALIDADE FÍSICO-QUÍMICA EM BONITO LISTRADO (<i>Katsuwonus pelamis</i>)	
Clarissa Maia de Aquino ¹ ; Elenice Martins Brasil ² ; Liseth Vanessa Perenguez Riofrio ³ ; Domickson Silva Costa ⁴ ; Maurício Laterça Martins ⁵ ; Vildes Maria Scussel ⁶ ; Giustino Tribuzzi ⁷	
Capítulo 41	359
FRUTAS: CONTAMINAÇÃO POR MICOTOXINAS, AGROTÓXICOS E ESTRATÉGIAS DE MITIGAÇÃO	
Marcy Helí Paiva Rodrigues ¹ ; Andressa Cunha Lemos ² ; Verônica Simões de Borba ³ ; Anelise Christ Ribeiro ⁴ ; Maristela Barnes Rodrigues Cerqueira ⁵ ; Eliana Badiale Furlong ⁶	
Capítulo 42	370
DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO PROXIMAL DE DIVERSOS ALIMENTOS DE ORIGEM VEGETAL E ANIMAL	
Andressa Soligo ¹ ; Andréia Dalla Rosa ² ; Maria Manuela Camino Feltes ³ ; Giniani Carla Dors ⁴	
Capítulo 43	379
FARINHA D'ÁGUA RIQUEZA DO BRASIL	
Lucas de Jesus Pereira dos Santos ¹ ;	
Capítulo 44	386
A IMPORTÂNCIA DA ATMOSFERA DE GÁS CARBÔNICO E DO MATERIAL DE EMBALAGEM NO PROLONGAMENTO DA ESTABILIDADE DO CAFÉ TORRADO MOÍDO E EM GRÃOS	
Anna Luiza Santana Neves ¹ ; Gabrieli Moura da Rocha Bastos ² ; Samarone Xavier Silva ³	
Capítulo 45	397
AVANÇOS TECNOLÓGICOS PARA SEGURANÇA DE ALIMENTOS: REVISÃO	
Paulo Leonardo Marotti Siciliano ¹	

ANEXO D - Autorização para uso na tese do capítulo de livro publicado no livro Pesquisa e Atualizações em Ciência de Alimentos

19/11/2022 19:40

E-mail de Universidade de São Paulo - Autorização para uso de capítulo de livro em tese de doutorado



Simone Alves da Silva <simone.alves.silva@usp.br>

Autorização para uso de capítulo de livro em tese de doutorado

Agron Food Academy <contato@agronfoodacademy.com>

19 de novembro de 2022 09:05

Para: Simone Alves da Silva <simone.alves.silva@usp.br>

Bom dia Simone,

Ficamos felizes por você! Autorizamos o uso e nos disponibilizamos para futuras parcerias!

O nosso lema é divulgar a ciência!

At.te

Em sex., 18 de nov. de 2022 às 14:35, Simone Alves da Silva <simone.alves.silva@usp.br> escreveu:

Prezados, boa tarde!

Gostaria de solicitar autorização para uso de capítulo de livro para uso em minha tese de doutorado.

"CONTAMINAÇÃO DE AMOSTRAS DE PEITO DE AVES DEFUMADAS POR HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS " (cap. 38) publicado no livro "PESQUISAS E ATUALIZAÇÕES EM CIÊNCIA DOS ALIMENTOS (Ebook)"

(consta no site <https://agronfoodacademy.com/9788599539657/>)

Sou a primeira autora do trabalho, e este trabalho compõe meu projeto de doutorado. Se permitirem a autorização, o capítulo estará também disponível na tese digital do portal de teses da Universidade de São Paulo.

Agradeço desde já e me coloco à disposição para esclarecimentos.

Atenciosamente,

—

Simone Alves da Silva

Doutoranda em Nutrição em Saúde Pública

Faculdade de Saúde Pública - Universidade de São Paulo

**ANEXO E - COMPROVANTE DE SUBMISSÃO DO MANUSCRITO NO PERIÓDICO
FOOD CHEMISTRY**

Fwd: FOODCHEM-D-22-10845 - Confirming your submission to Food Chemistry1 mensagem

DE: <EM@EDITORIALMANAGER.COM>

DATE: QUI., 1 DE DEZ. DE 2022 ÀS 16:00

Subject: FOODCHEM-D-22-10845 - Confirming your submission to Food Chemistry

To: Geni Rodrigues Sampaio <genirs@usp.br>

Dear Dr. Sampaio,

Your submission entitled **Occurrence and exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in traditional dry-cured or smoked meat products from Brazil** has been received by Food Chemistry. It has been assigned the following manuscript number: **FOODCHEM-D-22-10845**.

Your manuscript is now with our editorial office and will go through a technical check. This process typically takes 1-2 weeks. If it passes, it will receive a manuscript number and be assigned to the Editor-in-Chief or Senior Editor who will do an initial scientific assessment. If it passes this stage, it will be assigned to an editor for peer review.

For a more detailed description of the editorial process, please see Paper Lifecycle from Submission to Publication: http://help.elsevier.com/app/answers/detail/a_id/160/p/8045/

How can I track the progress of my submission?

You can track the status of your submission at any time at <https://www.editorialmanager.com/foodchem/>

Many thanks again for your interest in Food Chemistry.

Kind regards,
Editorial Manager
Food Chemistry

This journal uses the Elsevier Article Transfer Service. This means that if an editor feels your manuscript is more suitable for an alternative journal, then you might be asked to consider transferring the manuscript to such a journal. The recommendation might be provided by a Journal Editor, a dedicated Scientific Managing Editor, a tool assisted recommendation, or a combination. For more details see the journal guide for authors.

CURRÍCULO LATTES

**Simone Alves da Silva**Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/5483907317380174>ID Lattes: **5483907317380174**

Última atualização do currículo em 30/12/2022

Possui graduação em Engenharia Química pela Faculdade de Engenharia Química de Lorena (2003), licenciatura em Química pela Universidade de São Paulo (2009) e mestrado em Nutrição em Saúde Pública pela Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo (2015). Atualmente é Pesquisador Científico do Instituto Adolfo Lutz e aluna de doutorado na Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo. Tem experiência na área de Bromatologia, atuando principalmente nos seguintes temas: análise de alimentos utilizando cromatografia gasosa e líquida; análise de contaminantes orgânicos em alimentos; análise de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em alimentos; composição de ácidos graxos em óleos, gorduras e alimentos; composição centesimal de alimentos e bebidas. **(Texto informado pelo autor)**

Identificação

Nome	Simone Alves da Silva
Nome em citações bibliográficas	SILVA, S. A.; SILVA, SIMONE ALVES DA; DA SILVA, SIMONE ALVES; ALVES DA SILVA, SIMONE
Lattes ID	http://lattes.cnpq.br/5483907317380174
Orcid ID	https://orcid.org/0000-0001-6162-3154

Endereço

Endereço Profissional	Instituto Adolfo Lutz, Centro de Contaminantes, Núcleo de Contaminantes Orgânicos. Avenida Dr. Arnaldo, nº 355 Cerqueira Cesar 01246902 - São Paulo, SP - Brasil - Caixa-postal: 1783 Telefone: (11) 30682922 Fax: (11) 30853505 URL da Homepage: www.ial.sp.gov.br
------------------------------	--

Formação acadêmica/titulação

2018	Doutorado em andamento em Nutrição em Saúde Pública. Faculdade de Saude Publica da USP, FSP-USP, Brasil. Título: Influência das técnicas de preparo e cocção na formação dos contaminantes hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em carnes e embutidos: fatores de risco associados ao consumo Orientador: Elizabeth Aparecida Ferraz da Silva Torres. Coorientador: Geni Rodrigues Sampaio. Palavras-chave: hidrocarbonetos policíclicos aromáticos; produtos cárneos; defumação; cocção; risco.
2013 - 2015	Mestrado em Nutrição em Saúde Pública. Universidade de São Paulo, USP, Brasil. Título: Óleos vegetais extraídos a frio: avaliação das características de identidade e qualidade e da ocorrência de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, Ano de Obtenção: 2015. Orientador: Elizabeth Aparecida Ferraz da Silva Torres. Palavras-chave: óleos vegetais; ácidos graxos; oxidação de lipídeos; hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. Grande área: Ciências Agrárias
2011 - 2012	Grande Área: Ciências da Saúde / Área: Nutrição / Subárea: Bioquímica da Nutrição. Especialização em Vigilância Sanitária de Alimentos. (Carga Horária: 500h). Universidade de São Paulo, USP, Brasil. Título: Teores de ácidos graxos trans em alimentos industrializados consumidos no Brasil.
2005 - 2009	Graduação em Química. Universidade de São Paulo, USP, Brasil.
1998 - 2003	Graduação em Engenharia Química. Faculdade de Engenharia Química de Lorena, FAENQUIL, Brasil.



Elizabeth Aparecida Ferraz da Silva Torres

Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/9804923403746874>
 ID Lattes: **9804923403746874**
 Última atualização do currículo em 14/12/2022

Engenheira Agrônoma com mestrado, doutorado e pós-doutorado na área de Ciência de Alimentos, Profa. Elizabeth completou seu doutorado sanduiche na Michigan State University (MI, USA). No último dia 10 de janeiro, completou 31 anos de carreira atuando no ensino para alunos de graduação em nutrição e em pós-graduação em nutrição e saúde pública, realizando pesquisas diretamente na área de ciência e tecnologia de alimentos, com destaque para alimentos funcionais, substâncias bioativas e doenças crônicas não-transmissíveis, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, modelos em células Caco-2, e alimento e humor (MoodFood), bem como na área de extensão universitária realizando dezenas de curso, eventos e treinamentos para a comunidade. Nestes 31 anos de atividade acadêmica, orientou 34 trabalhos de iniciação científica, 30 dissertações de mestrado e 19 teses de doutorado. Atualmente orienta um aluno de iniciação científica, 2 de mestrado, 6 de doutorado e dois de pós-doutorado. Publicou 172 artigos em periódicos especializados. Publicou ou Organizou ou colaborou em 11 livros. Recebeu seis prêmios e homenagens. Recentemente teve trabalhos apresentados como capa das revistas Food & Function e Journal of Food Bioactives. Ganhou prêmio de terceiro lugar como melhor pôster na categoria internacional no IFT (New Orleans, USA). Publicou vários livros e um deles, Nutrição em Saúde Pública, foi indicado para prêmio Jabuti em 2018. Foi responsável por mais de 25 projetos de pesquisa financiados. É revisora de várias revistas científicas nacionais e internacionais. Também é Diretora Científica da Associação Brasileira de Nutrição em Saúde Mental (ABNSM). Atualmente coordena o projeto de pesquisa com auxílio intitulado "Efeito do guaraná em pó na modulação de biomarcadores inflamatórios e neurotróficos e em sintomas depressivos relacionados ao transtorno depressivo maior?". É membro da CRInt da Faculdade de Saúde Pública - Assuntos de Internacionalização. Possui várias parcerias nacionais e internacionais, UFRRJ, UNICAMP, Kagawa University, Memorial University, Universidade do Chile, Universidade de Deakin, dentre outras. Também é consultor do Conselho Científico (C3) ILSI Brasil. **(Texto informado pelo autor)**

Identificação

Nome	Elizabeth Aparecida Ferraz da Silva Torres
Nome em citações bibliográficas	TORRES, E. A. F. S.;Torres, Elizabeth Aparecida Ferraz Da Silva;Torres, Elizabeth A. F. S.;Elizabeth Aparecida F.S. Torres;Torres, Elizabeth Aparecida F.S.;Elizabeth A. F. da S. Torres;TORRES, ELIZABETH A. F. DA S.;da Silva Torres EA;Da Silva Torres Elizabeth;DA SILVA TORRES, ELIZABETH;TORRES, E.A.F.S.;Da Silva Torres, Elizabeth AFS;Da Silva Torres, Elizabeth AF;DA SILVA TORRES, ELIZABETH A.F.;DA SILVA TORRES, ELIZABETH APARECIDA FERRAZ;APARECIDA FERRAZ DA SILVA TORRES, ELIZABETH;TORRES, E.;FERRAZ DA SILVA TORRES, ELIZABETH APARECIDA;TORRES, ELIZABETH
Lattes ID	http://lattes.cnpq.br/9804923403746874
Orcid ID	https://orcid.org/0000-0002-1012-1418

Endereço

Endereço Profissional	Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública, Departamento de Nutrição. Faculdade de Saúde Pública Pacaembu 01246904 - São Paulo, SP - Brasil Telefone: (11) 30617857 Fax: (11) 30617130
------------------------------	--

Formação acadêmica/titulação

1984 - 1988	Doutorado em Ciências dos Alimentos (Conceito CAPES 7). Universidade de São Paulo, USP, Brasil. Título: OXIDACAO LIPIDICA EM CHARQUE. , Ano de obtenção: 1988. Orientador: MASSAMI SHIMOKOMAKI - PhD. Bolsista do(a): Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP, Brasil.
--------------------	--



Geni Rodrigues Sampaio

Endereço para acessar este CV: <http://lattes.cnpq.br/1488754705550506>

ID Lattes: **1488754705550506**

Última atualização do currículo em 23/03/2022

Possui graduação em Ciências Biológicas, especialização em vigilância sanitária de alimentos (FSP - USP), mestrado (2004) e doutorado (2009) em Nutrição Humana Aplicada pela Universidade de São Paulo. Desde 2008 é especialista de laboratório e a responsável técnica pelos Laboratórios de Componentes Alimentares e Saúde e de Genômica Nutricional e Inflamação da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo. Têm experiência na área de alimentos, nutrição e saúde, atuando principalmente nos seguintes temas: contaminantes alimentares, hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, composição de alimentos, ácidos graxos, óxidos de colesterol, compostos bioativos, atividade antioxidante e oxidação lipídica. É colaboradora em projetos com grupos de pesquisa do Instituto Adolfo Lutz, Faculdade de Medicina ? USP, Pontificia Universidad Católica de Chile; Kagawa University (Japão), dentre outros. Possui artigos científicos publicados em periódicos científicos nacionais e internacionais, além de capítulos de livros em obras de referência na área de alimentos e saúde que abordam os seguintes temas: visão geral das quantidades de componentes alimentares e contaminantes envolvendo diferentes processamentos de alimentos e novas estratégias para prevenir e reduzir efeitos prejudiciais à saúde humana, além de compreender os mecanismos moleculares envolvidos. Além disso, tem participações em eventos científicos e tecnológicos de alta relevância periodicamente, nos quais apresentam seus trabalhos e atua como revisora de vários periódicos nacionais e internacionais. **(Texto informado pelo autor)**

Identificação

Nome	Geni Rodrigues Sampaio
Nome em citações bibliográficas	SAMPAIO, G. R.; Sampaio, Geni R.; Sampaio, Geni Rodrigues; SAMPAIO, GENI; SAMPAIO, G.R.; RODRIGUES SAMPAIO, GENI; GENI R SAMPAIO
Lattes ID	http://lattes.cnpq.br/1488754705550506
Orcid ID	https://orcid.org/0000-0002-7763-4664

Endereço

Endereço Profissional	Universidade de São Paulo, Faculdade de Saúde Pública, Departamento de Nutrição. Av. Dr Arnaldo, 715 Pinheiros 01246-000 - Sao Paulo, SP - Brasil Telefone: (11) 30617748 URL da Homepage: http://
------------------------------	---

Formação acadêmica/titulação

2005 - 2009	Doutorado em Nutrição Humana Aplicada. Universidade de São Paulo, USP, Brasil. Título: Mel e condimentos como protetores da oxidação lipídica em carne de frango, Ano de obtenção: 2009. Orientador: Elizabeth Aparecida Ferraz da Silva Torres. Bolsista do(a): Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, Brasil.
2001 - 2004	Mestrado em Nutrição Humana Aplicada (Conceito CAPES 3). Universidade de São Paulo, USP, Brasil. Título: Ocorrência de óxidos de colesterol e análise do perfil lípido em camarão salgado-seco, Ano de Obtenção: 2004. Orientador: Elizabeth Aparecida Ferraz da Silva Torres. Bolsista do(a): Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, CNPq, Brasil. Palavras-chave: óxidos de colesterol; pescados; oxidação lipídica. Grande área: Ciências da Saúde Grande Área: Ciências da Saúde / Área: Nutrição / Subárea: Bioquímica da Nutrição. Grande Área: Ciências Agrárias / Área: Ciência e Tecnologia de Alimentos / Subárea: Tecnologia de Alimentos / Especialidade: Tecnologia de Produtos de Origem Animal. Setores de atividade: Nutrição e Alimentação.
1998 - 1998	Especialização em Vigilância Sanitária Em Alimentos. (Carga Horária: 500h). Universidade de São Paulo, USP, Brasil.
1994 - 1997	