

## O TEOR DE CACAU EM CHOCOLATES E A CONCENTRAÇÃO DE ELEMENTOS TÓXICOS: UMA RELAÇÃO DE RISCO À SAÚDE HUMANA?

**CARLA DE ANDRADE HARTWIG<sup>1</sup>; RODRIGO MENDES PEREIRA<sup>1</sup>; SANDRA MEINEN DA CRUZ<sup>2</sup>; LUAN FERREIRA PASSOS<sup>1</sup>; VANIZE CALDEIRA DA COSTA<sup>1</sup>; MÁRCIA FOSTER MESKO<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos, Universidade Federal de Pelotas – carlahartwig@yahoo.com.br; marciamesko@yahoo.com.br

<sup>2</sup>Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Maria

### 1. INTRODUÇÃO

Os chocolates são produtos alimentares constituídos de uma mistura de derivados de cacau (*Theobroma cacao L.*) – massa de cacau, cacau em pó e/ou manteiga de cacau – com outros ingredientes. Dentre os tipos de chocolate mais consumidos no Brasil, na forma de barras, estão os chocolates brancos, chocolates ao leite e chocolates à base de cacau (“amargos”), os quais diferem entre si principalmente pela quantidade e tipo de derivado de cacau que apresentam em sua constituição (AFOAKWA; PATERSON; FOWLER, 2007).

De maneira geral, o amplo consumo de chocolate por pessoas de todas as idades e classes sociais não é atribuído somente ao sabor do produto, mas também aos benefícios que pode trazer à saúde, tendo em vista que são reconhecidas fontes de energia, proteínas e carboidratos, além de contribuírem para uma vida saudável devido à presença de flavonóides e polifenóis, originários do cacau. A partir disso, o teor de cacau dos chocolates tem sido considerado como uma medida da qualidade destes produtos (AFOAKWA; PATERSON; FOWLER, 2007; WATSON; PREEDY; ZIBADI, 2013; VILLA; PEIXOTO; CADORE, 2014). Entretanto, atualmente os chocolates têm sido investigados quanto à presença de elementos potencialmente tóxicos ao organismo humano, os quais podem ser introduzidos durante o processo de fabricação, ou ter sua origem nos ingredientes utilizados para a obtenção do produto, dentre os quais se destaca o cacau (DAHIYA *et al.*, 2005; WATSON; PREEDY; ZIBADI, 2013; VILLA; PEIXOTO; CADORE, 2014).

Dentre os elementos potencialmente tóxicos encontrados em chocolates e que podem ter sua concentração associada ao teor de cacau destes produtos, encontram-se o cádmio, o níquel e o chumbo (WATSON; PREEDY; ZIBADI, 2013). Ingestões elevadas de Cd e Pb têm sido associadas a danos ao fígado, insuficiência renal, entre outros. Por sua vez, o Ni, um dos principais contaminantes em chocolates, é potencial carcinogênico e alergênico (CETESB, 2015).

Dentre os métodos analíticos disponíveis para a determinação elementar em chocolates, merece destaque o uso da digestão assistida por radiação micro-ondas associada à radiação ultravioleta (MW-UV) para o preparo das amostras, com subsequente determinação por espectrometria de massas com plasma indutivamente acoplado (ICP-MS), recentemente proposto na literatura (HARTWIG *et al.*, 2016). As principais vantagens desse método incluem a capacidade de determinação multielementar em baixas concentrações e a possibilidade do uso de soluções ácidas diluídas, com eficiência na decomposição de amostras com consideráveis teores de gordura (FLORIAN; KNAPP, 2001; HARTWIG *et al.*, 2016).

Assim, neste trabalho a MW-UV associada à ICP-MS foi aplicada para a decomposição e subsequente determinação de Cd, Ni e Pb em variados tipos de chocolates, visando avaliar a existência de uma relação entre o teor de cacau das amostras e as concentrações dos elementos investigados.

## 2. METODOLOGIA

### 2.1 Amostras

As amostras de chocolates brancos (CB), chocolates ao leite (CL) e chocolates à base de cacau (CC) com teores variados deste constituinte, foram adquiridas no comércio da cidade de Pelotas/RS, sendo oriundas de diversas regiões do Brasil. Amostras representando os variados tipos de chocolate avaliados foram aleatoriamente selecionadas para os ensaios de caracterização físico-química, os quais compreenderam as determinações gravimétricas de umidade e cinzas, e a extração das gorduras totais pelo método de Soxhlet, segundo os métodos 931.04, 972.15, e 963.15, respectivamente, recomendados pela *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC) (WORWITZ, LATIMER, 2011). A amostra CL1 foi selecionada, também de forma aleatória, para os ensaios de aplicação do método.

### 2.2 Decomposição das amostras

Amostras de chocolate (0,5 a 0,7 g), manualmente cominuídas, foram decompostas em forno micro-ondas (Multiwave 3000, Anton Paar), na presença de lâmpada de emissão de radiação UV, e 10 ml de solução digestora ( $\text{HNO}_3$  4 mol  $\text{l}^{-1}$ ). A irradiação com micro-ondas (550 W) foi mantida por 40 min (rampa de 20 min), seguida de 15 min de resfriamento (0 W) (HARTWIG *et al.*, 2016). As soluções resultantes foram diluídas a 25 ml com água ultrapura.

### 2.3 Avaliação da eficiência de decomposição

As soluções obtidas com a decomposição de massas de amostra variadas, após purgadas com argônio para a eliminação do  $\text{CO}_2$  dissolvido, foram levadas à determinação da concentração de carbono, a qual foi conduzida em um espectrômetro de emissão óptica com plasma indutivamente acoplado (ICP OES, Spectro Ciros CCD, Spectro Analytical Instruments). A curva de calibração para C (10 a 250 mg  $\text{l}^{-1}$ ) foi preparada em  $\text{HNO}_3$  5% v/v, a partir de solução concentrada de ácido cítrico e em presença de ítrio como padrão interno. A acidez dos digeridos também foi avaliada por titulação com KOH em presença de indicador fenolftaleína.

### 2.4 Determinação de Cd, Ni e Pb em chocolates

A determinação de Cd, Ni e Pb nos chocolates avaliados foi promovida por ICP-MS (Elan DRC II, PerkinElmer SCIEX). Os isótopos  $^{111}\text{Cd}$ ,  $^{58}\text{Ni}$  e  $^{208}\text{Pb}$  foram monitorados. A curva de calibração (0,025 a 10  $\mu\text{g l}^{-1}$ ) foi preparada em  $\text{HNO}_3$  5% v/v, a partir de solução padrão multielementar (SCP 33MS, SPEX Certiprep). A exatidão dos resultados foi avaliada através de um ensaio de recuperação, onde foi feita a decomposição de 0,15 g de material de referência certificado (CRM) BCR 414 (*Plankton*) misturado à amostra de chocolate (0,35 g).

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos na caracterização físico-química das amostras (Tabela 1) foram similares aos reportados na literatura (AFOAKWA; PATERSON; FOWLER, 2007; TACO, 2011). Como pode ser observado, o teor considerável de gordura das amostras justifica o uso da MW-UV como método de preparo de amostras. Além disso, a maior concentração de cinzas nos chocolates com maiores teores de cacau em sua composição sugere a presença de maior conteúdo mineral nestas amostras.

**Tabela 1 –** Teores de umidade, cinzas e gorduras em chocolates ao leite (CL), branco (CB) e com concentrações variadas de cacau (CC 28, 40, 70 e 85%). Resultados expressos em % (média ± desvio padrão, n = 3).

Amostra	Umidade	Cinzas	Gordura
CL	1,7 ± 0,2	1,9 ± 0,1	34 ± 3
CB	2,2 ± 0,2	1,6 ± 0,1	34 ± 2
CC (28% de cacau)	3,5 ± 0,3	1,9 ± 0,2	33 ± 2
CC (40% de cacau)	1,7 ± 0,1	1,5 ± 0,1	32 ± 2
CC (70% de cacau)	1,6 ± 0,1	2,4 ± 0,2	40 ± 3
CC (85% de cacau)	2,1 ± 0,2	2,6 ± 0,3	39 ± 3

Para o preparo das amostras por MW-UV foi avaliada a decomposição das massas 0,5, 0,6 e 0,7 g de chocolate, sendo que para as duas primeiras massas foram obtidas concentrações de C em solução de cerca de 80 mg l<sup>-1</sup> e acidez residual de cerca de 0,015 e 0,009 mol de HNO<sub>3</sub>, respectivamente. Por sua vez, a decomposição de 0,7 g de chocolate, gerou digeridos com concentrações de C em solução de cerca de 230 mg l<sup>-1</sup> e acidez residual de cerca de 0,005 mol de HNO<sub>3</sub>. Assim, 0,6 g foi selecionada como a massa máxima de chocolate a ser decomposta no sistema utilizando as condições estabelecidas, por ser a maior massa dentre as avaliadas em que foi verificada a ocorrência de decomposição eficiente. Ainda, a baixa acidez residual verificada nesta condição, corrobora com a decomposição insatisfatória observada quando uma maior massa de chocolate (0,7 g) foi avaliada.

Posteriormente, o método MW-UV foi aplicado a variados tipos de chocolates e os resultados para Cd, Ni e Pb estão apresentados na Tabela 2.

**Tabela 2 –** Concentrações de Cd, Ni e Pb, determinadas por ICP-MS, em variados tipos de chocolate. Resultados expressos em µg kg<sup>-1</sup> (média ± desvio padrão, n = 3).

Amostra	Cd	Ni	Pb
CB1	<0,981	104 ± 5	<7,85
CB2	<0,981	107 ± 6	15,2 ± 0,9
CL1	7,31 ± 0,36	558 ± 33	15,1 ± 0,6
CL2	13,5 ± 0,7	537 ± 29	14,2 ± 0,9
CC1 (28% de cacau)	12,5 ± 0,8	948 ± 47	45,0 ± 2,4
CC2 (40% de cacau)	21,7 ± 1,3	1583 ± 71	55,1 ± 2,5
CC3 (70% de cacau)	45,4 ± 1,9	2150 ± 133	55,3 ± 2,5
CC4 (85% de cacau)	53,0 ± 3,3	3260 ± 166	47,8 ± 2,3

\*Limites de detecção para Cd: 0,981 µg kg<sup>-1</sup>; Ni: 29,7 µg kg<sup>-1</sup> e Pb: 7,85 µg kg<sup>-1</sup>.

Os resultados obtidos evidenciam que Ni apresenta concentrações superiores aos demais elementos investigados, em todos os tipos de chocolate avaliados. Com relação às concentrações obtidas, Cd e Ni se apresentam em concentrações crescentes nos chocolates avaliados, de acordo com o teor de cacau informado. No entanto, para as concentrações de Pb, não foi observada relação direta com o teor de cacau dos chocolates, embora este elemento esteja em concentrações superiores nos chocolates à base de cacau em comparação aos demais tipos de chocolate.

É importante ressaltar que todas as amostras de chocolate avaliadas apresentaram concentrações de Cd e Pb inferiores aos limites estabelecidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA - RDC 42, 2013). No entanto, não são expressos na legislação brasileira limites máximos para Ni em chocolates.

A exatidão dos resultados foi comprovada pela decomposição do CRM BCR 414 misturado à amostra na forma de um ensaio de recuperação, onde recuperações superiores a 96% foram obtidas para todos os analitos. Ainda, o método utilizado proporcionou resultados com elevada precisão (desvio padrão relativo < 6,5%) e valores de brancos analíticos adequados.

#### 4. CONCLUSÕES

A decomposição de chocolates por MW-UV mostrou-se adequada para a posterior determinação de Cd, Ni e Pb por ICP-MS com precisão e exatidão adequadas. A partir dos resultados obtidos foi possível estabelecer uma relação entre o teor de cacau dos chocolates avaliados e a concentração de alguns dos elementos investigados. Ainda foi possível verificar que os chocolates à base de cacau contém as maiores concentrações dos elementos potencialmente tóxicos investigados, em comparação aos demais tipos de chocolate.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 42, de 29 de agosto de 2013. Acesso em 29 jul 2015. Disponível em: <http://portal.anvisa.gov.br>.
- AFOAKWA, E. O.; PATERSON, A.; FOWLER, M. Factors influencing rheological and textural qualities in chocolate – a review. **Trends in Food Science and Technology**, v.18, p.290-298, 2007.
- CETESB – Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Ficha de Informação Toxicológica. Acessado em 29 jul 2016. Disponível em: <http://laboratorios.cetesb.sp.gov.br/servicos/informacoestoxicologicas>.
- DAHIYA, S.; KARPE, R.; HEDGE, A. G.; SHARMA, R. M. Lead, cadmium and nickel in chocolates and candies from suburban areas of Mumbai, India. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.18, p.517-522, 2005.
- FLORIAN, D.; KNAPP, G. High-temperature, microwave-assisted UV-digestion: a promising sample preparation technique for trace element analysis. **Analytical Chemistry**, v.73, p.1515-1520, 2001.
- HARTWIG, C. A; PEREIRA, R. M.; RONDAN, F. S.; CRUZ, S. M.; DUARTE, F. A.; FLORES, E. M. M.; MESKO, M. F. The synergic effect of microwave and ultraviolet radiation for chocolate digestion and further determination of As, Cd, Ni and Pb by ICP-MS. **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, v.31, p.523-530, 2016.
- TACO – Tabela Brasileira de Composição de Alimentos. Campinas: NEPA – UNICAMP, 2011.
- VILLA, J. E. L.; PEIXOTO, R. R. A.; CADORE, S. Cadmium and Lead in Chocolates Commercialized in Brazil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, p. 8759-8763, 2014.
- WATSON, R. R.; PREEDY, V. R.; ZIBADI, S. **Chocolate in Health and Nutrition**. London: Springer, 2013.
- WORWITZ, W.; LATIMER, G. W. **Official Methods of Analysis of AOAC International**. Gaithesburg: AOAC International, 2011.