

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

**AVALIAÇÃO DA INGESTÃO DE HIDROCARBONETOS
POLICÍCLICOS AROMÁTICOS ATRAVÉS DA DIETA**

PARECER

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida por Mônica Cristiane Rojo de Camargo, aprovada pela Comissão Julgadora em 06 de março de 2001.

Mônica Cristiane Rojo de Camargo

Campinas, 06 de março de 2001

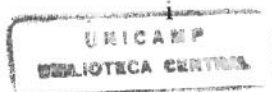
Profa. Dra. Maria Cecília de Figueiredo Toledo
orientadora

m. cecilia de f. toledo

Profa. Dra. Maria Cecília de F. Toledo
Presidente da Banca

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, para a obtenção do título de Doutor em Ciência de Alimentos.

- 2000 -



UNIDADE 86
 N.º CHAMADA:
UNICAMP
C14a
 V. Ex.
 TOMBO BC/ 44602
 PROC. 16-392/02
 C ☐ D ☒
 PREÇO R\$ 11,00
 DATA 18/05/07
 N.º CPD

CM00156287-6

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
 BIBLIOTECA DA F.E.A. - UNICAMP

C14a Camargo, Mônica Cristiane Rojo de
 Avaliação da ingestão de hidrocarbonetos policíclicos
 aromáticos através da dieta / Mônica Cristiane Rojo de Camargo.
 – Campinas, SP: [s.n.], 2000.

Orientador: Maria Cecília de Figueiredo Toledo
 Dissertação (doutorado) – Universidade Estadual de
 Campinas.Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1.Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. 2.Poluentes.
 3.Dieta. 4.Cromatografia líquida de alta eficiência.
 5.Alimentos. I.Toledo, Maria Cecília de Figueiredo.
 II.Universidade Estadual de Campinas.Faculdade de Engenharia
 de Alimentos. III.Título.

BANCA EXAMINADORA

m. Maria de F. Toledo

Profa. Dra. Maria Cecília de Figueiredo Toledo
(orientadora)

Lúcia Valente Soares

Prof. Dra. Lúcia Valente Soares
(membro)

Isabel Jardim

Prof. Dra. Isabel Cristina Sales Fontes Jardim
(membro)

Adriana Z. Mercadante

Prof. Dra. Adriana Zerlotti Mercadante
(membro)

Antonio Pupin

Dr. Antonio Marcos Pupin
(membro)

Prof. Dra. Helena Teixeira Godoy
(membro)

Prof. Dra. Isa Beatriz Noll
(membro)

Para meu filho Bruno

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. Maria Cecília de Figueiredo Toledo, pela orientação desta tese, pelos ensinamentos transmitidos, buscando sempre indicar o melhor caminho e principalmente, por toda dedicação dispensada ao longo desses anos.

À FAPESP, pela concessão da bolsa de doutorado e de auxílio à pesquisa tornando possível a realização deste projeto.

Aos membros da banca, pelas correções e sugestões apresentadas à redação final da tese.

À Daniela Mariuzzo, do Laboratório Geral, pela realização das análises no espectômetro de massas, por seu constante apoio e disponibilidade.

À Sílvia Amélia, do Laboratório de Toxicologia, pela realização das análises com o detector de varredura de diodos.

Ao Eduardo Vicente, do ITAL, que muito me ajudou durante o desenvolvimento da parte experimental.

Ao Fernando Rodrigues, do ITAL, pela colaboração técnica prestada durante as análises.

Ao pessoal do Laboratório de Toxicologia, pela amizade e companheirismo sempre demonstrados.

ÍNDICE GERAL

	página
ÍNDICE DE TABELAS.....	xiv
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xvii
LISTA DE ANEXOS.....	xix
INTRODUÇÃO.....	01
OBJETIVOS.....	03
CAPÍTULOS.....	05
 Capítulo 1 – Revisão Bibliográfica.....	 05
1.1. Histórico.....	07
1.2. Formação, propriedades gerais e origem.....	08
1.3. Toxicidade dos HPAs.....	11
1.4. Estudos epidemiológicos.....	17
1.5. Ocorrência em alimentos.....	18
1.5.1. HPAs em alimentos defumados.....	18
1.5.2. HPAs em alimentos grelhados.....	19
1.5.3. HPAs em vegetais e frutas.....	20
1.5.4. HPAs em cereais.....	21
1.5.5. HPAs em óleos e gorduras.....	23
1.5.6. HPAs em bebidas.....	24
1.5.7. HPAs na água.....	25
1.5.8. HPAs em alimentos de origem marinha.....	26
1.5.9. HPAs em açúcares.....	27
1.6. Consumo de HPAs através da dieta.....	27
1.7. Avaliação da ingestão de contaminantes através da dieta.....	29
1.7.1. Métodos para a obtenção de dados de consumo de alimentos.....	 30

1.7.2. Metodologias para a avaliação da ingestão de contaminantes.....	33
1.8. Consumo de alimentos no Brasil.....	35
1.9. Métodos de análises de HPAs.....	47
1.9.1. Extração.....	47
1.9.2. Determinação cromatográfica.....	48
1.9.3. Confirmação da identidade dos HPAs.....	49
1.10. Legislação.....	49
1.11. Referências Bibliográficas.....	50
 Capítulo 2 – Avaliação da ingestão diária de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) através da dieta brasileira.....	
Resumo.....	69
Abstract.....	71
Introdução.....	73
Material e Métodos.....	75
Dados de consumo.....	77
Amostragem.....	77
Dados analíticos.....	80
Ingestão de HPAs.....	80
Resultados e Discussão.....	81
Dados analíticos.....	81
Ingestão de HPAs.....	84
Referências Bibliográficas.....	88
 Capítulo 3 – Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Brazilian vegetables and fruit.....	
Abstract.....	93
Introduction.....	95
Materials and Methods.....	97
	98

Sampling.....	98
Reagents.....	98
PAHs.....	98
Methodology.....	99
Extraction.....	100
Clean up.....	100
Analysis.....	100
Quantification of PAHs.....	101
Peak identity.....	101
Recovery and repeatability studies.....	101
Results and Discussion.....	102
References.....	111

Capítulo 4 - Avaliação da ingestão de hidrocarbonetos policíclicos

aromáticos (HPAs) nas diferentes regiões metropolitanas do

Brasil.....	113
Resumo.....	115
Abstract.....	117
Introdução.....	119
Material e Métodos.....	120
Avaliação da ingestão de HPAs.....	120
Dados de consumo.....	120
Amostras.....	126
Determinação de HPAs.....	127
Resultados e Discussão.....	129
Referências Bibliográficas.....	135

Capítulo 5 – Avaliação da contaminação de diferentes grupos de

alimentos por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos 141

Resumo.....	143
Abstract.....	145
1. Introdução.....	147
2. Material e Métodos.....	148
2.1. Amostras.....	148
2.2. Preparação das amostras.....	148
2.3. Padrões e reagentes.....	149
2.4. Metodologia.....	150
2.4.1. Extração.....	150
2.4.2. Limpeza em coluna de sílica gel.....	151
2.4.3. Análise cromatográfica.....	151
2.4.4. Confirmação da identidade dos HPAs.....	152
2.4.5. Quantificação.....	152
2.5. Validação da metodologia.....	153
2.5.1. Recuperação.....	153
2.5.2. Limite de recuperação.....	153
3. Resultados e Discussão.....	153
4. Referências Bibliográficas.....	164
 Capítulo 6 – Determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos	
(HPAs) em chá e café.....	169
Resumo.....	171
Summary.....	173
1. Introdução.....	175
2. Material e Métodos.....	176
2.1. Obtenção de dados de consumo.....	176
2.2. Amostras.....	177
2.3. Procedimento analítico.....	177
2.3.1. Saponificação, extração e purificação do extrato.....	178
2.3.2. Desenvolvimento cromatográfico.....	179

2.3.3. Recuperação.....	179
2.4. Estimativa da ingestão de HPAs.....	179
3. Resultados e Discussão.....	180
3.1. Dados analíticos.....	180
3.2. Ingestão de HPAs.....	185
4. Conclusões.....	187
5. Referências Bibliográficas.....	187
 Capítulo 7 - Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em óleos	
de soja produzidos e comercializados no Brasil.....	191
Resumo.....	193
Abstract.....	195
1. Introdução.....	197
2. Material e Métodos.....	198
2.1. Amostras.....	198
2.2. HPAs.....	198
2.3. Metodologia.....	199
Extração de óleos vegetais.....	200
Extração de margarinas.....	200
Limpeza em Coluna de Sílica Gel.....	200
Análise cromatográfica.....	201
Confirmação da identidade dos HPAs.....	201
Recuperação.....	202
3. Resultados e Discussão.....	202
4. Referências Bibliográficas.....	210
CONCLUSÃO.....	215
ANEXOS.....	217

ÍNDICE DE TABELAS

Capítulo 1	12
Tabela 1. HPAs, abreviação, carcinogenicidade e mutagenicidade.....	19
Tabela 2. Teor de benzo(a)pireno em alguns alimentos defumados.....	19
Tabela 3. HPAs em alfaces cultivadas em diferentes regiões.....	21
Tabela 4. Teor de benzo(a)pireno em diferentes óleos vegetais.....	24
Tabela 5. Estimativa da ingestão de HPAs ($\mu\text{g}/\text{pessoa}/\text{dia}$) em diferentes países.....	29
Tabela 6. Métodos para a obtenção de dados de consumo.....	30
Tabela 7. Consumo alimentar domiciliar no Brasil - Quantidade de alimentos consumidos (gramas/pessoa/dia), segundo as diferentes capitais e grupos de alimentos, de acordo com os dados gerados pela POF 1987/88.....	39
Tabela 8. Consumo alimentar domiciliar no Brasil - Quantidade de alimentos consumidos (gramas/pessoa/dia), segundo as diferentes capitais e grupos de alimentos, de acordo com os dados gerados pela POF 1995/96.....	41
Tabela 9. Contribuição dos diferentes grupos de alimentos (%) no total consumido nas diferentes regiões metropolitanas brasileiras, de acordo com os dados gerados pela POF 1987/1988.....	43
Tabela 10. Contribuição dos diferentes grupos de alimentos (%) no total consumido nas diferentes regiões metropolitanas brasileiras, de acordo com os dados gerados pela POF 1995/1996.....	45
Capítulo 2	
Tabela 1. Alimentos da dieta brasileira mais consumidos (g/pessoa/dia), segundo dados do IBGE (POF - 1995/1996).....	79

Tabela 2. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs): abreviação, carcinogenicidade e limite de detecção.....	81
Tabela 3. Níveis médios de HPAs ($\mu\text{g/kg}$) nos subgrupos de alimentos.....	83
Tabela 4. Ingestão de HPAs ($\mu\text{g/pessoa/dia}$) através da dieta.....	85

Capítulo 3

Table 1. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), their abbreviations and carcinogenicity.....	99
Table 2. MS detector data acquisition parameters.....	102
Table 3. Limits of detection, mean recoveries and coefficients of variation of PAHs added to lettuce and apple samples.....	105
Table 4. Average and maximum PAHs levels ($\mu\text{g/kg}$) in lettuce from different growing sites.....	107
Table 5. Average and maximum PAHs levels ($\mu\text{g/kg}$) in tomato from different growing sites.....	108
Table 6. Average and maximum PAHs levels ($\mu\text{g/kg}$) in cabbage from different growing sites.....	109
Table 7. Average and maximum PAHs levels ($\mu\text{g/kg}$) in fruit.....	110

Capítulo 4

Tabela 1. Grupos, subgrupos e produtos usados para compor a dieta das diferentes regiões metropolitanas brasileiras.....	122
Tabela 2. Modelo de consumo alimentar domiciliar no Brasil – Quantidade de alimentos consumidos (gramas/pessoa/dia), segundo as diferentes capitais e grupos de alimentos.....	123
Tabela 3. Contribuição dos diferentes grupos de alimentos (%) no total consumido nas diferentes regiões metropolitanas brasileiras.....	125
Tabela 4. Abreviação, limite de detecção e carcinogenicidade dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos analisados.....	128

Tabela 5. Condições usadas na determinação de HPAs por CLAE nos diferentes produtos que compõe a dieta da população brasileira.	128
Tabela 6. Teores médios de HPAs ($\mu\text{g/kg}$) por grupos de alimentos analisados.....	129

Capítulo 5

Tabela 1. Alimentos selecionados para análise nos diferentes grupos alimentícios.....	149
Tabela 2. HPAs, abreviação, carcinogenicidade e limite de detecção.....	150
Tabela 3. Recuperação dos padrões de HPAs em diferentes grupos de alimentos.....	154
Tabela 4. Teores de HPAs ($\mu\text{g/kg}$) em diferentes produtos.....	161

Capítulo 6

Tabela 1. Estimativa de consumo diário de chá e café pela população de Campinas, SP.....	176
Tabela 2. Dados de recuperação dos padrões de HPAs em amostras de café.....	181
Tabela 3. Teores de HPAs ($\mu\text{g/kg}$) no pó de café e na bebida pronta.....	182
Tabela 4. Níveis médios de HPAs ($\mu\text{g/kg}$) em amostras de chá mate.....	185
Tabela 5. Ingestão de HPAs através do chá e do café pela população de Campinas.....	186

Capítulo 7

Tabela 1. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos e os respectivos limites de detecção.....	199
Tabela 2. Dados de recuperação de HPAs em óleo de soja.....	203
Tabela 3. Níveis médios e máximos de HPAs ($\mu\text{g/kg}$) em óleos de soja de três diferentes lotes e marcas.....	208
Tabela 4. Níveis médios de HPAs ($\mu\text{g/kg}$) nas amostras de margarina.....	209

ÍNDICE DE FIGURAS

Capítulo 1

Figura 1. Estrutura química de alguns HPAs.....	09
Figura 2. Metabolismo do benzo(a)pireno e formação da “bay region” dos dihidrodióis epóxidos.....	15

Capítulo 2

Figura 1. Contribuição de diferentes grupos de alimentos na ingestão potencial de HPAs carcinogênicos.....	86
--	----

Capítulo 3

Figure 1. Chromatograms of (a) mixture of PAHs standards and (b) lettuce sample. Conditions: column Vydac 201 TP; mobile phase acetonitrile-water (75:25, v/v) and fluorescence detection.....	103
--	-----

Capítulo 4

Figura 1. Ingestão diária de HPAs totais e carcinogênicos nas diferentes regiões metropolitanas brasileiras.....	130
Figura 2. Contribuição de grupos de alimentos na ingestão de HPAs na região Sul.....	131
Figura 3. Contribuição de grupos de alimentos na ingestão de HPAs na região Sudeste.....	132
Figura 4. Contribuição de grupos de alimentos na ingestão de HPAs na região Nordeste.....	133
Figura 5. Contribuição de grupos de alimentos na ingestão de HPAs nas regiões Norte e Centro-Oeste.....	134

Capítulo 5

Figura 1. Cromatogramas, obtidos por CLAE, referentes a amostras de (a) farinha de mandioca; (b) (d) arroz. Coluna C18 (Vydac 201 TP); fase móvel acetonitrila-água (75:25, v/v), detecção por fluorescência.....	155
Figura 2. Cromatogramas, obtidos por CLAE, referentes a amostras de (a) pão francês; (b) bolacha água e sal. Coluna C18 (Vydac 201 TP), fase móvel acetonitrila-água (75:25, v/v), detecção por fluorescência.....	157

Capítulo 7

Figura 1. Cromatogramas, obtidos por CLAE, referentes a amostras de (a) óleo de soja; (b) margarina. Coluna C18 (Vydac 201 TP), fase móvel acetonitrila-água (75:25, v/v), detecção por fluorescência.....	205
--	-----

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1. Cromatogramas, obtidos por CLAE, referentes a amostras de (a) maçã; (b) uva. Coluna C18 (Vydac 201 TP), fase móvel acetonitrila-água (75:25, v/v), vazão: 1,0 ml/min; volume de injeção: 30 µl; detecção por fluorescência.....	219
ANEXO 2. Cromatogramas, obtidos por CLAE, referentes a amostras de (a) leite; (b) queijo. Coluna C18 (Vydac 201 TP), fase móvel acetonitrila-água (75:25, v/v), vazão: 1,0 ml/min; volume de injeção: 30 µl; detecção por fluorescência.....	221
ANEXO 3. Cromatogramas, obtidos por CLAE, referentes a amostras de (a) feijão; (b) ervilha. Coluna C18 (Vydac 201 TP), fase móvel acetonitrila-água (75:25, v/v), vazão: 1,0 ml/min; volume de injeção: 30 µl; detecção por fluorescência.....	223
ANEXO 4. Cromatogramas, obtidos por CLAE, referentes a amostras de (a) batata; (b) cenoura. Coluna C18 (Vydac 201 TP), fase móvel acetonitrila-água (75:25, v/v), vazão: 1,0 ml/min; volume de injeção: 30 µl; detecção por fluorescência.....	225
ANEXO 5. Cromatogramas, obtidos por CLAE, referentes a amostras de (a) pó de café. Coluna C18 (Vydac 201 TP), fase móvel acetonitrila-água (75:25, v/v), vazão: 1,0 ml/min; volume de injeção: 30 µl; detecção por fluorescência.....	227

ANEXO 6. Cromatogramas, obtidos por CLAE, referentes a amostras de (a) pizza, (b) açúcar. Coluna C18 (Vydac 201 TP), fase móvel acetonitrila-água (75:25, v/v), vazão: 1,0 ml/min; volume de injeção: 30 µl; detecção por fluorescência.....	229
ANEXO 7. Cromatogramas, obtidos por CLAE, referentes a amostras de (a) bacon, (b) salsicha. Coluna C18 (Vydac 201 TP), fase móvel acetonitrila-água (75:25, v/v), vazão: 1,0 ml/min; volume de injeção: 30 µl; detecção por fluorescência.....	231
ANEXO 8. Cromatograma, obtido por CG-MS referente à mistura de HPAs. Padrões: 1. fluoranteno, 2. pireno; 3. benzo(a)antraceno, 4. criseno; 5. benzo(e)pireno, 6. benzo(b)fluoranteno, 7. benzo(k)fluoranteno, 8. benzo(a)pireno, 9. dibenzo(ah)antraceno e 10. benzo(ghi)perileno.....	233
ANEXO 9. Espectros de massas dos padrões fluoranteno e pireno, de acordo com as condições estabelecidas no ANEXO 8.....	235
ANEXO 10. Espectros de massas dos padrões benzo(a)antraceno e criseno, de acordo com as condições estabelecidas no ANEXO 8.....	237
ANEXO 11. Espectros de massas dos padrões benzo(b)fluoranteno e benzo(k)fluoranteno, de acordo com as condições estabelecidas no ANEXO 8.....	239

ANEXO 12. Espectros de massas dos padrões benzo(e)pireno e benzo(a)pireno de acordo com as condições estabelecidas no ANEXO 8.....	241
ANEXO 13. Espectros de massas dos padrões dibenzo(ah)antraceno e benzo(ghi)perileno de acordo com as condições estabelecidas no ANEXO 8.....	243
ANEXO 14. Cromatograma, obtido por CG-MS, referente a uma amostra de alface.....	245
ANEXO 15. Cromatograma, obtido por CG-MS, referente a uma amostra de uva.....	247
ANEXO 16. Cromatograma, obtido por CG-MS, referente a uma amostra de bolacha água e sal.....	249
ANEXO 17. Cromatograma, obtido por CG-MS, referente a uma amostra de pão integral.....	251
ANEXO 18. Cromatograma, obtido por CLAE, com detector de varredura de diodos referente à mistura de HPAs. Condições cromatográficas: Coluna C18 (Vydac 201 TP), fase móvel acetonitrila-água (75:25, v/v), vazão: 1,0 ml/min; volume de injeção: 30 µl.....	253
ANEXO 19. Espectro de absorvância dos HPAs: fluoranteno (FLU), pireno (PY) e benzo(a)antraceno (B(a)A) obtidos por detector de arranjo de diodos.....	255

ANEXO 20. Espectro de absorvância dos HPAs: criseno (CRI), benzo(e)pireno (B(e)P e benzo(b)fluranteno B(b)F obtidos por detector de arranjo de diodos.....	257
ANEXO 21. Espectro de absorvância dos HPAs: benzo(k)fluoranteno (B(K)F); benzo(a)pireno (B(a)P); dibenzo(ah)antraceno (D(ah)A) e benzo(ghi)perileno (B(ghi)P) obtidos por detector de arranjo de diodos.....	259
ANEXO 22. Cromatograma por CLAE referente à uma amostra de óleo de soja. Coluna C18 (Vydac 201 TP); fase móvel acetonitrila – água (75:25, v/v), vazão: 1,0 ml/min; volume de injeção: 30 µl detector de varredura de diodos.....	261
ANEXO 23. Cromatograma por CLAE referente à uma amostra de bacon. Coluna C18 (Vydac 201 TP); fase móvel acetonitrila – água (75:25, v/v), vazão: 1,0 ml/min; volume de injeção: 30 µl detector de varredura de diodos.....	263
ANEXO 24. Cromatograma por CLAE referente à uma amostra de pão. Coluna C18 (Vydac 201 TP); fase móvel acetonitrila – água (75:25, v/v), vazão: 1,0 ml/min; volume de injeção: 30 µl detector de varredura de diodos.....	265
ANEXO 25. Cromatograma por CLAE referente à uma amostra de açúcar. Coluna C18 (Vydac 201 TP); fase móvel acetonitrila – água (75:25, v/v), vazão: 1,0 ml/min; volume de injeção: 30 µl detector de varredura de diodos.....	267

INTRODUÇÃO

Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) são um grupo de compostos formados durante a combustão incompleta de material orgânico, como no caso da queima da madeira e de óleos combustíveis.

Os HPAs têm recebido muita atenção nos últimos anos devido ao fato de que muitos compostos desse grupo são potentes carcinógenos em animais experimentais. A Agência Internacional para Pesquisa em Câncer (IARC) identificou seis HPAs como prováveis carcinogênicos ao homem: benzo(a)antraceno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno, dibenzo(ah)antraceno e indeno(1,2,3, cd-pireno).

A contaminação de alimentos por HPAs se deve principalmente à poluição do ar e da água, à sua presença em solos terrestres e marinhos e a certos tipos de processamento como defumação, torrefação e secagem direta com madeira, que contaminam, por exemplo, carnes, queijos, grãos, cereais, café e óleos vegetais.

Dessa forma, pesquisas têm sido realizadas em diferentes países com o objetivo de determinar a presença desses contaminantes nos mais variados gêneros alimentícios, assim como avaliar sua ingestão através da dieta. Para tanto, é necessário determinar os níveis de HPAs presentes nos diferentes alimentos que compõem a dieta e identificar o grupo ou os grupos de alimentos que mais contribuem para a ingestão dos mesmos, pois as fontes de exposição variam de acordo com os hábitos alimentares.

Até o momento, não existem no Brasil informações sobre a presença de HPAs em diferentes grupos de alimentos que compõem a dieta. Encontram-se disponíveis dados de contaminação em apenas alguns tipos específicos de alimentos como produtos cárneos, óleos vegetais, margarinas, cremes vegetais e maioneses.

OBJETIVOS

Considerando-se, portanto, o elevado potencial carcinogênico de certos HPAs e, pelo fato de no Brasil não existirem dados de ingestão através da dieta, o presente estudo teve por objetivos:

- Caracterizar grupos de alimentos que fazem parte da dieta do brasileiro e analisá-los quanto à presença de HPAs;
- Identificar o alimento ou grupo de alimentos que mais contribuem como fonte de exposição aos HPAs na dieta;
- Estimar a ingestão diária potencial dos HPAs carcinogênicos através de dietas totais características de diferentes regiões do Brasil.

CAPÍTULO 1

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1. HISTÓRICO

Já em 1775 Percival Pott, médico inglês, notou que limpadores de chaminés apresentavam alta incidência de câncer de escroto (DIPPLE *et al.*, 1984; IARC, 1985).

Posteriormente, em 1912, dois cientistas japoneses (Yamagiwa & Ichikawa) observaram que o alcatrão da hulha, quando aplicado em orelhas de coelhos e camundongos, induzia à formação de tumores malignos. Esses resultados estimularam estudos químicos e toxicológicos no alcatrão, permitindo assim a descoberta de um produto rico em hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) (BARTLE, 1991).

Em 1922, Deelman foi o primeiro a reportar que a obtenção dos HPAs carcinogênicos a partir do alcatrão da hulha dependia da temperatura de destilação do mesmo, ou seja, quanto maior a temperatura de destilação maior a quantidade de HPAs carcinogênicos obtidos. Segundo BLOCH & DREIFUSS (1921), citado em IARC (1985), a maior parte da fração carcinogênica era obtida a partir da destilação do alcatrão em temperaturas superiores a 300 °C. Esses resultados foram confirmados por outros pesquisadores (IARC, 1985).

Na década de 30, Kennaway e colaboradores conseguiram isolar, a partir do alcatrão da hulha, o benzo(a)pireno (COOK *et al.*, 1932, citado pela IARC, 1985; ROE, 1993; WALLER, 1994). Este hidrocarboneto, devido ao seu elevado potencial carcinogênico, passou a ser o composto mais estudado dentre os HPAs e tem sido usado como um indicador arbitrário da contaminação de diferentes tipos de alimentos por outros hidrocarbonetos.

Foi justamente essa atividade carcinogênica dos HPAs, estabelecida há mais de 70 anos, que despertou o interesse no estudo dos mesmos ao longo do tempo, tendo como consequência o desenvolvimento de vários métodos analíticos para isolá-los e quantificá-los em diferentes matrizes, seja ar, água, solo ou alimentos.

1.2. FORMAÇÃO, PROPRIEDADES GERAIS E ORIGEM

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos podem ser definidos como compostos orgânicos formados por dois ou mais anéis benzenos fundidos, os quais podem ou não conter grupos substituintes ligados (FAZIO & HOWARD, 1983). A anelação pode ser linear (anéis de 6 membros são localizados em uma linha reta, como o antraceno) ou angular (anéis de 6 membros são localizados em linhas retas diferentes, sempre com um ângulo de 120° entre elas, como o criseno), conforme ilustrado na Figura 1.

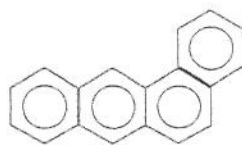
Os HPAs são formados durante a combustão incompleta de material orgânico, como na queima da madeira e de óleos combustíveis (HOWARD & FAZIO, 1980; TIEFENBACHER *et al.*, 1982; GRASSO, 1984; LARSSON, 1986; BARTLE, 1991).

Nesses processos, tanto a quantidade quanto a composição de HPAs produzidos variam dependendo, entre outros, das condições de reação, temperatura e quantidade de ar (GOMAA *et al.*, 1993). A formação desses compostos é favorecida pela queima da matéria orgânica em temperaturas variando entre 500-900 °C, especialmente acima dos 700 °C (BARTLE, 1991). Acredita-se que a combustão envolva dois processos principais:

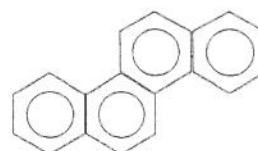
- pirólise: decomposição dos compostos de alta massa molar em estruturas menores, a maioria radicais livres;
- pirossíntese: os compostos formados durante a pirólise se recombinaem para formar estruturas relativamente estáveis, entre elas os HPAs.



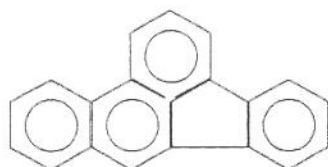
Pireno



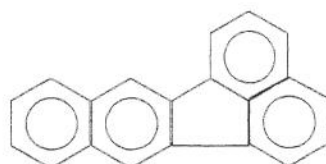
Benzo(a)antraceno



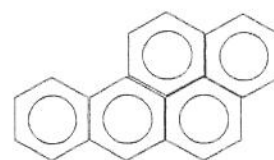
Criseno



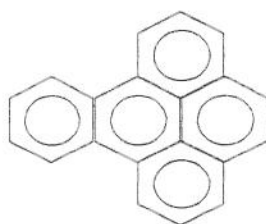
Benzo(b)fluoranteno



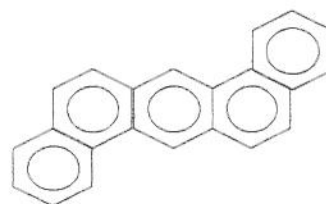
Benzo(k)fluoranteno



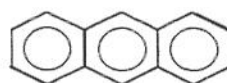
Benzo(a)pireno



Benzo(e)pireno



Dibenzo(ah)antraceno



Antraceno

Figura 1. Estrutura química de alguns HPAs.

Existem também evidências de que esses contaminantes podem ocorrer naturalmente no ambiente devido à síntese endógena por microorganismos, algas, fitoplanctos, etc. (SUESS, 1976, citado por HOWARD & FAZIO, 1980). Contudo, SUESS (1976), citado por HOWARD & FAZIO (1980) considera que essa fonte é pouco importante quando comparada àquelas induzidas pelo homem através dos processos de combustão, da queima do carvão, da produção de coque pelas indústrias de ferro e aço ou através do “cracking” do petróleo.

Os HPAs apresentam elevada solubilidade em solventes orgânicos e, conseqüentemente, uma baixa solubilidade em água (ANDELMAN & SUESS, 1970). No entanto, na presença de outros compostos orgânicos e de detergentes aniônicos, a solubilidade em água pode aumentar sensivelmente, facilitando sua passagem tanto para o meio ambiente como para a cadeia alimentar (LO & SANDI, 1978).

1.3. TOXICIDADE DOS HPAS

Os HPAs são substâncias potencialmente carcinogênicas, que pertencem à classe dos pró-carcinogênicos, necessitando de ativação metabólica para formar o carcinógeno ativo (JERINA *et al.*, 1978; LO & SANDI, 1978; WILLIAMS & WEISBURGER, 1980; CONNEY, 1982; IARC, 1983; VAESSEN *et al.*, 1988; BARTLE, 1991; SHIELDS, 1993; VON SZENTPALY & SHAMOVSKY, 1995). Entretanto, nem todo HPA, como por exemplo, fluoranteno, pireno, apresenta atividade biológica (BARTLE, 1991). Seis compostos têm sido identificados como provocando uma resposta carcinogênica efetiva em animais experimentais: benzo(a)antraceno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno, dibenzo(a,h)antraceno e indeno (1,2,3 cd-pireno) (IARC, 1983; BARTLE, 1991). Desses, o benzo(a)pireno é o mais conhecido e o que tem sido exaustivamente estudado nos últimos anos (GRASSO, 1984; VON SZENTPALY & SHAMOVSKY, 1995). A Tabela 1 compara a atividade carcinogênica de alguns HPAs (BARTLE, 1991).

Tabela 1. HPAs, abreviação, carcinogenicidade e mutagenicidade¹.

Composto	Nome abreviado	Evidência de carcinogenicidade em animais experimentais	Mutagenicidade para <i>Salmonella typhimurium</i> (Teste de Ames)
Fluoranteno	Flu	nenhuma	positivo
Pireno	Py	nenhuma	positivo
Benzo(a)antraceno	B(a)A	suficiente	positivo
Criseno	Chy	limitada	positivo
Benzo(e)pireno	B(e)P	suficiente	positivo
Benzo(b)fluoranteno	B(b)F	suficiente	positivo
Benzo(k)fluoranteno	B(k)F	suficiente	positivo
Benzo(a)pireno	B(a)P	suficiente	positivo
Dibenzo(ah)antraceno	D(ah)A	suficiente	positivo
Benzo(ghi)perileno	B(ghi)P	insuficiente	positivo

¹ Fontes: IARC (1983); Bartle (1991).

A Figura 2 ilustra a biotransformação do benzo(a)pireno. Após entrar no organismo humano por inalação ou ingestão, este composto sofre oxidação enzimática pelas oxidases de função mista do citocromo P450 e se transforma em vários epóxidos, os quais são hidrolisados aos diidrodióis epóxidos correspondentes pela ação da epóxido hidrolase (CONNEY, 1982; BARTLE, 1991; THOMSON, *et al.*, 1995). Esses dióis formados, ao sofrerem novamente a ação de enzimas do citocromo P450, se transformam em epóxidos carcinogênicos. Embora seja possível a obtenção de quatro formas enantioméricas para cada diol epóxido formado, estudos mostraram que apenas os isômeros correspondentes às estruturas (a) e (c) (Figura 2) são extensivamente obtidos. Essas duas estruturas estão envolvidas nas reações com o DNA em sistemas celulares, sendo que a estereoquímica *R,S,S,R* (análogo à estrutura (a) da Figura 2) é responsável pela maior parte da ação carcinogênica

(STEZOWSKI *et al.*, 1984; PELTONEN & DIPPLE, 1995; VON SZENTPALY & SHAMOVSKY, 1995).

Dessa forma, tem-se demonstrado que a atividade carcinogênica dos HPAs está relacionada àqueles compostos cujos intermediários formados possuem um anel epóxido adjacente a uma "bay region" (um denticulo no esqueleto do hidrocarboneto), como indicado na Figura 2 (JERINA *et al.*, 1978; CONNEY, 1982; PELTONEN & DIPPLE, 1995).

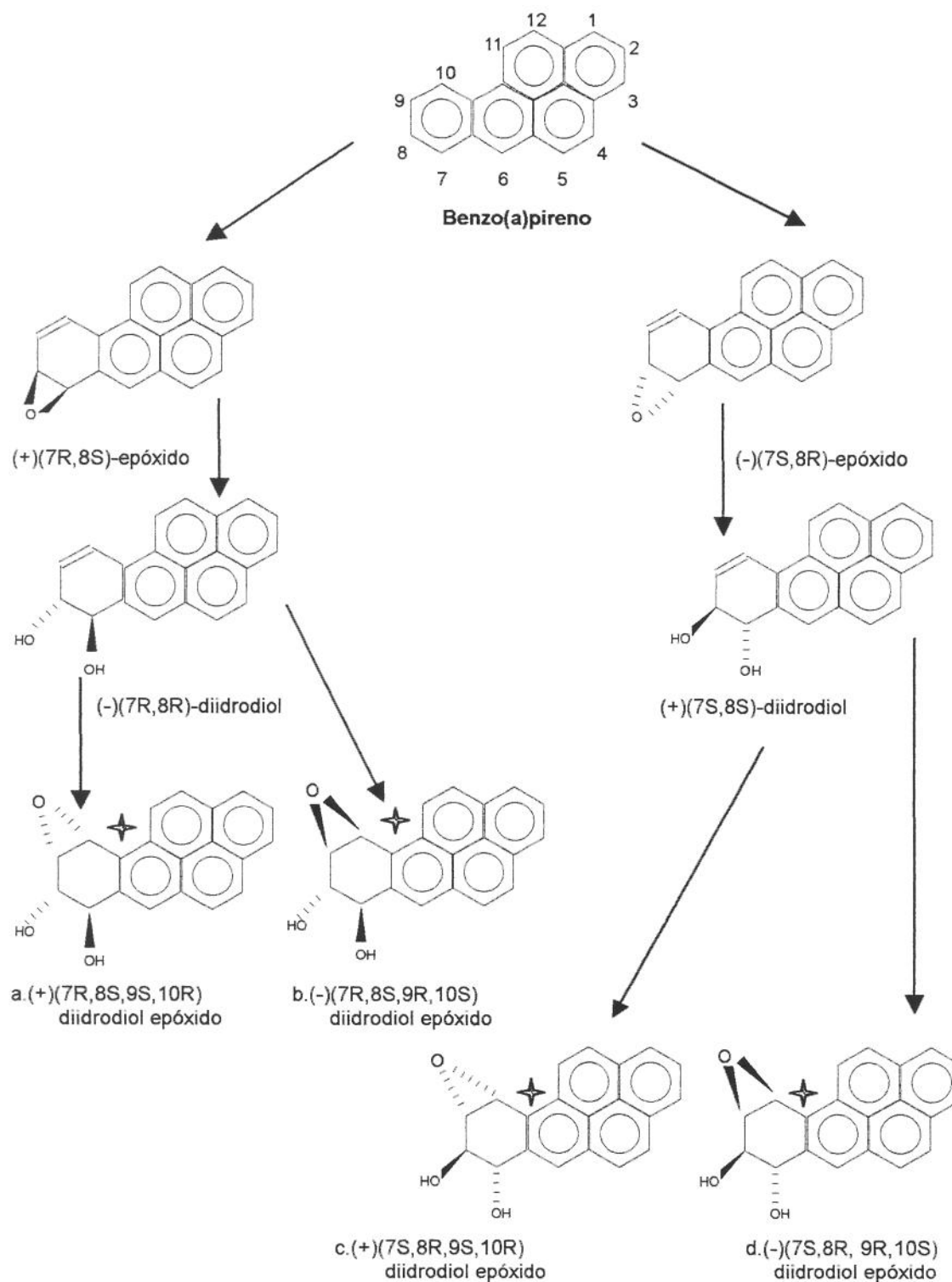


Figura 2. Metabolismo do benzo(a)pireno e formação da "bay region" ($\star$) nos diidrodióis epóxidos (PELTONEN & DIPLLE, 1995).

1.4. ESTUDOS EPIDEMIOLÓGICOS

O maior obstáculo para uma avaliação epidemiológica, segundo alguns autores (SWALLOW, 1976; IARC, 1985), são as exposições generalizadas dos indivíduos a vários compostos químicos diferentes, além dos HPAs.

No entanto, com base em hábitos alimentares e exposição ocupacional, estudos epidemiológicos têm sido feitos, tentando correlacionar, principalmente:

- HPAs e câncer de estômago (BAILEY & DUNGAL, 1958; DUNGAL, 1961; EMEROLE, 1980; SOOS, 1984, citado por SAINT-AUBERT, 1992);
- HPAs e câncer de intestino (HECHT & La VOIE, 1981, citados por SAINT-AUBERT *et al.*, 1992; MUSCAT & WYNDER, 1994);
- HPAs e câncer de pulmão (LEE & WRIGTH, 1980; PURDHAM *et al.*, 1993; VAN ROOIJ *et al.*, 1993; ARMSTRONG *et al.*, 1994; ELOVAARA *et al.*, 1995; NADON *et al.*, 1995);
- HPAs e câncer de fígado (EDINGTON & McLEAN, 1965, citados por EMEROLE, 1980);
- HPAs e câncer de pele (SWALLOW, 1976; VAN ROOIJ *et al.*, 1993; VAN SCHOOTEN *et al.*, 1994; ELOVAARA *et al.*, 1995).

Em relação aos alimentos, as pesquisas mostraram que o consumo de produtos defumados, os quais possuem altos teores de HPAs, era o fator comum em todos os casos de câncer diagnosticados. Quanto à exposição ocupacional, houve uma correlação entre trabalhadores de fábricas de alumínio e o desenvolvimento de câncer de pulmão (ARMSTRONG *et al.*, 1994).

Uma das maneiras de estimar a extensão da exposição humana aos HPAs é através da detecção do 1-hidroxi-pireno (metabólito do pireno) (NY *et al.*, 1993; VAN ROOIJ *et al.*, 1993; FUSTINONI *et al.*, 1995; HATJIAN *et al.*, 1995; HEIKKILÄ *et al.*, 1995; LEVIN *et al.*, 1995; QUINLAN *et al.*, 1995; VAN WIJNEN *et al.*, 1995). Esse composto tem sido encontrado em níveis mais elevados na urina de trabalhadores expostos ao óleo de creosoto, à destilação do alcatrão de hulha, aos fornos de coque e à pavimentação de rodovias (LARSEN, 1995).

Pesquisa realizada por VAN SCHOOTEN *et al.* (1994) com usuários de shampoo anti-caspa mostrou que houve um aumento na excreção de 1-hidroxipireno na urina, poucos dias após o início da exposição. Sabe-se que esse tipo de shampoo contém alcatrão, um produto rico em HPAs. Os autores questionaram o balanço risco x benefício dessa prática.

1.5. OCORRÊNCIA DE HPAS EM ALIMENTOS

Os HPAs ocorrem como contaminantes em diferentes grupos de alimentos, incluindo vegetais, frutas, carnes, óleos e gorduras, grãos, bebidas, alimentos grelhados, torrados e de origem marinha (HOWARD & FAZIO, 1980; GRASSO, 1984; LARSSON, 1986; BARTLE, 1991). São provenientes principalmente de processamentos como defumação, secagem, torrefação, alguns tipos de cozimento, embalagens, assim como da poluição ambiental (BARTLE, 1991).

1.5.1. HPAs em alimentos defumados

Uma vez que a combustão incompleta dos componentes da madeira gera grandes quantidades de HPAs, produtos defumados são inevitavelmente contaminados com esses hidrocarbonetos (LARSSON, 1986; BARTLE, 1991).

Vários estudos têm sido conduzidos a fim de identificar a presença de HPAs em alimentos defumados (BAILEY & DUNGAL, 1958; THORSTEINSSON, 1969; FRETHEIM, 1976; LINTAS *et al.*, 1979; FAZIO & HOWARD, 1983; TIEFENBACHER *et al.*, 1982; EMEROLE, 1980; MAGA, 1986; ALONGE, 1988; OGBADU & OGBADU, 1989; GOMAA *et al.*, 1993; YABIKU *et al.*, 1993; CHEN *et al.*, 1996; NOLL & TOLEDO, 1997a; BOSSET *et al.*, 1998; FALCÓN *et al.*, 1999). Os níveis de benzo(a)pireno relatados por diferentes autores em alguns desses produtos estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Teor de benzo(a)pireno em alguns alimentos defumados.

<i>Alimento</i>	<i>Benzo(a)pireno ($\mu\text{g/kg}$)</i>	<i>Referência Bibliográfica</i>
Carnes	10,5 – 66,9	ALONGE, 1988
Chá	5,8	OGBADU & OGBADU, 1989
Bacon	0,40	GOMAA <i>et al.</i> , 1993
Carne de porco	2,50	GOMAA <i>et al.</i> , 1993
Linguiça	2,30	GOMAA <i>et al.</i> , 1993
Peito de peru	0,10	GOMAA <i>et al.</i> , 1993
Frango	0,20	YABIKU <i>et al.</i> , 1993
Linguiça	0,71 – 1,36	NOLL & TOLEDO, 1997a
Queijo	n.d. – 4,2	BOSSET <i>et al.</i> , 1998
Bacon	0,011	FALCÓN <i>et al.</i> , 1999
Presunto	0,0090	FALCÓN <i>et al.</i> , 1999
Queijo	0,91	FALCÓN <i>et al.</i> , 1999

n.d.: não detectado

1.5.2. HPAs em alimentos grelhados

A avaliação da contaminação de alimentos grelhados por HPAs foi iniciada com a análise de carnes assadas sobre grelha (LARSSON, 1986). Estudos posteriores na mesma linha identificaram que a formação de HPAs nesse tipo de processamento é maior em função da presença de gordura na carne. Esta, pela ação do calor, pinga sobre o fogo, pirolisa e retorna na forma de fumaça, carregando os compostos carcinogênicos, que contaminam a carne. Foi constatado que quanto maior o teor de gordura maior é a contaminação por HPAs (LARSSON, 1986; GREENBERG *et al.*, 1993, NOLL & TOLEDO, 1997b).

1.5.3. HPAs em vegetais e frutas

Os vegetais estão entre as principais fontes de benzo(a)pireno na dieta humana, especialmente quando cultivados em áreas com maior poluição ambiental (LARSSON & SAHLBERG, 1981). Os particulados da poluição do ar se depositam na superfície dos vegetais e das frutas, onde são concentrados pela camada de cera através de adsorção superficial (COATES *et al.*, 1986; LARSSON, 1986). Dessa forma, os teores de HPAs encontrados nas superfícies dos vegetais ou na casca das frutas serão maiores do que nos tecidos internos, sendo as plantas com maior área superficial de exposição, como é o caso de alfaces, couve e espinafre, as mais susceptíveis à contaminação (LARSSON, 1986).

Os níveis de HPAs presentes nos vegetais e nas frutas dependem, principalmente, da localização das áreas de cultivo. Em geral, regiões muito industrializadas e próximas de rodovias fornecem amostras com maiores quantidades de HPAs do que aquelas provenientes de zonas rurais. EDWARD (1983), citado por LARSSON (1986), determinou níveis de benzo(a)pireno acima de 18 µg/kg em amostras de alface retiradas de uma horta perto de uma fábrica de produção de alumínio. Em relação às estradas, EDWARD (1983) mostrou que quanto mais próximo da estrada (tráfego médio) for o cultivo, maior a quantidade de benzo(a)pireno encontrado nas alfaces (Tabela 3).

Pesquisadores evidenciaram que vegetais cultivados em solos contaminados com HPAs apresentavam maior quantidade destes hidrocarbonetos, sem existir, no entanto, uma correlação entre os teores de HPAs presentes no solo e aqueles encontrados nos vegetais (DÖRR, 1970; SHABAD & COHAN, 1972; FRITZ, 1983, citados por LARSSON, 1986).

O tipo de HPA presente nos diferentes vegetais também pode dar uma idéia da fonte de contaminação da área de cultivo (LARSSON, 1986). Quanto maior for a concentração de HPAs de alta massa molar, como é o caso, por exemplo, do indeno(1,2,3-cd)pireno e benzo(g,h,i)perileno, maior é a influência de gases de exaustão de automóveis.

A Tabela 3 mostra os níveis de HPAs encontrados em alfaces cultivadas em diferentes regiões da Suécia (LARSSON & SAHLBERG, 1981).

Tabela 3. Níveis de benzo(a)pireno em alfaces cultivadas em diferentes regiões¹.

<i>Benzo(a)pireno (µg/kg)</i>			
<i>Fonte da alface</i>	<i>Média</i>	<i>Faixa</i>	<i>Σ HPAs (µg/kg)</i>
<i>auto estrada</i>			
8 a 15 m	1,0	<0,1 - 31,7	50
15 a 50 m	0,4	0,2 - 1,6	26
<i>aeroporto</i>			
150 a 800 m	0,5	0,1 - 1,0	24
<i>fábrica de alumínio</i>			
0,5 a 1,5 km	12,4	2,4 - 18,0	654
2,0 a 6,5 km	1,3	1,0 - 3,1	128
<i>áreas industriais</i>	0,1	<0,1 - 7,3	13
<i>áreas residenciais</i>			
urbanas	0,2	<0,1 - 1,0	13
rurais	0,1	<0,1 - 0,4	12

¹ Fonte: LARSSON & SAHLBERG (1981).

1.5.4. HPAs em cereais

De maneira análoga aos vegetais e frutas, a contaminação dos cereais por HPAs no meio ambiente varia em função da localização das áreas de cultivo. Segundo LARSSON (1986), os níveis de HPAs em grãos provenientes de regiões muito industrializadas são superiores àqueles encontrados em zonas rurais. FRITZ & ENGST (1982), por sua vez, demonstraram que solos contaminados com HPAs também são responsáveis pela contaminação dos grãos.

Além da influência do meio ambiente, no período de cultivo dos grãos, estes podem também ser contaminados durante a secagem, quando gases de combustão são aplicados diretamente (LARSSON, 1986; LARSSON *et al.*, 1991). A quantidade de HPAs gerada por este processo depende principalmente do tipo de combustível usado e das condições de queima do mesmo. ROHRLICH & SUCKOW (1970), citados por LARSSON (1986), reportaram que a secagem direta, utilizando óleo como combustível fez com que os níveis de benzo(a)pireno em grãos de trigo aumentassem 7 vezes (de 0,2 para 1,35 µg/kg). Quando o queimador foi deliberadamente ajustado para dar uma chama fuliginosa, o aumento no nível de benzo(a)pireno foi de 130 vezes (de 0,2 para 26,8 µg/kg). Por outro lado, a quantidade deste hidrocarboneto produzida usando-se gás natural ou queimadores elétricos foi desprezível (ROHRLICH & SUCKOW, 1970, citados por LARSSON (1986), DENNIS *et al.*, 1991; LARSSON *et al.*, 1991).

Outras pesquisas mostraram que os HPAs ficam concentrados nas camadas externas dos grãos e podem ser transferidos para a farinha durante a moagem (LARSSON, 1986). GRIMMER E HILDEBRANDT (1965), citados por LARSSON (1986), observaram que o benzo(a)pireno era completamente transferido do farelo para a farinha durante a moagem do trigo. Já LAWRENCE & WEBER (1984), TUOMINEN *et al.* (1988) e DENNIS *et al.* (1991) mostraram que a farinha de trigo integral possui maiores quantidades de HPAs do que a farinha branca e, segundo DENNIS *et al.*, o mesmo se dá com os cereais matinais que contém farelo de trigo. A discussão, no entanto, é se os HPAs existentes na farinha vão para os produtos alimentícios após o processo de panificação. Alguns estudos evidenciaram que os níveis desses contaminantes encontrados no pão eram os mesmos presentes na farinha (LARSSON, 1986; DENNIS *et al.* 1991). Contudo, ROHRLICH & SUCKOW (1970), citados por LARSSON (1986), observaram durante a panificação um decréscimo de 25 a 85% na quantidade de benzo(a)pireno.

1.5.5. HPAs em óleos e gorduras

A presença de HPAs em diferentes óleos vegetais (soja, algodão, milho, amendoim, coco e girassol) e em azeite de oliva tem sido confirmada por vários autores (HOWARD *et al.*, 1966c; JOE *et al.*, 1979; MARIANI & FIDELI, 1984; SPEER & MONTAG, 1988; MENICHINI *et al.*, 1991; PUPIN & TOLEDO, 1996 a e b; TOLEDO & CAMARGO, 1998), com níveis variando de traços até 170 µg/kg, como mostra a Tabela 4.

As principais fontes de contaminação do óleo, segundo LARSSON (1986), envolvem:

- absorção por plantas oleaginosas a partir de solos contaminados;
- contaminação de plantas oleaginosas pela poluição atmosférica;
- secagem direta das sementes com gases de combustão;
- absorção a partir de solventes a base de petróleo usados na extração do óleo a partir da semente.

No Brasil, estudos pioneiros com óleos vegetais conduzidos por PUPIN & TOLEDO (1996a) revelaram ser o óleo de milho o mais contaminado entre as amostras analisadas, com níveis de benzo(a)pireno na faixa de 1,6 a 58,9 µg/kg.

Em sequência, CAMARGO & TOLEDO (1998) monitorando por dois anos a presença de benzo(a)pireno em óleos de milho verificaram que, durante o processamento dos mesmos, a etapa de secagem é a que mais contribui para a contaminação dos grãos e, conseqüentemente, dos óleos. O processo de secagem ainda empregado pela maioria das indústrias brasileiras é a utilização do calor gerado pela queima de madeira, reconhecidamente responsável pela formação dos HPAs (TOLEDO & CAMARGO, 1998).

Os teores de HPAs em alimentos gordurosos variam muito, dependendo, entre outros, da origem dos óleos e das sementes, além das formas de extração utilizadas. HOPIA *et al.* (1986) encontraram em amostras de margarina níveis de benzo(a)pireno na faixa de 0,02 a 2,2 µg/kg, enquanto que SIEGFRIED (1975), citado por VAN HEDDEGHEM *et al.* (1980), relatou para o mesmo produto teores variando entre 0,4 e 4,6 µg/kg. Mais recentemente, CAMARGO & TOLEDO (2000)

analisando margarinas, cremes vegetais e maioneses encontraram 8 HPAs (fluoranteno, pireno, benzo(a)antraceno, criseno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno e dibenzo(ah)antraceno), em concentrações médias na faixa de 1,0 a 21,7 µg/kg. Os níveis de benzo(a)pireno em margarinas variaram entre 1,7 e 3,9 µg/kg.

Tabela 4. Teor de benzo(a)pireno em diferentes óleos vegetais.

Óleo	Benzo(a)pireno (µg/kg)	Referência Bibliográfica
Soja	1,7	GRIMMER & HILDEBRANDT, 1967
Soja	28,45	KOLAROVIC & TRAITLER, 1982
Soja	0,98 – 5,39	DENNIS <i>et al.</i> , 1983
Milho	1,51 – 5,18	DENNIS <i>et al.</i> , 1983
Millho	1,6 – 58,9	PUPIN & TOLEDO, 1996a
Milho	4,67 – 10,65	CAMARGO & TOLEDO, 1998
Oliva	n.d. – 164,4	PUPIN & TOLEDO, 1996b
Oliva	0,2 – 1,2	SPEER <i>et al.</i> , 1990
Canola	n.d.	PUPIN & TOLEDO, 1996a
Canola	0,08 – 0,35	CEJPEK <i>et al.</i> , 1998
Girassol	8,0	SWALLOW, 1976
Girassol	0,1 – 1,3	HISCHENHUBER & STIJVE, 1987
Girassol	n.d. – 0,7	PUPIN & TOLEDO, 1996a

n.d.: não detectado (< 0,5 µg/kg)

1.5.6. HPAs em bebidas

Café, chá, whisky e vinho

A contaminação do café por HPAs ocorre durante o processo de torrefação dos grãos (LARSSON, 1986). LICKINT (1938), citado por KRUIJF *et al.* (1987), foi

o primeiro pesquisador a sugerir a possível formação de HPAs durante a torrefação. Depois disso, vários pesquisadores, utilizando diferentes métodos analíticos, estudaram a presença desses hidrocarbonetos em café (KURATSUNE & HUEPER, 1960; FRITZ, 1968; LINTAS *et al.*, 1979; BORIES & GASC, 1980 e GUYOT *et al.*, 1982, citados por HISCENHUBER & STIJVE, 1987).

Inicialmente, acreditava-se que grande parte dos HPAs presentes no pó passava para a bebida (LARSSON, 1986). No entanto, pesquisas posteriores sugeriram que apenas 20 a 30% (ou até menos) dos HPAs vão para a bebida, resultado este confirmado por LARSSON (1986), HISCENHUBER & STIJVE (1987) e KRUIJF *et al.* (1987). HISCENHUBER & STIJVE (1987), por exemplo, após contaminarem o pó de café com 10 µg/kg de benzo(a)pireno encontraram apenas 0,1 µg/kg do HPA na bebida pronta.

Embora as folhas de chá apresentem níveis mais elevados de HPAs relativamente ao café torrado, apenas uma pequena quantidade desses compostos é transferida para a bebida depois do processo de infusão (LARSSON, 1986).

Bebidas como o whisky, também foram analisadas quanto à presença desses contaminantes (HOWARD & FAZIO, 1980). MASUDA *et al.* (1966), citados por HOWARD & FAZIO (1980) discutiram a presença de vários hidrocarbonetos no “whisky” escocês e no “bourbon” americano, que são submetidos a diferentes formas de envelhecimento. Alguns HPAs foram encontrados em todas as bebidas analisadas, sendo o benzo(a)pireno detectado em apenas uma marca de Scotch.

1.5.7. HPAs na água

Embora a solubilidade dos HPAs em água seja baixa, a presença dos mesmos nessa matriz, oriundos principalmente da poluição ambiental, não pode ser negligenciada, uma vez que são capazes de ficar adsorvidos em partículas suspensas e nos sedimentos (LARSSON, 1986; LOPEZ DE ALDA-VILLAIZAN *et al.*, 1995; FERNANDEZ *et al.*, 1996). Segundo LARSSON (1986), a presença de HPAs no solo, constitui-se na principal fonte de contaminação do lençol freático.

Tratamentos convencionais como floculação, sedimentação e filtração removem da água potável a maioria dos hidrocarbonetos.

Mesmo sendo uma fonte menos importante de exposição aos diferentes HPAs, a Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda que exista em cada país pelo menos um centro equipado para a determinação de HPAs na água potável (LOPEZ DE ALDA-VILLAIZAN *et al.*, 1995).

No Brasil, a Portaria nº 36 – MS de 19 de janeiro de 1990, estabelece o limite máximo de 0,01 µg/L benzo(a)pireno em águas potáveis (BRASIL, 1990).

1.5.8. Alimentos de origem marinha

Alimentos de origem marinha são os que parecem concentrar a maior quantidade de HPAs, embora só tenham recebido atenção da comunidade científica nos últimos anos (BARTLE, 1991). Os HPAs são absorvidos e acumulados por organismos marinhos em função da poluição das águas, decorrente, entre outros, do derramamento de petróleo, efluentes industriais e águas de esgoto (THOMPSON *et al.*, 1993).

Peixes de águas limpas ou moderadamente limpas não apresentam níveis significativos de HPAs (LARSSON, 1986). Os moluscos (marisco, ostras, mexilhão) acumulam rapidamente os HPAs provenientes de águas contaminadas, pois são incapazes de metabolizá-los e excretá-los. Os peixes vertebrados, ao contrário, metabolizam rapidamente os HPAs, neutralizando o acúmulo nos tecidos.

A literatura relata várias pesquisas dirigidas para a determinação de HPAs em alimentos marinhos (LAWRENCE & WEBER, 1984; BIRKHOLZ *et al.*, 1988; UTHE & MUSIAL, 1988; SPEER *et al.*, 1990; LEBO *et al.*, 1991; COCCHIERI *et al.*, 1993; NYMAN *et al.*, 1993; THOMPSON *et al.*, 1993; AKPAN *et al.*, 1994; UTHE *et al.*, 1996).

1.5.9. Açúcares

A colheita da cana-de-açúcar no Brasil geralmente é feita após a queima dos canaviais. Este procedimento resulta na contaminação ambiental, devido à produção, entre outros compostos, de HPAs que se concentram na cana e, conseqüentemente, podem estar presentes no açúcar obtido de seu processamento (SERRA *et al.*, 1995).

1.6. CONSUMO DE HPAS ATRAVÉS DA DIETA

Diferentes autores têm realizado pesquisas com o objetivo de investigar os alimentos ou os grupos de alimentos que mais contribuem na ingestão potencial diária dos HPAs. As principais fontes de exposição variam de país para país, de acordo com os respectivos hábitos alimentares (DENNIS *et al.*, 1983; VAESSEN *et al.*, 1988; DE VOS *et al.*, 1990; LODOVICI *et al.*, 1995).

DENNIS *et al.* (1983) demonstraram que na Inglaterra, por exemplo, o grupo de alimentos formado pelos óleos e gorduras (manteiga, queijo e margarina) e o dos cereais (pães e farinha de trigo) eram os que apresentavam os maiores níveis de HPAs. Neste país, apesar dos teores de HPAs encontrados nos óleos e gorduras terem sido mais altos, os cereais foram os que mais contribuíram para a ingestão diária desses compostos, uma vez que eram mais consumidos na dieta. A estimativa de ingestão de HPAs, considerando-se a dieta total, foi de 3,7 µg/pessoa/dia.

Na Holanda, pesquisa realizada por DE VOS *et al.* (1990) revelou a presença de 17 HPAs em 13 itens alimentícios que compõem a dieta da população. O fluoranteno, o benzo(b)fluoranteno e o benzo(k)fluoranteno foram os hidrocarbonetos mais freqüentemente encontrados nas amostras, sendo os dois últimos carcinogênicos em animais experimentais (IARC, 1983). Entre os alimentos analisados, o grupo dos açúcares foi o que apresentou a maior quantidade de criseno (36,0 µg/kg). Com base na dieta total, os autores

estimaram uma ingestão entre 5,0 e 17,0 µg/pessoa/dia para os HPAs totais e metade dessa quantidade para a fração carcinogênica.

Uma outra pesquisa, conduzida também na Holanda por VAESSEN *et al.* (1988), demonstrou a ocorrência de altos níveis de HPAs em mexilhão (124,0-384,0 µg/kg) e em repolho (46,0 - 219,0 µg/kg). A estimativa da ingestão diária de HPAs esteve na faixa de 1,1 a 22,0 µg/pessoa/dia, sendo que 30% desse valor correspondeu aos HPAs com atividade carcinogênica.

Na Itália, LODOVICI *et al.* (1995) demonstraram que entre os 12 grupos de alimentos analisados, cinco eram os maiores responsáveis pela ingestão de HPAs, pelo fato de serem os alimentos mais consumidos. São eles: cereais, produtos lácteos, carnes, vegetais e frutas. A estimativa da ingestão foi de 3,0 µg/pessoa/dia considerando-se todos os HPAs e de 1,4 µg/pessoa/dia para os carcinogênicos.

A Tabela 5 mostra a ingestão diária de cada um dos HPAs estudados por DENNIS *et al.* (1983), DE VOS *et al.* (1990) e LODOVICI *et al.* (1995).

Tabela 5. Estimativa da ingestão média de HPAs ($\mu\text{g}/\text{pessoa}/\text{dia}$) em diferentes países¹.

<i>HPA</i>	<i>Inglaterra*</i> (DENNIS <i>et al.</i> , 1983)	<i>Holanda**</i> (DE VOS <i>et al.</i> , 1990)	<i>Itália***</i> (LODOVICI <i>et al.</i> , 1995)
Fluoranteno	0,99	0,99 – 1,66	1,02
Pireno	1,09	NE	0,18
Benzo(a)antraceno	0,22	0,20 – 0,36	0,46
Criseno	0,5	0,86 – 1,53	0,83
Benzo(e)pireno	0,17	NE	NE
Benzo(b)fluoranteno	0,18	0,31 – 0,36	0,16
Benzo(k)fluoranteno	0,06	0,10 - 0,14	0,04
Benzo(a)pireno	0,25	0,12 – 0,29	0,12
Dibenzo(ah)antraceno	0,03	NE	< 0,01
Benzo(ghi)perileno	0,21	0,20 – 0,36	< 0,01
Indeno(123-cd)pireno	0,00	0,08 – 0,46	NE

¹ Fonte: GUILLÉN *et al.*, 1996; NE: não estudado

*assumindo um consumo diário de alimentos e bebidas de 1,46 kg.

** assumindo um consumo diário de alimentos e bebidas de 3,63 kg.

***assumindo um consumo diário de alimentos e bebidas de 1,14 kg.

1.7. AVALIAÇÃO DA INGESTÃO DE CONTAMINANTES ATRAVÉS DA DIETA

A avaliação da ingestão de substâncias químicas por uma determinada população requer informações sobre a concentração da substância de interesse nos alimentos que fazem parte da dieta e a quantidade de alimento consumido (OMS, 1985).

Ambas as tarefas são de difícil execução, uma vez que a determinação de pequenas quantidades de uma substância química em uma dieta complexa pode significar grandes problemas analíticos, associada a limitada disponibilidade de dados sobre consumo de alimentos. Além disso, segundo a OMS (1985), para se determinar a ingestão de um componente da dieta, os dados obtidos sobre consumo de alimentos por uma população devem refletir o verdadeiro hábito

alimentar da população em questão. Como hábitos alimentares variam tanto entre pessoas como entre grupos de indivíduos, as informações obtidas através de diferentes métodos podem muitas vezes não ser representativas para toda a população.

1.7.1. Métodos para a obtenção de dados de consumo de alimentos

Em geral, dois procedimentos podem ser utilizados para se obter informações sobre o consumo de alimentos. Um deles é baseado no consumo de alimentos por um grupo da população em uma determinada região ou país e o outro, na coleta de dados relativos à quantidade de um alimento consumido por um indivíduo dentro de uma população (OMS, 1985).

A Tabela 6 mostra os métodos que podem ser usados na obtenção de dados de consumo, tanto individuais quanto de uma população. A escolha de um método em detrimento ao outro depende de alguns fatores como idade e nível de escolaridade da população, objetivos da pesquisa, custos e recursos disponíveis (OMS, 1985).

Tabela 6. Métodos para a obtenção de dados de consumo¹.

<i>Tipo de avaliação</i>	<i>Método</i>
Individual	Diário de Alimentos e Pesagem do Alimento Ingerido Duplicação da Porção Lembrança da dieta Frequência dos Alimentos
População	Diário de Alimentos e Pesagem do Alimento Ingerido Lembrança da dieta Frequência dos Alimentos "Desaparecimento" dos alimentos : - região - país

¹ Fonte: OMS, 1985.

Diário de alimentos e pesagem do alimento ingerido

Este tipo de procedimento requer que os participantes escrevam em um diário o tipo e a quantidade dos alimentos consumidos ao longo de um determinado período de tempo que, dependendo dos resultados desejados, pode variar entre 24 horas e 2 semanas.

O método da pesagem do alimento ingerido é semelhante ao do diário de alimentos, com a diferença de que os alimentos devem ser pesados antes de serem consumidos. Em geral, o custo e os problemas administrativos envolvidos restringem a aplicação desta técnica a pequenos grupos da população.

Lembrança da dieta

Através deste método, os entrevistadores pedem aos indivíduos que se recordem do tipo de alimento e da quantidade ingerida nas últimas 24 horas. As entrevistas podem ser feitas em locais selecionados ou mesmo por telefone.

Este método é um dos que exigem menor esforço do participante e, normalmente tem uma boa receptividade. Lembranças de 3 a 7 dias tem seu uso limitado, uma vez que a lembrança relativa a este período pode ser vaga. Entretanto, no caso de um indivíduo consumir uma dieta constante ou se apenas alguns itens da dieta forem de interesse, esse estudo é válido.

Frequência dos alimentos

Este método visa obter um reflexo dos hábitos alimentares quanto ao consumo de determinados tipos de alimentos. Para tanto, são elaborados questionários onde devem ser completados o número de vezes (dia, semana ou mês) que determinados produtos são consumidos. Informações sobre a porção consumida, utilizando-se porções padrões como referência, também podem ser solicitadas. Os estudos de frequência são muito úteis para identificar pequenos, médios e grandes consumidores.

Duplicação da porção

Este método consiste em se duplicar o alimento normalmente consumido por uma pessoa em um determinado lugar, sendo o mais indicado para a obtenção de dados de consumo oriundos de hospitais, escolas, creches e restaurantes industriais, onde os alimentos são preparados em grandes quantidades. O alimento duplicado é posteriormente analisado. Neste caso, também é feito um acompanhamento mínimo de 24 horas.

Método do desaparecimento de alimentos

Em um local: para se avaliar o consumo de alimentos por um grupo de pessoas de um determinado lugar (instituições, escolas, hospitais, etc.), o método mais adequado é aquele que determina o “desaparecimento” dos alimentos da cozinha após um período de tempo, em relação ao número de pessoas que consomem o alimento. O responsável pelo fornecimento dos dados deve ter uma lista de todos os alimentos presentes na despensa no início da pesquisa, bem como as compras efetuadas durante a mesma.

Em um país: quando não se tem recursos suficientes para a realização de uma pesquisa nacional, calcula-se o saldo de alimentos disponíveis no país como sendo a soma dos alimentos produzidos, importados e aqueles retirados das reservas, menos os alimentos exportados, colocados nas reservas, perdidos durante a distribuição e transporte e aqueles utilizados como ração animal. Esse método serve para avaliar o consumo médio anual nacional de alimentos e é muito utilizado nos países desenvolvidos.

Qualquer que seja o método escolhido, há sempre limitações que são impostas pelas próprias diferenças existentes entre os grupos dentro da população. Como exemplos, são citados entre outros, as minorias étnicas e culturais, pessoas que produzem seus próprios alimentos ou aquelas com restrições dietéticas e diabéticos (OMS, 1985).

1.7.2. Metodologias para a avaliação da ingestão de contaminantes

Para a avaliação de problemas decorrentes do consumo de alimentos contendo substâncias químicas que possam causar danos à saúde humana, sejam elas contaminantes orgânicos, inorgânicos, micotoxinas, agrotóxicos ou mesmo aditivos alimentares, é necessário que estejam disponíveis dados sobre a ingestão das substâncias questionadas, de modo que estas ingestões possam ser comparadas com valores toxicologicamente aceitáveis para ingestões diárias (IDA) ou ingestões semanais toleráveis provisórias (ISTP) (OMS, 1985).

As metodologias disponíveis para a estimativa da ingestão de substâncias tóxicas pelo homem são semelhantes àsquelas utilizadas para estimativas de consumo de alimentos, descritas no item anterior.

Em geral, três métodos tem sido usados para determinar a ingestão diária de contaminantes em alimentos:

Dieta Total (Market Basket)

Nestes estudos, são elaboradas dietas típicas, com base em dados de consumo médio disponíveis no país para diferentes categorias de alimentos. O alimento, após ser adquirido no comércio, é preparado de maneira usual antes do consumo e separado em grupos de alimentos como cereais, carnes, frutas, óleos e gorduras, de acordo com as quantidades médias consumidas (OMS, 1985).

O agrupamento de alimentos em categorias permite o uso de métodos analíticos apropriados aos diferentes alimentos e, mais importante, fornece informações sobre o conteúdo da substância química de interesse nos vários grupos de alimentos. Assim, áreas específicas de maior preocupação associadas a grandes classes de alimentos podem ser identificadas, assim como, os alimentos representativos da dieta e seus níveis de ingestão. Estas informações são baseadas nas pesquisas de consumo de alimentos.

A principal vantagem deste estudo é que a análise de um número relativamente pequeno de amostras permite o cálculo aproximado da ingestão média diária. Este valor pode então ser comparado com ingestões

toxicologicamente aceitáveis ou ingestões toleradas, visando uma avaliação de risco. São também identificados grupos de alimentos para os quais uma preocupação maior deva existir e sobre os quais maiores informações devam ser obtidas. A análise individual de alimentos envolveria uma demanda inaceitável de recursos laboratoriais.

Entre as desvantagens, está a não inclusão de todos os alimentos consumidos pela população, devido ao baixo nível de consumo médio de algum alimento, e também o fato de que não são consideradas diferenças em hábitos alimentares dentro da população, principalmente com relação a segmentos específicos como bebês e mulheres grávidas.

Estudos seletivos em alimentos individuais

Este método é particularmente útil quando se deseja avaliar a ingestão de uma determinada substância química que se sabe estar presente em um ou dois tipos de alimentos. Essa abordagem tem tido ampla aplicação na determinação do conteúdo de nutrientes em alimentos e sua correspondente ingestão.

As limitações do método são a confiabilidade dos dados analíticos e a possibilidade de uma sub-estimativa de ingestão da substância, caso a principal fonte da mesma na dieta não tenha sido incluída na lista de alimentos selecionados.

Estudos de duplicação das porções

Neste caso, como já mencionado, solicita-se que o indivíduo ou instituição forneça uma amostra duplicata das refeições durante um período de tempo determinado. Esse estudo tem como vantagens o fato de poder ser feito em combinação com estudos de diário de alimentos e pesagem do alimento ingerido, fornecendo diretamente dados de consumo e a aplicabilidade a indivíduos que foram selecionados como sendo os mais expostos à substância química através da dieta.

Embora seja um método muito útil para estimar a exposição de contaminantes através da dieta, os recursos exigidos (analíticos e os de pessoal) para a sua execução o torna aplicável somente a um número restrito de consumidores.

1.8. CONSUMO DE ALIMENTOS NO BRASIL

As informações disponíveis sobre dados de consumo de alimentos pela população brasileira são escassas. Em 1974/75, o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), dando seqüência a uma série de pesquisas domiciliares, realizou um estudo sobre orçamentos familiares denominado “Estudo Nacional de Despesas Familiares” (ENDEF). Ao longo da pesquisa, também foram coletados dados sobre o consumo de alimentos, tanto pelo fato da alimentação ter um grande peso no orçamento familiar, quanto pela obtenção de elementos para estudos sobre condições de nutrição nas diferentes regiões do país (IBGE, 1977).

Em 1986, foi criado no DESIP (Departamento de Índice de Preços) o projeto POF (Pesquisa de Orçamentos Familiares) para a execução de uma nova pesquisa nacional, que atualizasse os dados do ENDEF 1974/75 (IBGE, 1990 a e b).

O objetivo da POF (1987/1988) foi, através das informações coletadas, conhecer os bens consumidos e os serviços utilizados pelas famílias residentes nas áreas pesquisadas, assim como verificar o que cada um desses bens e serviços representava na despesa global da população estudada. Desse modo, a POF permitiu a obtenção de uma nova cesta básica de consumo e, por comparação com o ENDEF, mostrou a evolução dos hábitos de consumo da população brasileira, evidenciando as alterações ocorridas na importância relativa de cada item no orçamento das famílias (IBGE, 1990 a e b).

Em 1998, o IBGE apresentou os resultados finais de uma nova Pesquisa de Orçamentos Familiares, que investigou os hábitos de consumo, a alocação de gastos e a distribuição dos recebimentos da população objeto de estudo. As quantidades de alimentos e bebidas consumidas foram obtidas de forma direta, ou seja, informadas pelas famílias pesquisadas, diferentemente dos resultados apresentados pela POF 1987/1988, cuja metodologia consistiu na mensuração indireta do consumo, baseada nas despesas informadas por produto e nos preços médios desses produtos fornecidos pelo Sistema Nacional de Índices de Preços ao Consumidor (SNIPC) (IBGE, 1998). Embora obtidos de forma diferente, ambos os resultados podem ser comparáveis, tendo em vista que ensaios utilizando as duas metodologias citadas, para os principais dados da POF 1995/1996, não mostraram diferenças significativas (IBGE, 1998).

A pesquisa foi realizada nas regiões metropolitanas de Belém, Fortaleza, Recife, Salvador, Belo Horizonte, Rio de Janeiro, São Paulo, Curitiba, Porto Alegre, além de Brasília (DF) e o município de Goiânia, onde estão concentrados 29,85% da população brasileira (IBGE, 1998). A abrangência geográfica da pesquisa garante a manutenção de sua representatividade a nível nacional, na medida em que capta a heterogenicidade urbana brasileira em seus mais diversos padrões de consumo e em suas peculiaridades regionais (IBGE, 1990a).

O período compreendido pela POF 1995/1996 (1 de outubro de 1995 a 30 de setembro de 1996) contempla todas as épocas do ano, permitindo que os resultados reflitam um padrão médio anual de consumo (IBGE, 1998).

A unidade de amostragem da POF foi o domicílio particular. O procedimento utilizado pelo IBGE para obter informações sobre o consumo de alimentos e bebidas foi o “Diário de Alimentos”, onde foram registrados, diariamente e durante 7 dias consecutivos, a descrição detalhada de cada produto alimentício adquirido, o valor pago, a unidade de medida, o local da compra e a quantidade consumida em gramas ou mililitros (IBGE, 1998).

A POF 1995/1996 mostrou que o Brasil passou por várias transformações que mudaram consideravelmente o perfil de consumo no país, revelando um

brasileiro com novos hábitos alimentares. No presente, a maioria das refeições (almoço, jantar e lanche) ocorrem fora do domicílio. Em casa, os pratos tradicionais estão sendo substituídos por refeições rápidas e tem aumentado a preferência por alimentos preparados, pães, biscoitos e outros tipos de panificados (IBGE, 1998).

Em relação à 1987, foi observado um aumento geral médio no consumo de biscoito (28,02%), frango (16,56%), carne bovina de segunda (6,95%) e carne bovina de primeira (5,97%), assim como uma diminuição geral média no consumo de farinha de trigo (29,73%), leite de vaca (19,31%), arroz polido (16,56%) e feijão (15,56%) (IBGE, 1998).

Essas mudanças refletem o comportamento da relação oferta/demanda de alimentos no mercado, influenciando seu preço e, conseqüentemente, sua aquisição, a introdução de novos produtos, que se apresentam como substitutivos dos já utilizados tradicionalmente e o fato de que uma parcela da população já adquire seus alimentos seletivamente, buscando uma melhor alimentação (IBGE, 1998).

As Tabelas 7 a 10 mostram a quantidade total consumida (g/pessoa/dia) e a contribuição relativa dos vários grupos, de alimentos que compõem a dieta das diferentes regiões metropolitanas brasileiras exploradas pela POF no período de praticamente 10 anos (1987/88 e 1995/96) (IBGE, 1990b; IBGE, 1998).

Tabela 7. Consumo alimentar domiciliar no Brasil - Quantidade de alimentos consumidos (gramas/pessoa/dia), segundo as diferentes capitais e grupos de alimentos, de acordo com os dados gerados pela POF 1987/88.

Cidades	Total	Cereais	Panificados	Leguminosas	Tubérculos	Açúcares	Hortalças	Frutas	Carnes	Lácteos	Óleos e gordura	Bebidas
Rio de Janeiro	1042	127,20	73,70	37,98	88,45	73,03	60,37	120,91	151,17	181,31	52,28	72,65
São Paulo	1123	135,28	78,02	30,96	69,63	58,07	58,31	163,48	148,44	238,74	57,68	76,33
Curitiba	987	150,86	68,05	23,30	64,08	72,75	37,10	96,96	122,00	215,33	51,93	77,02
P. Alegre	1141	132,63	77,86	26,87	92,31	71,57	41,58	86,29	165,00	285,87	55,10	98,07
B. Horizonte	968	161,54	59,29	34,30	72,51	94,05	49,06	99,48	117,92	158,42	52,10	63,58
Salvador	865	109,29	85,44	36,71	50,34	54,92	41,73	140,58	151,23	101,27	33,41	42,41
Recife	854	121,71	87,57	35,28	72,14	54,86	53,17	132,57	128,06	71,64	37,56	42,58
Fortaleza	847	145,66	65,83	46,38	32,15	69,59	33,46	119,66	130,49	126,14	34,04	39,94
Brasília	957	131,29	58,51	27,60	70,40	72,36	43,90	122,93	121,04	207,85	47,50	48,74
Goiânia	966	151,50	49,50	25,07	72,63	63,25	60,06	114,77	106,34	200,18	54,96	63,55
Belém	809	176,90	70,88	28,16	32,16	44,22	27,69	75,15	206,16	28,26	36,68	47,33

Fonte: IBGE (1990).

Tabela 8. Consumo alimentar domiciliar no Brasil - Quantidade de alimentos consumidos (gramas/pessoa/dia), segundo as diferentes capitais e grupos de alimentos, de acordo com os dados gerados pela POF 1995/96.

Cidades	Total	Cereais	Panificados	Leguminosas	Tubérculos	Açúcares	Hortaliças	Frutas	Carnes e ovos	Leite e derivados	Óleos e gordura	Bebidas
Rio de Janeiro	865	131,64	61,30	38,27	64,66	71,85	43,22	85,58	124,36	132,62	37,57	71,19
São Paulo	949	95,37	72,90	21,27	38,92	45,96	37,97	122,14	150,19	211,95	35,39	100,96
Curitiba	1087	152,10	67,81	24,22	57,39	76,05	36,85	125,04	156,02	206,08	56,57	121,64
P. Alegre	1070	102,08	71,65	18,82	78,43	53,33	39,23	110,77	175,47	233,41	37,41	138,10
B. Horizonte	1037	127,78	62,76	27,30	77,98	86,75	56,20	144,16	140,41	162,72	46,24	97,52
Salvador	833	111,10	91,25	39,05	42,67	64,99	49,71	97,39	172,16	64,88	34,53	59,29
Recife	813	116,27	88,23	33,92	59,21	65,28	42,74	82,37	147,82	63,79	38,41	59,22
Fortaleza	776	138,46	60,92	41,41	32,14	62,19	23,93	93,97	142,82	86,84	30,22	57,39
Brasília	1133	171,10	63,27	31,27	58,20	91,95	51,90	147,39	165,12	193,83	51,76	98,89
Goiania	851	123,58	41,06	20,18	47,48	47,79	57,21	118,36	107,75	151,91	41,65	90,01
Belém	878	172,41	68,12	27,13	33,87	51,89	26,82	86,07	251,23	34,57	33,05	57,54

Fonte: IBGE (1996).

Tabela 9. Contribuição dos diferentes grupos de alimentos (%) no total consumido nas diferentes regiões metropolitanas brasileiras, de acordo com os dados gerados pela POF 1987/1988.

Cidades	Total (g/pessoa/dia)	Cereais	Panificados	Leguminosas	Tubérculos	Açúcares	Hortalças	Frutas	Carnes e ovos	Leite e derivados	Óleos e gordura	Bebidas
Rio de Janeiro	1042	12,21	7,07	3,64	8,49	7,01	5,79	11,60	14,51	17,40	5,02	6,97
São Paulo	1123	12,05	6,95	2,76	6,20	5,17	5,19	14,56	13,22	21,26	5,14	6,80
Curitiba	987	15,28	6,89	2,36	6,49	7,37	3,76	9,82	12,36	21,82	5,26	7,80
P. Alegre	1141	11,62	6,82	2,35	8,09	6,27	3,64	7,56	14,46	25,05	4,83	8,60
B. Horizonte	968	16,69	6,13	3,54	7,49	9,72	5,07	10,28	12,18	16,37	5,38	6,57
Salvador	865	12,63	9,88	4,29	5,89	6,42	4,88	16,44	17,69	11,84	3,91	4,96
Recife	854	14,25	10,25	4,18	8,55	6,50	6,30	15,71	15,17	8,49	4,45	5,05
Fortaleza	847	17,20	7,77	5,48	3,80	8,22	3,95	14,13	15,41	14,89	4,02	4,72
Brasília	957	13,72	6,11	2,88	7,36	7,56	4,59	12,85	12,65	21,72	4,96	5,09
Goânia	966	15,68	5,12	2,60	7,52	6,55	6,22	11,88	11,01	20,72	5,69	6,58
Belém	809	21,87	8,76	3,48	3,98	5,47	3,42	9,29	25,48	3,49	4,53	5,85

Fonte : IBGE (1990).

Tabela 10. Contribuição dos diferentes grupos de alimentos (%) no total consumido nas diferentes regiões metropolitanas brasileiras, de acordo com os dados gerados pela POF 1995/1996.

Cidades	Total (g/pessoa/dia)	Cereais	Panificados	Leguminosas	Tubérculos	Açúcares	Hortaliças	Frutas	Carnes e ovos	Leite e derivados	Óleos e gordura	Bebidas
Rio de Janeiro	865	15,21	7,08	4,42	7,47	8,30	4,99	9,89	14,40	15,33	4,34	8,23
São Paulo	949	10,10	7,68	2,24	4,10	4,84	4,00	12,87	15,83	22,34	3,73	10,64
Curitiba	1087	13,99	6,24	2,23	5,28	6,99	3,39	11,50	14,35	18,95	5,20	11,19
P. Alegre	1070	9,54	6,70	1,76	7,33	4,98	3,67	10,35	16,40	21,81	3,50	12,91
B. Horizonte	1037	12,33	6,05	2,63	7,52	8,37	5,42	13,90	13,55	15,70	4,46	9,41
Salvador	833	13,34	10,96	4,69	5,12	7,81	5,97	11,70	20,68	7,79	4,15	7,12
Recife	813	14,31	10,86	4,17	7,28	8,03	5,26	10,13	18,19	7,85	4,73	7,29
Fortaleza	776	17,85	7,85	5,34	4,14	8,02	3,08	12,11	18,41	11,19	3,90	7,40
Brasília	1133	15,10	5,59	2,76	5,14	8,12	4,58	13,01	14,58	17,11	4,57	8,73
Goiânia	851	14,53	4,83	2,37	5,58	5,62	6,73	13,92	12,67	17,86	4,90	10,58
Belém	878	19,64	7,76	3,09	3,86	5,91	3,06	9,81	28,62	3,94	3,77	6,56

Fonte : IBGE (1998).

1.9. MÉTODOS DE ANÁLISE DE HPAS

A análise de HPAs é um procedimento relativamente longo, envolvendo etapas de saponificação (dependendo do tipo de alimento), extração com solventes, concentração do extrato, purificação e determinação cromatográfica (GRIMMER & BOHNKE, 1975; LAWRENCE & WEBER, 1984; LARSSON, 1986; DE VOS *et al.*, 1990; SPEER *et al.*, 1990; GUILLÉN, 1994).

1.9.1. Extração

A escolha do método para a extração de HPAs depende, principalmente, da natureza do alimento (LARSSON, 1986). Óleos e gorduras, por exemplo, por se dissolverem facilmente em solventes apolares, podem ser diretamente submetidos a uma partição líquido-líquido (LARSSON, 1986). Já alimentos com alto teor de proteínas, como carnes, necessitam de uma etapa prévia de saponificação. Segundo GRIMMER & BOHNKE (1975), esta etapa contribui para um aumento de até 60% na quantidade de HPAs extraídos dessas matrizes.

Os solventes orgânicos mais usados na extração de HPAS são cicloexano (GRIMMER & BOHNKE, 1975; LAWRENCE & WEBER, 1984), isooctano (DENNIS *et al.*, 1983; GREENBERG *et al.*, 1993); hexano (SAITO *et al.*, 1978; CHEN *et al.*, 1996; FALCÓN *et al.*, 1999) e triclorofluoretano (GRIMMER & JACOB, 1987). O extrato obtido carrega várias substâncias interferentes, que são primeiramente removidas através de partição com solventes (BARTLE, 1991).

Entre os sistemas de solventes que podem ser usados nesta etapa, a mistura dimetilformamida (DMF) com 10% de água, proposta por GRIMMER & BOHNKE (1975), foi a adotada por vários pesquisadores (LARSSON, 1986; VAESSEN *et al.*, 1988; SPEER *et al.*, 1990; DENNIS *et al.*, 1983). No entanto, o dimetilsulfóxido também foi usado em alguns procedimentos (LAWRENCE & WEBER, 1984; MENICHINI *et al.*, 1991; GUILLÉN, 1994; CHEN *et al.*, 1996; FALCÓN *et al.*, 1999).

Após a extração, a amostra é submetida a um processo de purificação através da passagem, por gravidade, em uma coluna de vidro empacotada com sílica-gel, para então ser injetada no cromatógrafo (GRIMMER & BOHNKE, 1975). Esta etapa permite separar os HPAs de compostos alifáticos e/ou aromáticos polares que possam estar presentes nos extratos (LARSSON, 1986).

1.9.2. Determinação cromatográfica

Nos últimos 30 anos, vários métodos analíticos para a determinação de HPAs foram publicados. Inicialmente, as técnicas cromatográficas mais utilizadas foram a cromatografia de camada delgada (CCD) (GRIMMER & HILDEBRANDT, 1972) e a cromatografia gasosa (CG) (GRIMMER & BOHNKE, 1975; LINTAS *et al.*, 1979; LEE & WRIGHT, 1980; HOPIA *et al.*, 1986). Na década de 70, a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com detector de fluorescência foi introduzida, apresentando inúmeras vantagens sobre as outras técnicas, principalmente na determinação simultânea de vários HPAs (CROSBY *et al.*, 1981; DENNIS *et al.*, 1983; SPEER *et al.*, 1990; LAWRENCE & DAS, 1986; THOMPSON *et al.*, 1993; LODOVICI *et al.*, 1995; WHITON *et al.*, 1995). Entre as vantagens obtidas, citam-se: seletividade, sensibilidade, alta especificidade do detector de fluorescência, rapidez na análise, determinação dos HPAs de alta massa molar que apresentam baixa volatilidade e limite de detecção na ordem de ng/kg (CROSBY *et al.*, 1981; BARTLE, 1991).

A coluna de fase reversa (C18) polimérica tem se mostrado muito eficiente na separação de HPAs (WISE *et al.*, 1993). Estudos realizados com 16 HPAs mostraram que enquanto a coluna C18 polimérica separa todos os compostos, na monomérica os pares de isômeros criseno e benzo(a)antraceno, benzo(ghi)perileno e indeno(1,2,3-cd)pireno, benzo(b)fluoranteno e benzo(k)fluoranteno não são bem resolvidos (WISE *et al.*, 1993). A fase móvel geralmente é uma mistura de um solvente apolar com a água (acetonitrila-água ou metanol-água) (LAWRENCE & WEBER, 1984; BARTLE, 1991; DENNIS *et al.*, 1991).

A cromatografia gasosa (CG) com coluna capilar é também usada para HPAs. Entre os detectores empregados estão o de ionização de chama (DIC), o de captura de elétrons (DCE) e o de fotoionização (BARTLE, 1991; CHIU *et al.*, 1997). Uma combinação excelente para a análise de HPAs é a cromatografia gasosa capilar acoplada ao espectrômetro de massas (CG-MS), que além de aumentar a sensibilidade e a resolução, também permite a identificação dos diferentes hidrocarbonetos na amostra (LEE *et al.*, 1976; LEE *et al.*, 1987; BARTLE, 1991; NYMAN *et al.*, 1993; GREMM & FRIMMEL, 1994; WISE *et al.*, 1993; CHIU *et al.*, 1997).

1.9.3. Confirmação da identidade dos HPAs

A identificação dos HPAs é possível devido a características próprias de absorção e emissão das moléculas (UV e fluorescência). A identidade dos picos pode ser obtida usando-se, por exemplo, um detector de UV e fluorescência em série (BARTLE, 1991). Outra técnica seria o uso da cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (CG-MS) (GRIMMER & BONHKE, 1975; LARSSON *et al.*, 1987; GREMM & FRIMMEL, 1994; WISE *et al.*, 1993; CHEN *et al.*, 1996).

1.10. LEGISLAÇÃO

Hoje em dia, mais de 100 HPAs já foram caracterizados na natureza, 16 dos quais estão classificados como “poluentes prioritários”, de acordo com a Agência de Proteção Ambiental Americana (EPA) (CHEN *et al.*, 1996). No entanto, não existem limites estabelecidos para a ocorrência de cada um dos HPAs carcinogênicos nos diferentes produtos alimentícios. Poucos países apresentam legislação nacional limitando a presença de HPAs em alimentos. Na Alemanha, Áustria e Polônia, por exemplo, o limite máximo de benzo(a)pireno é

de 1,0 µg/kg para carnes defumadas, e este valor tem sido usado como referência para avaliar a contaminação de outros tipos de alimentos (LARSSON *et al.*, 1987).

Em termos de exposição ocupacional, o Instituto Nacional para Segurança e Saúde Ocupacional (NIOSH) dos Estados Unidos estabeleceu para pessoas que trabalham com produtos de alcatrão de hulha um limite máximo de exposição de 0,1 mg de HPAs/m³ de ar para 10 horas de trabalho por dia ou 40 horas semanais (ATSDR, 1996).

No âmbito do Codex Alimentarius, a necessidade de estabelecimento de limites para HPAs em alimentos tem sido manifestada por inúmeros países em diferentes oportunidades, sendo este tema considerado prioritário dentro do Comitê do Codex Para Aditivos Alimentares e Contaminantes (CCFAC) (WHO, 1991). Em 1991, o benzo(a)pireno foi reavaliado pelo Comitê Conjunto FAO/OMS de Peritos em Aditivos Alimentares (JECFA), que recomendou a elaboração de estratégias por parte das indústrias e dos consumidores a fim de minimizar a exposição humana aos HPAs (WHO, 1991).

No Brasil, a legislação vigente recomenda que os aromatizantes/aromas de fumaça não poderão resultar em mais que 0,03 ppb de benzo(a)pireno no alimento final; para fins de controle analítico, esse valor será determinado a partir do benzo(a)pireno presente no aromatizante/aroma de fumaça utilizado e da dose deste último no alimento/produto pronto para o consumo (Resolução nº104/93 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária de 14 maio de 1999 que trata do regulamento técnico de aditivos aromatizantes).

1.11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKPAN, V.; LODOVICI, M.; DOLARA, P. Polycyclic aromatic hydrocarbons in fresh and smoked fish samples from three Nigerian cities. **Bulletin Environmental Contamination Toxicology**, v. 53, p. 246-253, 1994.

- ALONGE, D. O. Carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) determined in Nigerian Kundi (smoke-dried meat). **Journal of Science Food and Agriculture**, v. 33, p. 167-172, 1988.
- ANDELMAN, J. B. & SUESS, M. J. Polynuclear aromatic hydrocarbons in the water environment. **Bulletin World Health Organization**, v. 43, p. 479-508, 1970.
- ARMSTRONG, B.; TREMBLAY, C.; BARIS, D.; THÉRIAULT, G. Lung cancer mortality and polynuclear aromatic hydrocarbons: a case-cohort study of aluminum production workers in Arvida, Quebec, Canada. **American Journal of Epidemiology**, v.19, n. 3, p. 250-262, 1994.
- ATSDR, 1996, Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). **Agency for Toxic Substances and Disease Registry**, Department of Health and Human Services, Public Health Service, Atlanta, GA, USA. Registry <http://www.atsdr.cdc.gov:8080/tfacts69.html>.
- BAILEY, E. J. & DUNGAL, N. Polycyclic hydrocarbons in Iceland smoked food. **British Journal of Cancer**, v. 12, p. 348-350, 1958.
- BARTLE, K. D. Analysis and occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons in food. In: COLIN, C., PURCHASE, R. (Ed.). **Food Contaminants: Sources and Surveillance** chapter 3, 1991, p.41-60.
- BIRKHOLZ, D. A., COUTTS, R. T., HRUDEY, S. E. Determination of polycyclic aromatic compounds in fish tissue. **Journal of Chromatography**, v. 449, p. 251-260, 1988.

BOSSET, J. O.; BÜTIKOFER, U.; DAFFLON, O.; KOCH, H.; SIMONET, L. S.; SIEBER, R. Teneur en hydrocarbures aromatiques polycycliques de fromages avec et sans flaveur de fumée. **Sciences des Aliments**, v. 18, n.4, p. 347-359, 1998.

BRASIL. **Resolução Nº 36**, publicada no Diário Oficial da União em 19 de janeiro de 1990.

CAMARGO, M.S.F.O. & TOLEDO, M.C.F. Efeito do processamento na contaminação de óleo refinado de milho por benzo(a)pireno. **Brazilian Journal of Food Technology**, v.1, n.1,2, p.97-106, 1998.

CAMARGO, M.S.F.O. & TOLEDO, M.C.F. Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos em margarina, cremes vegetais e maionese. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.20, n.1, janeiro/abril, p.51-55, 2000.

CEJPEK, K.; HAJŠLOVÁ, J.; KOCOUREK, V.; TOMANIOVÁ, M.; CMOLÍK, J. Changes in PAH levels during production of rapessed oil. **Food Additives and Contaminants**, v.15, n.5, p.563-574, 1998.

CHEN, B. H.; WANG, C. Y.; CHIU, C. P. Evaluation of analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in meat products by liquid chromatography. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.44, n.8, p. 2244-2251, 1996.

CHIU, C. P.; LIN, Y. S.; CHEN, B. H. Comparison of GC-MS and HPLC for overcoming matrix interferences in the analysis of PAHs in smoked food. **Chromatographia**, v.44, n.9/10, May, 1997.

- COATES, J. T.; ELZERMAN, A. T.; GARRISON, A. W. Extraction and determination of selected polycyclic aromatic hydrocarbons in plant tissues. **Journal of Association of Official Analytical Chemists**, v.69, n.1, p.110-114, 1986.
- COCCHIERI, R. A.; DEL PRETE, U.; ARNESE, A.; GIULIANO, M.; RONCIONI, A. **Bulletin Environmental Contamination Toxicology**, v. 50, p.618-625, 1993.
- CONNEY, A. H. Induction of microsomal enzymes by foreign chemicals and carcinogenesis by polycyclic aromatic hydrocarbons: G.H.A. Clowes Memorial Lecture. **Cancer Research**, v.42, p.4875-4917, 1982.
- CROSBY, N. T.; HUNT, D. C.; PHILLIP, L. A. Determination of polynuclear aromatic hydrocarbons in food, water and smoke using high performance liquid chromatography. **Analyst**, v.106, n.2, p.135-145, February, 1981.
- DENNIS, M. J.; MASSEY, R. C.; McWEENY, D. J.; KNOWLES, M. E. Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in UK total diets. **Food Chemical Toxicology**, v.21,n.5, p.569-574, 1983.
- DENNIS, M. J.; MASSEY, R. C.; CRIPPS, G.; VENN, I.; HOWARTH, N.; LEE, G. Factors affecting the polycyclic aromatic hydrocarbon content of cereals, fats and other food products. **Food Additives and Contaminants**, v.8, n.4, p.517-530, 1991.
- DE VOS, R. H.; VAN DOKKUM, W.; SCHOUTEN, A.; JONG-BERKHOUT, P. Polycyclic aromatic hydrocarbons in Dutch total diet samples (1984-1986). **Food Chemical Toxicology**, v.28, n.4,p.263-268, 1990.

DUNGAL, N. The special problem of stomach cancer in Iceland. **Journal of the American Medical Association**, v.178, n.8, p.789-798, November, 1961.

ELOVAARA, E.; HEIKKILÄ, P.; PYY, L.; MUTANEN, P.; RIIHIMÄKI, V.

Significance of dermal and respiratory uptake in creosote workers: exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons and urinary excretion of 1-hydroxypyrene. **Occupational and Environmental Medicine**, v.52, p.196-203, 1995.

EMEROLE, G. O. Carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons in some Nigerian foods. **Bulletin Environmental Contaminants Toxicology**, v.24, p.641-646, 1980.

FALCÓN, M. S. G.; AMIGO, S. G.; YUSTY, M. A. L.; LOZANO, J. S.

Determination of benzo(a)pyrene in some Spanish commercial smoked products by HPLC-FL. **Food Additives and Contaminants**, v. 16, n.1, p.9-14, 1999.

FAZIO, T. & HOWARD, J. W. Polycyclic aromatic hydrocarbons in foods. In: **Handbook of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons**, ed. BjØRSETH, A., Marcel Dekker, New York, 1983, vol.1, chapter 11, p.461.

FERNANDEZ, M. J; GARCIA, C.; GARCIA-VILLANOVA, R. J.; GOMEZ, J. A.

Evaluation of liquid-liquid extraction and liquid-solid extraction with a new sorbent for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in raw and finished drinking waters. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.44, p.1785-1789, 1996.

- FRETHEIM, K. Carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons in Norwegian smoked meat sausages. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.24, n.5, p.976-979, 1976.
- GOMAA, E. A.; GRAY, J. I.; RABIE, S.; LOPEZ-BOTE, C.; BOOREN, A. M. Polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked food products and commercial liquid smoke flavourings. **Food Additives and Contaminants**, v.10, n.5, p.503-521, 1993.
- GRASSO, P. Carcinogens in food. **In: Chemical Carcinogens**, v.2, 2nd edition, edited by Charles E. SEARLE, ACS Monographs, American Chemical Society, Washington, DC, p. 1205-1239, 1984.
- GREENBERG, A.; CHE-HAN, H.; ROTHMAN, N.; STRICKLAND, P.T. PAH profiles of charbroiled hamburgers: pyrene/B(a)P ratios and presence of reactive PAH. **Polycyclic Aromatic Compounds**, v.3, n.2, p.101-110, 1993.
- GREMM, T. J. & FRIMMEL, F. H. Application of Liquid Chromatography- particle beam mass spectrometry and gas chromatography-mass spectrometry for the identification of metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons. **Chromatographia**, v.38, n. 11/12, june, 1994.
- GRIMMER, G. & HILDEBRANDT, A. Content of polycyclic aromatic hydrocarbon in crude vegetables oils. **Chemistry and Industry**, v.25, p.2002-2003, 1967.
- GRIMMER, G. & HILDEBRANDT, A. Concentration and estimation of 14 polycyclic aromatic hydrocarbon at low levels in high-protein foods, oils and fats. **Journal of Association of Official Analytical Chemists**, v.55, n.3, p.631-635, 1972.

GRIMMER, G. & BOHNKE, H. Polycyclic aromatic hydrocarbon profile of high protein foods, oil and fats by gas chromatography. **Journal of Association of Official Analytical Chemists**, v.58, n.4, p.724-733, 1975.

GRIMMER, G. & JACOB, J. Recommended method for the gas chromatographic profile analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked foods. **Puree and Applied Chemistry**, v.59, n.12, p.1729-1734, 1987.

GUILLÉN, M. D. Polycyclic aromatic compounds: extraction and determination in food. **Food Additives and Contaminants**, v.11, n.6, p.669-684, 1994.

GUILLÉN, M. D. SOPELANA, P.; CID, C.; PARTEARROYO, M. A. Presencia de hidrocarburos aromaticos policiclicos en los alimentos que forman parte de la dieta de distintos paises Europeos. **Alimentaria**, p.41-47, Diciembre, 1996.

HATJIAN, B. A.; EDWARDS, J. W.; HARRISON, J.; WILLIAMS, F. M.; BLAIN, P. G. Ambient, biological, and biological effect monitoring of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). **Toxicology Letters**, v.77, p.271-279, 1995.

HEIKKILÄ, P.; LUOTAMO, M.; PYY, L.; RIIHIMÄKI, V. Urinary 1-naphtol and 1-pyrenol as indicators of exposure to coal tar products. **International Archives of Occupational Environmental Health**, v.67, n.3, p.211-217, 1995.

HISCHENHUBER, C. & STIJVE, T. Determination of benzo(a)pyrene in roasted coffee and coffee brews by HPLC with fluorescence detection. **Zeitschrift fur Lebensmittelkunde und Lebensmittelrecht**, v. 83, p.1-4, 1987.

HOPIA, A.; PSYYSALO, H.; WICKSTROM, K. Margarine, butter and vegetable oils as source of polycyclic aromatic hydrocarbons. **Journal of the American Oil Chemists Society**, v.63, n.7, p.889-893, 1986.

HOWARD, J. W.; TURICH, B. W.; WHITE, R. H.; FRY, B. E. Extraction and estimation of polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetable oils. **Journal of Association of Official Analytical Chemists**, v.49, n.6, p.1236-1244, 1966.

HOWARD, J. W. & FAZIO, T. Review of polycyclic aromatic hydrocarbons in foods. **Journal of Association of Official Analytical Chemists**, v.63, n.5, p.1077-1104, 1980.

HUSAIN, A.; NAEEMI, E.; DASHTI, B.; AL-OMIRAH, H.; AL-ZENKI, S. Polycyclic aromatic hydrocarbons in food products originating from locally reared animals in Kuwait. **Food Additives and Contaminants**, v.14, n.3, p.295-299, 1997.

IARC . International Agency for Research on Cancer. Polynuclear Aromatic Compounds. **IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemical to Humans**. Part 1, Chemical, Environmental and Experimental Data, v.32, December, 1983, Lyon, France.

IARC . International Agency for Research on Cancer. Polynuclear Aromatic Compounds. **IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemical to Humans**. Part 4, Bitumens, Coal-tars and Derived Products, v.35, 1985, Lyon, France.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Estudo Nacional de Despesas Familiares, Consumo de Alimentos e Antropometria**. Seplan-IBGE, v.1, partes 1,2,3., 1977.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa de Orçamentos Familiares: Obtenção das informações em campo**, v.1. Rio de Janeiro, 1990a, 60p. (Série Relatórios Metodológicos, v.10).

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Pesquisa de Orçamentos Familiares: Tratamentos das informações**, v.2. Rio de Janeiro, 1990b, 50p. (Série Relatórios Metodológicos, v.10).

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Consumo Alimentar Domiciliar Per Capita em: **Pesquisa de Orçamentos Familiares**, v.2, Rio de Janeiro, 1998, 137 pp.

JERINA, D. M.; THAKKER, D. R.; YAGI, H. Carcinogenicity of benzo(a)pyrene derivatives: the bay region theory. **Pure and Applied Chemistry**, v.50, p. 1033-1044, 1978.

JOE Jr., F. L.; EMMA, L. R.; FAZIO, T. Survey of some market basket commodities for polynuclear aromatic hydrocarbon content. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v.62, n.3, p.615-620, 1979.

KOLAROVIC, L. & TRAITLER, H. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetable oils by caffeine complexation and glass capillary gas chromatography. **Journal of Chromatography**, v.237, n.2, p.263-272, 1982.

KRUIJF, N., SCHOUTEN, T. VAN DER ETEGEN, G. H. D. Rapid determination of benzo(a)pyrene in roasted coffee and coffee brew by high performance liquid chromatography with fluorescence detection. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.35, p.545-549, 1987.

- LARSEN, J. C. Levels of pollutants and their metabolites: exposures to organic substances. **Toxicology**, v.101, n.1 e 2, p.11-27, 1995.
- LARSSON, B. K. Polycyclic aromatic hydrocarbons in Swedish foods - Aspects on analysis, occurrence and intake. **Doctoral thesis**, Swedish University of Agricultural Sciences, 1986.
- LARSSON, B. K.; ERIKSON, A. T.; CERVENKA, M. Polycyclic aromatic hydrocarbons in crude and deodorized vegetable oils. **Journal of American Oil Chemical Society**, v.64, n.3, p.365-370, 1987.
- LARSSON, B. K.; REGNÉR, S.; BAELING, P. Polycyclic aromatic hydrocarbons and volatile N-nitrosamine content of wheat grain before and after gas-fired drying. **Journal of the Science and Food Agriculture**, v.56, p.373-384, 1991.
- LARSSON, B. K. & SAHLBERG, G. Polycyclic aromatic hydrocarbons in lettuce: influence of a highway and an aluminium smelter. In: **Sixth International Symposium on Physical and Biological Chemistry**, Columbus, 1981.
- LAWRENCE, J. F. & DAS, B. S. Determination of nanogram/kilogram levels of polycyclic aromatic hydrocarbons in foods by HPLC with fluorescence detection. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v.24, p.113-131, 1986.
- LAWRENCE, J. F. & WEBER, D. F. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in canadian samples of processed vegetable and dairy products by liquid chromatography with fluorescence detection. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.32, n.4, p.794-797, 1984.

- LEBO, J. A.; ZAJICEK, L.; SCHWARTZ, T. R.; SMITH, L. M.; BEASLEY, M. P.
Determination of monocyclic and polycyclic aromatic hydrocarbons in fish tissue. **Journal of Association of Official Analytical Chemists**, v.74, n.3, 1991.
- LEE, H. B.; SZAWIOLA, R.; CHAU, A. S. Y. Solvent effects on response factors for polynuclear aromatic hydrocarbons determined by capillary gas chromatography using splitless injections. **Journal of Association of Official Analytical Chemists**, v.70, n.5, p.929-930, 1987.
- LEE, M. L. & WRIGHT, B. W. Capillary column gas chromatography of polycyclic aromatic compounds: a review. **Journal of Chromatography Science**, v.18, p.345-358, 1980.
- LEE, M. L.; NOVOTY, M.; BARTLE, K. D. Gas chromatography/mass spectrometric and nuclear magnetic resonance determination of polynuclear aromatic hydrocarbons in airborne particulates. **Analytical Chemistry**, v.48, n.11, September, p.1566-1572, 1976.
- LEVIN, J. O.; RHÉN, M.; SIKSTRÖM, E. Occupational PAH exposure: urinary 1-hydroxypyrene levels of coke oven workers, aluminium smelter pot-room workers, road pavers, and occupationally non-exposed persons in Sweden. **The Science of the total Environment**, v.163, p.169-177, 1995.
- LINTAS, C.; MATTHAEIS, M. C.; MERLI, F. Determination of benzo(a)pyrene in smoked, cooked and toasted food products. **Food Cosmetic and Toxicology**, v.17, p.325-328, 1979.
- LO, M. & SANDI, E. Polycyclic aromatic hydrocarbons (Polynuclears) in foods. **Residue Review**, v.69, p.35-56, 1978.

LODOVICI, M.; DOLARA, P.; CASALINI, C.; CIAPPELLANO, S.; TESTOLINI, G.
Polycyclic aromatic hydrocarbon contamination in the Italian food. **Food Additives and Contaminants**, v.12, n.5, p.703-713, 1995.

LOPEZ-DE-ALDA VILLAIZAN, M. J.; FALCÓN, S. G.; LAGE, M. A. Y.; SIMAL, J. L.
Synchronous spectrofluorimetric determination of total amounts of the six polycyclic aromatic hydrocarbons officially designated as indicators of drinking water quality. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists International**, v.78, n.2, p.402-406, 1995.

MAGA, J. A. Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) composition of mesquite (*Prosopis fuliflora*) smoke and grilled beef. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.34, n.2, p.249-251, 1986.

MARIANI, C. & FIDELI, E. Idrocarburi policiclici aromatici negli oli vegetali. **La Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse**, v.61, n.5, p. 305-315, 1984.

MENICHINI, E.; BOCCA, A.; MERLI, F.; IANNI, D.; MONFREDINI, F. Polycyclic aromatic hydrocarbons in olive oils on the Italian market. **Food Additives and Contaminants**, v.8, n.3, p.363-369, 1991.

MUSCAT, J. E. & WYNDER, E. L. The consumption of well-done red meat and risk of colorectal cancer. **American Journal of Public Health**, v.84, n.5, p.856-858, 1994.

NADON, L.; SIEMIATYCKI, J.; DEWAR, R.; KREWSKI, D.; GÉRIN, M. Cancer risk due to occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. **American Journal of Industrial Medicine**, v.28, p.303-324, 1995.

- NOLL, I. B. & TOLEDO, M. C. F. Benzo(a)pireno em carnes defumadas pelos processos caseiro e industrial. **Revista Brasileira de Toxicologia**, v.10, n.1, p.19-23, 1997a.
- NOLL, I. B. & TOLEDO, M. C. F. Determinacion de benzo(a)pireno en asados tipo churrasco en Brasil. **Información Tecnológica**, v.8, n.2, p.177-181, 1997b.
- NY, E. T.; HEEDERIK, D.; KROMHOUT, H.; JONGENEELLEN, F. The relationship between polycyclic aromatic hydrocarbons in air and urine of workers in a Söderberg Potroom. **Journal of Americam Industrial Hygiene Association**, v.54, n.6, p.277-284, 1993.
- NYMAN, P. J.; PERFETTI, A. G.; JOE, F. L.; DIACHENKO, G. W. Comparison of two clean-up methodologies for the gas chromatographic/mass spectrometric determination of low nanogram/gram levels of polynuclear aromatic hydrocarbons in seafood. **Food Additives and Contaminants**, v.10, n.5, p.489-501, 1993.
- OGBADU, G. H. & OGBADU, L. J. Levels of benzo(a)pyrene in some smoked ready-to-eat Nigerian foods. **Lebensm.-Wiss. u.-Technology**, v.22, p.313-314, 1989.
- ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD (OMS). **Orientaciones para el estudio de las Ingestas Alimentarias de Contaminantes Quimicos**. Ginebra, 1985, 114p. (Publication en offset, n.87).
- PELTONEN, K. & DIPPLE, A. Polycyclic aromatic hydrocarbons: Chemistry of DNA adduct formation. **Journal of Occupational and Environmental Medicine**, v.37, n.1, p.52-58, 1995.

PUPIN, A. M. & TOLEDO, M. C. F. Benzo(a)pyrene in Brazilian vegetables oils. **Food Additives and Contaminants**, v.13, n.6, p.639-646, 1996a.

PUPIN, A. M. & TOLEDO, M. C. F. Benzo(a)pyrene in olive oils on the Brazilian market. **Food Chemistry**, v.55, n.2, p.185-188, 1996b.

QUINLAN, R.; KOWALCZYK, G.; GARDINER, K.; CALVERT, I. A.; HALE, K.; WALTON, S. T. Polycyclic aromatic hydrocarbon exposure in coal liquefaction workers: The value of urinary 1-hydroxypyrene excretion in the development of occupational hygiene control strategies. **The Annals of Occupational Hygiene**, v.39, n.3, p.329-346, 1995.

ROE, F. J. C. Sixty years after the discovery of pure carcinogens of the polycyclic aromatic class: a tribute to the contributions of Sir Ernest Kennaway to cancer epidemiology and fundamental research in the field of carcinogenesis. **Journal of Occupational Medicine**, v.35, n.1, January, p.9-11, 1993.

SAINT-AUBERT; B.COOPER, J. F.; SPILIOTIS, J.; JOYEUX, H. Evaluation of the induction of polycyclic aromatic hydrocarbons (PHA) by cooking on two geometrically different types of barbecue. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.5, p.257-263, 1992.

SAITO, Y.; SEKITA, H.; TAKEDA, M.; UCHIYAMA, M. Determination of Benzo(a)pyrene in foods. **Journal of Association of Official Analytical Chemists**, v.61, n.1, p.129-135, 1978.

- SERRA, G.E.; PUPIN, A. M.; TOLEDO, M. C. F. Ensaios preliminares sobre a contaminação da cana-de-açúcar e derivados por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.29, n.2, p.134-137, 1995.
- SHIELDS, P. G. Inherited factors and environmental exposures in cancer risk. **Journal of Occupational Medicine**, v.35,n.1, p.43-41, 1993.
- SPEER, K. & MONTAG, A. Polycyclische aromatische kohlenwassertoffe in nativen pflanzlichen ölen. **Fat Science and Technology**, v.90, n.5, p.163-167, 1988.
- SPEER, K.; STEEG, E.; HORSTMANN, P.; KUHN, T.; MONTAG, A. Determination and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in native vegetable oils, smoked fish products, mussels and oysters, and bream from the river elbe. **Journal of High Resolution Chromatography**, v.13, p.104-111, 1990.
- STEZOWSKI, J. J.; STIGLER, R. D.; GUBA, G. J.; KAHRE, J.; LÖSCH, G. R.; CARRELL, H. L.; PECK, R. M.; GLUSKER, J. P. Stereochemical properties of nucleosides alkylated by activated carcinogens. **Cancer Research**, v.44, p.5555-5566, December, 1984.
- SWALLOW, W. H. Survey of polycyclic aromatic hydrocabons in selected foods and food additives available in New Zealand. **New Zealand Journal of Science**, v.19, p.407-412, 1976.
- THOMPSON, D.; JOLLEY, D.; MAHER, W. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in oyster tissues by high-performance liquid chromatography with ultraviolet and fluorescence detection. **Microchemical Journal**, v.47, p.351-361, 1993.

- THOMSOM, S. J. R.; McMANUS, M. E.; TUKEY, R. H.; GONZALEZ, F. J.;
HOLDER, G. M. Metabolism of polycyclic aza-aromatic carcinogens
catalysed by four expressed human cytochromes P450. **Cancer Research**,
v.55, n.5, p.975-1197, 1995.
- THORSTEINSSON, T. Polycyclic aromatic hydrocabons in commercially and
home smoked food in Iceland. **Cancer**, v.23, p.455-457, 1969.
- TIENFENBACHER, K.; PFANNHAUSER, W.; WOIDICH, H. Investigation on
contamination of food by polycyclic aromatic hydrocabons. In: **Recent
Developments in Food Analysis**. Proceedings of First European Conference
on Food Chemistry (Euro Food Chemistry I), p.77-82, 1982.
- TOLEDO, M. C. F. & CAMARGO, M. S. F. O. Benzo(a)pireno em óleos de milho
produzidos e comercializados no Brasil. **Ciência e Tecnologia de
Alimentos**, v.18, n.1, p.73-76, 1998.
- TUOMINEN, J. P.; PYSSALO, H.S. SAURI, M. Cereal products as a source of
polycyclic aromatic hydrocabons. **Journal of Agricultural an Food
Chemistry**, v.36, p.118-120, 1988.
- UTHE, J. F. & MUSIAL, C. J. Intercomparative study on the determination of
polynuclear aromatic hydrocarbons in the marine shellfish tissue. **Journal of
Association of Official Analytical Chemists**, v.71, n.2, p.363-368, 1988.

- UTHE, J. F.; RAJENDRA, K. M.; KING, T. L.; MUSIAL, C. J. Estimating analytical variances in measurement of polycyclic aromatic hydrocarbons and application to monitoring contaminants in American Lobster (*Homarus americanus*). **Journal of Association of Official Analytical Chemists International**, v.79, n.3, p.797-802, 1996.
- VAESSEN, H. A. M. G.; JEKEL, A. A.; WILBERS, A. A. M. M. Dietary intake of polycyclic aromatic hydrocarbons. **Toxicological and Environmental Chemistry**, v.16, p.281-294, 1988.
- VAN HEDDEGHEM, A.; HUYGHEBAERT, A. DE MOOR, H. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in fat products by high pressure liquid chromatography. **Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung**, v.183, p.111-115, 1980.
- VAN ROOIJ, J. G. M.; BADE, M. M. B.; JONGENEEL, F. J. Estimation of individual dermal and respiratory uptake of polycyclic aromatic hydrocarbons in 12 coke oven workers. **British Journal of Industrial Medicine**, v.50, n.7, p.623-632, 1993.
- VAN SCHOOTEN, F. J.; VAN LEEUWEN, F. E.; HILLEBRAND, M. J. X.; RIJKE, M. E.; HART, A. A. M.; VAN VEEN, H. G.; OOSTERINK, S.; KRIEK, E. Determination of benzo(a)pyrene diol epoxide-DNA adducts in white blood cell DNA from coke-oven workers: the impact of smoking. **Journal of the National Cancer Institute**, v.82, n.11, June, p.927-933, 1990.
- VAN SCHOOTEN, F. J.; MOOSEN, E. J. C.; RHIJNSBURGER, E.; VAN AGEN, B.; THIJSEN, H. H. W.; KLEINJANS, J. C. S. Dermal uptake of polycyclic aromatic hydrocarbons after hairwash with coal-tar shampoo. **The Lancet**, v.344, n.8935, p.1505-1506, 1994.

VAN WIJNEN, J. H.; VERHOEFF, A. P.; JANS, H. W. A.; VAN BRUGGEN, M.

The exposure of cyclists, car drivers and pedestrians to traffic-related air pollution. **International Archives of Occupational Environmental Health**, v.67, n.3, p.187-193, 1995.

VON SZENTPALY, L. & SHAMOVSKY, I. L. Molecular mechanics explanation for the stereochemical and shape selectivity of B-DNA for "Bay-Region" carcinogens. **Molecular Pharmacology**, v.47, n.3, p.624-629, 1995.

WALLER, R. E. 60 years of chemical carcinogens: Sir Ernest Kennaway in retirement. **Journal of the Royal Society of Medicine**, v.87, February, p.96-97, 1994.

WHITON, R. S.; WITHERSPOON, C. L.; BUCKLEY, T. J. Improved high-performance liquid chromatographic method for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbon metabolites in human urine. **Journal of Chromatography B**, v.665, p.390-394, 1995.

WILLIAMS, G. M. & WEISBURGER, J. H. Chemical Carcinogens. In: DOUL, J.; KLASSEN, C. D.; AMDUR, M. D. ed. CASARETT & DOULL'S Toxicology. **The Basic Science of Poisons**. Mac Millan Publishing Company. Second edition, 1980, p.84-138.

WISE, S. A.; SANDER, L. C.; MAY, W. E. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons by chromatography. **Journal of Chromatography**, v.642, p.329-349, 1993.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Toxicological evaluation of certain food additives and contaminants (37th report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives). **WHO Technical Report Series, No. 28**, 1991.

YABIKU, H. Y.; MARTINS, M.; TAKAHASHI, M. Y. Levels of benzo(a)pyrene and others polycyclic aromatic hydrocabons in liquid smoke flavour and some smoked foods. **Food Additives and Contaminants**, v.10, n.4, p.339-405, 1993.

CAPÍTULO 2

AVALIAÇÃO DA INGESTÃO DIÁRIA DE HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS (HPAS) ATRAVÉS DA DIETA BRASILEIRA

**TRABALHO A SER SUBMETIDO PARA PUBLICAÇÃO NA REVISTA:
“ FOOD ADDITIVES AND CONTAMINANTS ”**

Resumo

Avaliação da ingestão diária de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) através da dieta brasileira.

Foi conduzido no Brasil um estudo com o objetivo de avaliar a ingestão diária de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) através da dieta. Os dados de consumo de alimentos foram inferidos a partir de uma pesquisa nacional de orçamentos familiares, realizada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), no período de 1995-1996, em onze regiões metropolitanas do país. A metodologia analítica envolveu as etapas de saponificação com KOH metanólico, partição líquido-líquido com cicloexano, limpeza em coluna cromatográfica de sílica gel e determinação por cromatografia líquida de alta eficiência com detector de fluorescência. Os resultados da pesquisa indicaram uma ingestão média de 6,15 $\mu\text{g}/\text{pessoa}/\text{dia}$ para HPAs totais, dos quais 1,9 $\mu\text{g}/\text{pessoa}/\text{dia}$ referem-se à fração carcinogênica. Entre os alimentos que fazem parte da dieta do brasileiro, os óleos e gorduras foram os mais significativos para a ingestão de HPAs, seguidos pelos açúcares e carnes.

Palavras chaves: Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, dieta, alimentos.

Abstract

Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAHs) in the Brazilian diet

A study was carried out in Brazil in order to estimate the dietary intake of ten polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) through the diet. Food consumption data were inferred from a national household economic survey, accomplished by the Brazilian Institute of Geography and Statistics (IBGE), during twelve months, in eleven metropolitan areas. The analytical method involved saponification with methanolic KOH, liquid-liquid extraction with cyclohexane, clean-up on silica gel column and determination by high performance liquid chromatography using fluorescence detection. The estimated daily average intakes of total and carcinogenic PAHs were, respectively, 6.15 and 1.90 $\mu\text{g/day/person}$. Oils and fats were the commodity group which most contributed to the PAHs dietary intake, followed by sugar and meat.

Keywords: polycyclic aromatic hydrocarbon, diet, food.

Introdução

Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) são um grupo de compostos formados durante a combustão incompleta de material orgânico, como a queima de óleo ou madeira (Howard & Fazio, 1980; Vaessen *et al.*, 1988; ATSDR, 1996). A quantidade e a composição dos HPAs produzidos dependem das condições de reação, temperatura e quantidade de ar (Vaessen *et al.*, 1988).

Os HPAs têm recebido muita atenção nos últimos anos devido ao fato de que muitos compostos desse grupo são potentes carcinógenos em animais experimentais (IARC, 1983; Van Schooten *et al.*, 1990). A Agência Internacional para Pesquisa em Câncer (IARC) identificou seis HPAs como prováveis carcinogênicos ao homem: benzo(a)antraceno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno, dibenzo(ah)antraceno e indeno(1,2,3, cd-pireno).

Provenientes principalmente de processamentos como defumação, secagem, torrefação, alguns tipos de cozimento, material de embalagem, assim como da poluição ambiental (Lo & Sandi, 1978; Howard & Fazio, 1980; Bartle, 1991), esses contaminantes ocorrem em diferentes grupos de alimentos e bebidas incluindo vegetais, frutas, carnes, óleos e gorduras, cereais e derivados, produtos lácteos, café, chá, entre outros (Howard & Fazio, 1980; Dennis *et al.*, 1983; Lawrence & Weber, 1984; De Vos *et al.*, 1990; Gomaa *et al.*, 1993; Yabiku *et al.*, 1993; Pupin & Toledo, 1996 a e b; Greenberg *et al.*, 1993; Lodovici *et al.*, 1995; Husain *et al.*, 1997; Noll & Toledo, 1997 a e b; Toledo & Camargo, 1998; Falcón *et al.*, 1999).

Considerando-se, portanto, o risco potencial à saúde humana por exposição aos HPAs e o fato dos mesmos estarem presentes em grande parte dos alimentos normalmente consumidos pelo homem, existe uma preocupação mundial quanto à ingestão desses compostos através da dieta (Dennis *et al.*, 1983; De Vos *et al.*, 1990; Lodovici *et al.*, 1995).

Dennis *et al.* (1983) demonstraram que na Inglaterra, por exemplo, o grupo de alimentos formado pelos óleos e gorduras (manteiga, queijo e margarina) e o dos cereais (pães e farinha de trigo) eram os que apresentavam os maiores níveis de HPAs. A estimativa de ingestão de HPAs, considerando-se a dieta total, foi de 3,7 µg/pessoa/dia. Pesquisa semelhante realizada por De Vos *et al.* (1990) na Holanda estimou uma ingestão diária de HPAs entre 5,0 e 17,0 µg/pessoa/dia, embora os hidrocarbonetos determinados pelos dois autores não tenham sido exatamente os mesmos. O estudo holandês também concluiu que os cereais e os óleos vegetais são as maiores fontes de HPAs na dieta.

Na Itália, Lodovici *et al.* (1995) demonstraram que entre os 12 grupos de alimentos analisados, cinco eram os maiores responsáveis pela ingestão de HPAs, pelo fato de serem os alimentos mais consumidos. São eles: cereais, produtos lácteos, carnes, vegetais e frutas. A estimativa da ingestão foi de 3,0 µg/pessoa/dia considerando-se todos os HPAs e de 1,4 µg/pessoa/dia para os carcinogênicos.

Até o momento, não existem no Brasil informações sobre a presença de HPAs em diferentes grupos de alimentos que compõem a dieta. Encontram-se disponíveis dados de contaminação em apenas alguns tipos específicos de alimentos como produtos cárneos, óleos vegetais, margarinas, cremes vegetais e maioneses (Yabiku *et al.*, 1993; Pupin & Toledo, 1996 a e b; Noll & Toledo, 1997 a e b; Toledo & Camargo, 1998; Camargo & Toledo, 2000).

O presente estudo teve por objetivos estimar a ingestão diária de HPAs a partir da dieta brasileira e identificar o alimento ou grupo de alimentos que mais contribuem como fonte de exposição a esses compostos.

Material e métodos

Dados de consumo

Os dados de consumo de alimentos e bebidas pela população Brasileira foram inferidos a partir dos resultados de uma pesquisa nacional intitulada “Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF)”, realizada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), nas regiões metropolitanas de Belém, Fortaleza, Recife, Salvador, Belo Horizonte, Rio de Janeiro, São Paulo, Curitiba, Porto Alegre, além de Brasília (DF) e o município de Goiânia. Nestas áreas urbanas encontram-se 29,85% da população brasileira, compreendendo diferentes classes sociais, idade, sexo e nível de escolaridade. A pesquisa teve a duração de doze meses de coleta de campo, abrangendo o período de 01 de outubro de 1995 a 30 de setembro de 1996 (IBGE, 1998).

A unidade amostral foi o domicílio particular permanente. O plano de amostragem delineado pelo IBGE foi aplicado independentemente para cada uma das 11 áreas que compõem a pesquisa. Para a coleta de dados de consumo o IBGE utilizou o método “Diário de Alimentos”, onde 16.014 participantes (880 a 1.982 por região metropolitana) registraram diariamente e durante sete dias consecutivos a descrição detalhada de cada produto adquirido, o valor pago, a unidade de medida, o local de compra e a quantidade em gramas ou mililitros consumida (IBGE, 1998). Dessa forma, foram identificados os alimentos mais consumidos no Brasil, assim como as quantidades per capita.

Amostragem

Inicialmente, os alimentos identificados na pesquisa do IBGE (1998) foram agrupados em 11 categorias principais, de forma a compor um modelo de dieta. Em seguida, em cada uma das categorias foram identificados subgrupos de alimentos e seu consumo médio nacional. Finalmente, dentro de cada subgrupo foram selecionados para análise os alimentos mais consumidos em todas as

regiões metropolitanas ou aqueles considerados mais importantes como fonte potencial de exposição a HPAs (Tabela1).

Produtos *in natura* como vegetais e frutas foram coletados de seis pontos de amostragem, durante a época do inverno, não tendo sido consideradas as diferenças sazonais. Em cada local de coleta selecionado foram adquiridas, aleatoriamente, 2 kg de alface, 7,5 kg de repolho e 5 kg de tomate. Quanto às frutas, 5 kg de maçã e pêra, e 2 kg de uva, compuseram as amostras.

No caso de alimentos industrializados foram analisados três lotes de três marcas diferentes, totalizando nove amostras de cada produto, adquiridas em supermercados da cidade de Campinas, SP.

Amostras de pães, tubérculos e pizza foram obtidas de três locais distintos, em quantidades variáveis, de acordo com as características de cada produto.

A mesma quantidade de cada lote e/ou produto foi individualmente pesada, combinada, homogeneizada e a mistura congelada para posterior análise. Antes da homogeneização, quando necessário, os alimentos foram preparados da maneira usual para consumo, sem óleo, sal ou qualquer outro tipo de condimento que pudesse interferir nas análises. Todas as amostras foram analisadas em duplicata.

Tabela 1. Alimentos da dieta brasileira mais consumidos (g/pessoa/dia), segundo dados do IBGE (POF - 1995/1996)¹.

Grupo	Subgrupo ²	Consumo (g/dia) ³	Contribuição de cada grupo (%) no total consumido
Vegetais	Folhosas e florais: alface	7,71	0,83
	Frutas: tomate e repolho	33,71	3,62
Frutas	Frutas frescas: maçã, pêra e uva	110,68	12,00
Produtos lácteos	Leite	140,71	15,11
	Produtos de leite: queijo e iogurte	21,60	2,32
Óleos e gorduras	Óleos: soja	20,62	2,21
	Gorduras: margarina	17,76	1,91
Cereais	Arroz: arroz polido	78,04	8,38
	Massas: macarrão	12,34	1,33
	Farinhas: farinha de mandioca	19,76	2,12
	Féculas: fubá	8,13	0,87
	Pães: pão francês e de forma integral	57,55	6,18
	Biscoitos: bolacha água e sal	11,95	1,28
Leguminosas	Feijão, ervilha e amendoim	28,73	3,10
Tubérculos	Batata, cenoura	52,88	5,68
Bebidas	Alcoólicas: cerveja	20,63	2,22
	Não Alcoólicas: refrigerantes de cola	61,34	6,59
	Infusões: chá e café	7,22	0,78
Açúcares	Açúcar refinado	61,60	6,62
Carnes	Produtos defumados: bacon, frango, lingüiça, salsicha e mortadela	148,17	15,92
Outros	Pizza	9,65	1,03

¹ Fonte: IBGE (1998).

² Foram selecionados para representar cada grupo, os alimentos mais consumidos ou aqueles de maior importância como fonte potencial de HPAs.

³ Baseado em um consumo total diário de alimentos e bebidas de 931g/pessoa/dia.

Dados analíticos

Os HPAs selecionados para determinação estão listados na Tabela 2. O método analítico utilizado para a maioria das amostras foi o desenvolvido por Speer *et al.* (1990). O procedimento de extração envolveu saponificação com hidróxido de sódio metanólico, partição líquido-líquido com cicloexano e dimetilformamida-água (9:1, v/v). O extrato obtido foi submetido a um processo de purificação em coluna cromatográfica de sílica gel. Exceção foi feita para o grupo das bebidas onde se adotou o método proposto por Hischenhuber & Stijve (1987).

As análises foram conduzidas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Para tanto, foi utilizado um cromatógrafo com bomba quaternária Waters modelo 600 e injetor automático Waters modelo 717. O sistema também estava equipado com um detector de fluorescência Waters modelo 474, com comprimentos de onda de excitação e emissão de 290 e 430 nm, respectivamente. Para a separação dos HPAs foi empregada uma coluna C18 Vydac (201 TP) de 5 μ m, com 25 cm x 4,6 mm d.i., termestável à 30 °C. As amostras (30 μ l) foram eluídas com fase móvel isocrática composta de acetonitrila-água (75:25, v/v), a uma vazão constante de 1,0 ml/minuto. O integrador utilizado foi o Spectraphysics, modelo SP4400.

Ingestão de HPAs

A ingestão diária de HPAs (μ g/pessoa/dia) pela população brasileira foi estimada com base no modelo da dieta total (OMS, 1985). Para tanto, foram utilizados os dados de consumo inferidos de uma pesquisa nacional de orçamentos familiares (Tabela 1) e as concentrações de hidrocarbonetos presentes nos alimentos analisados.

Tabela 2. Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs): abreviação, carcinogenicidade e limite de detecção.

Composto	Nome abreviado	Carcinogenicidade ¹	Limite de detecção (µg/kg) ²
Fluoranteno	Flu	-	0,23
Pireno	Py	-	1,03
Benzo(a)antraceno	B(a)A	+	0,12
Criseno	Cri	±	0,37
Benzo(e)pireno	B(e)P	-	1,29
Benzo(b)fluoranteno	B(b)F	+	0,07
Benzo(k)fluoranteno	B(k)F	+	0,08
Benzo(a)pireno	B(a)P	+	0,07
Dibenzo(ah)antraceno	D(ah)A	+	0,17
Benzo(ghi)perileno	B(ghi)P	-	0,15

¹ Suficiente evidência (+); evidência limitada (±); insuficiente ou nenhuma evidência (-) para carcinogenicidade em animais de laboratório (IARC, 1983).

² Limite de detecção determinado segundo Miller & Miller (1993).

Resultados e discussão

Dados analíticos

A Tabela 3 apresenta os níveis médios de HPAs em diferentes subgrupos de alimentos, calculados a partir da concentração determinada nos alimentos selecionados para representar cada um dos subgrupos.

Tabela 3. Níveis médios de HPAs ($\mu\text{g/kg}$) nos subgrupos de alimentos.

Produtos	Teor médio de HPAs ($\mu\text{g/kg}$) ¹										
	Flu	Py	B(a)A	Cri	B(e)P	B(b)F	B(k)F	B(a)P	D(ah)A	B(ghi)P	Σ HPAs
Vegetais											
- Folhosos e florais	5,33	3,04	0,46	n.d.	1,39	0,31	0,20	0,07	0,17	1,45	12,42
- Frutuosos	4,24	1,63	0,31	n.d.	n.d.	0,11	0,16	0,09	0,17	2,17	8,88
Frutas	2,60	n.d.	0,12	n.d.	n.d.	n.d.	0,12	n.d.	n.d.	1,04	3,88
Produtos lácteos											
- Leite	4,42	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,08	n.d.	n.d.	0,76	5,26
- Produtos de leite	3,04	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,08	n.d.	n.d.	1,08	4,20
Óleos/gorduras											
- Óleos	10,58	n.d.	4,60	n.d.	15,20	6,39	2,32	7,21	5,60	n.d.	51,90
- Gorduras	3,96	n.d.	1,62	n.d.	5,14	1,31	0,27	0,84	n.d.	0,40	13,54
Cereais											
- Arroz	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,08	0,13	n.d.	n.d.	0,21
- Massas	n.d.	n.d.	0,13	n.d.	n.d.	n.d.	0,11	0,15	n.d.	n.d.	0,39
- Farinhas	1,34	n.d.	0,13	n.d.	n.d.	0,16	0,08	0,08	n.d.	n.d.	1,79
- Féculas	2,10	n.d.	0,40	n.d.	n.d.	0,17	0,09	0,12	n.d.	n.d.	2,88
- Pães	2,33	n.d.	0,63	n.d.	0,68	0,35	0,13	0,30	0,17	0,15	4,74
- Biscoitos	2,78	n.d.	0,68	n.d.	1,50	0,62	0,17	0,35	n.d.	n.d.	6,10
Leguminosas	0,10	n.d.	0,12	n.d.	n.d.	0,20	0,08	0,07	0,17	n.d.	0,74
Tubérculos	2,30	n.d.	0,28	n.d.	n.d.	0,33	0,18	0,20	0,17	1,72	5,18
Bebidas											
- Alcoólicas	1,33	n.d.	0,14	n.d.	n.d.	n.d.	0,28	0,20	n.d.	0,27	2,22
- Não Alcoólicas	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,07	n.d.	n.d.	0,07
- Infusões	2,24	2,34	0,23	n.d.	n.d.	0,17	0,06	0,30	0,09	n.d.	5,43
Açúcares	9,29	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,70	0,09	0,19	5,17	n.d.	15,44
Carnes											
- Produtos defumados	2,52	n.d.	0,23	n.d.	1,29	0,32	0,08	0,27	0,17	1,24	6,12
Outros											
- Pizza	2,20	n.d.	0,12	n.d.	n.d.	0,19	0,12	0,23	n.d.	1,11	3,97

n.d.: não detectado; Limite de detecção: Tabela 2.

O criseno foi o único HPA não detectado nas amostras analisadas enquanto que fluoranteno e benzo(k)fluoranteno foram encontrados em todos os grupos de alimentos.

Vários autores (Dennis *et al.*, 1983; Vaessen *et al.*, 1988; De Vos *et al.*, 1990) reportaram a ocorrência de criseno na maioria dos alimentos analisados, em níveis relativamente altos. Na pesquisa conduzida por De Vos *et al.*, por

exemplo, criseno foi o hidrocarboneto presente em maior concentração (36 µg/kg no grupo de alimentos “açúcares e doces”).

Entre os HPAs carcinogênicos, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno e benzo(a)antraceno foram os que ocorreram mais freqüentemente, sendo encontrados em 95%, 86% e 76% das amostras, respectivamente (Tabela 3).

O subgrupo dos óleos apresentou os níveis mais altos de HPAs totais, $\Sigma=51,90$ µg/kg, dos quais 50 % corresponderam à fração carcinogênica. Os açúcares também se destacaram quanto à presença de HPAs carcinogênicos. Dos quatro compostos detectados, o dibenzo(a,h)antraceno foi o que apresentou o maior teor médio (5,17 µg/kg).

No grupo dos vegetais foram encontrados quase todos os hidrocarbonetos analisados, em níveis individuais de até 5,33 µg/kg.

O nível de benzo(a)pireno determinado em pizza assada sob fogo à lenha (0,23 µg/kg) foi aproximadamente 10 vezes superior àquele relatado por Lodovici *et al.* (1995).

Trabalhos anteriores feitos no Brasil com óleo de soja evidenciaram uma contaminação relativamente menor desse produto por benzo(a)pireno (Pupin & Toledo, 1996), o que indica uma variabilidade da contaminação deste óleo por HPAs.

Ingestão de HPAs

As estimativas de ingestão diária de HPAs a partir dos diferentes grupos de alimentos que compõem a dieta brasileira estão apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4. Ingestão de HPAs ($\mu\text{g}/\text{pessoa}/\text{dia}$) através da dieta.

Produtos	Ingestão de HPAs ($\mu\text{g}/\text{dia} \times 10^{-2}$)										ΣHPAs
	Flu	Py	B(a)A	Cri	B(e)P	B(b)F	B(k)F	B(a)P	D(ah)A	-B(ghi)P	
Vegetais											
- Folhosos e florais	4,0	2,0	0,4	-	1,0	0,2	0,2	0,05	0,1	1,0	13,0
- Frutuosos	14,0	5,0	1,0	-	-	0,4	0,5	0,3	0,6	0,07	31,0
Frutas	29,0	-	1,0	-	-	-	1,0	-	-	12,0	43,0
Produtos lácteos											
Leite	62,0	-	-	-	-	-	1,0	-	-	11,0	74,0
Produtos de leite	7,0	-	-	-	-	-	0,2	-	-	2,0	10,0
Óleos/gorduras											
Óleos	22,0	-	10,0	-	31,0	13,0	5,0	15,0	12,0	-	108,0
Gorduras	7,0	-	3,0	-	9,0	2,0	0,05	1,0	-	0,08	24,0
Cereais/farinhas/massas											
Arroz	-	-	-	-	-	-	1,0	1,0	-	-	2,0
Massas	-	-	0,2	-	-	-	0,1	0,2	-	-	3,0
Farinhas	3,0	-	0,3	-	-	0,3	0,2	0,2	-	-	7,0
Féculas	2,0	-	0,3	-	-	0,1	0,07	0,1	-	-	6,0
Pães	13,0	-	4,0	-	4,0	2,0	1,0	2,0	1,0	1,0	28,0
Biscoitos	3,0	-	1,0	-	17,0	1,0	0,2	0,4	-	-	24,0
Leguminosas	0,3	-	0,3	-	-	0,01	0,2	0,2	0,5	-	6,0
Tubérculos	12,0	-	1,0	-	-	2,0	1,0	1,0	1,0	9,0	27
Bebidas											
Alcoólicas	3,0	-	0,6	-	-	-	0,01	0,4	-	1,0	7,0
Não alcoólicas	-	-	-	-	-	-	-	<0,01	-	-	0,01
Infusões	2,0	2,0	0,2	-	-	0,1	0,04	0,2	6,0	-	9,0
Açúcares											
Açúcar refinado	57,0	-	-	-	-	4,0	0,6	1,0	32,0	-	95,0
Carne	37,0	-	3,0	-	19,0	5,0	1,0	4,0	3,0	18,0	90,0
Outros											
Pizza	2,0	-	0,1	-	-	0,2	0,1	0,2	-	1,0	7,0
Ingestão total¹	280,0	9,0	32,0	-	81,0	36,0	24,0	36,0	53,0	64,0	615,0

¹ Ingestão total = soma das ingestões de cada HPA considerando-se todos os grupos de alimentos. Para a soma dos HPAs os valores de ingestão <0,01 foram considerados como sendo 0,01.

A ingestão de HPAs totais através da dieta foi estimada em 6,15 $\mu\text{g}/\text{pessoa}/\text{dia}$. Considerando-se apenas os hidrocarbonetos carcinogênicos, esse valor é reduzido para 1,90 $\mu\text{g}/\text{pessoa}/\text{dia}$. Para efeito de cálculo, os valores de ingestão obtidos para cada HPA, quando abaixo de 0,01 $\mu\text{g}/\text{kg}$, foram arredondados para 0,01 $\mu\text{g}/\text{kg}$.

De acordo com os resultados obtidos, três são os grupos de alimentos que mais contribuem para a ingestão diária de HPAs totais: óleos e gorduras (1,32µg/pessoa), açúcares (0,95 µg/pessoa) e carnes (0,90 µg/pessoa).

A Figura 1 mostra a contribuição de cada grupo de alimentos na ingestão diária de HPAs carcinogênicos. Da mesma forma que para os HPAs totais, o grupo dos óleos e gorduras (37,4%), seguido em ordem decrescente pelos grupos dos açúcares (20,0%) e dos cereais (14,2%), são os que mais contribuem para a ingestão da fração carcinogênica, embora os dois primeiros não sejam os grupos mais representativos em termos de dieta total (Tabela 1).

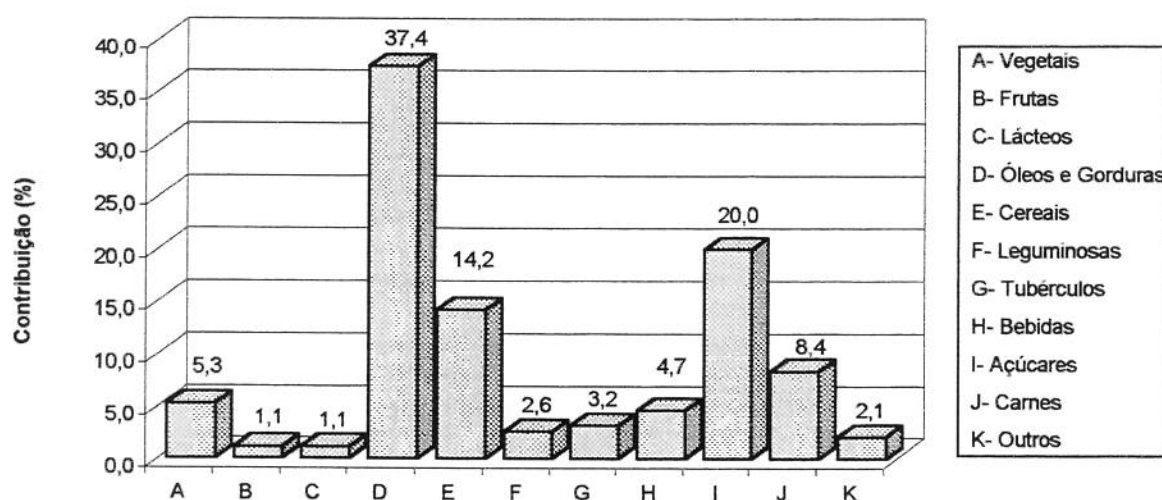


Figura 1. Contribuição de diferentes grupos de alimentos na ingestão potencial dos HPAs carcinogênicos B(a)A, B(b)F, B(k)F, B(a)P e D(ah)A.

Por outro lado, a contribuição dos lácteos e frutas na ingestão dos hidrocarbonetos carcinogênicos pode ser considerada relativamente baixa, mesmo sendo o leite um dos itens da dieta mais consumidos no Brasil.

Comparando-se os resultados do presente estudo com dados disponíveis na literatura, observa-se que na dieta de vários países, da mesma forma que na brasileira, o grupo dos óleos e gorduras e o dos cereais são, em geral, as principais fontes de exposição aos HPAs. Na Inglaterra, os óleos e gorduras (representado por manteiga, queijo e margarina) apresentaram as maiores quantidades de HPAs (Dennis *et al.*, 1983). No entanto, os autores consideraram que os cereais (pães e farinha de trigo) são os alimentos que mais contribuem para a ingestão desses compostos, uma vez que são os mais consumidos na dieta. A ingestão diária de HPAs pelos ingleses, considerando-se a dieta total, foi de 3,7 $\mu\text{g}/\text{pessoa}/\text{dia}$, valor 1,6 vezes menor que o valor estimado no presente estudo (6,2 $\mu\text{g}/\text{pessoa}/\text{dia}$)

Outra pesquisa realizada na Holanda por De Vos *et al.* (1990) também revelou que os grupos dos óleos e gorduras e o dos cereais são os mais representativos para a ingestão de HPAs naquele país. Com base na dieta total, os autores estimaram uma ingestão diária entre 5,0 e 17 $\mu\text{g}/\text{dia}$ para os HPAs totais e metade desse valor para a fração carcinogênica.

Na Itália, Lodovici *et al.* (1995) evidenciaram que alguns dos produtos mais consumidos na dieta total (leite, pão, massas, carne vermelha e maçãs sem casca), apresentavam níveis de HPAs relativamente baixos. De acordo com esta pesquisa, carne de churrasco e pizza de forno à lenha foram os alimentos mais contaminados pelos hidrocarbonetos. No entanto, os autores consideraram que estes alimentos não eram importantes fontes de exposição aos HPAs, pelo fato de terem um consumo reduzido na Itália. Nesse país, ao contrário do Brasil, a contribuição dos óleos para a ingestão de HPAs foi insignificante. Considerando-se todos os HPAs, a ingestão potencial diária estimada pelos italianos foi metade (3 $\mu\text{g}/\text{pessoa}/\text{dia}$) daquela evidenciada para os brasileiros. Entre os compostos carcinogênicos, esta diferença foi relativamente menor: 1,4 e 1,9 $\mu\text{g}/\text{pessoa}/\text{dia}$, respectivamente na Itália e no Brasil.

Considerando-se, portanto, a ampla distribuição de HPAs na natureza, presentes em praticamente todas as categorias de alimentos, qualquer medida

para a redução da exposição humana a estes compostos deve ser dirigida tanto ao controle dos alimentos que, embora consumidos em baixa quantidade, apresentam elevada contaminação por HPAs, como daqueles que se apresentam menos contaminados.

Agradecimentos

À FAPESP, pela concessão de bolsa de doutorado no país, Processo 96/2045-4.

À FAPESP, pela concessão de auxílio financeiro à pesquisa, Processo 97/5535-5.

Referências bibliográficas

ATSDR, 1996, Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Agency for Toxic Substances and Disease Registry*, Department of Health and Human Services, Public Health Service, Atlanta, GA, USA. Registry <http://www.atsdr.cdc.gov:8080/tfacts69.html>.

BARTLE, K.D., 1991, Analysis and occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons in food. In: *Food Contaminants: Sources and Surveillance*, edited by Colin Creaser and Rupert Purchase, chapter 3, pp.41-60.

CAMARGO, M.S.F & TOLEDO, M.C.F. , 2000, Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em margarina, creme vegetal e maionese. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 20(1), 51-55.

DENNIS, M.J.; MASSEY, R.C.; McWEENY, D.J.; KNOWLES, M.E., 1983, Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in UK total diets. *Food Chemical Toxicology*, 21(5), 569-574.

- DE VOS, R.H.; VAN DOKKUM, W.; SCHOUTEN, A.; JONG-BERKHOUT, P., 1990, Polycyclic aromatic hydrocarbons in Dutch total diet samples (1984-1986). *Food Chemical Toxicology*, **28**(4), 263-268.
- FALCÓN, M.S.G.; AMIGO, S.G.; YUSTY, M.A.L.; LOZANO, J.S. , 1999, Determination of benzo(a)pyrene in some Spanish commercial smoked products by HPLC-FL. *Food Additives and Contaminants*, **16**(1), 9-14.
- GOMAA, E.A.; GRAY, J.I.; RABIE, S.; LOPEZ-BOTE, C.; BOOREN, A.M., 1993, Polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked food products and commercial liquid smoke flavourings. *Food Additives and Contaminants*, **10**(5), 503-521.
- GREENBERG, A.; HSU, C.H.; ROTHMAN, N.; STRICKLAND, P.T., 1993, PAH profiles of charbroiled hamburgers: Pyrene/B(a)P ratios and presence of reactive PAH. *Polycyclic Aromatic Compounds*, **3**, 101-110.
- HISCHENHUBER, C. & STIJVE, T., 1987, Determination of benzo(a)pyrene in roasted coffee and coffee brews by HPLC with fluorescence detection. *Zeitschrift für Lebensmittelkunde und Lebensmittelrecht*, **83**, 1-4.
- HOWARD, J.W. & FAZIO, T., 1980, Review of polycyclic aromatic hydrocarbons in foods. *Journal of Association of Official Analytical Chemists*, **63**(5), 1077-1104.
- HUSAIN, A.; NAEEMI, E.; DASHTI, B.; AL-OMIRAH, H.; AL-ZENKI, S., 1997, Polycyclic aromatic hydrocarbons in food products originating from locally reared animals in Kuwait. *Food Additives and Contaminants*, **14**(3), 295-299.

- IARC, 1983, Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemical to Humans, *Polynuclear Aromatic Compounds, Part 1, Chemical, Environmental and Experimental Data* (Lyon: International Agency for Research on Cancer), **32**, 1-477.
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, 1998. Consumo Alimentar Domiciliar Per Capita em : *Pesquisa de Orçamentos Familiares*, **2**, Rio de Janeiro, 137 pp.
- LAWRENCE, J.F. & WEBER, D.F., 1984, Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in Canadian samples of processed vegetable and dairy products by liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **32**(4), 794-797.
- LO, M. & SANDI, E., 1978, Polycyclic aromatic hydrocarbons (Polynuclears) in foods. *Residue Review*, **69**, 35-56.
- LODOVICI, M.; DOLARA, P.; CASALINI, C.; CIAPPELLANO, S; TESTOLINI, G., 1995, Polycyclic aromatic hydrocarbon contamination in the Italian food. *Food Additives and Contaminants*, **12**(5), 703-713.
- MILLER, J.C. & MILLER, J.N., 1993, Errors in instrumental analysis; regression and correlation. In: *Statistics for Analytical Chemistry*, chapter 5, Ellis Horwood Limited, pp. 101-139.
- NOLL, I.B. & TOLEDO, M.C.F., 1997a, Benzo(a)pireno em carnes defumadas pelos processos caseiro e industrial. *Revista Brasileira de Toxicologia.*, **10**(1), 19-23.

- NOLL, I.B. & TOLEDO, M.C.F., 1997b, Determinacion de benzo(a)pireno en asados tipo churrasco en Brasil. *Información Tecnológica*, **8**(2), 177-181.
- ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD (OMS), 1985, *Orientaciones para el estudio de las Ingestas Alimentarias de Contaminantes Quimicos*. Ginebra, 114p. (Publication en offset, n.87).
- PUPIN, A.M. & TOLEDO, M.C.F., 1996a, Benzo(a)pyrene in Brazilian vegetable oils. *Food Additives and Contaminants*, **13**(6), 639-646.
- PUPIN, A.M. & TOLEDO, M.C.F., 1996b, Benzo(a)pyrene in olive oils on the Brazilian market. *Food Chemistry*, **55**(2), 185-188.
- SPEER, K.; STEEG, E.; HORSTMANN, P.; KUHN, T.; MONTAG, A., 1990, Determination and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in native vegetable oils, smoked fish products, mussels and oysters, and bream from the river Elbe. *Journal of High Resolution Chromatography*, **13**, 104-111.
- TOLEDO, M.C.F. & CAMARGO, M.S.F.O., 1998, Benzo(a)pireno em óleos de milho produzidos e comercializados no Brasil. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, **18**(1), 73-76.
- VAESSEN, H.A.M.G.; JEKEL, A.A.; WILBERS, A.A.M.M., 1988, Dietary intake of polycyclic aromatic hydrocabons. *Toxicological and Environmental Chemistry*, **16**, 281-294.

VAN SCHOOTEN, F.J.; VAN LEEUWEN, F.E.; HILLEBRAND, M.J.X.; RIJKE, M.E.; HART, A.A.M.; VAN VEEN, H.G.; OOSTERINK, S.; KRIEK, E., 1990, Determination of benzo(a)pyrene diol epoxide-DNA adducts in white blood cell DNA from coke-oven workers: the impact of smoking. *Journal of the National Cancer Institute*, **82**(11), 927-933.

YABIKU, H.Y.; MARTINS, M.; TAKAHASHI, M.Y., 1993, Levels of benzo(a)pyrene and others polycyclic aromatic hydrocabons in liquid smoke flavour and some smoked foods. *Food Additives and Contaminants*, **10**(4), 339-405.

CAPÍTULO 3

POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS (PAHS) IN BRAZILIAN VEGETABLES AND FRUITS

**TRABALHO A SER SUBMETIDO PARA PUBLICAÇÃO NA REVISTA:
“ JOURNAL OF THE SCIENCE OF FOOD AND AGRICULTURE ”**

ABSTRACT

PAHs occur as contaminants in different types of food predominantly from environmental pollution, food packaging and food processing and the levels found depend on the source of the contamination. PAHs emissions from automobile traffic and industry activities were shown to influence the PAHs levels and profiles in vegetables and fruits grown nearby. The present study was carried out to determine the levels of PAHs in samples of lettuce, tomato, cabbage, apple, grape and pear, and use these data to further estimate the dietary exposure of Brazilians to PAHs. Samples of each fruit and vegetable were collected in six different places and analysed for ten PAHs. The analytical method involved saponification with methanolic KOH, liquid-liquid extraction with cyclohexane, clean-up on silica gel column and determination by high performance liquid chromatography using fluorescence detection. The mean levels of total PAHs were 13.53 µg/kg in lettuce, 9.50 µg/kg in tomato, 8.86 µg/kg in cabbage, 4.05 µg/kg in apple, 3.77 µg/kg in grape and 3.87 µg/kg in pear. Of the carcinogenic PAHs, benzo(a)anthracene was the most representative, being found in 89% of all samples analysed. Chrysene was not detected in any sample.

Keywords : Polycyclic aromatic hydrocarbons, vegetable, fruit.

INTRODUCTION

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are fused-ring aromatic compounds formed during incomplete combustion of organic material (Howard & Fazio, 1980; Husain *et al.*, 1997). Ever since PAHs were recognized as a carcinogenic class of compounds in the late twenties, many studies have been developed to identify and quantify the human exposure sources (Larsson, 1986).

PAHs occur as contaminants in different food categories and beverages including water, vegetables, fruit, cereals, oils and smoked meat (Howard & Fazio, 1980; Lawrence & Weber, 1984; De Vos *et al.*, 1990; Lodovici *et al.*, 1995). The sources of PAHs in food are predominantly from environmental pollution and food processing (Lo & Sandi, 1978).

In vegetables and fruits, the presence of PAHs originates mainly by deposition of air pollution particulates on their surfaces (Larsson, 1986). The levels found are dependent on the location of the growing sites and on the product. Samples from highly industrialized areas or grown near roadways generally show higher levels than those from rural areas. The concentrations of PAHs are generally greater on plant surfaces, such as in the peel of fruit and outer leaves of cabbage, than in the internal tissues (Larsson, 1986). The highest PAH levels in plants grown in areas with air pollution are specially found in vegetables with a large surface area exposed, e.g., lettuce, kale and spinach.

The present study was carried out to determine the levels of PAHs in samples of apple, grape, pear, lettuce, tomato and cabbage and use these data to further estimate the dietary exposure of Brazilians to PAHs. The occurrence of road side plantation is very common around the metropolitan area of Campinas, a Brazilian industrial city. Thus, in order to also investigate the influence of the pollution on PAHs levels in vegetables, the location of the growing sites was taken into account.

MATERIALS AND METHODS

Sampling

Samples of lettuce (2 kg), tomato (5 kg), cabbage (7.5 kg), apple (5 kg), grape (2 kg) and pear (5 kg) were collected from six different places around the metropolitan area of Campinas, SP, in July of 1997. The samples of vegetables were from roadside vegetation (including highways) and rural areas. All samples for each type of fruit and vegetable from roadside were combined, and the mixed samples were homogenised with no addition of fluids. The same procedure was followed for samples from rural areas. The homogenates were kept frozen at -15°C until analysis.

Reagents

Cyclohexane, methanol and acetonitrile (HPLC grade) were purchased from Mallinckrodt, ChromAR (Canada). The Silica Gel 60 used (70-230 mesh, ASTM) was obtained from Merck SA Chemical Industries (Brazil).

PAHs

Ten PAHs were selected for analysis (Table 1). Benzo(a)pyrene and benzo(e)pyrene were purchased, respectively, from Sigma and Aldrich Chemical Co (USA). The remaining PAHs were from Supelco, Inc. (USA).

Table 1. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), their abbreviations and carcinogenicity.

Compound	Abbreviated name	Carcinogenicity ¹
Fluoranthene	Flu	-
Pyrene	Py	-
Benzo(a)anthracene	B(a)A	+
Chrysene	Chy	±
Benzo(e)pyrene	B(e)P	-
Benzo(b)fluoranthene	B(b)F	+
Benzo(k)fluoranthene	B(k)F	+
Benzo(a)pyrene	B(a)P	+
Dibenzo(ah)anthracene	D(ah)A	+
Benzo(ghi)perylene	B(ghi)P	-

¹ Sufficient evidence (+); limited evidence (±); insufficient or no evidence (-) for carcinogenicity in laboratory animals (IARC, 1983).

Methodology

Extraction and clean up procedures were conducted according to Speer *et al.* (1990), as described below. Reagent blank controls were analysed simultaneously for the presence of PAHs with each series of samples. All samples were analysed in duplicate.

Extraction

A homogenized portion of 25 g of each vegetable (lettuce, tomato and cabbage) was boiled under reflux with 100 ml of a 2 M solution of potassium hydroxide in methanol for 5 hours. The saponified material was transferred into a 500 ml separating funnel. The flask was rinsed with 100 ml methanol/distilled water (9:1, v/v). The mixture was extracted twice for 2 minutes with 150 ml cyclohexane.

The organic layer was first washed with 100 ml methanol/water (1:1, v/v) and finally with 100 ml distilled water. Then the organic layer was transferred into a 500 ml round bottom flask. The volume of the samples was reduced to 50 ml at 40 °C using a vacuum rotary evaporator. The cyclohexane was extracted with three aliquots of N,N-dimethylformamide-water (9:1, v/v) (50, 25 and 25 ml), then the combined dimethylformamide extract was diluted with 100 ml of a 1% sodium sulfate solution and re-extracted with aliquots of 50, 35 and 35 ml cyclohexane. The combined solution was washed twice with 40 ml distilled water, dried with anhydrous sodium sulfate (2.5 g) and concentrated on a rotary evaporator to 5 ml at 40 °C.

Clean up

The concentrated extract (5 ml) was purified by column chromatography on silica gel, as described by Grimmer & Boehnke (1975). A glass column (200 x 10 mm i.d.) was packed with 5g deactivated silica gel (15% water) and 2,5g anhydrous sodium sulfate on the top. The PAHs extract was applied to the top of the column and eluted with 85 ml of cyclohexane. The first 10 ml was discarded and the 10-85 ml fraction was concentrated to about 1 ml, and dried under a flow of nitrogen. Finally, the residue was dissolved in 2 ml acetonitrile.

Analysis

HPLC analysis was carried out using a Model 600 solvent delivery system and a Model 717 automatic injector with a 30 µl sample loop (Waters Associates). The system was also equipped with a Waters Model 474 fluorescence detector (excitation wavelength 290 nm and emission wavelength 430 nm). A C18 Vydac 201 TP column (5 µm, 250 x 4.6 mm) at 30 °C and a mobile phase composed of acetonitrile-water (75:25,v/v), at a flow rate of 1 ml/min, was used to separate the PAHs.

Quantification of PAHs

It was conducted in a HPLC instrument as described in the previous item. The external standard plot method was used. Triplicate injections of 30 μ l PAHs standard solutions were used to construct linear regression lines (peak area ratios versus each PAH concentration).

Detection limit, defined as the concentration corresponding with peak height of three times the baseline noise level, was calculated for each PAH following Miller & Miller guidelines (1993). Conversion of this value to μ g PAH per kg of sample required division by the mass of the sample analysed.

Peak identity

The identification of PAHs was conducted on a Shimadzu gas chromatography-mass spectrometer (GC-MS) QP5000 system. A fused silica capillary column, 30 m x 0.25 mm i.d., 0.25 μ m film coated with 95% dimethyl-5% diphenylpolysiloxane (Supelco) was used with helium carrier at 0.7 ml/min. The GC oven temperature programme was as follow: 120°C for 3 minutes, 5°C/min to 280°C, hold for 26 minutes. Total run time was 60 minutes. A 3 μ l aliquot of the purified sample extract was injected in the splitless mode, and the purge valve was open after 3 minutes. The data were acquired operating the MS in single-ion monitoring (SIM) mode. Peak spectra were compared to the mass spectra of PAHs standards and the NBS library supplied with the instrument. The MS detector acquisition parameters are summarized by group run times in Table 2.

Recovery and repeatability studies

In order to verify the accuracy and precision of the analytical procedure, recovery experiments were carried out by spiking lettuce and apple samples (n=6) with a mixture of standard PAHs ranging from 2.88 to 4.60 μ g/kg. The repeatability of the method was evaluated through the coefficients of variation (CV) associated to measurements of each PAH performed during recovery tests.

Table 2. MS detector data acquisition parameters.

<i>PAH</i>	<i>Retention time (min)</i>	<i>Group</i>	<i>Group time (min)</i>	<i>Ions monitored</i>
FLU	26.3	1	until 29	101, 202
PY	27.3			101, 202
B(a)A	33.4	2	30 - 37	114, 228
CRI	33.6			114, 228
B(b)F	39.6	3	38 - 50	126, 252
B(k)F	39.8			126, 252
B(e)P	41.6			126, 252
B(a)P	42.0			126, 252
D(a,h)A	53.7	4	51 - 60	138, 276, 278
B(ghi)P	56.4			138, 276, 278

RESULTS AND DISCUSSION

Figure 1 shows the chromatograms of a mixture of PAH standards and of a vegetable sample. Peaks were identified initially by comparing the retention times of the peaks in the sample chromatograms with those of reference PAH standards and by addition of PAH standards to the samples for co-chromatography. Further confirmation of identity was achieved by CG-MS.

The mean recovery data, coefficients of variation (CV) and limits of detection are presented in Table 3. In general, recoveries and CV obtained were satisfactory for determinations at the $\mu\text{g/kg}$ level. An exception was chrysene (in lettuce samples) which had a low recovery (64%) and high variation (61%). The results reported for PAHs levels were not corrected for recovery.

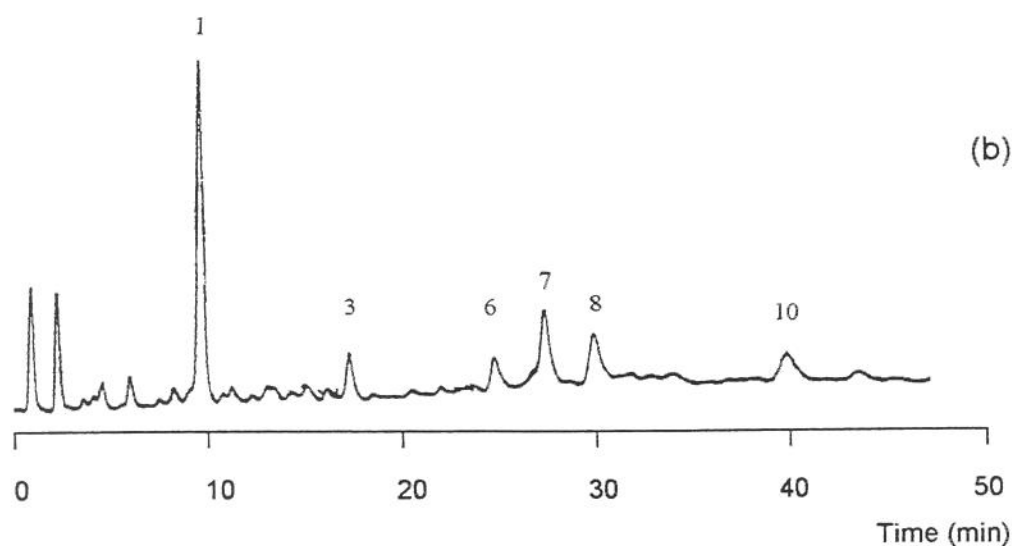
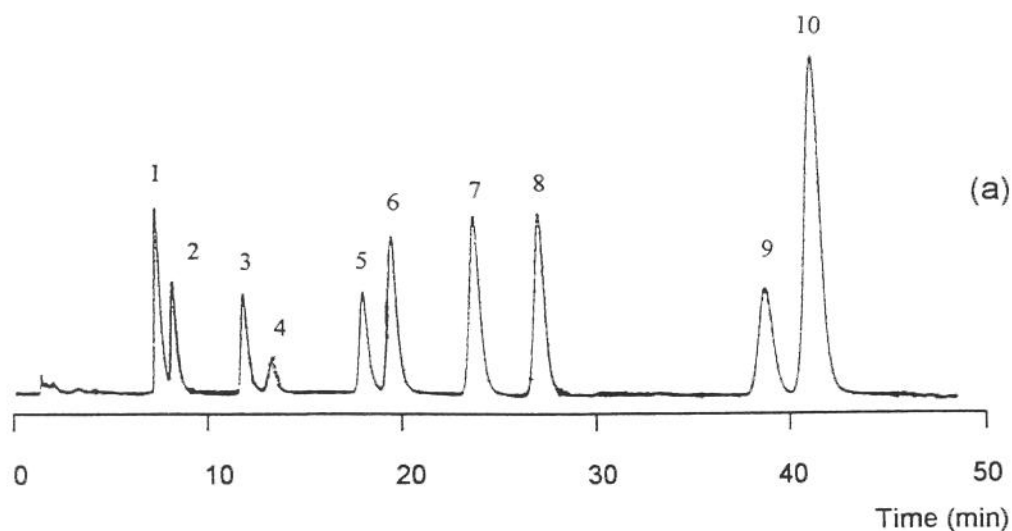


Figure 1. Chromatograms of (a) mixture of PAHs standards and (b) lettuce sample. Conditions: column 5 μm Vydac 201 TP; mobile phase acetonitrile-water (75:25, v/v), injection: 30 μl ; flow rate: 1 ml/min; fluorescence detection. PAHs: 1. fluoranthene; 2. pyrene; 3. benzo(a)anthracene; 4. chrysene; 5. benzo(e)pyrene; 6. benzo(b)fluoranthene; 7. benzo(k)fluoranthene; 8. benzo(a)pyrene; 9. dibenzo(ah)anthracene; 10. benzo(ghi)perylene.

Table 3. Limits of detection, mean recoveries ($\bar{R}$) and coefficients of variation (CV) of PAHs added to lettuce and apple samples.

PAH	Limit of detection ($\mu\text{g/kg}$)	Spiking level ($\mu\text{g/kg}$)	Lettuce		Apple	
			$\bar{R}$ (%)	CV (%)	$\bar{R}$ (%)	CV (%)
Fluoranthene	0.23	3.8	82	17	84	13
Pyrene	1.03	3.8	95	18	78	6
Benzo(a)anthracene	0.12	4.0	85	16	84	4
Chrysene	0.37	4.6	64	11	74	5
Benzo(e)pyrene	1.29	3.8	86	21	75	10
Benzo(b)fluoranthene	0.07	4.1	87	15	82	5
Benzo(k)fluoranthene	0.08	4.1	62	18	80	7
Benzo(a)pyrene	0.07	4.5	90	6	82	3
Dibenzo(ah)anthracene	0.17	2.9	75	9	85	5
Benzo(ghi)perylene	0.15	4.0	99	19	91	3

Tables 4-7 show the concentrations of PAHs found in fruits and vegetables. As can be seen, the vegetables (independent of the growing sites) showed higher mean levels of total PAHs (4.38 – 17.93 $\mu\text{g/kg}$) than the samples of fruits (3.77 – 4.05 $\mu\text{g/kg}$). Among the vegetables, lettuce showed higher levels of PAHs (17.93 $\mu\text{g/kg}$) as compared to tomato (14.62 $\mu\text{g/kg}$) and cabbage (13.27 $\mu\text{g/kg}$). These results were expected due to the large surface area of lettuce in comparison to the other ones. In the fruit group, the levels of PAHs were quite similar and relatively low: 4.05; 3.87 and 3.77, respectively, for apple, grape and pear. Grapes showed the highest individual and total PAHs concentrations.

According to other studies there is no pattern for PAH contamination in fruits. De Vos *et al.* (1990), for example, found only fluoranthene and benzo(b)fluoranthene in this commodity group. Among the PAHs found in apples

by Lodovici *et al.* (1995), three were also detected in the present work for the same fruit (fluoranthene, benzo(k)fluoranthene and benzo(ghi)perylene).

The amount of PAHs in vegetable is influenced by the growing site, e.g., samples grown close to the road showed higher concentrations of PAHs (17.93; 14.62 and 13.27 $\mu\text{g/kg}$) than those from rural areas (9.12; 4.38; 4.44 $\mu\text{g/kg}$), respectively, for lettuce, tomato and cabbage. The levels of HPAs determined in lettuces grown near road (Table 4) was lower than those found by Larsson & Sahberg (1981) (26 - 50 $\mu\text{g/kg}$). In comparison to Lodovici *et al.* (1995) data (independent of the growing sites), the concentrations of total PAHs in Brazilian lettuce were higher than those reported by the authors (Σ PAHs = 2.61 $\mu\text{g/kg}$). Similarly, when comparing the data for tomato, Lodovici *et al.* (1995) found lower (0.64 $\mu\text{g/kg}$) amounts of total PAHs than those showed on Table 4.

Fluoranthene and benzo(ghi)perylene occurred in all samples analysed. The highest mean concentrations of fluoranthene and benzo(g,h,i)perylene was found, respectively, in lettuce (8.68 $\mu\text{g/kg}$) and tomato (3.45 $\mu\text{g/kg}$). Among the carcinogenic PAHs (Table 1), benzo(a)anthracene was the most representative, being found in 89% of the samples with the highest concentration in lettuce (0.77 $\mu\text{g/kg}$). Chrysene was not detected in any sample.

The results of this limited study indicated high levels of contamination of fruits and vegetables by PAHs and confirms that their levels in plants are dependent on the location of the growing sites and on the exposed surface of the vegetable to the air pollution.

Table 4. Average and maximum PAHs levels ($\mu\text{g/kg}$) in lettuce from different growing sites.

PAH	Plantation Area			
	Roadway ($\mu\text{g/kg}$)		Rural areas ($\mu\text{g/kg}$)	
	Mean ¹	Max	Mean ¹	Max
Fluoranthene	8.68	10.88	5.36	6.30
Pyrene	3.94	4.85	2.47	2.86
Benzo(a)anthracene	0.68	0.77	0.42	0.62
Chrysene	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Benzo(e)pyrene	1.22	1.94	n.d.	n.d.
Benzo(b)fluoranthene	0.41	0.68	0.22	0.34
Benzo(k)fluoranthene	0.28	0.35	0.20	0.31
Benzo(a)pyrene	0.08	0.15	n.d.	n.d.
Dibenzo(ah)anthracene	0.22	0.45	n.d.	n.d.
Benzo(ghi)perylene	2.42	3.34	0.45	0.62
Σ PAHs ($\mu\text{g/kg}$)	17.93	23.41	9.12	11.05

n.d. = not detected; see Table 3 for detection limit

¹Determination in triplicate

Table 5. Average and maximum PAHs levels ($\mu\text{g/kg}$) in tomato from different growing sites.

PAH	Plantation Area			
	Roadway ($\mu\text{g/kg}$)		Rural areas ($\mu\text{g/kg}$)	
	Mean ¹	Max	Mean ¹	Max
Fluoranthene	6.19	7.88	2.29	2.54
Pyrene	2.53	3.30	0.73	1.10
Benzo(a)anthracene	0.35	0.37	0.25	0.39
Chrysene	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Benzo(e)pyrene	<1.29	2.21	n.d.	n.d.
Benzo(b)fluoranthene	0.14	0.20	0.07	0.07
Benzo(k)fluoranthene	0.26	0.45	<0.07	0.08
Benzo(a)pyrene	0.12	0.12	<0.07	0.08
Dibenzo(ah)anthracene	0.29	0.32	n.d.	n.d.
Benzo(ghi)perylene	3.45	3.86	0.90	1.21
Σ PAHs ($\mu\text{g/kg}$)	14.62	18.71	4.38	5.47

n.d. = not detected; see Table 3 for detection limit

¹Determination in triplicate

Table 6. Average and maximum PAHs levels ($\mu\text{g/kg}$) in cabbage from different growing sites.

PAH	Plantation Area			
	Roadway ($\mu\text{g/kg}$)		Rural areas ($\mu\text{g/kg}$)	
	Mean ¹	Max.	Mean ¹	Max.
Fluoranthene	5.53	6.55	1.75	1.78
Pyrene	2.73	2.72	n.d.	n.d.
Benzo(a)anthracene	0.36	0.37	0.38	0.43
Chrysene	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Benzo(e)pyrene	2.10	3.46	0.85	1.32
Benzo(b)fluoranthene	0.47	1.07	0.14	0.18
Benzo(k)fluoranthene	0.21	0.23	0.06	0.11
Benzo(a)pyrene	0.12	0.20	<0.07	0.07
Dibenzo(ah)anthracene	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Benzo(ghi)perylene	1.75	2.19	1.19	1.84
Σ PAHs ($\mu\text{g/kg}$)	13.27	16.79	4.44	5.73

n.d. = not detected; see Table 3 for detection limit

¹Determination in triplicate

Table 7. Average¹ and maximum PAHs levels (µg/kg) in fruit.

PAH	Fruit					
	Apple (µg/kg)		Pear (µg/kg)		Grape (µg/kg)	
	Mean	Max.	Mean	Max.	Mean	Max.
Fluoranthene	2.73	4.61	2.44	3.74	2.62	4.57
Pyrene	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Benzo(a)anthracene	n.d.	n.d.	<0.12	0.20	0.12	0.25
Chrysene	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Benzo(e)pyrene	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Benzo(b)fluoranthene	<0.07	0.20	<0.07	0.16	0.08	0.14
Benzo(k)fluoranthene	<0.08	0.08	n.d.	n.d.	<0.08	0.10
Benzo(a)pyrene	<0.07	0.14	<0.07	0.14	n.d.	n.d.
Dibenzo(ah)anthracene	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Benzo(ghi)perylene	1.10	3.10	1.07	3.56	0.97	1.93
Σ PAHs (µg/kg)	4.05	8.13	3.77	7.80	3.87	6.99

n.d.= not detected; see Table 3 for detection limit

¹Determination in triplicate

Acknowledgements

Scholarship from FAPESP grant N^o. 96/2045-4 is gratefully acknowledged.

Financial support from FAPESP grant N^o. 97/5535-5 is gratefully acknowledged.

REFERENCES

- De Vos, R.H.; Van Dokkum, W.; Schouten, A.; Jong-Berkhout, P. (1990). Polycyclic aromatic hydrocarbons in Dutch total diet samples (1984-1986). *Food Chemical Toxicology*, **28**(4), 263-268.
- Howard, J.W. & Fazio, T. (1980). Review of polycyclic aromatic hydrocarbons in foods. *Journal of Association of Official Analytical Chemists*, **63**(5), 1077-1104.
- Husain, A.; Naeemi, E.; Dashti, B.; Al-Omirah, H.; Al-Zenki, S. (1997). Polycyclic aromatic hydrocarbons in food products originating from locally reared animals in Kuwait. *Food Additives and Contaminants*, **14**(3), 295-299.
- IARC. (1983). *Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemical to Humans*. Polynuclear Aromatic Compounds. Part 1, Chemical, Environmental and Experimental Data, **32**.
- Larsson, B. (1986). Polycyclic aromatic hydrocarbons in Swedish foods - Aspects on analysis, occurrence and intake. *Doctoral thesis*, Swedish University of Agricultural Sciences.
- Larsson, B.K. & Sahlberg, G. (1981). Polycyclic aromatic hydrocarbons in lettuce: influence of a highway and an aluminium smelter. In: *Sixth International Symposium on Physical and Biological Chemistry*, Columbus, Ohio.
- Lawrence, J.F. & Weber, D.F. (1984). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in Canadian samples of processed vegetable and dairy products by liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, **32**(4), 794-797.

Lo, M. & Sandi, E. (1978). Polycyclic aromatic hydrocarbons (Polynuclears) in foods. *Residue Review*, **69**, 35-56.

Lodovici, M.; Dolara, P.; Casalini, C.; Ciappellano, S.; Testolini, G. (1995). Polycyclic aromatic hydrocarbon contamination in the Italian food. *Food Additives and Contaminants*, **12**(5), 703-713.

Miller, J.C. & Miller, J.N. (1993). Errors in instrumental analysis; regression and correlation. In: *Statistics for Analytical Chemistry*, cap. 5, 101-139, Third Edition, edited by Ellis Horwood Limited.

Speer, K.; Steeg, E.; Horstmann, P.; Kuhn, T.; Montag, A. (1990). Determination and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in native vegetable oils, smoked fish products, mussels and oysters, and bream from the river Elbe. *Journal of High Resolution Chromatography*, **13**, 104-111.

CAPÍTULO 4

AVALIAÇÃO DA INGESTÃO DE HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS (HPAS) NAS DIFERENTES REGIÕES METROPOLITANAS DO BRASIL

**TRABALHO A SER SUBMETIDO PARA PUBLICAÇÃO NA REVISTA:
“ REVISTA BRASILEIRA DE TOXICOLOGIA “**

Resumo

A ingestão diária de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em 11 regiões metropolitanas do Brasil foi estimada com base em valores médios de consumo *per capita* de alimentos, inferidos de uma pesquisa nacional de orçamentos familiares fornecidos pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), e em dados analíticos dos níveis de HPAs totais e carcinogênicos em alimentos representativos da dieta destas regiões. Os níveis mais elevados de hidrocarbonetos foram encontrados no grupo dos óleos e gorduras (32,9 µg/kg), seguidos pelos açúcares (15,4 µg/kg) e vegetais (11,9 µg/kg). A ingestão diária de HPAs totais foi maior em Brasília (7,7 µg/pessoa) e relativamente menor na região Nordeste: Fortaleza (4,7 µg/pessoa) e Salvador (5,0 µg/pessoa). Uma maior participação da fração carcinogênica na ingestão diária de HPAs foi observada em Curitiba, com média de 2,2 µg/dia/pessoa. O grupo dos óleos e gorduras se destacou como fonte de HPAs em 10 metrópoles estudadas. Apenas em Belém o grupo das carnes contribuiu de forma mais significativa para a ingestão diária desses contaminantes.

Palavras chaves: Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, poluentes, dieta total

Abstract

Dietary polycyclic aromatic hydrocarbon intakes in the Brazilian metropolitan areas

The daily intake of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in eleven Brazilian metropolitan areas was estimated based on the average *per capita* food consumption data, inferred from a household economic survey as published by the Brazilian Institute of Geography and Statistics (IBGE), and on the content of total and carcinogenic PAHs in selected food products. The highest levels of PAHs were found in oils and fat (32.9 µg/kg), followed by sugar (15.4 µg/kg) and vegetables (11.9 µg/kg). The highest daily intake of total PAHs was observed in Brasília (7.7 µg/person/day) while relatively lower intakes were shown by the Northeast region: Fortaleza (4.7 µg/person/day) and Salvador (5.0 µg/person/day). A greater contribution of the carcinogenic fraction to the total dietary intake of PAHs was observed in Curitiba, with an average of 2.2 µg/person/day. Oil and fat products were the main dietary source of PAHs in ten of the eleven Brazilian metropolitan areas studied. In Belém the meat group was the most important source of PAH in the diet.

Keywords: Polycyclic aromatic hydrocarbon, pollutants, total diet

Introdução

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) são um grupo de compostos carcinogênicos presentes no dia a dia do homem em função da poluição ambiental, exposição ocupacional e da alimentação (Lo & Sandi, 1978; Howard & Fazio, 1980; Bartle, 1991; ASTDR, 1996).

A cadeia alimentar, segundo alguns autores, é a maior responsável pela exposição humana aos HPAs (Hattermer-Frey & Travis, 1991). Esses contaminantes ocorrem em diferentes alimentos e bebidas devido, principalmente, a certos tipos de processamentos como defumação, secagem e torrefação (Gomaa *et al.*, 1993; Greenberg *et al.*, 1993; Yabiku *et al.*, 1993; Pupin & Toledo, 1996; Husain *et al.*, 1997; Noll & Toledo, 1997; Machado *et al.*, 1997; Toledo & Camargo, 1998; Falcón *et al.*, 1999; Camargo & Toledo, 2000).

As principais fontes de HPAs na dieta variam de país para país, de acordo com os respectivos hábitos alimentares, existindo uma preocupação constante, por parte da comunidade científica, em determinar a presença de HPAs nos mais variados gêneros alimentícios, assim como avaliar o risco para o homem decorrente da exposição contínua a esses compostos. Nesse sentido, pesquisas têm sido realizadas com o objetivo de estimar a ingestão diária de HPAs por diferentes populações (Dennis *et al.*, 1983; Vaessen *et al.*, 1988; De Vos *et al.*, 1990; Lodovici *et al.*, 1995).

A variedade de hábitos alimentares regionais existentes no Brasil, aliada à não disponibilidade de dados sobre a ingestão de HPAs na dieta total do brasileiro, estimularam a realização do presente estudo cujos objetivos foram identificar o alimento ou grupo de alimentos que mais contribuem como fonte de exposição a esses compostos e estimar a ingestão diária de HPAs através de dietas características de diferentes regiões do Brasil.

Material e métodos

Avaliação da ingestão de HPAs

O método adotado para a avaliação da ingestão diária de HPAs foi o da “*Dieta Total (Market Basket)*” (OMS, 1985). Com base nessa abordagem e utilizando-se dados de consumo médio nacional de alimentos, foram elaboradas dietas típicas regionais.

Os hidrocarbonetos de interesse foram analisados em alimentos representativos de cada grupo (Tabela 1) e os resultados analíticos obtidos foram considerados como representativos da quantidade de cada contaminante em todo o grupo (WHO, 1999).

Dessa forma, com base no consumo de alimentos (g/pessoa/dia) e nas quantidades de HPAs ($\mu\text{g/kg}$) determinadas nesses alimentos estimou-se a ingestão diária média de HPAs ($\mu\text{g/pessoa/dia}$) nas diferentes regiões brasileiras.

Dados de consumo

Os dados de consumo de alimentos usados na avaliação da ingestão de HPAs foram aqueles gerados pela Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) de 1995-1996. A POF, realizada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) ao longo de 12 meses investigou, entre outros, os hábitos de consumo da população brasileira (IBGE, 1998).

A pesquisa abrangeu as regiões metropolitanas de Belém, Fortaleza, Recife, Salvador, Belo Horizonte, Rio de Janeiro, São Paulo, Curitiba, Porto Alegre, além de Brasília (DF) e o município de Goiânia. O período compreendido pela pesquisa (1 de outubro de 1995 a 30 de setembro de 1996) contemplou todas as épocas do ano, permitindo que os resultados reflitam um padrão médio anual de consumo (IBGE, 1998).

O procedimento utilizado pelo IBGE, para obter informações sobre o consumo de alimentos e bebidas foi o *Diário de Alimentos*, onde foram registrados

por 16.014 participantes (880 – 1982 por região metropolitana), diariamente e durante 7 dias consecutivos, a descrição detalhada de cada produto adquirido, o valor pago, a unidade de medida, o local da compra e a quantidade consumida em gramas ou mililitros (IBGE, 1998).

Em comparação com pesquisas anteriores, a POF 1995/1996 mostrou que o Brasil passou por várias transformações que mudaram consideravelmente o perfil de consumo no país. Atualmente, a maioria das refeições (almoço, jantar e lanche) ocorrem fora do domicílio. Em casa, os pratos tradicionais estão sendo substituídos por refeições rápidas e têm aumentado a preferência por alimentos preparados, pães, biscoitos e outros tipos de panificados (IBGE, 1998).

No presente estudo, os grupos, subgrupos e produtos fornecidos pela POF foram reagrupados de forma a melhor representar a composição das dietas das regiões estudadas. Para compor cada grupo de alimentos foram selecionados os produtos mais consumidos em todas as regiões metropolitanas e aqueles cujo consumo se destacava em alguma delas (Tabela 1).

As Tabelas 2 e 3 mostram, respectivamente, a quantidade total consumida (g/pessoa/dia) e a contribuição relativa (%) dos vários grupos de alimentos que compõem a dieta das diferentes regiões metropolitanas brasileiras (IBGE, 1998).

Tabela 1. Grupos, subgrupos e produtos usados para compor a dieta das diferentes regiões metropolitanas brasileiras¹.

Grupo	Subgrupo	Produtos
Vegetais	Folhosas e florais	- alface
	Frutas	- tomate e repolho
Frutas	Frutas frescas:	- maçã, pêra e uva
Produtos lácteos	Leite	- leite pasteurizado
	Produtos de leite	- queijo minas e iogurte de morango
Óleos e gorduras	Óleos	- óleo de soja
	Gorduras	- margarina
Cereais, farinhas e massas	Arroz	- arroz polido
	Massas	- macarrão
	Farinhas	- farinha de mandioca
	Féculas	- fubá
Panificados	Pães	- pão francês e de forma integral
	Biscoitos	- bolacha água e sal
Leguminosas	Leguminosas	- feijão, ervilha e amendoim
Tubérculos	Tubérculos	- batata, cenoura
Bebidas	Alcoólicas	- cerveja
	Não Alcoólicas	- refrigerantes de cola
	Infusões	- chá e café
Açúcares e doces	Açúcar	- açúcar refinado
Carnes	Produtos defumados	- bacon, frango, lingüiça, salsicha e mortadela
Outros produtos	Outros produtos	- pizza

¹Fonte: IBGE (1998).

Tabela 2. Modelo de consumo alimentar domiciliar no Brasil - Quantidade de alimentos consumidos (gramas/pessoa/dia), segundo as diferentes capitais e grupos de alimentos.

Grupos de Alimentos												
Cidades	Total consumido	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI
Rio de Janeiro	865,24	43,22	85,58	132,62	37,57	192,94	38,27	64,66	71,19	71,85	124,36	2,98
São Paulo	948,76	37,97	122,14	211,95	35,39	168,27	21,27	38,92	100,96	45,96	150,19	15,74
Curitiba	1087,44	36,85	125,04	206,08	56,57	219,91	24,22	57,39	121,64	76,05	156,02	7,67
Porto Alegre	1070,08	39,23	110,77	233,41	37,41	173,75	18,82	78,43	138,10	53,33	175,47	11,38
B. Horizonte	1036,60	56,20	144,16	162,72	46,24	190,54	27,30	77,98	97,52	86,75	140,41	6,78
Salvador	832,62	49,71	97,39	64,88	34,53	201,35	39,05	42,67	59,29	64,99	172,16	5,57
Recife	812,78	42,74	82,37	63,79	38,41	204,50	33,92	59,21	59,22	65,28	147,82	4,56
Fortaleza	775,75	23,93	93,97	86,84	30,22	199,38	41,41	32,14	57,39	62,19	142,82	5,46
Brasília	1132,85	51,90	147,39	193,83	51,76	234,37	31,27	58,20	98,89	91,95	165,12	8,17
Goiânia	850,57	57,21	118,36	151,91	41,65	164,64	20,18	47,48	90,01	47,79	107,75	3,59
Belém	877,72	26,82	86,07	34,57	33,05	240,53	27,13	33,87	57,54	51,89	251,23	35,02

Fonte : IBGE (1998).

I=VEGETAIS

II=FRUTAS

III=PRODUTOS LÁCTEOS

IV=ÓLEOS E GORDURAS

V=CEREAIS

VI= LEGUMINOSAS

VII= TUBÉRCULOS

VIII= BEBIDAS

IX= AÇÚCARES

X= CARNES

XI= OUTROS PRODUTOS

Amostras

Os alimentos analisados (Tabela 1) foram adquiridos no comércio de Campinas, SP, sendo que a amostragem (número de marcas, lotes, origem) variou de acordo com o tipo do produto.

Alimentos industrializados

Para produtos industrializados foram selecionados três lotes (cada lote foi representado por uma embalagem inteira do produto) de três marcas mais consumidas pela população brasileira, totalizando nove amostras (Datamark, 1999). Amostras foram obtidas misturando-se os três diferentes lotes das três marcas escolhidas. Produtos como arroz, macarrão e feijão foram cozidos, de acordo com a maneira usual de consumo. Não foram adicionados óleo, sal e temperos para evitar possíveis contaminações. Em seguida, a mistura (crua ou cozida) foi homogeneizada para posterior análise.

Alimentos "in natura"

Os alimentos "in natura" foram obtidos de seis locais e/ou fornecedores diferentes. Em cada local de coleta selecionado foram adquiridas, aleatoriamente, 2 kg de alface, 7,5 kg de repolho e 5 kg de tomate. Quanto às frutas, 5 kg de maçã e pêra, e 2 kg de uva, compuseram as amostras. Para representar os tubérculos, foram comprados 5 kg de batata e cenoura.

Os produtos foram individualmente misturados e uma parte de cada amostra foi retirada para a homogeneização e posterior análise. A batata foi cozida (com casca) em água antes de ser homogeneizada.

Pão francês

Duas fornadas de pães, com seis pãezinhos cada, foram adquiridas em três diferentes padarias para compor as amostras. Estes foram misturados e em seguida torrados em forno elétrico convencional, a fim de facilitar o processo de homogeneização.

Pizza

Duas amostras de pizza de muzzarella de três locais diferentes (n=6) foram obtidas para compor o grupo “outros produtos”. As pizzas foram trituradas individualmente, misturadas e homogeneizadas para posterior análise.

Determinação de HPAs

O método utilizado para a extração de HPAs nas amostras de alimentos envolveu as etapas de saponificação com hidróxido de sódio metanólico, partição líquido-líquido com cicloexano e dimetilformamida-água (9:1,v/v), seguida de purificação em coluna cromatográfica de sílica gel (Speer *et al.*, 1990). Todas as amostras foram analisadas em duplicata.

Para o grupo das bebidas, a saponificação foi realizada de acordo com o procedimento desenvolvido por Hischenhuber & Stijve (1987). O material saponificado foi então submetido a limpeza e purificação, como descrito para os demais produtos, segundo Speer *et al.* (1990).

Os HPAs listados na Tabela 4 foram determinados por cromatografia líquida de alta eficiência, com um sistema Waters formado por bomba quaternária modelo 600, injetor automático modelo 717 e detector de fluorescência modelo 474. As condições utilizadas estão resumidas na Tabela 5.

Tabela 4. Abreviação, limite de detecção e carcinogenicidade dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos analisados.

Composto	Abreviação	Limite de detecção (µg/kg) ¹	Carcinogenicidade ²
Fluoranteno	Flu	0,23	-
Pireno	Py	1,03	-
Benzo(a)antraceno	B(a)A	0,12	+
Criseno	Cri	0,37	±
Benzo(e)pireno	B(e)P	1,29	-
Benzo(b)fluoranteno	B(b)F	0,07	+
Benzo(k)fluoranteno	B(k)F	0,08	+
Benzo(a)pireno	B(a)P	0,07	+
Dibenzo(ah)antraceno	D(ah)A	0,17	+
Benzo(ghi)perileno	B(ghi)P	0,15	-

¹ Suficiente evidência (+);evidência limitada (±); insuficiente or nenhuma evidência (-) para carcinogenicidade em animais de laboratório (IARC, 1983).

² Limite de detecção determinado segundo Miller & Miller (1993).

Tabela 5. Condições usadas na determinação de HPAs por CLAE nos diferentes produtos que compõem a dieta da população brasileira.

Detecção por fluorescência	comprimentos de onda: 290 nm (emissão) e 430 nm (excitação)
Coluna	C18 - Vydac 201 TP (5 µm, 25cm x 4,6mm d.i.), termestável à 30° C
Fase móvel	acetonitrila-água (75:25, v/v)
Volume de injeção	30 µl
Vazão	1,0 ml/min
Tempo de corrida	45 minutos
Quantificação	Padrão externo

Resultados e discussão

Entre os diferentes grupos de alimentos, os óleos e gorduras se destacaram pelo mais elevado teor de HPAs totais (32,90 µg/kg), seguidos pelos açúcares (15,44 µg/kg) e vegetais (11,93 µg/kg). Apenas dois HPAs (fluoranteno e benzo(k)fluoranteno) foram detectados em todos os grupos de alimentos analisados (Tabela 6).

Tabela 6. Teores médios de HPAs (µg/kg) por grupos de alimentos analisados.

Grupo	Teores médios de HPAs (µg/kg)										ΣHPAs	ΣHPAs carg.
	Flu	Py	B(a)A	Cri	B(e)P	B(b)F	B(k)F	B(a)P	D(ah)A	B(ghi)P		
Vegetais	5,00	2,20	0,41	n.d.	2,19	0,24	0,18	0,08	0,17	1,46	11,93	1,08
Frutas	2,60	n.d.	0,12	n.d.	n.d.	n.d.	0,08	n.d.	n.d.	1,04	3,84	0,20
Produtos lácteos	3,50	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,08	n.d.	n.d.	0,97	4,55	0,08
Óleos/gorduras	7,30	n.d.	3,11	n.d.	10,17	3,90	1,39	4,03	2,80	0,20	32,90	15,23
Cereais	1,67	n.d.	0,40	n.d.	0,48	0,26	0,11	0,22	0,17	0,15	3,46	1,16
Leguminosas	0,23	n.d.	0,12	n.d.	n.d.	0,16	0,08	0,07	0,17	n.d.	0,83	0,60
Tubérculos	2,28	n.d.	0,28	n.d.	n.d.	0,33	0,18	0,20	0,17	1,72	5,16	0,88
Bebidas	1,45	1,17	0,15	n.d.	n.d.	0,08	0,10	0,22	0,17	0,15	3,49	0,72
Açúcares	9,29	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,70	0,09	0,19	5,17	n.d.	15,44	6,15
Carnes	2,52	n.d.	0,23	n.d.	0,90	0,32	0,08	0,27	0,17	1,24	5,73	1,07
Outros	2,20	n.d.	0,12	n.d.	n.d.	0,19	0,12	0,23	n.d.	1,11	3,97	0,54

n.d. = não detectado; Limite de detecção: Tabela 4.

A Figura 1 mostra a ingestão de HPAs totais e carcinogênicos, em cada uma das regiões metropolitanas brasileiras, considerando-se todos os grupos de alimentos que fazem parte da dieta. Brasília (7,7 $\mu\text{g}/\text{pessoa}/\text{dia}$) e Curitiba (7,4 $\mu\text{g}/\text{pessoa}/\text{dia}$) apresentaram as maiores ingestões de HPAs totais, sendo que nesta última houve uma maior contribuição da fração carcinogênica (2,2 $\mu\text{g}/\text{pessoa}/\text{dia}$). A menor ingestão de HPAs totais foi registrada na região Nordeste: Fortaleza (4,7 $\mu\text{g}/\text{pessoa}/\text{dia}$), Salvador (5,0 $\mu\text{g}/\text{pessoa}/\text{dia}$) e Recife (5,2 $\mu\text{g}/\text{pessoa}/\text{dia}$).

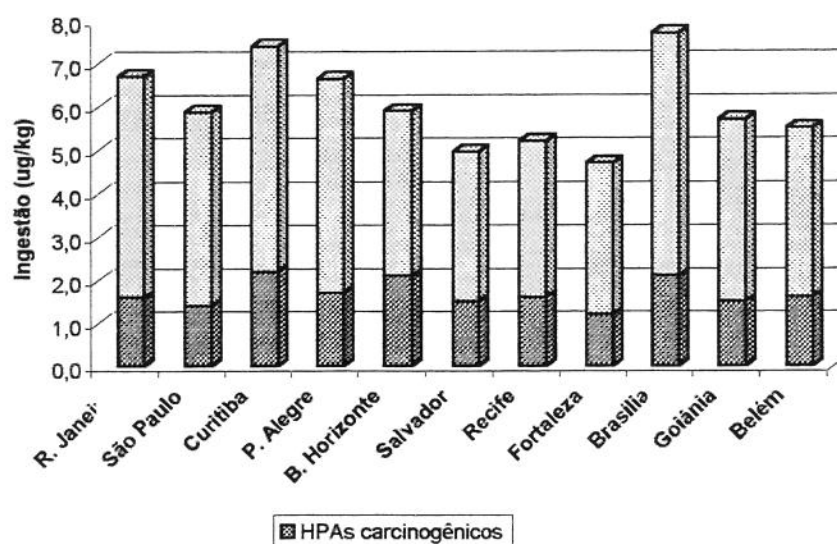


Figura 1. Ingestão diária de HPAs totais e carcinogênicos nas diferentes regiões metropolitanas brasileiras.

As Figuras 2 a 5 mostram, respectivamente, a contribuição dos diferentes grupos de alimentos na ingestão diária de HPAs totais nas regiões Sul, Sudeste, Nordeste e Norte e Centro-Oeste.

Como pode ser observado, o grupo dos óleos e gorduras se destacou como fonte de HPAs em 10 das 11 metrópoles estudadas. Apenas em Belém as carnes foram mais representativas que os óleos para a ingestão de HPAs. O

grupo dos açúcares figurou como a segunda principal fonte de ingestão de HPAs em 6 regiões abordadas (Curitiba, Rio de Janeiro, Salvador, Recife, Brasília e Goiânia). Outros grupos que contribuíram significativamente para a ingestão de HPAs nas diferentes regiões brasileiras foram lácteos e carnes.

O grupo dos vegetais, embora tenha sido um dos mais contaminados, não foi importante para a ingestão de HPAs em nenhuma das regiões estudadas, provavelmente pelo fato desse grupo de alimentos não ter grande contribuição na dieta.

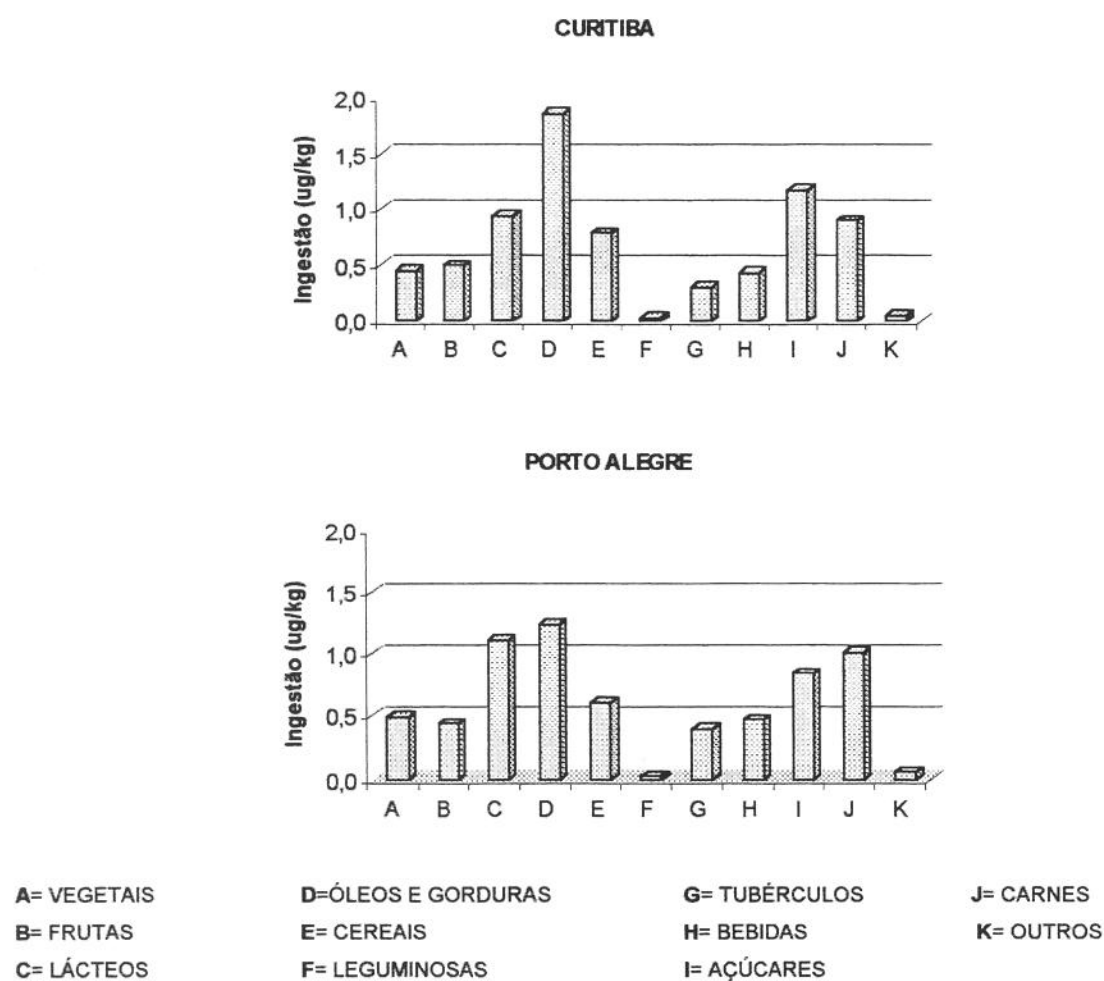
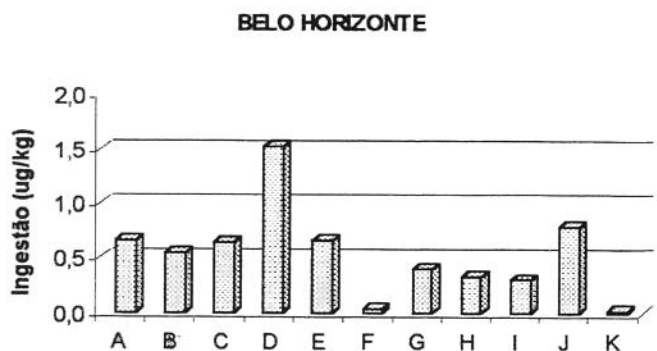
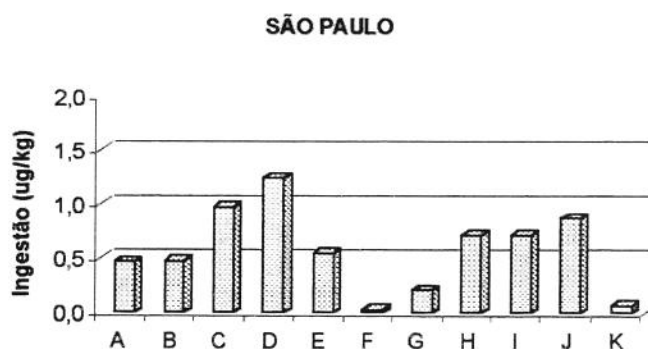
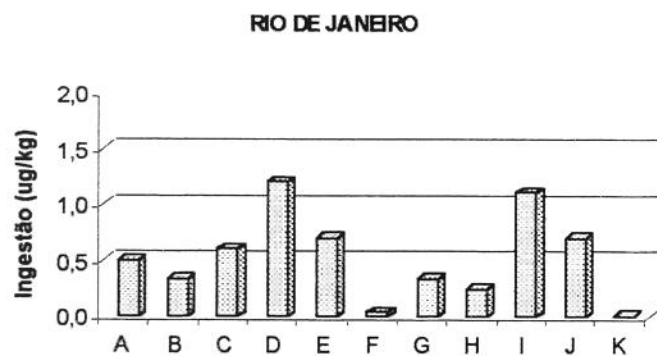


Figura 2. Contribuição de grupos de alimentos na ingestão de HPAs na região Sul.



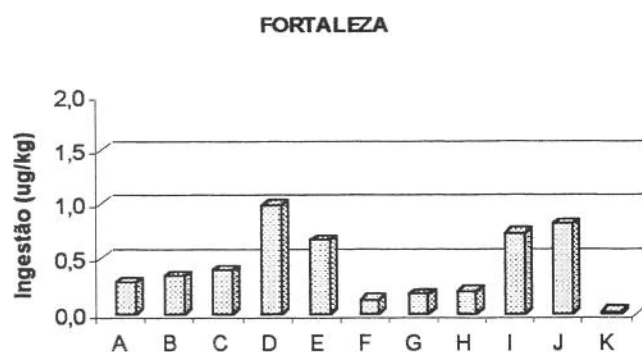
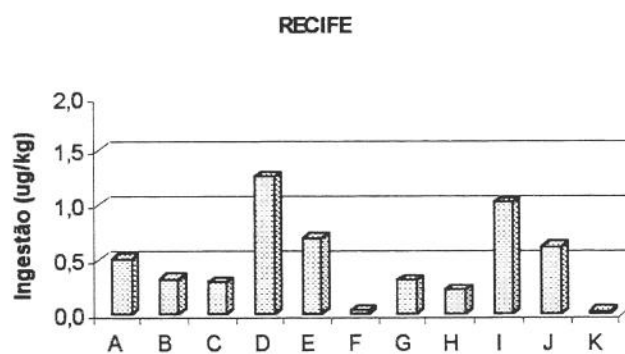
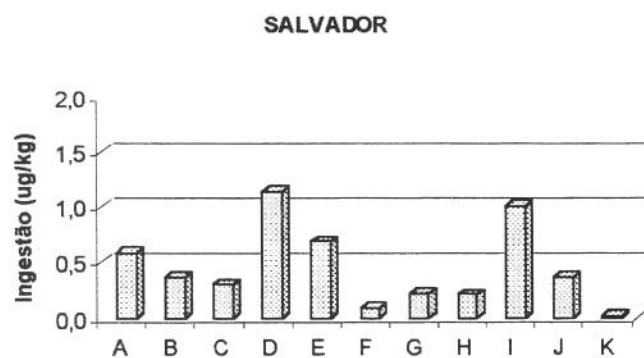
A= VEGETAIS
B= FRUTAS
C= LÁCTEOS

D=ÓLEOS E GORDURAS
E= CEREAIS
F= LEGUMINOSAS

G= TUBÉRCULOS
H= BEBIDAS
I= AÇÚCARES

J= CARNES
K= OUTROS

Figura 3. Contribuição de grupos de alimentos na ingestão de HPAs na região Sudeste.



A= VEGETAIS

B= FRUTAS

C= LÁCTEOS

D=ÓLEOS E GORDURAS

E= CEREAIS

F= LEGUMINOSAS

G= TUBÉRCULOS

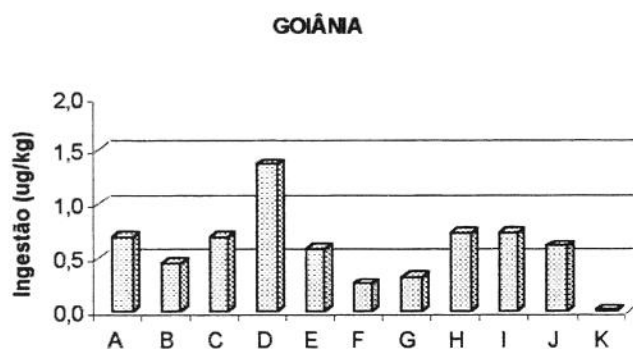
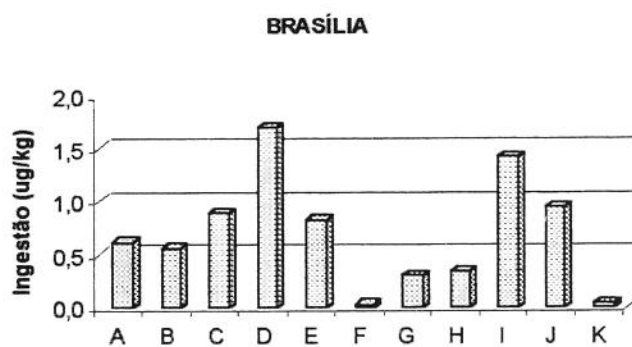
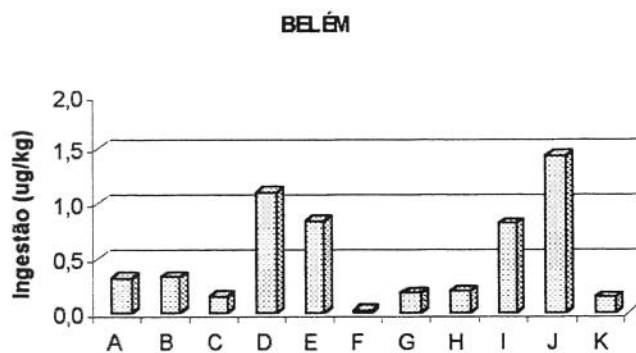
H= BEBIDAS

I= AÇÚCARES

J= CARNES

K= OUTROS

Figura 4. Contribuição de grupos de alimentos na ingestão de HPAs na região Nordeste.



A= VEGETAIS
B= FRUTAS
C= LÁCTEOS

D=ÓLEOS E GORDURAS
E= CEREAIS
F= LEGUMINOSAS

G= TUBÉRCULOS
H= BEBIDAS
I= AÇÚCARES

J= CARNES
K= OUTROS

Figura 5. Contribuição de grupos de alimentos na ingestão de HPAs nas regiões Norte e Centro-Oeste.

Comparando-se os resultados obtidos com outros estudos de dieta total, observa-se que o grupo dos óleos e gorduras também foi aquele que mais contribuiu para a ingestão desses contaminantes (Dennis *et al.*, 1983; De Vos *et al.*, 1990; Lodovici *et al.*, 1995). A ingestão diária de HPAs nas capitais brasileiras (4,7 a 7,7 $\mu\text{g/kg}$) foi superior aos valores reportados por Dennis (3,7 $\mu\text{g/kg}$) na Inglaterra e Lodovici *et al.* (3,0 $\mu\text{g/kg}$) na Itália, e praticamente dentro do limiar da faixa estimada por De Vos *et al.* (5 a 17 $\mu\text{g/kg}$) na Holanda .

Os dados do presente estudo confirmam a necessidade de se monitorar a presença de HPAs em óleos e gorduras comercializados no Brasil. Dados adicionais sobre a contaminação do açúcar refinado também são desejáveis, de forma a melhor caracterizar sua importância como fonte potencial de hidrocarbonetos. Embora os níveis de contaminação por HPAs nos cereais tenham sido relativamente baixos, recomenda-se um controle da matéria-prima por parte das indústrias e também seu monitoramento pelas autoridades públicas, devido ao consumo relativamente maior desse grupo de alimentos na dieta total.

Agradecimentos

À FAPESP, pela concessão de bolsa de doutorado no país, Processo 96/2045-4.

À FAPESP, pela concessão de auxílio financeiro à pesquisa, Processo 97/5535-5.

Referências bibliográficas

1. ATSDR. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). *Agency for Toxic Substances and Disease Registry*, Department of Health and Human Services, Public Health Service, Atlanta, GA, USA. Registry <http://www.atsdr.cdc.gov:8080/tfacts69.html>. 1996

2. BARTLE, K.D. Analysis and occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons in food. In: Creaser, C.S., Purchase, R. (Eds.), *Food Contaminants: Sources and Surveillance*, The Royal Society of Chemistry, Cambridge, chapter 3, pp.41-60, 1991.
3. CAMARGO, M.S.F.O. & TOLEDO, M.C.F. Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos em margarina, creme vegetal e maionese. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v.20, n.1, janeiro/abril, p.51-55, 2000.
4. DATAMARK LTDA. Brazil Trend' 99 – *Trends in the packaged goods market*, 8th ed., São Paulo, SP, 1999.
5. DENNIS, M.J.; MASSEY, R.C.; McWEENY, D.J.; KNOWLES, M.E. Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in UK total diets. *Food Chemical Toxicology*, v.21, n.5, p. 569-574. 1983.
6. DE VOS, R.H.; VAN DOKKUM, W.; SCHOUTEN, A.; JONG-BERKHOUT, P. Polycyclic aromatic hydrocarbons in Dutch total diet samples (1984-1986). *Food Chemical Toxicology*, v.28, n.4, p. 263-268. 1990.
7. FALCÓN, M.S.G.; AMIGO, S.G.; YUSTY, M.A.L.; LOZANO, J.S. Determination of benzo(a)pyrene in some Spanish commercial smoked products by HPLC-FL. *Food Additives and Contaminants*, v.16, n.1, p.9-14, 1999.
8. GOMAA, E.A.; GRAY, J.I.; RABIE, S.; LOPEZ-BOTE, C.; BOOREN, A.M. Polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked food products and commercial liquid smoke flavourings. *Food Additives and Contaminants*, v.10, n.5, p.503-521, 1993.

9. GREENBERG, A.; HSU, C.H.; ROTHMAN, N.; STRICKLAND, P.T. PAH profiles of charbroiled hamburgers: Pyrene/B(a)P ratios and presence of reactive PAH. *Polycyclic Aromatic Compounds*, v.3, p.101-110, 1993.
10. HATTERMER-FREY, H.A. & TRAVIS, C.C. Benzo(a)pyrene environmental partitioning and human exposure. *Toxicology Industry and Health*, v.7, p.141-157. 1991.
11. HISCHENHUBER, C. & STIJVE, T. Determination of benzo(a)pyrene in roasted coffee and coffee brews by HPLC with fluorescence detection. *Zeitschrift fur Lebensmittelkunde und Lebensmittelrecht*, v. 83, p. 1-4. 1987.
12. HOWARD, J.W. & FAZIO, T. Review of pycyclic aromatic hydrocarbons in foods. *Journal of Association of Official Analytical Chemists*, v.63,n.5, p.1077-1104, 1980.
13. HUSAIN, A.; NAEEMI, E.; DASHTI, B.; AI-OMIRAH, H.; AI-ZENKI, S. Polycyclic aromatic hydrocarbons in food products originating from locally rared animals in Kuwait. *Food Additives and Contaminants*, v.14, n.3, p. 295-299, 1997.
14. IARC, 1983, Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemical to Humans, Vol.32. *Polynuclear Aromatic Compounds, Part 1, Chemical, Environmental and Experimental Data* (Lyon: International Agency for Research on Cancer), pp. 1-477.
15. IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Consumo Alimentar Domiciliar Per Capita em : *Pesquisa de Orçamentos Familiares*, v.2, Rio de Janeiro, 1998, 137 pp.

16. LO, M. & SANDI, E. Polycyclic aromatic hydrocarbons (Polynuclears) in foods. *Residue Review*, v. 69, p. 35-56, 1978.
17. LODOVICI, M.; DOLARA, P.; CASALINI, C.; CIAPPELLANO, S.; TESTOLINI, G. Polycyclic aromatic hydrocarbon contamination in the Italian food. *Food Additives and Contaminants*, v.12, n.5, p.703-713, 1995.
18. MACHADO, L.S.; BERNASIUK, C.; SCHENKEL, E.; NOLL, I.B.; TOLEDO, M.C.F. Determinação de hidrocarbonetos poliaromáticos em erva mate. // *Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos: progresso e Ação para o Ano 2000*, Campinas, SP, 11-14 de novembro de 1997.
19. MILLER, J.C. & MILLER, J.N. Errors in instrumental analysis; regression and correlation. In: *Statistics for Analytical Chemistry*, chapter 5, Ellis Horwood Limited, pp. 101-139, 1993.
20. NOLL, I.B. & TOLEDO, M.C.F. Benzo(a)pireno em carnes defumadas pelos processos caseiro e industrial. *Revista Brasileira de Toxicologia.*, v.10, n.1, p.19-23, 1997.
21. ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD (OMS), 1985, *Orientaciones para el estudio de las Ingestas Alimentarias de Contaminantes Químicos*. Ginebra, 114p. (Publication en offset, n.87).
22. PUPIN, A.M. & TOLEDO, M.C.F. Benzo(a)pyrene in Brazilian vegetable oils. *Food Additives and Contaminants*, v.13, n.6, p.639-646, 1996.

23. SPEER, K.; STEEG, E.; HORSTMANN, P.; KUHN, T.; MONTAG, A.
Determination and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in native vegetable oils, smoked fish products, mussels and oysters, and bream from the river Elbe. *Journal of High Resolution Chromatography*, v.13, p. 104-111, 1990.
24. TOLEDO, M.C.F. & CAMARGO, M.S.F.O. Benzo(a)pireno em óleos de milho produzidos e comercializados no Brasil. *Ciência e Tecnologia de Alimentos* v.18, n.1, p.73-76, 1998.
25. VAESSEN, H.A.M.G.; JEKEL, A.A.; WILBERS, A.A.M.M. Dietary intake of polycyclic aromatic hydrocabons. *Toxicological and Environmental Chemistry*, v.16, p.281-294. 1988.
26. WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. GEMS/Food Total Diet Studies. Report of a Joint USFDA/WHO International Workshop on Total Diet Studies in cooperation with the Pan American Health Organization, Kansas City, Missouri, USA, 26 July-6 August, 1999.
27. YABIKU,H.Y.; MARTINS,M.; TAKAHASHI,M.Y. Levels of benzo(a)pyrene and others polycyclic aromatic hydrocabons in liquid smoke flavour and some smoked foods. *Food Additives and Contaminants*, v.10, n.4, p.339-405, 1993.

CAPÍTULO 5

AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO DE DIFERENTES GRUPOS DE ALIMENTOS POR HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS

**TRABALHO A SER SUBMETIDO PARA PUBLICAÇÃO NA REVISTA:
“ REVISTA BRASILEIRA DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS ”**

RESUMO

Diferentes alimentos incluindo produtos lácteos, cereais, farinhas e massas, panificados, produtos cárneos defumados e açúcares foram analisados quanto à presença de dez hidrocarbonetos policíclicos aromáticos: fluoranteno, pireno, benzo(a)antraceno, criseno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno, dibenzo(a,h)antraceno e benzo(g,h,i)perileno. A metodologia analítica envolveu as etapas de saponificação com KOH metanólico, extração com cicloexano e dimetilformamida e limpeza em coluna cromatográfica de sílica gel. A determinação foi feita por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por fluorescência. A confirmação da identidade dos HPAs foi conduzida por CG-MS/SIM. Benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno e benzo(b)fluoranteno foram os compostos que ocorreram mais freqüentemente, tendo sido detectados em 81,8, 72,7 e 68,1% das amostras, respectivamente. Os níveis de contaminação nos alimentos analisados variaram na faixa de 0,07 a 9,29 µg/kg. Açúcar foi o alimento que apresentou a maior quantidade média de HPAs totais (15,44 µg/kg), seguido pelas carnes defumadas (5,68 µg/kg).

Palavras-chave: hidrocarboneto policíclico aromático; cromatografia líquida de alta eficiência, alimentos.

ABSTRACT

POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBON CONTAMINATION IN DIFFERENT COMMODITY GROUPS

Foods representative of various commodity groups including dairy products, cereals, flours and pasta, bakery products, smoked meat and sugar were analysed for ten PAHs: fluoranthene, pyrene, benzo(a)anthracene, chrysene, benzo(e)pyrene, benzo(b)fluoranthene, benzo(k)fluoranthene, benzo(a)pyrene, benzo(ah)anthracene and benzo(ghi)perylene. The analytical methodology involved liquid-liquid extraction, clean-up on silica gel column and determination by high performance liquid chromatography using fluorescence detector. PAHs peak identity was performed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The most frequently occurring PAHs were benzo(k)fluoranthene, benzo(a)pyrene and benzo(b)fluoranthene, which were found in 81.8, 72.7 and 68.1 % of the samples, respectively. The PAH levels determined in the analysed products ranged from 0.07 to 9.29 $\mu\text{g/kg}$. Sugar showed the highest mean total PAH concentration (15.44 $\mu\text{g/kg}$), followed by smoked meat (5.68 $\mu\text{g/kg}$).

Keywords: polycyclic aromatic hydrocarbons, high performance liquid chromatography, food.

1. INTRODUÇÃO

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) são um grupo de carcinógenos químicos formados pela fusão de um ou mais anéis benzênicos condensados (SWALLOW, 1976).

Desde que o potencial carcinogênico dos HPAs foi comprovado, principalmente em relação ao benzo(a)pireno, pesquisas têm sido desenvolvidas em diferentes países no sentido de determinar a presença desses compostos nos mais variados gêneros alimentícios (SWALLOW, 1976; JOE *et al.*, 1979; DENNIS *et al.*, 1983; VAESSEN *et al.*, 1988; DE VOS *et al.*, 1990; LODOVICI *et al.*, 1995; HUSAIN *et al.*, 1997; FALCÓN *et al.*, 1999).

A contaminação de alimentos por HPAs se deve à poluição do ar e da água, à sua presença em solos terrestres e marinhos, material de embalagem e a certos tipos de processamento, (LO & SANDI, 1978; HOWARD & FAZIO, 1980; GOMAA *et al.*, 1993). A defumação, a secagem de grãos e a torrefação são exemplos de processamentos que contribuem para o aporte de HPAs em carnes, queijos, grãos, café, óleos vegetais, entre outros (HOWARD & FAZIO, 1980; DENNIS *et al.*, 1983; LAWRENCE & WEBER, 1984; LARSSON, 1986; DE VOS *et al.*, 1990; SPEER *et al.*, 1990; LODOVICI *et al.*, 1995).

Pesquisas já realizadas no Brasil foram direcionadas para a determinação de benzo(a)pireno em algumas categorias de alimentos, como produtos cárneos, óleos, gorduras e derivados (YABIKU *et al.*, 1993; PUPIN & TOLEDO, 1996 a e b; NOLL & TOLEDO, 1997 a e b; CAMARGO & TOLEDO, 1998; CAMARGO & TOLEDO, 2000).

Considerando-se que não existem dados nacionais quanto à presença de HPAs em outros alimentos que compõem a dieta, o presente estudo teve por objetivo detectar e quantificar esses compostos em produtos lácteos, cereais, panificados, leguminosas, tubérculos, açúcares, produtos cárneos defumados e pizza.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Amostras

Os produtos analisados estão listados na Tabela 1. Para compor cada grupo foram selecionados os alimentos mais consumidos em todas as regiões metropolitanas e aqueles cujo consumo se destacava em alguma delas. Esses alimentos, obtidos no comércio da cidade de Campinas, SP, entre 1997 e 1999, foram amostrados como descrito a seguir:

- Alimentos industrializados em geral: três lotes (uma embalagem de cada) de três marcas diferentes, totalizando nove amostras de cada produto;
- Açúcar: três pacotes, de três marcas, representando três épocas distintas da colheita da cana-de-açúcar, num total de nove amostras;
- Pão francês: duas fornadas de três padarias, cada fornada composta de seis pãezinhos
- Pizza: duas pizzas de muzzarella de três pizzarias com forno à lenha, num total de seis amostras
- Cenoura e batata: adquiridas de três frutarias, totalizando aproximadamente 5 kg de cada tubérculo

2.2. Preparação das amostras

Todos os alimentos listados na Tabela 1 foram preparados e analisados individualmente. As mesmas quantidades das diferentes marcas, lotes ou origem de cada produto foram pesadas e combinadas. Em seguida, a mistura foi homogeneizada para posterior análise.

Produtos como arroz, macarrão e feijão foram cozidos de acordo com a maneira usual de consumo, sem adição de óleo, sal e temperos. As amostras de pães foram cortadas em pedaços pequenos, misturadas, e então torradas em forno elétrico convencional a fim de facilitar o processo de homogeneização.

Tabela 1. Alimentos selecionados para análise nos diferentes grupos alimentícios.

<i>Grupos</i>	<i>Subgrupos</i>
• Produtos lácteos	Leite Queijo Iogurte
• Cereais/farinhas/massas	Farinha de mandioca Macarrão Arroz Fubá
• Panificados	Pão francês Pão de forma integral Bolacha água/sal
• Leguminosas	Feijão Ervilha Amendoim
• Tubérculos	Batata Cenoura
• Produtos cárneos defumados	Bacon Frango Lingüiça Salsicha Mortadela
• Açúcares	Açúcar refinado
• Outros	Pizza

2.3. Padrões e Reagentes

Os HPAs selecionados para a análise, assim como seus respectivos potenciais carcinogênicos e limites de detecção, estão listados na Tabela 2.

Os padrões foram obtidos da Supelco, Inc., com exceção do benzo(a)pireno e benzo(e)pireno, que foram adquiridos, respectivamente, da Sigma e da Aldrich Chemical Co. Todos os solventes utilizados na extração foram da marca Mallinckrodt, grau HPLC.

Tabela 2. HPAs, abreviação, carcinogenicidade e limite de detecção.

Composto	Abreviação	Carcinogenicidade ¹	Limite de detecção (LD) (µg/kg) ²
Fluoranteno	Flu	-	0,23
Pireno	Py	-	1,03
Benzo(a)antraceno	B(a)A	+	0,12
Criseno	Chy	±	0,37
Benzo(e)pireno	B(e)P	-	1,29
Benzo(b)fluoranteno	B(b)F	+	0,07
Benzo(k)fluoranteno	B(k)F	+	0,08
Benzo(a)pireno	B(a)P	+	0,07
Dibenzo(ah)antraceno	D(ah)A	+	0,17
Benzo(ghi)perileno	B(ghi)P	-	0,15

¹ Suficiente evidência (+); evidência limitada (±); insuficiente ou nenhuma evidência (-) para carcinogenicidade em animais de laboratório (IARC, 1983).

² Limite de detecção calculado segundo Miller & Miller (1993).

2.4. Metodologia

2.4.1. Extração

O método de extração e purificação utilizado foi aquele proposto por SPEER *et al.* (1990). Vinte e cinco gramas de amostra completamente homogeneizada foram pesadas (sem adição de água) em balão de fundo redondo de 500 ml, adicionando-se em seguida 100 ml de KOH metanólico 2 mol/L e pedras de ebulição. Após refluxo de 5 horas, o material saponificado foi transferido para um funil de separação de 500 ml e o frasco lavado com 100 ml de metanol-água (9:1, v/v). O filtrado foi extraído com 2 porções de 150 ml de cicloexano e a fase orgânica lavada primeiramente com 100 ml de metanol-água (1:1, v/v) e em seguida com 100 ml de água bidestilada. A fase orgânica foi transferida para um balão de fundo redondo e o volume reduzido a cerca de 50 ml em um rota evaporador à 40 °C. Em seguida, os HPAs foram sucessivamente extraídos do cicloexano com 3 porções de 50, 25 e 25 ml de dimetilformamida-

água (9:1, v/v). O extrato combinado foi diluído com 100 ml de sulfato de sódio a 1% em água e re-extraído com porções de 50, 35 e 35 ml de cicloexano. Procedeu-se então à lavagem com 40 ml de água bidestilada (2 vezes) e retirada da água residual com 2,5 g de sulfato de sódio anidro. Depois disso, o extrato foi concentrado até um volume de 5 ml em um rota evaporador à 40 °C. Todas as amostras foram analisadas em duplicata.

Análises de controle sobre os reagentes (análise do branco) foram simultaneamente realizadas com cada série de amostras.

2.4.2. Limpeza em coluna de sílica-gel

Para a limpeza do extrato, utilizou-se uma coluna de vidro (21 x 1,1cm d.i. e reservatório de 8 x 3,1cm d.i.) empacotada com 5g de sílica gel 60 (70-230 mesh, ASTM, Merck SA Indústrias Químicas) e 40 ml de cicloexano, adicionando-se sulfato de sódio anidro no topo da mesma. A sílica gel utilizada foi desativada com 15% água para evitar a degradação dos HPAs. O extrato foi aplicado à coluna e a fração, após ser eluída por gravidade com 85 ml de cicloexano, foi recolhida em um balão de fundo redondo de 250 ml. O volume foi concentrado em um rota evaporador, à 40 °C, até aproximadamente 2 ml, que foi seco sob corrente de nitrogênio. Adicionaram-se ao resíduo 2 ml de acetonitrila, os quais foram transferidos para o frasco de amostras do cromatógrafo.

2.4.3. Análise cromatográfica

Utilizou-se um cromatógrafo com bomba quaternária Waters modelo 600 e injetor automático Waters modelo 717, com alça de amostra de 30 µl. O sistema também estava equipado com detector de fluorescência Waters 474, com comprimentos de onda de 290 nm (emissão) e 430 nm (excitação). Para a separação dos HPAs foi usada uma coluna cromatográfica C18 (Vydac 201 TP), 25 cm x 4,6 mm d.i., partículas de 5µm, termestável à 30 °C, e fase móvel isocrática composta de acetonitrila-água (75:25, v/v), a uma vazão de 1,0 ml/minuto. O integrador utilizado foi um Spectraphysics, modelo SP4400.

Uma identificação preliminar dos HPAs nas amostras analisadas foi feita pela comparação dos tempos de retenção dos picos obtidos com os dos respectivos padrões e também por co-cromatografia.

2.4.4. Confirmação da identidade dos HPAs

A confirmação da identidade dos HPAs nas amostras foi efetuada por cromatografia gasosa acoplada a espectômetro de massas (CG-MS), através do monitoramento de íons selecionados (SIM). As análises foram conduzidas em um sistema CG-MS QP5000 da Shimadzu, equipado com injetor automático split/splitless (AOC-17, Shimadzu Co.) e coluna capilar de sílica fundida SPB-5 (Supelco) de 30m x 0,25mm d.i., recoberta por um filme de 0,25 µm com 95% dimetil 5% difenil polissiloxano.

As seguintes condições cromatográficas foram utilizadas na identificação dos HPAs: detector e injetor com temperatura inicial de 280 °C; forno com programação de temperatura, iniciando-se com 120 °C, aumentando-se 5 °C/min. até 280 °C e permanecendo nesse valor por 26 minutos, com tempo total de corrida de 60 minutos; injeções de 3µl de amostra feitas no modo splitless e abertura da válvula da purga após 3 minutos. Hélio foi utilizado como gás de arraste a uma vazão de 0,7 ml/min.

2.4.5. Quantificação

Para a determinação dos níveis dos HPAs nas amostras utilizou-se o método da padronização externa. A partir de uma solução estoque dos padrões de Flu, Py, B(a)A, Cri, B(e)P, B(b)F, B(k)F, B(a)P, D(ah)A e B(ghi)P obteve-se por diluição com acetonitrila a faixa de concentrações desejadas para cada um deles. As curvas de calibração traçadas mostraram-se lineares dentro das concentrações de trabalho.

2.5. Validação da Metodologia

2.5.1. Recuperação

Os testes de recuperação foram feitos adicionando-se quantidades conhecidas de cada HPA, em diferentes concentrações (2,0; 4,0 e 8,0 µg/kg), em amostras selecionadas de cada um dos grupos de alimentos (leite, farinha de mandioca, pão de forma integral, feijão, cenoura, bacon, açúcar e pizza). As análises das amostras fortificadas, assim como dos controles, foram feitas em duplicata. As recuperações foram calculadas pela diferença entre os valores totais obtidos para os HPAs nas amostras fortificadas e não fortificadas. Os resultados analíticos reportados não foram corrigidos em função da porcentagem de recuperação.

2.5.2. Limite de detecção

O limite de detecção dos HPAs foi estimado a partir de três vezes o desvio do sinal da linha de base, calculado a partir das respectivas curvas de calibração dos padrões, conforme proposto por MILLER & MILLER (1993). Os valores encontrados no presente estudo estão apresentados na Tabela 2.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O procedimento de extração desenvolvido por SPEER *et al.* (1990) mostrou-se satisfatório para a análise dos HPAs nas diferentes matrizes selecionadas, não sendo necessário modificar qualquer etapa do procedimento original. Os valores médios de recuperação obtidos (Tabela 3) se situaram na faixa de 74 a 97%, com um coeficiente de variação máximo de 11,7%, dentro dos limites aceitos para análise de contaminantes em níveis de µg/kg (HORWITZ *et al.*, 1980). Para algumas matrizes a estimativa de desvio padrão em torno da

média foi grande, o que representa uma maior variabilidade nos valores de recuperação obtidos em função dos níveis de fortificação utilizados.

As Figuras 1 e 2 ilustram os cromatogramas obtidos para amostras dos grupos de cereais e panificados, que foram as matrizes que apresentaram maior número de HPAs.

Tabela 3. Recuperação dos padrões de HPAs em diferentes grupos de alimentos.

<i>Recuperação média (%) em diferentes grupos de alimentos ¹</i>								
<i>HPA</i>	<i>I</i>	<i>II</i>	<i>III</i>	<i>IV</i>	<i>V</i>	<i>VI</i>	<i>VII</i>	<i>VIII</i>
Fluoranteno	84,6 ± 10,3	84,1 ± 6,6	86,3 ± 2,5	85,5 ± 4,3	89,6 ± 2,3	83,6 ± 8,3	94,3 ± 4,7	85,7 ± 6,5
Pireno	87,3 ± 10,2	82,3 ± 3,5	84,7 ± 6,5	85,8 ± 2,5	81,0 ± 4,6	86,2 ± 1,3	89,1 ± 1,3	74,7 ± 2,9
Benzo(a)antraceno	90,3 ± 7,0	91,0 ± 1,0	96,2 ± 2,8	88,7 ± 3,5	91,1 ± 2,6	82,0 ± 4,4	93,0 ± 1,0	86,3 ± 2,5
Criseno	84,7 ± 11,7	82,0 ± 6,6	86,4 ± 10,1	78,5 ± 3,9	87,3 ± 2,9	84,3 ± 3,8	80,7 ± 5,9	75,7 ± 5,9
Benzo(e)pireno	65,7 ± 7,2	83,9 ± 4,7	83,7 ± 3,8	84,7 ± 3,7	88,4 ± 3,8	80,6 ± 1,6	77,1 ± 1,0	87,0 ± 1,7
Benzo(b)fluoranteno	82,3 ± 5,1	91,0 ± 3,5	87,9 ± 1,8	88,6 ± 1,2	93,0 ± 2,0	96,0 ± 2,7	82,4 ± 2,3	91,3 ± 2,5
Benzo(k)fluoranteno	75,0 ± 1,4	97,7 ± 1,4	97,1 ± 1,1	92,8 ± 3,4	91,2 ± 3,3	91,3 ± 3,1	95,2 ± 1,4	93,2 ± 3,7
Benzo(a)pireno	82,3 ± 6,4	89,3 ± 1,0	89,9 ± 7,0	90,0 ± 3,7	92,1 ± 1,0	88,3 ± 2,1	93,3 ± 2,5	92,9 ± 3,9
Dibenzo(ah)antraceno	88,3 ± 4,7	89,9 ± 2,2	79,4 ± 1,8	90,5 ± 1,0	86,8 ± 4,6	88,0 ± 6,6	92,1 ± 4,5	91,8 ± 9,4
Benzo(ghi)perileno	90,0 ± 4,4	89,6 ± 3,6	86,7 ± 2,0	93,7 ± 3,3	90,2 ± 3,0	90,5 ± 5,7	86,0 ± 5,2	91,4 ± 1,2

¹ Os valores são média de 3 níveis de fortificação ± coeficiente de variação(%). As determinações foram feitas em duplicata. I=lácteos; II=cereais; III=panificados; IV=leguminosas; V=tubérculos; VI=carnes; VII=açúcares; VIII=pizza.

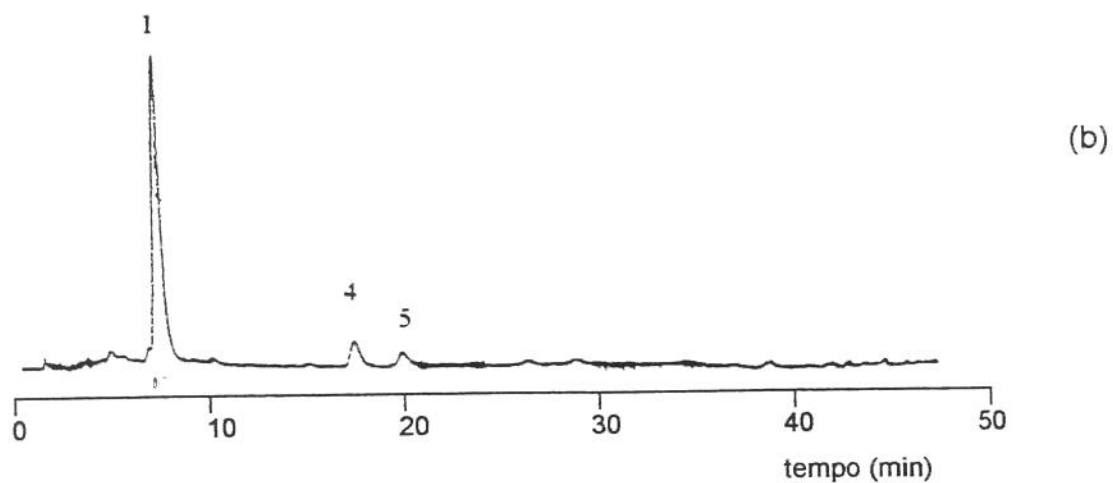
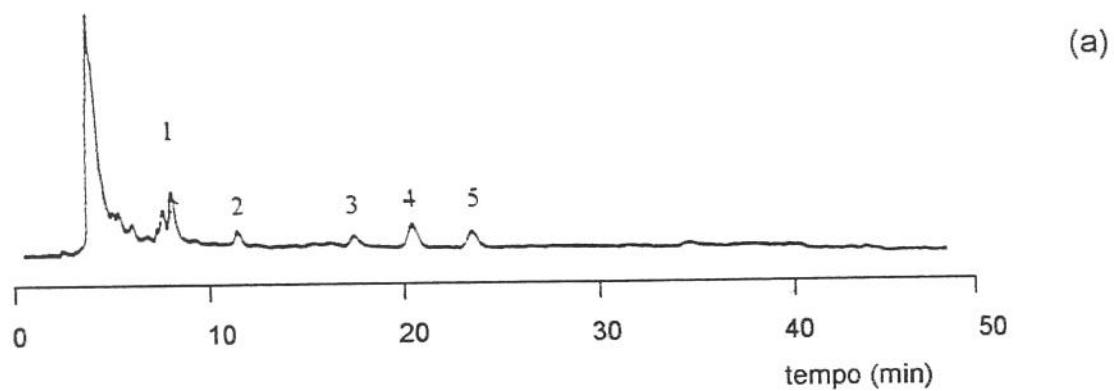
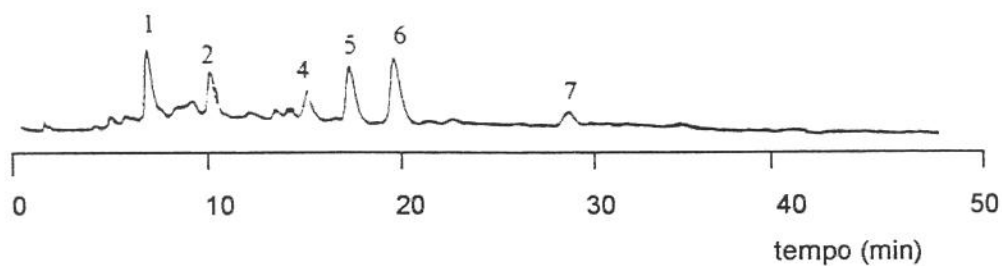


Figura 1. Cromatogramas por CLAE referentes a amostras de (a) farinha de mandioca; (b) arroz. Coluna C18 (Vydac 201 TP); fase móvel acetonitrila-água (75:25, v/v); vazão:1,0 ml/min; volume injetado:30 μ l, detecção por fluorescência. HPAs: 1. fluoranteno; 2. benzo(a)antraceno; 3. benzo(b)fluoranteno; 4. benzo(k)fluoranteno; 5. benzo(a)pireno.

(a)



(b)

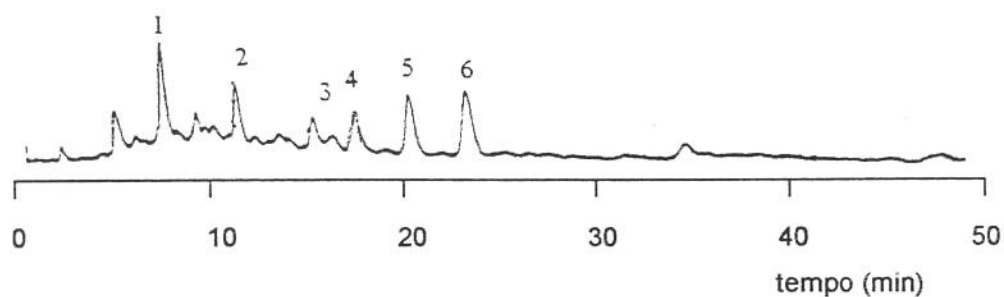


Figura 2. Cromatogramas por CLAE referentes a amostras de (a) pão francês; (b) bolacha água e sal. Coluna C18 (Vydac 201 TP), fase móvel acetonitrila-água (75:25, v/v); vazão:1,0 ml/min; volume injetado:30 μ l; detecção por fluorescência. HPAs: 1. fluoranteno; 2. benzo(a)antraceno; 3. benzo(e)pireno; 4. benzo(b)fluoranteno; 5. benzo(k)fluoranteno; 6. benzo(a)pireno; 7. dibenzo(ah)antraceno; 8. benzo(g,h,i)perileno.

A Tabela 4 mostra os níveis médios dos HPAs encontrados nos alimentos estudados. Benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno e benzo(b)fluoranteno foram os HPAs que ocorreram mais frequentemente, em 81,8, 72,7 e 68,1% das amostras, respectivamente. Os níveis determinados para esses compostos se situaram na faixa de não detectado a 0,70 µg/kg. Criseno não foi detectado nas amostras analisadas.

Considerando-se separadamente cada grupo de alimentos, observa-se que nas amostras de produtos lácteos foram identificados três HPAs: fluoranteno, benzo(k)fluoranteno e benzo(ghi)perileno, sendo que desses, o fluoranteno foi o único que apresentou níveis elevados (4,42 µg/kg) relativamente a sua presença na maioria dos demais grupos de alimentos. Também Dennis *et al.* (1983) encontraram fluoranteno em maior quantidade (0,15 µg/kg) em amostras de leite comercializadas na Inglaterra, embora um maior número de HPAs tenha sido identificado. LODOVICI *et al.* (1995) relataram que, de 13 HPAs analisados em leite, apenas pireno, criseno e benzo(ghi)perileno não foram detectados.

Na farinha de mandioca, fubá, arroz e macarrão, benzo(a)pireno e benzo(k)fluoranteno, ambos carcinogênicos, estavam presentes em todas as amostras analisadas, com teores variando entre 0,08 e 0,15 µg/kg. Desses produtos, LODOVICI *et al.* (1995) analisaram apenas o arroz e o macarrão. Comparativamente, os níveis de benzo(a)pireno determinados pelos autores foram de 5 a 10 vezes menores em relação aos valores apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Teores de HPAs (µg/kg) em diferentes produtos.

Teores de HPAs (µg/kg) nos diferentes alimentos dentro de cada grupo												
Grupo de alimentos	Flu	Py	B(a)A	Cri	B(e)P	B(b)F	B(k)F	B(a)P	D(ah)A	B(ghi)P	ΣHPAs	ΣHPAs carcng.
Produtos lácteos												
Leite	4,42	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,08	n.d.	n.d.	0,76	5,26	0,08
Queijo	2,76	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,08	n.d.	n.d.	0,51	3,35	0,08
Iogurte	3,32	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,08	n.d.	n.d.	1,64	5,04	0,08
Cereais/farinhas/massas												
Farinha mandioca	1,34	n.d.	0,13	n.d.	n.d.	0,16	0,08	0,08	n.d.	n.d.	1,79	0,45
Macarrão	n.d.	n.d.	0,13	n.d.	n.d.	n.d.	0,11	0,15	n.d.	n.d.	0,39	0,39
Arroz	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,08	0,13	n.d.	n.d.	0,21	0,21
Fubá	2,10	n.d.	0,40	n.d.	n.d.	0,17	0,09	0,12	n.d.	n.d.	2,88	0,78
Panificados												
Pão francês	2,38	n.d.	0,58	n.d.	n.d.	0,32	0,12	0,30	0,21	n.d.	3,91	1,53
Pão forma integral	2,27	n.d.	0,67	n.d.	1,36	0,38	0,14	0,29	n.d.	0,21	5,32	1,48
Bolacha água/sal	2,78	n.d.	0,68	n.d.	1,50	0,62	0,17	0,35	n.d.	n.d.	6,10	1,82
Leguminosas												
Feijão	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-	-
Ervilha	0,29	n.d.	0,18	n.d.	n.d.	0,48	0,10	0,10	0,16	n.d.	1,31	1,02
Amendoim	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	-	-
Tubérculos												
Batata	4,03	n.d.	0,28	n.d.	n.d.	0,43	0,08	n.d.	n.d.	n.d.	4,82	0,79
Cenoura	0,52	n.d.	0,27	n.d.	n.d.	0,23	0,27	0,39	0,34	3,44	5,46	1,50
Açúcares												
Açúcar refinado	9,29	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,70	0,09	0,19	5,17	n.d.	15,44	6,15
Produtos cárneos defumados												
Bacon	5,47	n.d.	0,44	n.d.	1,30	0,36	0,14	0,44	n.d.	2,14	10,29	1,38
Frango	4,04	n.d.	0,61	n.d.	1,89	0,41	0,08	0,38	n.d.	1,48	8,89	1,48
Lingüiça	1,00	n.d.	0,12	n.d.	1,30	0,41	0,08	0,12	0,69	n.d.	3,72	1,42
Salsicha	1,28	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,26	n.d.	0,32	n.d.	2,10	3,96	0,58
Mortadela	0,79	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,14	n.d.	0,10	n.d.	0,49	1,52	0,24
Outros												
Pizza (forno à lenha)	2,20	n.d.	0,12	n.d.	n.d.	0,19	0,12	0,23	n.d.	1,11	3,97	0,66

n.d.: não detectado. Limites de detecção: Tabela 2.

Entre os panificados, diferentemente dos cereais, os HPAs ocorreram com mais frequência e em maiores concentrações. Fluoranteno, benzo(a)antraceno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno e benzo(a)pireno foram detectados em todas as amostras analisadas. Entre eles, apenas o fluoranteno é considerado não carcinogênico (IARC, 1983). Conforme os resultados obtidos, o pão de forma integral apresentou uma maior quantidade de HPAs ($\Sigma = 5,32 \mu\text{g/kg}$) em relação

ao pão francês ($\Sigma = 3,91 \mu\text{g/kg}$). Esta observação concorda com a literatura, onde produtos feitos com farinha de trigo integral também apresentaram maiores quantidades de HPAs comparativamente aos produzidos com farinha branca (TUOMINEN *et al.*, 1988; DENNIS *et al.*, 1991). LAWRENCE & WEBER (1984), por exemplo, encontraram maiores níveis de HPAs no farelo de trigo e também no trigo integral. Tal fato não é surpreendente se for considerado que os alimentos fabricados com a farinha de trigo integral possuem em sua composição todo o grão, incluindo a parte externa da semente, mais exposta à contaminação ambiental. O fato de a bolacha ter maior quantidade de HPAs totais em relação ao pão também era esperado, uma vez que em sua composição entra uma maior porcentagem de gordura (VAESSEN *et al.*, 1988; DENNIS *et al.*, 1991). VAESSEN *et al.* (1988), por exemplo, encontraram duas vezes mais HPAs em bolachas do que em pães.

No grupo das leguminosas, apenas ervilhas mostraram-se contaminadas, em níveis relativamente baixos quando comparados aos demais alimentos. Não foram encontrados na literatura dados de contaminação para a ervilha.

Entre os tubérculos, a cenoura foi o que apresentou a maior concentração de HPAs totais ($5,46 \mu\text{g/kg}$). No entanto, os teores determinados em batata ($4,82 \mu\text{g/kg}$) foram muito mais elevados do que os valores reportados por De VOS *et al.* (1990) ($0,80 \mu\text{g/kg}$) e LODOVICI *et al.* (1995) ($0,52 \mu\text{g/kg}$) para o mesmo produto.

Em pizza, benzo(a)pireno foi o contaminante encontrado em níveis mais elevados ($0,23 \mu\text{g/kg}$). Dados publicados por LODOVICI *et al.* (1995) para esse alimento evidenciaram uma contaminação por um número maior de HPAs, com concentrações variando de $0,019 \mu\text{g/kg}$ (benzo(k)fluoranteno) a $9,11 \mu\text{g/kg}$ (benzo(a)antraceno). O nível encontrado para o benzo(a)pireno foi de $0,025 \mu\text{g/kg}$.

As amostras de açúcar refinado estavam contaminadas com 5 dos 10 HPAs analisados, com níveis médios variando na faixa de $0,09$ a $9,29 \mu\text{g/kg}$. Estudos preliminares realizados por SERRA *et al.* (1995), não reportaram HPAs em amostras de açúcar refinado o que, segundo os autores, poderia ser atribuído ao

processo de refinação do produto, que eliminaria os HPAs originários da queima da cana-de-açúcar. No entanto, esta eliminação parece não ser completa, uma vez que o presente estudo, no qual o limite de detecção do benzo(a)pireno ($0,07 \mu\text{g/kg}$) foi cerca de 7 vezes inferior ao valor estimado anteriormente por SERRA *et al.* (1995), evidenciou a presença deste contaminante.

Cumprir destacar que a literatura internacional não apresenta dados sobre a contaminação do açúcar refinado de cana por HPAs, parecendo não haver uma preocupação especial com relação a este alimento. Tal fato pode ser parcialmente atribuído à utilização da colheita mecânica, que elimina a necessidade da queima da cultura, tida como fonte geradora de HPAs (SERRA *et al.*, 1995). Além disso, muitos países fazem uso do açúcar da beterraba.

Entre os produtos defumados, bacon, frango e lingüiça apresentaram o maior número de HPAs, com quantidades variando entre $0,08$ e $5,47 \mu\text{g/kg}$, sendo que no frango defumado foram encontrados todos os HPAs carcinogênicos analisados (B(a)A; B(b)F; B(k)F; B(a)P e D(ah)A). Comparando-se com dados da literatura para o benzo(a)pireno, o nível de contaminação determinado no presente estudo para o bacon ($0,44 \mu\text{g/kg}$) foi muito maior do que o valor encontrado ($0,011 \mu\text{g/kg}$) por FÁLCON *et al.* (1999). Os resultados obtidos para o frango defumado ($0,38 \mu\text{g/kg}$) também foram superiores àqueles relatados por YABIKU *et al.* (1993) para o mesmo produto ($0,20 \mu\text{g/kg}$). Por outro lado, o teor de benzo(a)pireno nas amostras de lingüiça ($0,12 \mu\text{g/kg}$) foi inferior aos níveis reportados por GOMAA *et al.* (1993) ($2,30 \mu\text{g/kg}$) e NOLL & TOLEDO (1997) ($0,71 - 1,36 \mu\text{g/kg}$).

Em linhas gerais, dos alimentos analisados o açúcar refinado foi o que apresentou a maior quantidade total de HPAs ($\Sigma = 15,44 \mu\text{g/kg}$), seguido do bacon ($\Sigma = 10,29 \mu\text{g/kg}$) e do frango defumado ($\Sigma = 8,89 \mu\text{g/kg}$). Considerando-se apenas os HPAs carcinogênicos, dois dos três produtos analisados no grupo dos panificados se apresentaram mais contaminados: bolacha água e sal ($\Sigma_{\text{carc}} = 1,82 \mu\text{g/kg}$) e o pão francês ($\Sigma_{\text{carc}} = 1,53 \mu\text{g/kg}$).

Os resultados desta pesquisa revelaram a presença de HPAs em vários alimentos que fazem parte da dieta do brasileiro, em níveis dentro da faixa relatada na literatura para alimentos similares. Estas informações, juntamente com dados nacionais de consumo dos alimentos analisados, serão utilizadas para estimar a ingestão total de HPAs e avaliar os alimentos que representam maior fonte de exposição através da dieta. Dessa forma, caso necessário, será possível recomendar aos órgãos responsáveis pela saúde pública o monitoramento da contaminação dos alimentos identificados como importantes fontes desses carcinógenos.

As informações obtidas também serão úteis para o Mercosul, podendo ser incorporadas em futuras resoluções relativas a limites de contaminantes em alimentos.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CAMARGO, M.S.F.O. & TOLEDO, M.C.F. Efeito do processamento na contaminação de óleo refinado de milho por benzo(a)pireno. **Brazilian Journal of Food Technology**, 1(1,2):97-106, 1998.
- CAMARGO, M.S.F.O. & TOLEDO, M.C.F. Hidrocarbonetos aromáticos policíclicos em margarina, creme vegetal e maionese. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 20(1):51-55, janeiro/abril, 2000.
- DENNIS, M.J.; MASSEY, R.C.; McWEENY, D.J.; KNOWLES, M.E. Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in UK total diets. **Food Chemical Toxicology**, 21(5):569-574, 1983.

DENNIS, M.J.; MASSEY, R.C.; CRIPPS, G.; VENN, I.; HOWARTH, N.; LEE, G.

Factors affecting the polycyclic aromatic hydrocarbon content of cereals, fats and other food products. **Food Additives and Contaminants**, **8**(4):517-530, 1991.

DE VOS, R.H.; VAN DOKKUM, W.; SCHOUTEN, A.; JONG-BERKHOUT, P.

Polycyclic aromatic hydrocarbons in Dutch total diet samples (1984-1986). **Food Chemical Toxicology**, **28**(4):263-268, 1990.

FALCÓN, M.S.G.; AMIGO, S.G.; YUSTY, M.A.L.; LOZANO, J.S. Determination of benzo(a)pyrene in some Spanish commercial smoked products by HPLC-FL. **Food Additives and Contaminants**, **16**(1):9-14, 1999.

FAZIO, T. & HOWARD, J.W. Polycyclic aromatic hydrocarbons in foods. In: **Handbook of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons**, ed. BjØRSETH, A., Marcel Dekker, New York, 1983, vol.1, chapter 11, p.461.

GOMAA, E.A.; GRAY, J.I.; RABIE, S.; LOPEZ-BOTE, C.; BOOREN, A.M.

Polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked food products and commercial liquid smoke flavourings. **Food Additives and Contaminants**, **10**(5):503-521, 1993.

HOWARD, J.W. & FAZIO, T. Review of polycyclic aromatic hydrocarbons in foods. **Journal of Association of Official Analytical Chemists**, **63**(5):1077-1104, 1980.

HORWITZ, W.; LAVERNE, R.K.; BOYER, K.W. Quality Assurance in the analyses of foods for trace constituents. **Journal of the Association of Analytical Chemistry**, **63**(6):1344-1354, 1980.

- HUSAIN, A.; NAEEMI, E.; DASHTI, B.; AI-OMIRAH, H.; AI-ZENKI, S., Polycyclic aromatic hydrocarbons in food products originating from locally rared animals in Kuwait. **Food Additives and Contaminants**, **14**(3):295-299, 1997.
- IARC . International Agency for Research on Cancer. Polynuclear Aromatic Compounds. **IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemical to Humans**. Part 1, Chemical, Environmental and Experimental Data, v.32, December, 1983, Lyon, France.
- JOE J.R.; F.L.; EMMA, L.R.; FAZIO, T. Survey of some market basket commodities for polynuclear aromatic hydrocarbons content. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, **62**(3):615-620, 1979.
- LARSSON, B. K. **Polycyclic aromatic hydrocarbons in Swedish foods - Aspects on analysis, occurrence and intake**. Dissertação (Tese de Doutorado), Swedish University of Agricultural Sciences, 1986.
- LAWRENCE, J.F. & WEBER, D.F. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in canadian samples of processed vegetable and dairy products by liquid chromatography with fluorescence detection. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, **32**(4):794-797, 1984.
- LO, M. & SANDI, E. Polycyclic aromatic hydrocarbons (Polynuclears) in foods. **Residue Review**, **69**:35-56, 1978.
- LODOVICI,M.; DOLARA,P.;CASALINI,C.; CIAPPELLANO,S; TESTOLINI,G. Polycyclic aromatic hydrocarbon contamination in the Italian food. **Food Additives and Contaminants**, **12**(5):703-713, 1995.

- MILLER, J.C. & MILLER, J.N., Errors in instrumental analysis; regression and correlation. In: Horwood, E. (Ed.) **Statistics for Analytical Chemistry**, 2.ed., 1993, p. 101-139.
- NOLL, I.B. & TOLEDO, M.C.F. Determinacion de benzo(a)pireno en asados tipo churrasco en Brasil. **Información Tecnológica**, **8**(2):177-181, 1997a.
- NOLL, I.B. & TOLEDO, M.C.F. Benzo(a)pireno em carnes defumadas pelos processos caseiro e industrial. **Revista Brasileira de Toxicologia**, **10**(1):19-23, 1997b.
- PUPIN, A.M. & TOLEDO, M.C.F. Benzo(a)pyrene in Brazilian vegetables oils. **Food Additives and Contaminants**, **13**(6):639-646, 1996a.
- PUPIN, A.M. & TOLEDO, M.C.F. Benzo(a)pyrene in olive oils on the Brazilian market. **Food Chemistry**, **55**(2):185-188, 1996b.
- SERRA, G.E.; PUPIN, A.M., TOLEDO, M.C.F. Ensaio preliminares sobre a contaminação da cana-de-açúcar e derivados por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. **Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, **29**(2):134-137, 1995.
- SPEER, K.; STEEG, E.; HORSTMANN, P.; KUHN, T.; MONTAG, A. Determination and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in native vegetable oils, smoked fish products, mussels and oysters, and bream from the river elbe. **Journal of High Resolution Chromatography**, **13**:104-111, 1990.

SWALLOW, W.H. Survey of polycyclic aromatic hydrocarbons in selected foods and food additives available in New Zealand. **New Zealand Journal of Science**, **19**:407-412, 1976.

TOLEDO, M.C.F. & CAMARGO, M.S.F.O. Benzo(a)pireno em óleos de milho produzidos e comercializados no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, **18**(1):73-76, 1998.

TUOMINEN, J.P.; PYSSALO, H.S. SAURI, M. Cereal products as a source of polycyclic aromatic hydrocarbons. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, **36**:118-120, 1988.

VAESSEN, H.A.M.G.; JEKEL, A.A.; WILBERS, A.A.M.M. Dietary intake of polycyclic aromatic hydrocarbons. **Toxicological and Environmental Chemistry**, **16**:281-294, 1988.

YABIKU, H.Y.; MARTINS, M.; TAKAHASHI, M.Y. Levels of benzo(a)pyrene and others polycyclic aromatic hydrocarbons in liquid smoke flavour and some smoked foods. **Food Additives and Contaminants**, **10**(4):339-405, 1993.

Agradecimentos

À FAPESP, pela concessão de bolsa de doutorado no país, Processo 96/2045-4.

À FAPESP, pela concessão de auxílio financeiro à pesquisa, Processo 97/5535-5.

CAPÍTULO 6

CHÁ E CAFÉ COMO FONTES DE HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS (HPAS) NA DIETA DA POPULAÇÃO DE CAMPINAS

**TRABALHO A SER SUBMETIDO PARA PUBLICAÇÃO NA REVISTA:
“CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS”**

RESUMO

CHÁ E CAFÉ COMO FONTES DE HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS (HPAS) NA DIETA DA POPULAÇÃO DE CAMPINAS. Com o objetivo de determinar os níveis de HPAs em chá e café e avaliar a contribuição desses produtos como fonte de HPAs na dieta da população de Campinas, três diferentes marcas e lotes de chá mate e café em pó, totalizando 18 amostras, foram analisadas. Os dados de consumo de chá e café foram obtidos de uma pesquisa de hábitos alimentares feita no ano de 1993 junto à população local, através do método de frequência de alimentos. A determinação de HPAs foi conduzida por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por fluorescência. A presença de diferentes hidrocarbonetos foi observada em todas as amostras de café analisadas, em níveis variando tanto entre as marcas quanto em função da técnica de preparo da bebida. A quantidade média de HPAs totais encontrada no café foi de 10,12 µg/kg, enquanto que o chá apresentou um nível de contaminantes significativamente menor ($\Sigma=0,70$ µg/kg). Considerando-se a estimativa de consumo diário médio *per capita* de 69,79 g de chá e de 86,77 g de café, pode-se considerar que o chá e o café aportam diariamente cerca de 0,05 µg e 0,88 µg de HPAs totais, respectivamente, na dieta da população estudada (n=600 indivíduos).

Palavras-chave: hidrocarboneto policíclico aromático, chá, café

SUMMARY

COFFEE AND TEA AS A DIETARY SOURCE OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBON (PAHS) IN CAMPINAS. In order to estimate the contribution of mate tea and regular coffee as a source of PAHs in the diet of the population of Campinas, SP, Brazil, different batches and brands of these products, totaling 18 samples, were analysed for PAH. The consumption data were obtained from a dietary survey (frequency recall), which took place in Campinas in 1993. PAH levels in the products were determined by high performance liquid chromatography with fluorescence detection. Different PAHs were detected in all samples of coffee, at levels varying with the brands and the beverage preparation technique. The mean total PAH content in coffee was 10.12 µg/kg, while mate tea showed a relatively lower level of contamination ($\Sigma=0.70$ µg/kg). Considering the *per capita* average daily consumption estimates of 69.79 g of tea and 86.77 g of coffee, one can assume that tea and coffee contribute with approximately 0.05 µg and 0.88 µg of total PHAs, respectively, to the dietary intake of these contaminants by the studied population (n=600).

Key words : Polycyclic aromatic hydrocarbons, coffee, mate tea

1. INTRODUÇÃO

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) são um grupo de compostos que têm sido continuamente objeto de muito interesse, devido ao seu potencial mutagênico e carcinogênico [7,8].

Quatro fontes são consideradas como as principais responsáveis pela presença de HPAs em alimentos e bebidas: fontes naturais (queimadas em florestas, processos geoquímicos); poluição ambiental (tráfego, sistemas de aquecimento, atividades industriais, vazamentos de óleo); alguns tipos de processamentos (defumação, secagem direta com madeira, torrefação) e materiais de embalagem [1, 5, 8, 10, 11].

A contaminação do café por HPAs ocorre durante o processo de torrefação dos grãos [9]. LICKINT (1938), citado por KRUIJF *et al.* (1987) [9] foi o primeiro pesquisador a sugerir a possível formação de HPAs durante a torrefação. Depois disso, vários pesquisadores estudaram a presença desses hidrocarbonetos em café (KURATSUNE & HUEPER, 1960; FRITZ, 1968; LINTAS *et al.*, 1979; BORIES & GASC, 1980; GUYOT *et al.*, 1982, citados por HISCHENHUBER & STIJVE, 1987 [6]). Inicialmente, acreditava-se que grande parte dos HPAs presentes no pó passasse para a bebida [6]. No entanto, pesquisas posteriores sugeriram que apenas 20 a 30% (ou até menos) dos HPAs são extraídos do pó, resultado este confirmado por HISCHENHUBER & STIJVE, 1987 [6], KRUIJF *et al.*, 1987 [9] e Larsson, 1986 [10].

Segundo LARSSON, 1986 [10], o chá, em geral, apresenta níveis superiores de HPAs em relação ao café torrado, sendo a poluição ambiental, aliada à secagem direta das folhas de chá os responsáveis pela contaminação. Ainda, segundo o mesmo autor, apenas pequena quantidade desses compostos passa para a bebida após o processo de infusão. Entretanto, estudos com a erva mate realizados pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul, em parceria com o Laboratório de Toxicologia da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Unicamp, evidenciaram níveis bastante elevados de benzo(a)pireno no chimarrão,

bebida feita com erva mate (*Ilex paraguarensis*), típica da região Sul do país [14]. De acordo com os autores, tal fato pode ser justificado pela presença do pó da erva na infusão, já que a bomba não dispõe de um mecanismo de filtragem apropriado.

O presente estudo teve por objetivos investigar a presença de HPAs em amostras de chá mate e café em pó disponíveis comercialmente, e avaliar sua importância como fonte desses contaminantes na dieta da população de Campinas, SP.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Obtenção de dados de consumo

A participação do chá e do café na dieta da população de Campinas, SP, foi obtida a partir de uma pesquisa feita em 1993, onde 600 indivíduos, com idade entre 9 e 80 anos, foram questionados sobre seus hábitos alimentares em relação aos respectivos produtos [4]. A partir de dados obtidos pelo método da frequência de alimentos, foram estimados o consumo médio e máximo de café e chá, conforme apresentado na Tabela 1.

Tabela 1. Estimativa de consumo diário de chá e café pela população de Campinas, SP¹.

Produto	Consumo (g/pessoa /dia) ²	
	Médio	Máximo
Café	86,77	609,00
Chá	69,79	1325,00

¹ Fonte: CAMARGO *et al.* [4].

² n=600 indivíduos ;

2.2. Amostras

Amostras de três marcas de pó de café e de chá mate a granel foram obtidas no comércio local, em épocas distintas, perfazendo três lotes diferentes de cada marca, num total de 18 amostras. As amostras foram preparadas para a análise como descrito a seguir:

Chá: pesaram-se 25 g de chá num béquer de 1L, onde foram adicionados 500 ml de água destilada fervente, ficando em infusão por 5 minutos, de acordo com as recomendações do fabricante. Em seguida, o chá pronto foi filtrado por gravidade em papel de filtro e o volume concentrado a 250 ml por fervura.

Café: a extração dos HPAs foi feita diretamente do pó de café e da bebida pronta para o consumo. Esta por sua vez foi preparada de duas maneiras distintas: coada e fervida, reproduzindo-se em ambas a proporção caseira de café/água normalmente utilizada. Apesar da maioria dos consumidores não ferver a água junto com o pó de café antes da filtração, esta técnica ainda é utilizada por muitos consumidores, o que determinou sua inclusão no estudo.

Para o preparo do café coado, 25 g de pó foram transferidos para um funil de vidro com papel de filtro, através do qual se escoaram 250 ml de água destilada fervente. Para o café fervido, as mesmas quantidades de pó e água foram aquecidas até fervura antes da filtração.

2.3. Procedimento analítico

Dez HPAs foram selecionados para a determinação nas amostras de chá e café: fluoranteno (Flu), pireno (Py), benzo(a)antraceno (B(a)A), criseno (Chy), benzo(b)fluoranteno (B(b)F), benzo(k)fluoranteno (B(k)F), benzo(a)pireno (B(a)P), dibenzo(ah)antraceno (D(ah)A) e benzo(ghi)perileno (B(ghi)P). O B(a)P e B(e)P

foram obtidos, respectivamente, da Sigma e da Aldrich Chemical Co, enquanto que os demais padrões foram adquiridos da Supelco Inc.

2.3.1. Saponificação, extração e purificação do extrato

A etapa de saponificação foi realizada de acordo com o procedimento descrito por HISCENHUBER & STIJVE, 1987 [6] para a determinação de benzo(a)pireno em café.

a) pó de café

Pesaram-se 25 g de pó em um balão de fundo redondo de 500 ml. Adicionaram-se 200 ml de KOH etanólico 1,0 mol/L e o material permaneceu sob refluxo por 40 minutos. Em seguida, adicionaram-se pelo condensador 200 ml de cicloexano permitindo-se uma ebulição de mais 5 minutos. Após a solução atingir a temperatura ambiente, o material saponificado foi transferido para um funil de separação de 1 L. Adicionaram-se 200 ml de água e agitou-se o funil por aproximadamente 2 minutos. Após esse procedimento, o funil ficou em repouso para permitir a separação das 2 fases (aquosa e orgânica). Descartou-se a fase aquosa e o extrato foi lavado com 3 porções de água.

b) bebida pronta (café e chá)

Uma alíquota de 200 ml de bebida foi transferida para um balão de fundo redondo de 500 ml. Dissolveram-se 11,2g de pastilhas de KOH e o material ficou sob refluxo durante 30 minutos. Após o resfriamento do mesmo, adicionaram-se 100 ml de KOH etanólico 1 mol/L mais 200 ml de cicloexano pelo condensador. Ebuliu-se a mistura por mais 30 minutos e procedeu-se da mesma forma como descrito para o pó.

O material saponificado obtido em a) e b) foi submetido à partição líquido-líquido com dimetilformamida-água (9:1,v/v) e a seguir purificado por

cromatografia em coluna de sílica-gel, como descrito por SPEER *et al.* [16]. Todas as amostras foram analisadas em duplicata.

2.3.2. Desenvolvimento cromatográfico

As análises foram feitas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), utilizando-se um cromatógrafo Waters constituído por bomba quaternária modelo 600, injetor automático modelo 717 e detector de fluorescência modelo 474 operando com comprimentos de onda de excitação/emissão de 290/430 nm. Em todas as separações utilizou-se coluna cromatográfica C18 (5µm- Vydac 201 TP) de 25 cm x 4,6 mm d.i., acoplada a uma coluna de guarda também de 5 µm (0,46 mm x 1,0 cm), ambas termestáveis à 30 °C. As amostras foram injetadas (30 µl) no cromatógrafo e eluídas com acetonitrila-água (75:25, v/v), a uma vazão constante de 1,0 ml/minuto. Os sinais foram registrados em integrador Spectraphysics (modelo SP4400), acoplado ao sistema cromatográfico. A quantificação dos HPAs foi feita por padronização externa. O limite de detecção foi calculado segundo Miller & Miller (1993) [15].

Os HPAs foram identificados por comparação dos tempos de retenção dos picos obtidos com os dos respectivos padrões nas mesmas condições de análise, por co-cromatografia e através dos espectros de absorção obtidos com a utilização de detector de arranjo de diodos.

2.3.3. Recuperação

Os testes de recuperação foram feitos adicionando-se quantidades conhecidas de cada HPA a amostras de café. As análises foram feitas em duplicata.

2.4. Estimativa da ingestão de HPAs

A ingestão diária média de HPAs (µg/pessoa/dia) pela população de Campinas foi calculada multiplicando-se as quantidades de chá e café

consumidas (g/pessoa/dia) pelas concentração média de cada HPA ($\mu\text{g/kg}$) determinada nesses produtos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Dados Analíticos

A utilização dos procedimentos analíticos recomendados por HISCENHUBER & STIJVE, 1987 [6] e SPEER *et al.*, 1990 [16] resultou em recuperação na faixa de 66,9 a 99% para diferentes HPAs. Apesar da grande variabilidade, os resultados podem ser considerados satisfatórios para a determinação dos HPAs em níveis de $\mu\text{g/kg}$, uma vez que os coeficientes de variação obtidos individualmente foram menores do que 10% (Tabela 2).

Tabela 2. Dados de recuperação dos padrões de HPAs em amostras de café.

<i>HPA</i>	<i>Fortificação (µg/kg)</i>	<i>Recuperação ¹(%)</i>	<i>Recuperação Média (%)</i>	<i>Coefficiente de Variação (CV) (%)</i>
Fluoranteno	1,0	95,0	91,5	3,8
	2,0	88,0		
	4,0	94,0		
Pireno	2,0	70,0	75,4	6,1
	4,0	77,2		
	8,0	78,9		
Benzo(a)antraceno	1,0	90,0	90,2	0,9
	2,0	91,0		
	4,0	89,5		
Criseno	2,0	66,9	73,8	8,4
	4,0	75,5		
	8,0	79,0		
Benzo(e)pireno	2,0	77,6	81,0	4,3
	4,0	80,9		
	8,0	84,6		
Benzo(b)fluoranteno	1,0	94,0	95,6	1,6
	2,0	97,0		
	4,0	95,8		
Benzo(k)fluoranteno	1,0	89,3	91,8	2,6
	2,0	94,0		
	4,0	92,0		
Benzo(a)pireno	1,0	94,0	96,0	2,8
	2,0	99,0		
	4,0	95,0		
Dibenzo(ah)antraceno	1,0	89,0	92,5	3,4
	2,0	95,0		
	4,0	93,5		
Benzo(ghi)perileno	1,0	87,5	89,5	2,4
	2,0	91,8		
	4,0	89,3		

¹ Média de determinações em duplicata

A Tabela 3 compara os teores médios de HPAs extraídos do pó de café e da bebida pronta. Essas duas formas de preparo foram incluídas no estudo pois

para o consumidor é importante saber o quanto é ingerido através da bebida e ainda é hábito de muitas pessoas, ao fazer o café, ferver o pó junto com a água.

Tabela 3. Teores de HPAs ($\mu\text{g/kg}$) no pó de café e na bebida pronta.

HPA	Produto ($\mu\text{g/kg}$)			L.D. ($\mu\text{g/kg}$) ¹
	Pó de café	Café fervido	Café coado	
Fluoranteno	5,86	5,53	2,80	0,23
Pireno	11,03	9,33	n.d.	1,03
Benzo(a)antraceno	0,78	0,61	n.d.	0,12
Criseno	n.d.	n.d.	n.d.	0,37
Benzo(e)pireno	n.d.	n.d.	n.d.	1,29
Benzo(b)fluoranteno	0,65	0,65	n.d.	0,07
Benzo(k)fluoranteno	0,25	0,24	n.d.	0,08
Benzo(a)pireno	1,23	0,60	0,26	0,07
Dibenzo(ah)antraceno	0,24	0,21	n.d.	0,17
Benzo(ghi)perileno	n.d.	n.d.	n.d.	0,15
Σ HPAs ($\mu\text{g/kg}$)	20,04	17,17	3,06	
Σ HPAs carcinogênicos ($\mu\text{g/kg}$)	3,15	2,31	0,26	

nd = não detectado; ¹ LD=Limite de detecção determinado segundo MILLER & MILLER, 1993 [15].

A quantidade de HPAs totais encontrada no café coado (3,06 $\mu\text{g/kg}$) foi bem menor do que aquela obtida diretamente pela extração do pó (20,04 $\mu\text{g/kg}$), concordando com dados obtidos anteriormente por outros pesquisadores para o benzo(a)pireno [6, 9]. Por outro lado, quando o pó foi fervido junto com a água durante o preparo do café, a quantidade de HPAs individuais e totais presentes na bebida foi muito próxima da quantidade existente no pó, indicando que a técnica de preparo influencia a extração dos contaminantes.

Estudos feitos por HISCENHUBER & STIJVE, 1987 [6] demonstraram que a presença da cafeína faz com que a solubilidade do benzo(a)pireno em água

aumente bastante, devido à formação de um complexo *benzo(a)pireno-caféina*, que é solúvel em água. Conforme citado pelos mesmos autores, esse fenômeno já havia sido explorado por GERTZ (1981), que utilizou 15% de caféina em solução de ácido fórmico na extração aquosa de benzo(a)pireno a partir de vários alimentos. Ainda, segundo HISCENHUBER & STIJVE, 1987 [6], embora vários autores tenham empregado diferentes condições de extração durante o preparo do café, todos consideraram que a caféina presente no pó poderia arrastar o benzo(a)pireno e os demais HPAs para a bebida.

Na tentativa de confirmar essa teoria, foram determinados os níveis de benzo(a)pireno tanto no pó de café quanto na bebida pronta (café coado), utilizando no preparo da mesma diferentes proporções de café/água. As quantidades de benzo(a)pireno encontradas no pó de café variaram na faixa de 0,1 a 0,5 µg/kg [9] e de 0,1 a 3,0 µg/kg [6], sendo que na bebida a concentração determinada por ambos os pesquisadores foi menor do que 10 ng/L. HISCENHUBER & STIJVE, 1987 [6], inclusive, contaminaram as amostras com o HPA de interesse, a fim de favorecer a formação do complexo solúvel, e também testaram a influência do conteúdo de caféina na eficiência da extração. Para tanto, os autores extraíram o benzo(a)pireno de bebidas feitas com os cafés Robusta e Arabica que possuem, respectivamente, alto e baixo teor de caféina. Em ambos os ensaios não houve diferença significativa na quantidade de benzo(a)pireno extraído.

CAMARGO & TOLEDO, 1998 [3] evidenciaram que a quantidade de caféina extraída de café fervido era 19 a 30% superior àquela obtida do café apenas coado. Esses dados sugerem que a fervura, procedimento não testado por outros autores, contribui para a formação do complexo solúvel *HPA-caféina*, facilitando a passagem dos hidrocarbonetos para a bebida (Tabela 3).

A Tabela 4 mostra a concentração média de HPAs em amostras de chá mate, que variou na faixa de < 0,07 a 0,31 µg/kg. Os níveis de contaminação foram baixos comparativamente ao café fervido, que apresentou maior número e concentrações mais elevadas de HPAs.

Os resultados obtidos concordam com observações feitas na literatura de que embora a erva mate possa estar bastante contaminada com HPAs, estes são pouco extraídos para a bebida durante o processo de infusão [9, 17]. O mesmo parece não ocorrer com o chimarrão. MACHADO *et al.*, 1997 [14] encontraram no chimarrão níveis de até 0,22 µg de benzo(a)pireno nos primeiros 250 ml da bebida, valor que excede 90 vezes o limite máximo permitido para a água pura pela legislação brasileira (0,01ug/L) [2].

Segundo os mesmos autores, a presença de elevada concentração de benzo(a)pireno no mate se deve principalmente às características rudimentares do beneficiamento da erva, já que a etapa da sapecagem das folhas ainda é feita com chama direta da combustão incompleta da madeira [14]. Amostras de erva mate submetidas a esse tipo de tratamento apresentaram níveis de benzo(a)pireno entre 15,35 e 91,07 µg/kg [13].

Cabe ainda ressaltar que o chá mate (especialmente a granel) apresenta baixo teor de cafeína e que, diferentemente do que se observou com o café, não houve aumento da extração deste alcalóide após fervura prolongada ou após um maior tempo de infusão da erva [4].

Tabela 4. Níveis médios de HPAs ($\mu\text{g/kg}$) em amostras de chá mate.

<i>HPA</i>	<i>Chá mate</i>	<i>LD ($\mu\text{g/kg}$)¹</i>
Fluoranteno	0,31	0,23
Pireno	n.d.	1,03
Benzo(a)antraceno	0,14	0,12
Criseno	n.d.	0,37
Benzo(e)pireno	n.d.	1,29
Benzo(b)fluoranteno	n.d.	0,07
Benzo(k)fluoranteno	n.d.	0,08
Benzo(a)pireno	0,07	0,07
Dibenzo(ah)antraceno	0,18	0,17
Benzo(ghi)perileno	n.d.	0,15
Σ HPAs ($\mu\text{g/kg}$)	0,70	
Σ HPAs carcinogênicos ($\mu\text{g/kg}$)	0,39	

nd = não detectado; ¹ LD= limite de detecção determinado segundo MILLER & MILLER [15].

3.2. Ingestão de HPAs

De acordo com a pesquisa realizada por CAMARGO *et al.*, 1999 [4], 75% dos indivíduos entrevistados consumiam diariamente cerca de 5 “cafezinhos”, equivalentes à quantidade média diária de 284,50 ml. Foram ainda identificados consumidores extremos, cujo consumo diário chegava a 2 litros de café. Ao contrário do observado em relação ao café, a maioria da população não tinha hábito de tomar chá. Entre os consumidores de chá (37%), a preferência recaía sobre o chá mate, com um consumo médio de 263,34 ml ou 2 xícaras por dia.

Com base nestes dados e nos teores de HPAs encontrados nos produtos analisados, estimou-se a ingestão média e máxima de HPAs através dos respectivos produtos, como mostra a Tabela 5.

Tabela 5. Ingestão de HPAs através do chá e do café pela população de Campinas.

HPA	Ingestão ($\mu\text{g}/\text{pessoa}/\text{dia}$)					
	Chá		Café coado		Café fervido	
	Média	Máxima	Média	Máxima	Média	Máxima
Flu	0,02	0,41	0,24	0,71	0,48	3,37
Py	-	-	-	-	0,81	5,68
B(a)A	0,01	0,19	-	-	0,05	0,37
Chy	-	-	-	-	-	-
B(e)P	-	-	-	-	-	-
B(b)F	-	-	-	-	0,06	0,40
B(k)F	-	-	-	-	0,02	0,15
B(a)P	0,01	0,09	0,02	0,16	0,05	0,37
D(ah)A	0,01	0,24	-	-	0,02	0,13
B(ghi)P	-	-	-	-	-	-
ΣHPAs	0,05	0,93	0,27	1,86	1,49	10,46
$\Sigma\text{HPAs carcinogênicos}$	0,03	0,52	0,02	0,16	0,20	1,41

Conforme os resultados apresentados, observa-se que a técnica de preparo do café influencia a maior ou menor ingestão de HPAs. Assim, o consumidor que tem por hábito ferver o pó de café junto com a água poderá estar consumindo cerca de 5,5 vezes mais HPAs totais do que aqueles indivíduos que tomam apenas o café coado. Quanto ao chá, sua contribuição como fonte de HPAs pode ser considerada pouco representativa, tendo em vista os baixos valores de ingestão identificados. Cumpre ressaltar que os dados de ingestão de HPAs através do chá não se aplicam aos consumidores de chimarrão os quais, conforme discutido anteriormente, parecem estar expostos a quantidades mais elevadas destes contaminantes. Neste sentido, recomenda-se que pesquisa semelhante seja realizada junto a esses indivíduos, de forma a avaliar a exposição aos HPAs através desta bebida.

Comparando-se com dados da literatura observa-se que a ingestão média diária de HPAs resultante do consumo de café coado equivale a quase o dobro daquela estimada por LODOVICI *et al.*, 1995 [12] na Itália (0,15 ug/kg), podendo ser ainda maior caso se considere o café fervido.

4. CONCLUSÕES

Os resultados apresentados indicam que o café pode ser uma importante fonte de HPAs para a população brasileira, embora outros autores não considerem esta bebida como uma fonte importante destes contaminantes na dieta de seus respectivos países [6,9]. Apesar dos dados de consumo utilizados na estimativa de ingestão tenham sido obtidos há algum tempo, o hábito de tomar café é tão característico de nossa cultura que se acredita que mudanças significativas neste hábito dificilmente tenham ocorrido desde então. Da mesma forma, como o chá não faz parte dos hábitos alimentares da população entrevistada, dificilmente esse perfil mudará a curto prazo.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ATSDR, 1996, Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). **Agency for Toxic Substances and Disease Registry**, Department of Health and Human Services, Public Health Service, Atlanta, GA, USA. Registry <http://www.atsdr.cdc.gov:8080/tfacts69.html>.
- [2] BRASIL. **Resolução Nº 36**, publicada no Diário Oficial da União em 19 de janeiro de 1990.

- [3] CAMARGO, M.C.R.; TOLEDO, M.C.F. Teor de cafeína em cafés brasileiros. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 18, n.4, p. 421-424, 1998.
- [4] CAMARGO, M.C.R.; TOLEDO, M.C.F.; FARAH, H.G. Caffeine daily intake from dietary sources in Brazil. **Food Additives and Contaminants**, v.16, n.2, p. 79-87, 1999.
- [5] DUNN, B.P. & ARMOUR, R.J. Sample extraction and purification for determination of polycyclic aromatic hydrocarbons by reversed phase chromatography. **Analytical Chemistry**, v.52, n.13, p.2027-2031, 1980.
- [6] HISCHENHUBER, C. & STIJVE, T. Determination of benzo(a)pyrene in roasted coffee and coffee brews by HPLC with fluorescence detection. **Zeitschrift fur Lebensmittelkunde und Lebensmittelrecht**, v.83, p.1-4, 1987.
- [7] IARC . International Agency for Research on Cancer. Polynuclear Aromatic Compounds. **IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemical to Humans**. Part 1, Chemical, Environmental and Experimental Data, v.32, December, 1983, Lyon, France.
- [8] JOE J.R.; SALEMME, J.; FAZIO, T. Liquid chromatographic determination of trace residues of polynuclear aromatic hydrocarbons in smoked foods. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, v.67, n.6, p.1076-1082, 1984.

- [9] KRUIJF, N., SCHOUTEN, T. VAN DER ETEGEN, G.H.D. Rapid determination of benzo(a)pyrene in roasted coffee and coffee brew by high performance liquid chromatography with fluorescence detection. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 35, p. 545-549, 1987.
- [10] LARSSON, B. K. Polycyclic aromatic hydrocarbons in Swedish foods - Aspects on analysis, occurrence and intake. **Doctoral thesis**, Swedish University of Agricultural Sciences, 1986.
- [11] LO, M. & SANDI, E. Polycyclic aromatic hydrocarbons (Polynuclears) in foods. **Residue Review**, v.69, p.35-56, 1978.
- [12] LODOVICI,M.; DOLARA,P.;CASALINI,C.; CIAPPELLANO,S; TESTOLINI,G. Polycyclic aromatic hydrocarbon contamination in the Italian food. **Food Additives and Contaminants**, v.12, n.5, p.703-713, 1995.
- [13] MACHADO, L.S.; BERNASIUK, C.; SCHENKEL, E.; TOLEDO, M.C.F.; NOLL, I.B. Avaliação da contaminação da bebida chimarrão por benzo(a)pireno. **XV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Poços de Caldas, MG, 4-7 de agosto de 1996.
- [14] MACHADO, L.S.; BERNASIUK, C.; SCHENKEL, E.; NOLL, I.B.; TOLEDO, M.C.F. Determinação de hidrocarbonetos poliaromáticos em erva mate. **II Simpósio Latino Americano de Ciência de Alimentos: progresso e Ação para o Ano 2000**, Campinas, SP, 11-14 de novembro de 1997.
- [15] MILLER, J.C. & MILLER, J.N., Errors in instrumental analysis; regression and correlation. In: **Statistics for Analytical Chemistry**, chapter 5, Ellis Horwood Limited (Ed.), pp. 101-139, 1993.

- [16] SPEER, K.; STEEG, E.; HORSTMANN, P.; KUHN, T.; MONTAG, A.
Determination and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in native vegetable oils, smoked fish products, mussels and oysters, and bream from the river elbe. **Journal of High Resolution Chromatography**, v.13, p.104-111, 1990.
- [17] TIENFENBACHER, K.; PFANNHAUSER, W.; WOIDICH, H. Investigation on contamination of food by polycyclic aromatic hydrocarbons. In: **Recent Developments in Food Analysis**. Proceedings of First European Conference on Food Chemistry (Euro Food Chemistry I), p.77-82, 1982.

6. AGRADECIMENTOS

À FAPESP, pela concessão de bolsa de doutorado no país, Processo 96/2045-4.
À FAPESP, pela concessão de auxílio financeiro à pesquisa, Processo 97/5535-5.

CAPÍTULO 7

HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS EM ÓLEOS DE SOJA E MARGARINAS PRODUZIDOS E COMERCIALIZADOS NO BRASIL

**TRABALHO A SER SUBMETIDO PARA PUBLICAÇÃO NA REVISTA:
“ FOOD CHEMISTRY “**

Resumo

Óleo de soja e margarina de diferentes lotes e marcas, produzidos e comercializados no Brasil, foram analisados quanto à presença de dez HPAs, dos quais cinco são carcinogênicos para animais de laboratório. A metodologia utilizada envolveu basicamente as etapas de extração com cicloexano e dimetilformamida-água (9:1,v/v), seguidas de limpeza em coluna de sílica gel. Os HPAs foram determinados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), com detecção por fluorescência. Os HPAs foram detectados em todas as amostras analisadas. Os níveis de contaminação variaram tanto entre as marcas, quanto entre lotes dentro de uma mesma marca. A concentração média de HPAs totais foi de 51,90 µg/kg em amostras de óleo de soja e de 13,54 µg/kg em margarina. Entre os hidrocarbonetos carcinogênicos, benzo(a)pireno foi o que apresentou a maior concentração média (7,21 µg/kg). Considerando-se a ampla utilização do óleo de soja industrialmente e na culinária caseira, se faz necessário um programa de monitoramento por parte das indústrias, bem como o estabelecimento de limites para a presença desses contaminantes em óleos vegetais.

Palavras-chave: hidrocarboneto policíclico aromático, óleo vegetal, óleo de soja, margarina.

Abstract

POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBONS IN BRAZILIAN COMMERCIAL SOYBEAN OIL AND MARGARINE

In the present study different brands and batches of soybean oil and margarine produced and commercialized in Brazil were analysed for ten PAHs, among which five have showed sufficient evidence for carcinogenicity in laboratory animals. The methodology involved liquid-liquid extraction with cyclohexane and dimethylformamide-water (9:1, v/v), clean-up on silica gel column and determination by high performance liquid chromatography using fluorescence detection. PAHs were detected in all analysed samples. Variable level of contamination was found within different brands of the same product and within different batches of the same brand. The total PAH content was in the range of < 0,07 to 15.20 $\mu\text{g/kg}$. The mean level of total PAHs in soybean oils was 51.90 $\mu\text{g/kg}$ and in margarine 13.54 $\mu\text{g/kg}$. Among the carcinogenic PAHs, benzo(a)pyrene showed the highest mean concentration (7.21 $\mu\text{g/kg}$). It was identified relatively high and variable levels of PAHs in soybean oils and margarines. Considering the widespread use of vegetable oils by the industry and by households, a monitoring program should be developed by the refining industries and a maximum limit of benzo(a)pyrene in vegetable oils established in the national standards.

Key words: polycyclic aromatic hydrocarbon, vegetable oil, soybean oil, margarine.

1. Introdução

A presença de HPAs em diferentes óleos vegetais (soja, algodão, milho, amendoim, coco, girassol) e no azeite de oliva tem sido confirmada por vários pesquisadores (Howard, Turich, White & Fry, 1966c; Joe, Emma & Fazio, 1979; Mariani & Fedeli, 1984; Speer & Montag, 1988; Speer, Steeg, Horstmann, Kuhn & Montag, 1990; Menichini, Bocca, Merli, Ianni & Monfredini, 1991; Pupin & Toledo, 1996 a e b; Toledo & Camargo, 1998). Entre as prováveis fontes de contaminação destacam-se a poluição ambiental, solos contaminados, a secagem direta dos grãos com gases de combustão e o uso de solventes a base de petróleo, como a hexana, na extração do óleo a partir da semente (Swallow, 1976; Lo & Sandi, 1978; Hopia, Psyysalo & Wickstrom, 1986; Larsson, Erikson & Cervenka, 1987).

Os estudos conduzidos no Brasil por Pupin & Toledo (1996a) com óleos vegetais revelaram variados graus de contaminação por benzo(a)pireno, sendo o óleo de milho, na época, o que apresentou os níveis mais elevados deste hidrocarboneto (1,6 a 58,9 $\mu\text{g/kg}$). Os teores médios encontrados para outros tipos de óleos como girassol, arroz, soja, palma e no azeite de oliva foram de 0,2; 1,8; 2,2; 2,1 e 10,9 $\mu\text{g/kg}$, respectivamente (Pupin & Toledo, 1996 a e b).

Em função da elevada contaminação de óleos de milho por benzo(a)pireno, evidenciada por Pupin & Toledo (1996a), pesquisas subseqüentes se concentraram em monitorar a presença desse hidrocarboneto nesse tipo de óleo, assim como investigar as possíveis fontes de contaminação durante seu processamento (Camargo & Toledo, 1998). Os resultados destes estudos confirmaram a presença de níveis relativamente elevados de benzo(a)pireno em óleos de milho e identificaram a etapa de secagem como principal fonte de contaminação.

Em relação a alimentos gordurosos como a margarina, por exemplo, os teores de HPAs também variam muito, dependendo, entre outros, da origem tanto dos óleos como das sementes, além das formas de extração utilizadas. Hopia, Psyysalo & Wickstrom (1986) encontraram nesses alimentos níveis de

benzo(a)pireno na faixa de 0,02 a 2,2 $\mu\text{g/kg}$, enquanto que Siegfried (1975), citado por Van Heddeghem, Huyghebaert & De Moor (1980), relatou teores variando entre 0,4 e 4,6 $\mu\text{g/kg}$. Mais recentemente, Camargo & Toledo (2000) determinaram em margarinas 8 HPAs em níveis relativamente mais baixos, sendo que a concentração média de benzo(a)pireno foi de 0,58 $\mu\text{g/kg}$.

O presente estudo foi conduzido com o objetivo de atualizar os dados de contaminação de óleos de soja e margarinas nacionais por benzo(a)pireno, bem como obter informações adicionais sobre a presença de outros HPAs nesses produtos.

2. Material e Métodos

2.1. Amostras

Três marcas de óleo de soja e margarina mais consumidas no Brasil foram selecionadas para a avaliação da contaminação por HPAs (Datamark, 1999). Os produtos (três lotes de cada) foram adquiridos no comércio local em uma única época no ano de 1999 e analisados individualmente.

2.2. HPAs

As amostras foram analisadas quanto à presença de dez HPAs: fluoranteno (Flu), pireno (Py), benzo(a)antraceno (B(a)A), criseno (Cri), benzo(b)fluoranteno (B(b)F), benzo(k)fluoranteno (B(k)F), benzo(a)pireno (B(a)P), dibenzo(a,h)antraceno (D(ah)A) e benzo(g,h,i)perileno (B(ghi)P). Desses, segundo o IARC (1983), (B(a)A) (B(b)F), (B(k)F), (B(a)P) e (D(ah)A) são comprovadamente carcinogênicos em animais experimentais. Com exceção do B(a)P e B(e)P, que foram adquiridos, respectivamente, da Sigma e da Aldrich Chemical Co., todos os demais padrões foram obtidos da Supelco, Inc..

Os limites de detecção, obtidos de acordo com o método proposto por Miller & Miller (1993), estão listados na Tabela 1.

Tabela 1. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos e os respectivos limites de detecção.

<i>HPA</i>	<i>Limite de detecção (µg/kg)¹</i>
Fluoranteno	0,23
Pireno	1,03
Benzo(a)antraceno	0,12
Criseno	0,37
Benzo(e)pireno	1,29
Benzo(b)fluoranteno	0,07
Benzo(k)fluoranteno	0,08
Benzo(a)pireno	0,07
Dibenzo(ah)antraceno	0,17
Benzo(ghi)perileno	0,15

¹ Calculado segundo Miller & Miller (1993).

2.3. Metodologia

Diferentes métodos de extração de HPAs têm sido propostos em função da matriz (Lawrence & Weber, 1984; De Vos, Van Dokkum, Schouten & Jong-Berkhout, 1990., Speer, Steeg, Horstmann, Kuhn & Montag, 1990; Falcón, Amigo, Yusty & Lozano, 1999). Para a maioria dos alimentos ricos em proteínas como carnes, peixes e aves, e produtos com gorduras insolúveis, como o bacon, a extração dos HPAs envolve uma etapa de saponificação. Segundo Grimmer & Bohnke (1975) esta etapa contribui para um aumento na quantidade de HPAs extraídos. No entanto, para amostras de óleos e gorduras, a saponificação não é necessária.

O procedimento adotado nas análises envolveu basicamente as etapas de extração com cicloexano e dimetilformamida-água (9:1,v/v), seguido de limpeza em coluna de sílica gel, conforme descrito a seguir (Speer, Steeg, Horstmann, Kuhn & Montag, 1990). Todas as amostras foram analisadas em duplicata.

Extração de óleos vegetais

Pesaram-se 10,0g de óleo vegetal em um béquer de 50 ml. Adicionaram-se 50 ml de cicloexano e o material foi transferido para um funil de separação de 250 ml. Lavou-se o béquer com outros 50 ml de cicloexano e transferiu-se a mistura para um funil de separação (as fortificações foram realizadas neste ponto da extração). Em seguida, os HPAs foram extraídos sucessivamente com porções de 50, 25 e 25 ml de dimetilformamida: água (9:1, v/v). O extrato resultante foi diluído com 100 ml de sulfato de sódio a 1% em água e re-extraído com porções de 50, 35 e 35 ml de cicloexano, que foram reunidas. A solução obtida foi lavada duas vezes com 40 ml de água, a água residual retirada com sulfato de sódio anidro (cerca de 5g) e concentrada a um volume final aproximado de 5ml em evaporador rotativo a vácuo, com banho à temperatura de 40 °C.

Extração de margarinas

Primeiramente, derreteu-se uma porção de margarina em banho-maria à 40°C. Após a separação de fases (oleosa e aquosa), pesaram-se 10,0g da gordura e seguiu-se o procedimento de extração descrito para os óleos vegetais.

Limpeza em coluna de sílica gel

Transferiram-se 5g de sílica gel 60 (70-230 mesh, ASTM, Merck SA Indústrias Químicas), desativada com 15% de água, para uma coluna de vidro (21 x 1,1cm d.i.; reservatório de 8 x 3,1cm d.i.) com 40 ml de cicloexano. Depois de empacotada, adicionando-se sulfato de sódio anidro no topo da mesma. O extrato foi aplicado à coluna e a fração, após ser eluída por gravidade com 85 ml de cicloexano, foi recolhida em um balão de fundo redondo de 250 ml. O volume foi

concentrado em um rota evaporador, à 40 °C, até aproximadamente 2 ml, que foi seco sob corrente de nitrogênio. O resíduo obtido foi dissolvido em 2 ml de acetonitrila.

Análise cromatográfica

Os HPAs foram determinados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). O equipamento utilizado era constituído por uma bomba quaternária Waters modelo 600, injetor automático Waters modelo 717 e detector de fluorescência Waters modelo 474, com comprimentos de onda de emissão e excitação de 290 e 430 nm, respectivamente. O sistema também estava equipado com uma coluna cromatográfica C18 (Vydac 201 TP) de 25 cm x 4,6 mm d.i., partículas de 5µm, termestável à 30°C. As amostras foram eluídas com fase móvel isocrática composta de acetonitrila-água (75:25, v/v), a uma vazão constante de 1,0 ml/minuto. O integrador Spectraphysics modelo SP4400 foi usado para a determinação da área dos picos.

Foram injetados no sistema cromatográfico, previamente estabilizado, 30 µl do extrato final obtido no processo de extração. O método utilizado para a quantificação dos hidrocarbonetos foi o da padronização externa.

Confirmação da identidade dos HPAs

A confirmação da identidade dos HPAs nas amostras foi feita utilizando-se um aparelho de cromatografia líquida de alta eficiência Waters (bomba quaternária modelo 600 e injetor automático modelo 717) acoplado a um detector de arranjo de diodos Waters modelo 996. As condições cromatográficas utilizadas para a separação dos HPAs foram as mesmas descritas no item “*análise cromatográfica*”.

Primeiramente correu-se uma mistura de padrões com os HPAs de interesse e registraram-se os espectros de absorção de cada um deles. Em seguida, as amostras foram injetadas no cromatógrafo a fim de se comparar os espectros dos picos de interesse obtidos com aqueles dos padrões.

Recuperação

A fim de verificar a eficiência do procedimento analítico, testes de recuperação foram feitos em amostras de óleo de soja adicionando-se quantidades conhecidas de cada HPA, em três níveis de contaminação. Todas as análises foram feitas em duplicata.

3. Resultados e Discussão

Os resultados dos ensaios de recuperação estão apresentados na Tabela 2. Os valores encontrados ficaram acima de 90% para a maioria dos HPAs, com exceção do pireno, criseno e benzo(e)pireno, que tiveram uma recuperação média em torno de 88%. Estes valores indicam a eficiência do procedimento analítico utilizado.

A Figura 1 mostra um cromatograma típico de uma amostra de óleo de soja analisada.

Tabela 2. Dados de recuperação de HPAs em óleo de soja.

<i>HPA</i>	<i>Fortificação (µg/kg)</i>	<i>Recuperação ¹(%)</i>	<i>Recuperação Média (%)</i>	<i>Coefficiente de Variação (CV) (%)</i>
Fluoranteno	10,0	90,0	90,6	3,4
	12,0	88,0		
	16,0	94,0		
Pireno	12,0	87,0	88,1	1,4
	14,0	89,4		
	18,0	88,0		
Benzo(a)antraceno	10,0	99,0	99,8	0,7
	12,0	100,1		
	16,0	100,3		
Criseno	12,0	85,5	88,8	3,3
	14,0	91,0		
	18,0	90,0		
Benzo(e)pireno	12,0	83,2	88,9	8,9
	14,0	98,0		
	18,0	85,6		
Benzo(b)fluoranteno	10,0	91,0	96,0	4,5
	12,0	99,0		
	14,0	98,0		
Benzo(k)fluoranteno	10,0	99,0	97,5	1,8
	12,0	95,6		
	14,0	98,0		
Benzo(a)pireno	10,0	100,0	99,3	0,6
	12,0	98,9		
	14,0	99,0		
Dibenzo(ah)antraceno	10,0	93,1	94,2	2,1
	12,0	96,5		
	14,0	93,0		
Benzo(ghi)perileno	10,0	94,0	94,3	0,6
	12,0	94,0		
	14,0	94,9		

¹ Média de determinações em duplicata.

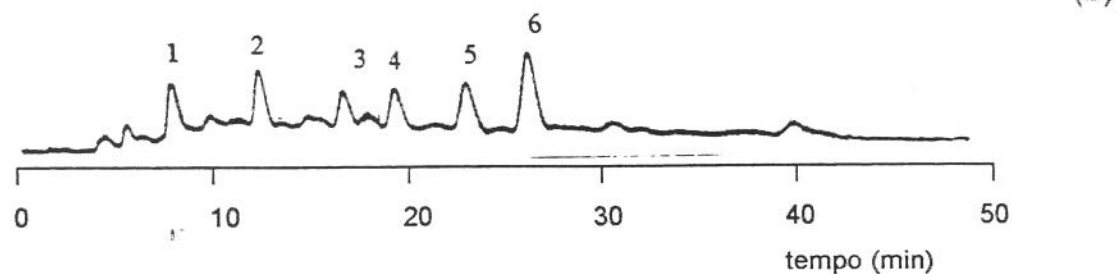
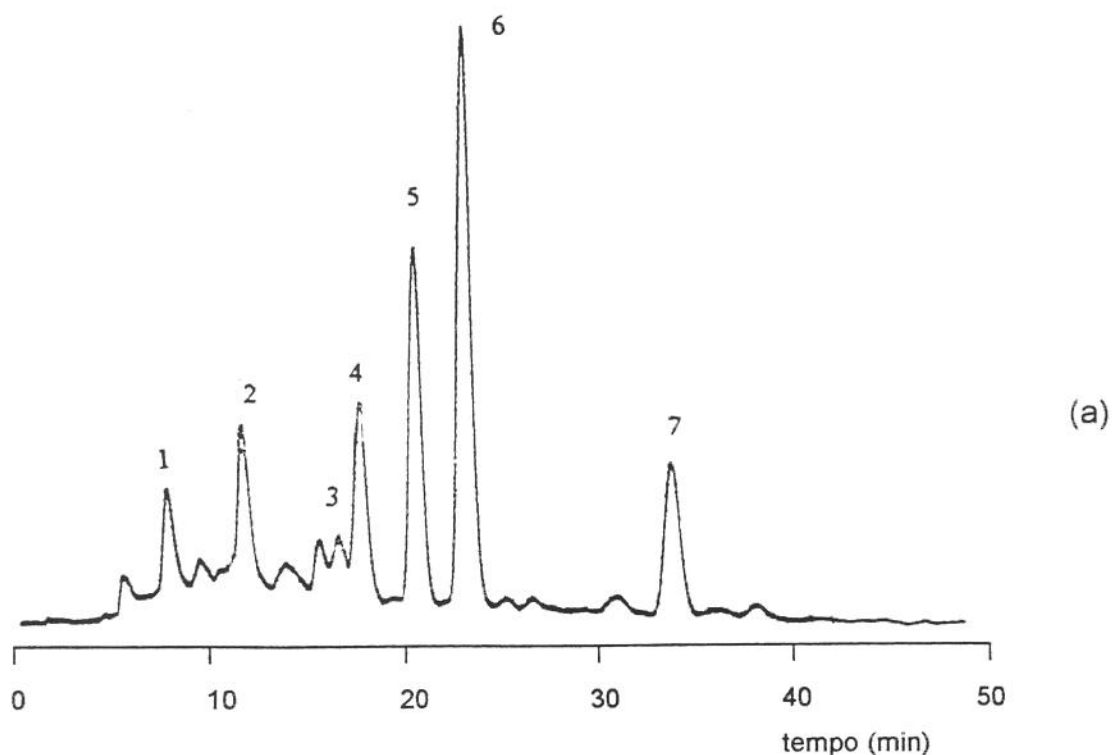


Figura 1. Cromatogramas por CLAE referentes a amostras de (a) óleo de soja; (b) margarina. Coluna C18 (5 μ m, Vydac 201 TP), fase móvel acetonitrila-água (75:25, v/v), vazão: 1,0 ml/min, volume de injeção: 30 μ l; detecção por fluorescência. HPAs: 1. fluoranteno; 2. benzo(a)antraceno; 3. benzo(e)pireno; 4. benzo(b)fluoranteno; 5. benzo(k)fluoranteno; 6. benzo(a)pireno; 7. dibenzo(ah)antraceno.

A Tabela 3 apresenta os níveis de HPAs encontrados nas amostras dos diferentes lotes de óleos de soja das marcas A, B e C. Como pode ser observado, os óleos analisados se apresentaram bastante contaminados, com teores médios, máximos e mínimos para HPAs individuais na faixa, respectivamente, de 0,79 a 28,51; 0,90 a 42,90 e 0,50 a 17,49 $\mu\text{g/kg}$. Pireno e benzo(ghi)perileno não foram detectados em qualquer um dos lotes das três marcas de óleos de soja selecionados. Já o criseno foi encontrado apenas na marca C. O valor médio de HPAs totais foi de 75,38 $\mu\text{g/kg}$, dos quais metade (50,8%) correspondem à fração carcinogênica. Entre os hidrocarbonetos carcinogênicos, dibenzo(ah)antraceno (11,07 $\mu\text{g/kg}$), benzo(a)antraceno (8,61 $\mu\text{g/kg}$) e benzo(a)pireno (8,45 $\mu\text{g/kg}$) foram os que apresentaram as maiores concentrações médias.

Considerando-se apenas o benzo(a)pireno, tanto os níveis médios (2,27 – 20,21 $\mu\text{g/kg}$), quanto os máximos (2,65 – 25,23 $\mu\text{g/kg}$) e mínimos (1,85 – 12,17 $\mu\text{g/kg}$) determinados estão muito acima dos teores médios encontrados (n.d. – 6,1 $\mu\text{g/kg}$) anteriormente por Pupin & Toledo (1996a) em 16 marcas diferentes do mesmo tipo de óleo. A faixa de valores reportada por Pupin & Toledo (1996a) está dentro daquelas obtidas por outros pesquisadores (Grimmer & Hildebrandt, 1967; Lawrence & Weber, 1984; Larsson, Erikson & Cervenka, 1987; Dennis, Massey, Cripps, Venn, Horwarth & Lee, 1991). Apenas Kolarovic & Traitler (1982) relataram em óleo de soja um teor médio de benzo(a)pireno relativamente elevado (28,45 $\mu\text{g/kg}$) e próximo do relatado no presente estudo.

A marca C foi a que apresentou uma maior contaminação por HPAs, com um somatório de 136,64 $\mu\text{g/kg}$ para os dez compostos analisados e 77,69 $\mu\text{g/kg}$ se forem considerados apenas os carcinogênicos. Os valores máximos encontrados no óleo C foram provenientes de um único lote, cuja contaminação foi quase duas vezes superior à média obtida, tanto para os HPAs totais (189,93 $\mu\text{g/kg}$), quanto para os carcinogênicos (115,16 $\mu\text{g/kg}$). A concentração mais alta (42,90 $\mu\text{g/kg}$) foi de dibenzo(a,h)antraceno, também no óleo de marca C. Isso é motivo de preocupação pois além do óleo de soja ser o mais consumido

entre a população brasileira, a marca C é, hoje em dia, uma das mais vendidas (Datamark, 1999).

Tabela 3. Níveis médios e máximos de HPAs ($\mu\text{g/kg}$) em óleos de soja de três diferentes lotes e marcas.

<i>HPA</i>	<i>Óleo</i>					
	<i>Marca A</i>		<i>Marca B</i>		<i>Marca C</i>	
	<i>Médio</i>	<i>Máximo</i>	<i>Médio</i>	<i>Máximo</i>	<i>Médio</i>	<i>Máximo</i>
Fluoranteno	22,14	25,04	6,77	9,51	18,19	21,91
Pireno	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Benzo(a)antraceno	8,35	10,50	5,90	10,40	11,59	15,19
Criseno	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	12,25	15,69
Benzo(e)pireno	15,73	18,72	7,84	12,64	28,51	37,17
Benzo(b)fluoranteno	3,14	3,83	2,82	3,99	16,32	22,66
Benzo(k)fluoranteno	0,79	1,11	0,84	0,90	6,42	9,18
Benzo(a)pireno	2,27	2,65	2,86	3,59	20,21	25,23
Dibenzo(ah)antraceno	5,60	7,81	4,46	5,20	23,15	42,90
Benzo(ghi)perileno	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Σ HPAs ($\mu\text{g/kg}$)	58,02	69,66	31,49	46,23	136,64	189,93
Σ HPAs carcinog. ($\mu\text{g/kg}$)	20,15	25,90	16,88	24,08	77,69	115,16

nd = não detectado; Limite de detecção: Tabela 1.

A Tabela 4 mostra os níveis de HPAs em margarinas. Os valores determinados na fase oleosa do produto foram corrigidos conforme a composição de ingredientes declarada no rótulo do produto (80% de lipídios).

A faixa de concentração obtida para os HPAs carcinogênicos nas amostras de margarina (n.d. – 1,62 $\mu\text{g/kg}$) também mostrou-se superior aos valores reportados anteriormente por Camargo & Toledo (2000) para o mesmo produto,

(n.d. – 0,71 µg/kg). Nas amostras de margarina, o benzo(e)pireno foi o HPA que apresentou a maior concentração média (Tabela 4).

No Brasil, o óleo de soja é o mais utilizado na produção de margarinas, podendo-se considerar que a contaminação do produto reflete a qualidade do óleo disponível no mercado na época de sua fabricação. Como os óleos de soja e margarinas analisados neste estudo foram coletados do comércio na mesma época, acredita-se que os níveis superiores de HPAs encontrados nas margarinas, relativamente a dados anteriores (2,61 µg/kg) (Camargo & Toledo, 2000), foram consequência da maior contaminação dos óleos de soja no mercado.

Tabela 4. Níveis médios de HPAs (µg/kg) nas amostras de margarina.

<i>HPA</i>	<i>Margarina</i>
Fluoranteno	3,96
Pireno	n.d.
Benzo(a)antraceno	1,62
Criseno	n.d.
Benzo(e)pireno	5,14
Benzo(b)fluoranteno	1,31
Benzo(k)fluoranteno	0,27
Benzo(a)pireno	0,84
Dibenzo(ah)antraceno	n.d.
Benzo(ghi)perileno	0,40
Σ HPAs (µg/kg)	13,54
Σ HPAs carcinogênicos (µg/kg)	4,04

nd = não detectado; Limite de detecção: Tabela 1.

Os resultados apresentados evidenciaram a necessidade de ampliar o estudo para outras marcas de óleos de soja disponíveis comercialmente. Caso a contaminação seja confirmada, recomenda-se um rastreamento nas etapas do

processamento, de modo a identificar aquela responsável pela elevada contaminação nesse tipo de óleo e o motivo da aparente sazonalidade.

Cumprе ressaltar que a presença de HPAs em óleos vegetais pode variar de uma época para outra em função das várias fontes de contaminação. Dessa forma, um monitoramento efetivo dos óleos, assim como um maior controle do óleo bruto utilizado pelas indústrias refinadoras, se faz necessário de modo a reduzir à exposição do consumidor aos HPAs. A utilização de carvão vegetal na etapa de purificação do óleo, por exemplo, contribuiria para a redução da contaminação, uma vez que este adsorvente é altamente eficiente para a remoção de HPAs.

Agradecimentos

À FAPESP, pela concessão de bolsa de doutorado no país, Processo 96/2045-4.

À FAPESP, pela concessão de auxílio financeiro à pesquisa, Processo 97/5535-5.

4. Referências bibliográficas

CAMARGO, M.S.F.O. & TOLEDO, M.C.F. (1998). Efeito do processamento na contaminação de óleo refinado de milho por benzo(a)pireno. *Brazilian Journal of Food Technology*, 1(1,2), 97-106.

CAMARGO, M.S.F.O. & TOLEDO, M.C.F. (2000). Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em margarina, creme vegetal e maionese. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 20(1), 51-55.

DATAMARK LTDA (1999). Brazil Trend' 99 – Trends in the packaged goods market, 8th ed., São Paulo, SP.

- DENNIS, M.J.; MASSEY, R.C.; CRIPPS, G.; VENN, I.; HOWARTH, N.; LEE, G. (1991). Factors affecting the polycyclic aromatic hydrocarbon content of cereals, fats and other food products. *Food Additives and Contaminants*, 8(4), 517-530.
- DE VOS, R.H.; VAN DOKKUM, W.; SCHOUTEN, A.; JONG-BERKHOUT, P. (1990). Polycyclic aromatic hydrocarbons in Dutch total diet samples (1984-1986). *Food Chemical Toxicology*, 28(4), 263-268.
- FALCÓN, M.S.G.; AMIGO, S.G.; YUSTY, M.A.L.; LOZANO, J.S. (1999). Determination of benzo(a)pyrene in some Spanish commercial smoked products by HPLC-FL. *Food Additives and Contaminants*, 16(1), 9-14.
- GRIMMER, G. & BOHNKE, H. Polycyclic aromatic hydrocarbon profile of high protein foods, oil and fats by gas chromatography. (1975). *Journal of Association of Official Analytical Chemists*, 58(4), 724-733.
- GRIMMER, G. & HILDEBRANDT, A. (1967). Content of polycyclic aromatic hydrocarbon in crude vegetable oils. *Chemistry and Industry*, 25, 2002-2003.
- HOPIA, A.; PSYYSALO, H.; WICKSTROM, K. (1986). Margarines, butter and vegetable oils as source of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 63(7), 889-893.
- HOWARD, J.W.; TURICH, B.W.; WHITE, R.H.; FRY, B.E. (1966 c). Extraction and estimation of polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetable oils. *Journal of Association of Official Analytical Chemists*, 49(6), 1236-1244.

- IARC (1983). International Agency for Research on Cancer. Polynuclear Aromatic Compounds. *IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemical to Humans*. Part 1, Chemical, Environmental and Experimental Data, v.32, December, , Lyon, France.
- JOE Jr, F.L.; EMMA, L.R.; FAZIO, T. (1979). Survey of some market basket commodities for polynuclear aromatic hydrocarbons content. *Journal of Association of Official Analytical Chemists*, 62(3), 615-620.
- KOLAROVIC, L. & TRAITLER, H. (1982). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetable oils by caffeine complexation and glass capillary gas chromatography. *Journal of Chromatography*, 237(2), 263-272.
- LARSSON, B.K.; ERIKSON, A.T.; CERVENKA, M. (1987). Polycyclic aromatic hydrocarbons in crude and deodorized vegetable oils. *Journal of American Oil Chemical Society*, 64(3), 365-370.
- LAWRENCE, J.F. & WEBER, D.F. (1984). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in Canadian samples of processed vegetable and dairy products by liquid chromatography with fluorescence detection. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 32(4), 794-797.
- LO, M. & SANDI, E. (1978). Polycyclic aromatic hydrocarbons (Polynuclears) in foods. *Residue Review*, 69, 35-56.
- MARIANI, C. & FIDELI, E. (1984). Idrocarburi policiclici aromatici negli oli vegetali. *La Rivista Italiana Delle Sostanze Grasse*, 61(5), 305-315.

- MENICHINI, E.; BOCCA, A.; MERLI, F.; IANNI, D.; MONFREDINI, F. (1991). Polycyclic aromatic hydrocarbons in olive oils on the Italian market. *Food Additives and Contaminants*, 8(3), 363-369.
- MILLER, J.C. & MILLER, J.N. (1993). Errors in instrumental analysis; regression and correlation. In: *Statistics for Analytical Chemistry*, chapter 5, Ellis Horwood Limited, pp. 101-139.
- PUPIN, A.M. & TOLEDO, M.C.F. (1996a). Benzo(a)pyrene in Brazilian vegetables oils. *Food Additives and Contaminants*, 13(6), 639-646.
- PUPIN, A.M. & TOLEDO, M.C.F. (1996b). Benzo(a)pyrene in olive oils on the Brazilian market. *Food Chemistry*, 55(2), 185-188.
- SPEER, K. & MONTAG, A. (1988). Polycyclische aromatische kohlenwassertoffe in nativen pflanzlichen ölen. *Fat Science and Technology*, 90(5), 163-167.
- SPEER, K.; STEEG, E.; HORSTMANN, P.; KUHN, T.; MONTAG, A. (1990). Determination and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in native vegetable oils, smoked fish products, mussels and oysters, and bream from the river elbe. *Journal of High Resolution Chromatography*, 13, 104-111.
- SWALLOW, W.H. (1976). Survey of polycyclic aromatic hydrocabons in selected foods and food additives available in New Zealand. *New Zealand Journal of Science*, 19, 407-412.
- TOLEDO, M.C.F. & CAMARGO, M.S.F.O. (1998). Benzo(a)pireno em óleos de milho produzidos e comercializados no Brasil. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 18(1), 73-76.

VAN HEDDEGHEM, A.; HUYGHEBAERT, A. DE MOOR, H. (1980). Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in fat products by high pressure liquid chromatography. *Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung und Forschung*, 183, 111-115.

CONCLUSÃO

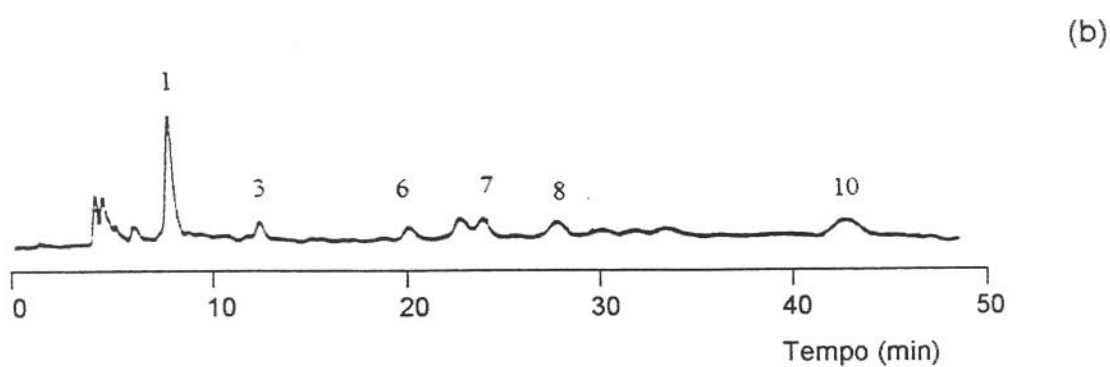
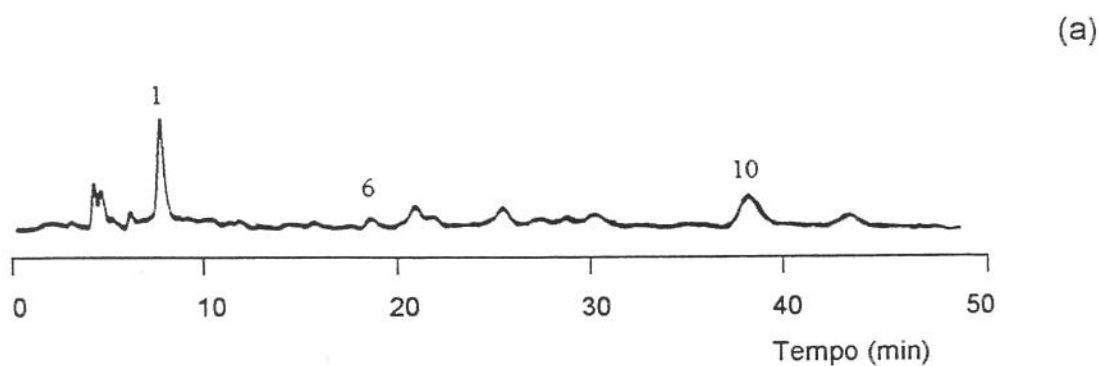
Os resultados do presente estudo revelaram a presença de HPAs em vários alimentos que fazem parte da dieta do brasileiro. O grupo dos óleos e gorduras foi o que apresentou níveis relativamente mais altos de HPAs, confirmando a necessidade de um monitoramento efetivo destes alimentos. Dados adicionais sobre a contaminação do açúcar cristal e refinado também são desejáveis, de forma a melhor caracterizar sua importância como fonte potencial de hidrocarbonetos.

Três foram os grupos de alimentos que mais contribuíram para a ingestão diária de HPAs totais: óleos e gorduras, açúcares e carnes. Não foram encontradas grandes diferenças na ingestão dos contaminantes nas regiões metropolitanas avaliadas. Brasília e Curitiba apresentaram as maiores ingestões de HPAs totais, sendo que nesta última houve uma maior contribuição da fração carcinogênica. A menor ingestão de HPAs totais foi registrada na região Nordeste: Fortaleza Salvador e Recife. Comparando-se esses resultados com dados disponíveis na literatura, observa-se que na dieta de vários países, da mesma forma que na brasileira, os óleos e gorduras são, em geral, as principais fontes de exposição aos HPAs.

Considerando-se a ampla distribuição de HPAs na natureza, presentes em praticamente todas as categorias de alimentos, qualquer medida para a redução da exposição humana a estes compostos deve ser dirigida tanto ao controle dos alimentos que, embora consumidos em baixa quantidade, apresentam elevada contaminação por HPAs, como daqueles que se apresentam menos contaminados.

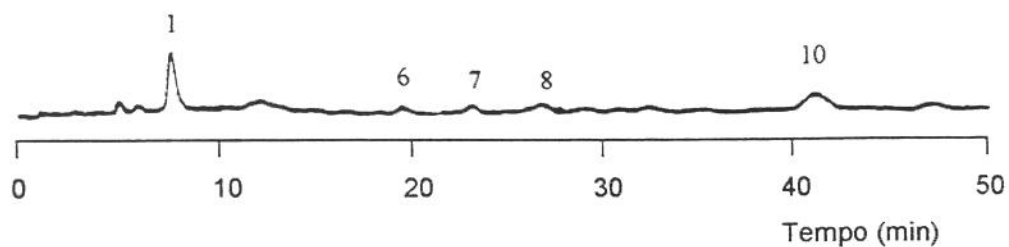
ANEXOS

97

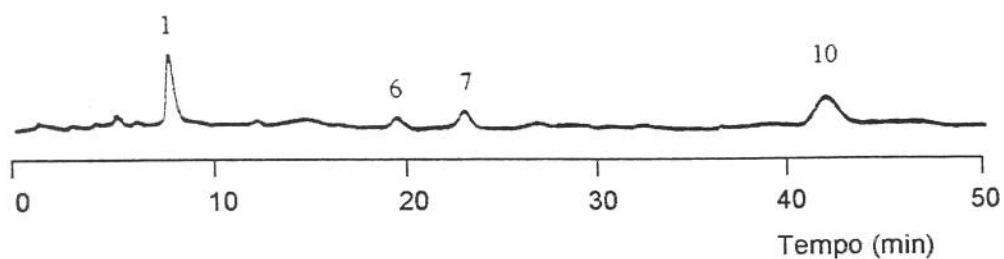


ANEXO 1. Cromatogramas, obtidos por CLAE, referentes a amostras de (a) maçã; (b) uva. Coluna C18 (5 μ m, Vydac 201 TP), fase móvel acetonitrila-água (75:25, v/v), vazão: 1,0 ml/min; volume de injeção: 30 μ l; detecção por fluorescência a 290 nm (emissão) e 430 nm (excitação). HPAs: 1. fluoranteno; 3. benzo(a)antraceno; 6. benzo(b)fluoranteno; 7. benzo(k)fluoranteno; 8. benzo(a)pireno; 10. benzo(ghi)perileno.

(a)

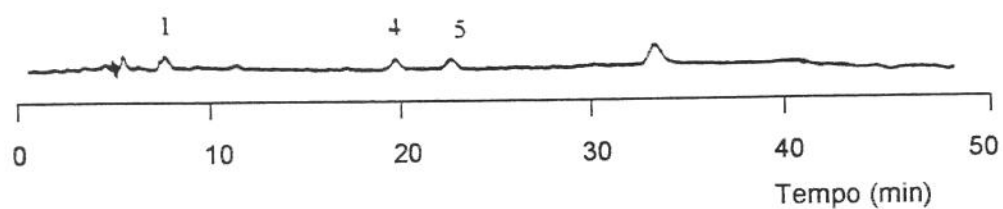


(b)

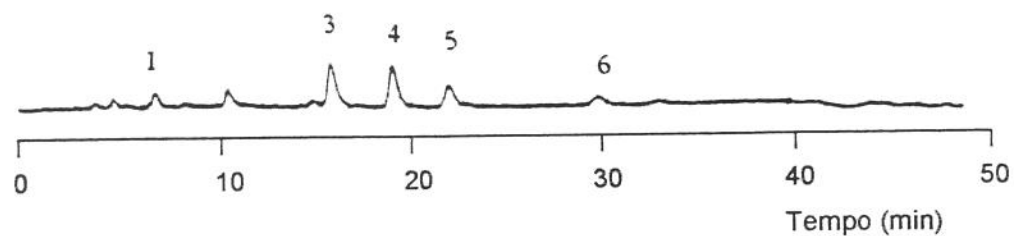


ANEXO 2. Cromatogramas, obtidos por CLAE, referentes a amostras de (a) leite; (b) queijo. Coluna C18 (5 μ m, Vydac 201 TP), fase móvel acetonitrila-água (75:25, v/v), vazão: 1,0 ml/min; volume de injeção: 30 μ l; detecção por fluorescência a 290 nm (emissão) e 430 nm (excitação).HPAs: 1. fluoranteno; 6. benzo(b)fluoranteno; 7. benzo(k)fluoranteno; 8. benzo(a)pireno; 10. Benzo(g,h,i)perileno.

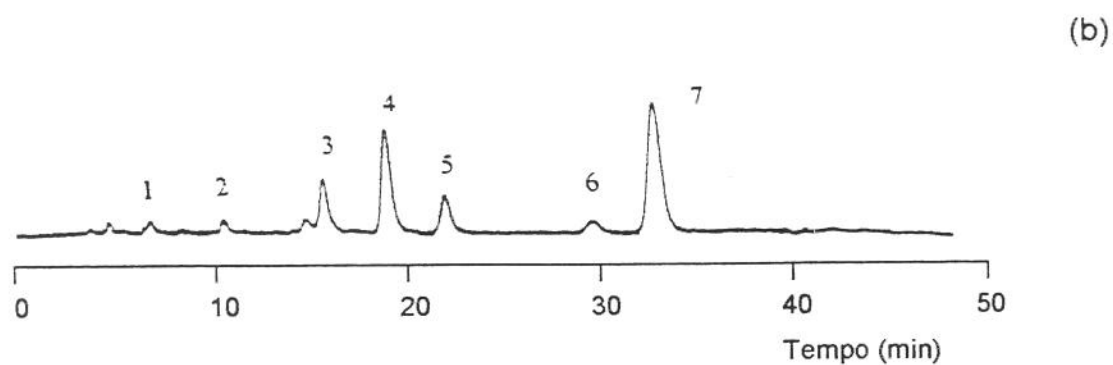
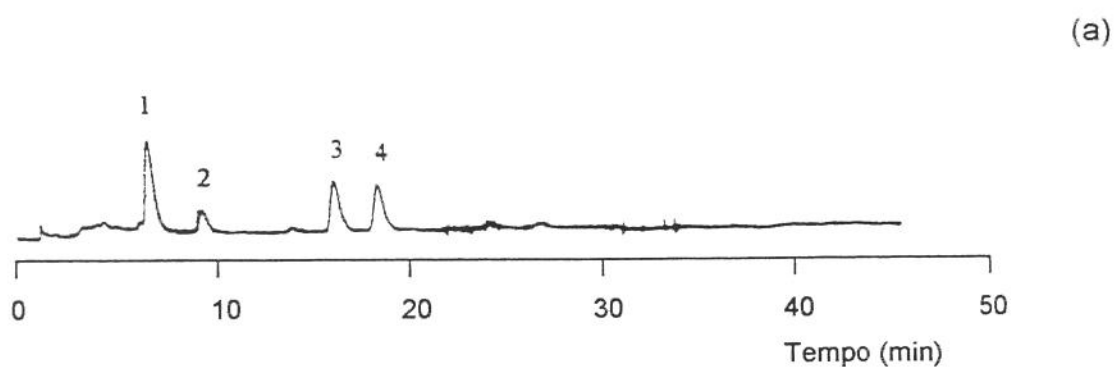
(a)



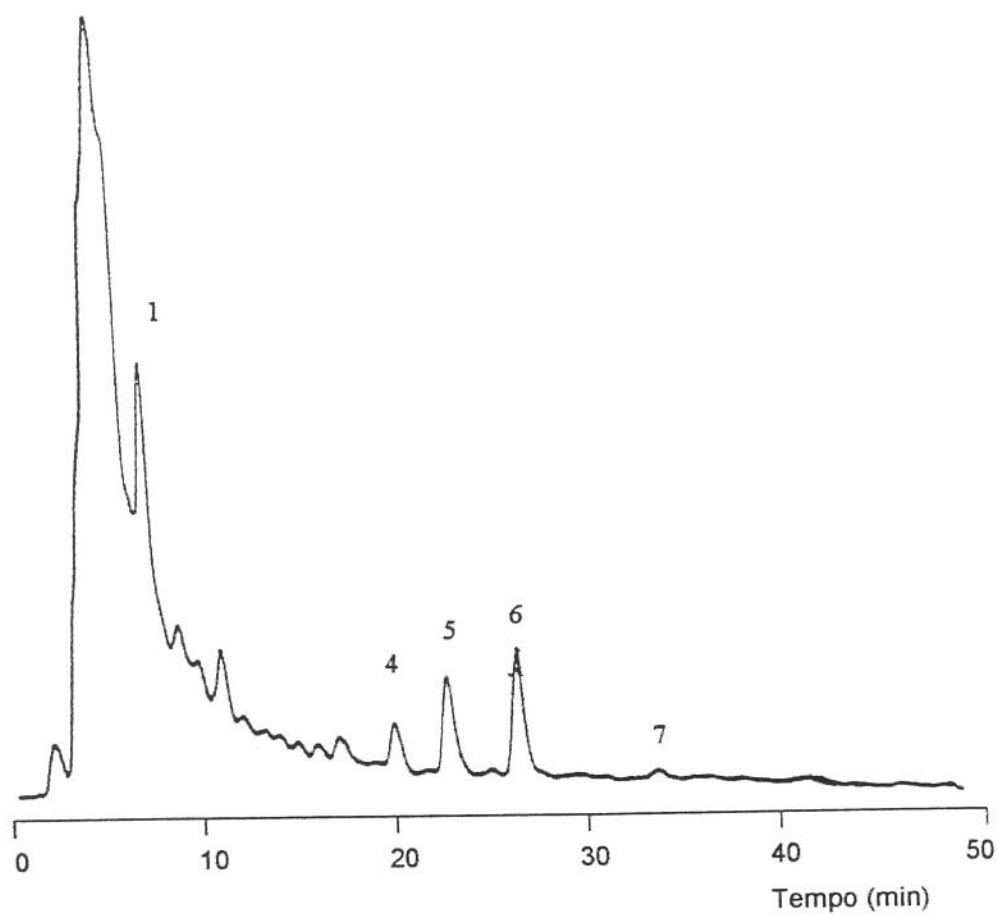
(b)



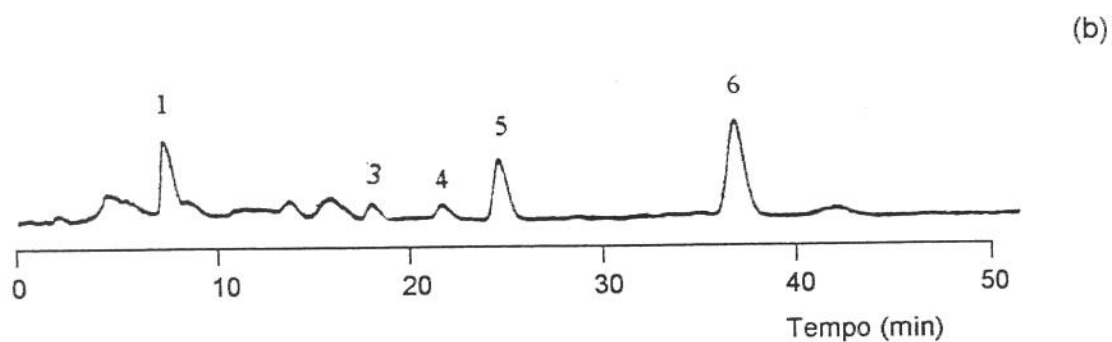
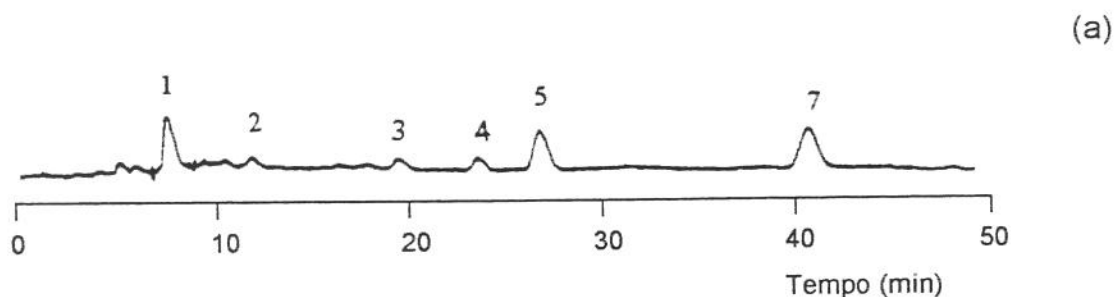
ANEXO 3. Cromatogramas, obtidos por CLAE, referentes a amostras de (a) feijão; (b) ervilha. Coluna C18 (5 μ m, Vydac 201 TP), fase móvel acetonitrila-água (75:25, v/v), vazão: 1,0 ml/min; volume de injeção: 30 μ l; detecção por fluorescência a 290 nm (emissão) e 430 nm (excitação). HPAs: 1. fluoranteno; 2. benzo(a)antraceno; 3. benzo(b)fluoranteno; 4. benzo(k)fluoranteno; 5. benzo(a)pireno; 6. dibenzo(ah)antraceno.



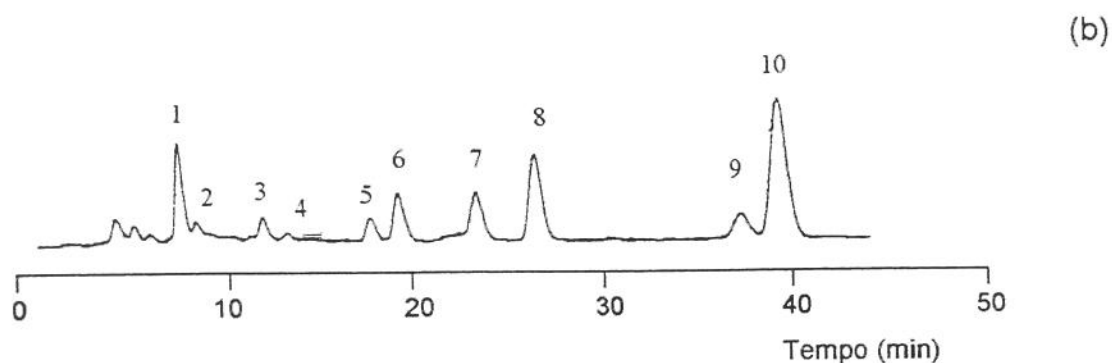
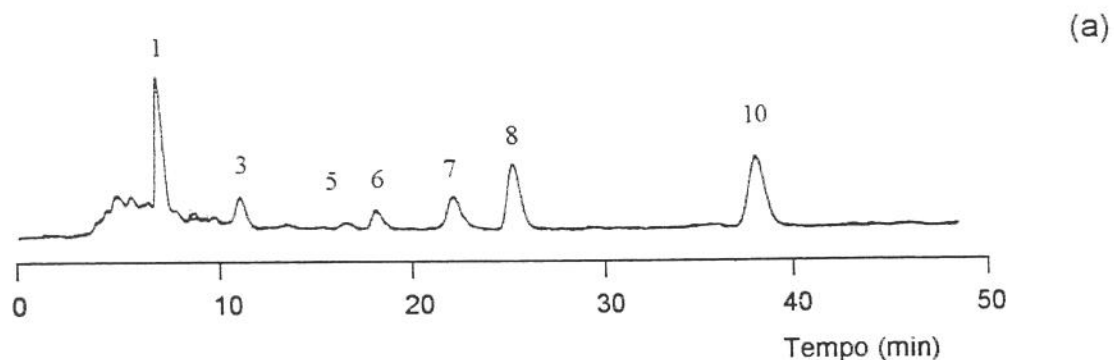
ANEXO 4. Cromatogramas, obtidos por CLAE, referentes a amostras de (a) batata; (b) cenoura. Coluna C18 (5 μ m, Vydac 201 TP), fase móvel acetonitrila-água (75:25, v/v), vazão: 1,0 ml/min; volume de injeção: 30 μ l; detecção por fluorescência a 290 nm (emissão) e 430 nm (excitação). HPAs: 1. fluoranteno; 2. benzo(a)antraceno; 3. benzo(b)fluoranteno; 4. benzo(k)fluoranteno; 5. benzo(a)pireno; 6. dibenzo(ah)antraceno 7. benzo(ghi)perileno.



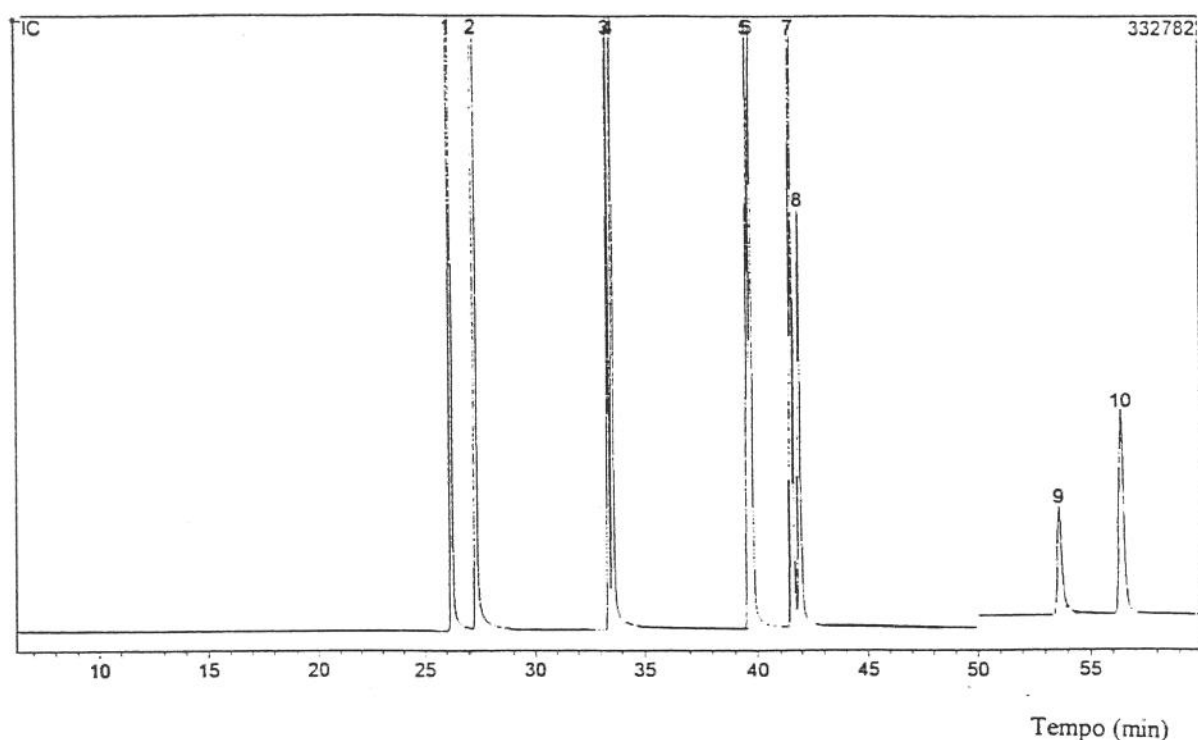
ANEXO 5. Cromatogramas, obtidos por CLAE, referentes a amostras de pó de café. Coluna C18 (5 μ m, Vydac 201 TP), fase móvel acetonitrila-água (75:25, v/v), vazão: 1,0 ml/min; volume de injeção: 30 μ l; detecção por fluorescência a 290 nm (emissão) e 430 nm (excitação). HPAs: 1. fluoranteno; 2. pireno; 3. benzo(a)antraceno; 4. benzo(b)fluoranteno; 5. benzo(k)fluoranteno; 6. benzo(a)pireno; 7. dibenzo(ah)antraceno.



ANEXO 6. Cromatogramas, obtidos por CLAE, referentes a amostras de (a) pizza, (b) açúcar. Coluna C18 (5 μ m, Vydac 201 TP), fase móvel acetonitrila-água (75:25, v/v), vazão: 1,0 ml/min; volume de injeção: 30 μ l; detecção por fluorescência a 290 nm (emissão) e 430 nm (excitação). HPAs: 1. fluoranteno; 2. benzo(a)antraceno; 3. benzo(b)fluoranteno; 4. benzo(k)fluoranteno; 5. benzo(a)pireno; 6. dibenzo(a,h)antraceno; 7. benzo(ghi)perileno.



ANEXO 7. Cromatogramas, obtidos por CLAE, referentes a amostras de (a) bacon, (b) salsicha. Coluna C18 (5 μ m, Vydac 201 TP), fase móvel acetonitrila-água (75:25, v/v), vazão: 1,0 ml/min; volume de injeção: 30 μ l; detecção por fluorescência a 290 nm (emissão) e 430 nm (excitação). HPAs: 1. fluoranteno; 2. pireno 3. benzo(a)antraceno; 4. criseno 5. benzo(e)pireno; 6. benzo(b)fluoranteno; 7. benzo(k)fluoranteno; 8. benzo(a)pireno; 9. dibenzo(ah)antraceno; 10. benzo(ghi)perileno.



ANEXO 8. Cromatograma, obtido por CG-MS, referente à mistura de HPAs. Padrões: 1. fluoranteno, 2. pireno; 3. benzo(a)antraceno, 4. criseno; 5. benzo(e)pireno, 6. benzo(b)fluoranteno, 7. benzo(k)fluoranteno, 8. benzo(a)pireno, 9. dibenzo(ah)antraceno e 10. benzo(ghi)perileno. Condições cromatográficas: temperatura inicial do detector e injetor: 280 °C; temperatura inicial da coluna: 120 °C, aquecimento de 5 °C/min. até 280 °C; volume de injeção: 3µl; tempo de abertura da purga do splitless: 3 minutos; fluxo do gás de arraste: 0,7 ml/min.

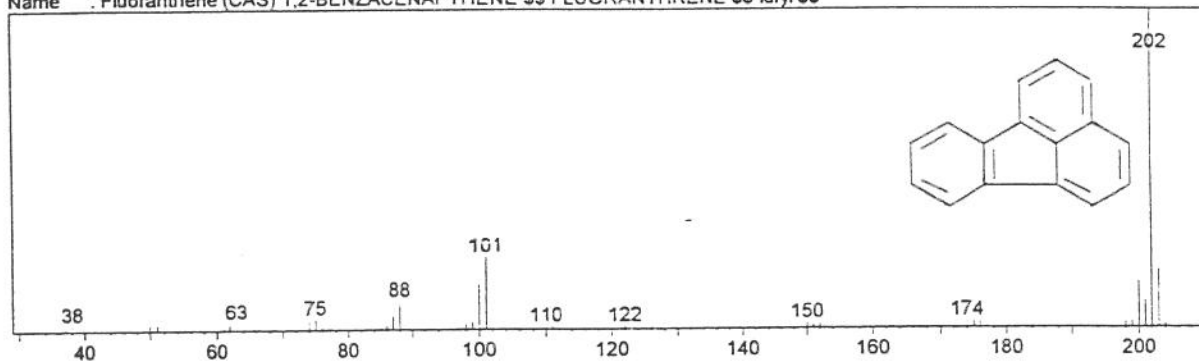
1. Fluoranteno

Data2 WILEY139.LIB

Entry : 49471 CAS : 206-44-0 Mol.Wgt. : 202

Mol.Form. : 10

Name : Fluoranthene (CAS) 1,2-BENZACENAPTHENE \$\$ FLUORANTHRENE \$\$ Idylt \$\$



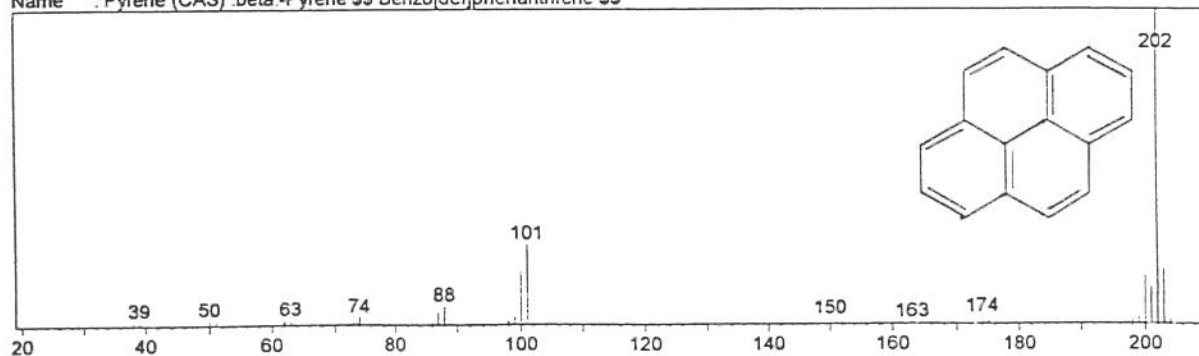
2. Pireno

Data2 WILEY139.LIB

Entry : 49483 CAS : 129-00-0 Mol.Wgt. : 202

Mol.Form. : 10

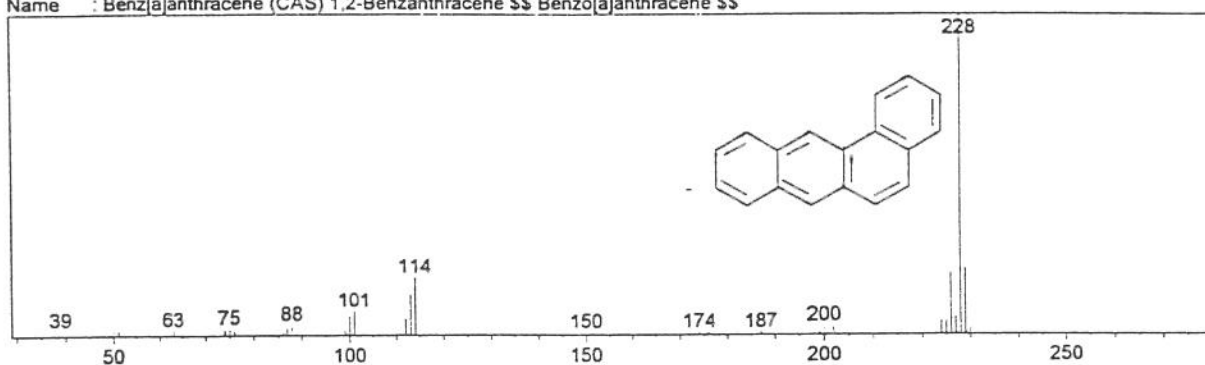
Name : Pyrene (CAS) .beta.-Pyrene \$\$ Benzo[def]phenanthrene \$\$



ANEXO 9. Espectros de massas dos padrões fluoranteno e pireno. Condições cromatográficas: idem ao ANEXO 8.

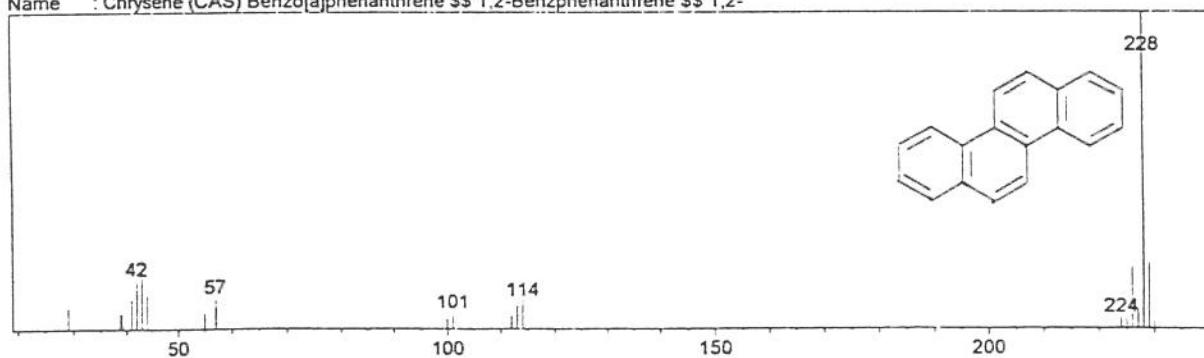
3. Benzo(a)antraceno

Data2 WILEY139.LIB
Entry : 63210 CAS : 56-55-3 Mol.Wgt. : 228
Mol.Form. : 12
Name : Benz[a]anthracene (CAS) 1,2-Benzanthracene \$\$ Benzo[a]anthracene \$\$



4. Criseno

Data2 WILEY139.LIB
Entry : 63215 CAS : 218-01-9 Mol.Wgt. : 228
Mol.Form. : 12
Name : Chrysene (CAS) Benzo[a]phenanthrene \$\$ 1,2-Benzphenanthrene \$\$ 1,2-



ANEXO 10. Espectros de massas dos padrões benzo(a)antraceno e criseno.
Condições cromatográficas: idem ao ANEXO 8.

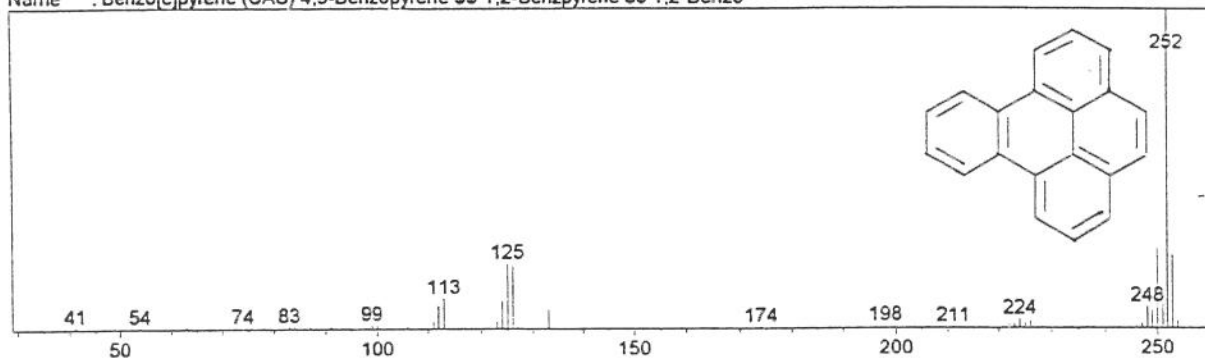
5. Benzo(e)pireno

Data2 WILEY139 lib

Entry : 74088 CAS : 192-97-2 Mol.Wgt. : 252

Mol.Form. : 12

Name : Benzo[e]pyrene (CAS) 4,5-Benzopyrene \$\$ 1,2-Benzopyrene \$\$ 1,2-Benzo



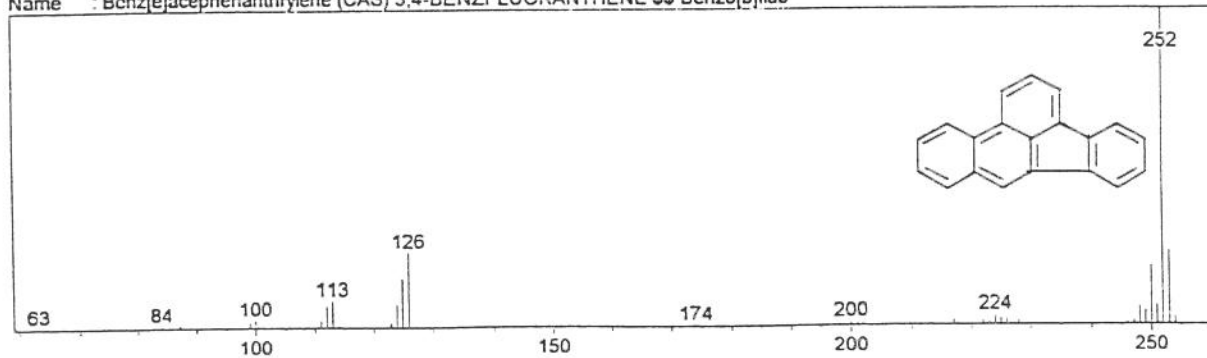
6. Benzo(b)fluoranteno

Data2 WILEY139 lib

Entry : 74083 CAS : 205-99-2 Mol.Wgt. : 252

Mol.Form. : 12

Name : Benz[e]acephenanthrylene (CAS) 3,4-BENZFLUORANTHENE \$\$ Benzo[b]fluor



ANEXO 11. Espectros de massas dos padrões benzo(e)pireno e benzo(b)fluoranteno. Condições cromatográficas: idem ao ANEXO 8.

7. Benzo(k)fluoranteno

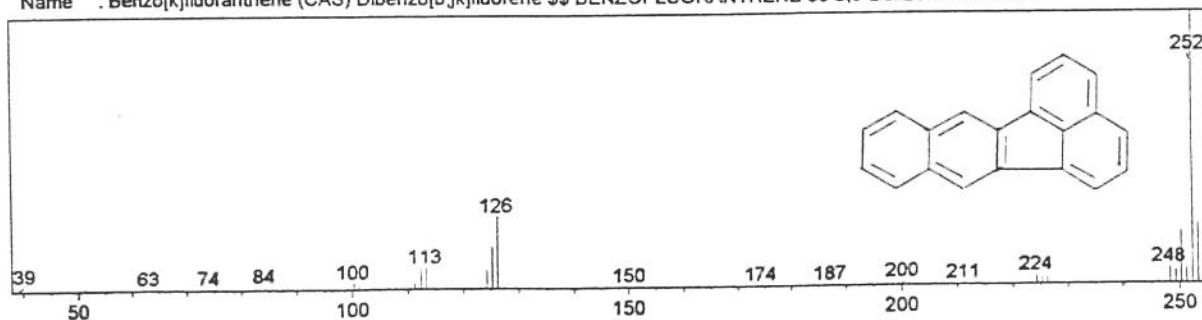
Library : WILEY139

Entry : 74095

CAS : 207-08-9 Mol.Wgt. : 252

Mol.Form.: 12

Name : Benzo(k)fluoranthene (CAS) Dibenzo[b,jk]fluorene \$\$ BENZOFLUORANTHENE \$\$ 8,9-Benzofluoranthene



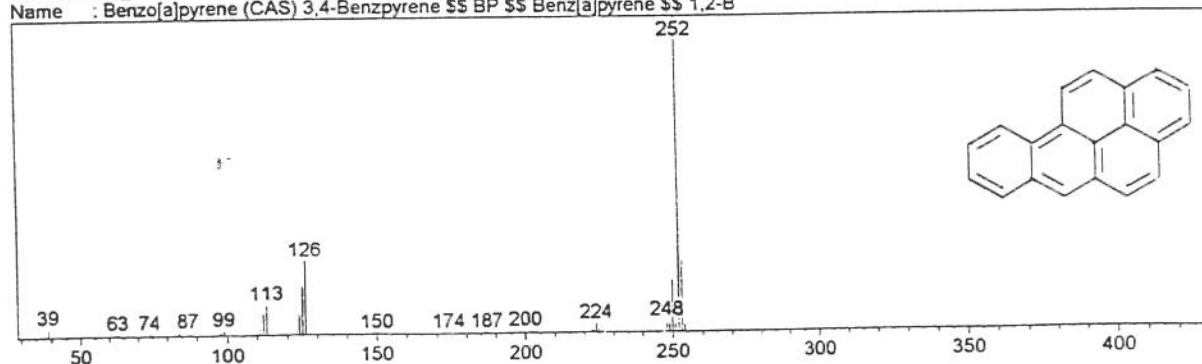
8. Benzo(a)pireno

Data2 WILEY139.LIB

Entry : 74087 CAS : 50-32-8 Mol.Wgt. : 252

Mol.Form.: 12

Name : Benzo(a)pyrene (CAS) 3,4-Benzpyrene \$\$ BP \$\$ Benz[a]pyrene \$\$ 1,2-B



ANEXO 12. Espectros de massas dos padrões benzo(k)fluoranteno e benzo(a)pireno. Condições cromatográficas: idem ao ANEXO 8.

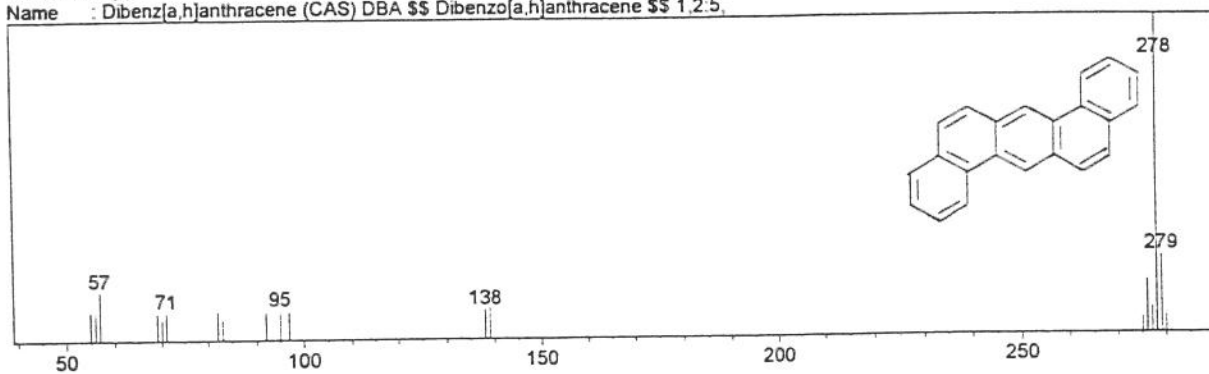
9. Dibenzo(ah)antraceno

Data2 WILEY139.LIB

Entry : 85033 CAS : 53-70-3 Mol.Wgt. : 278

MolForm. : 14

Name : Dibenzo[a,h]anthracene (CAS) DBA \$\$ Dibenzo[a,h]anthracene \$\$ 1,2,5,



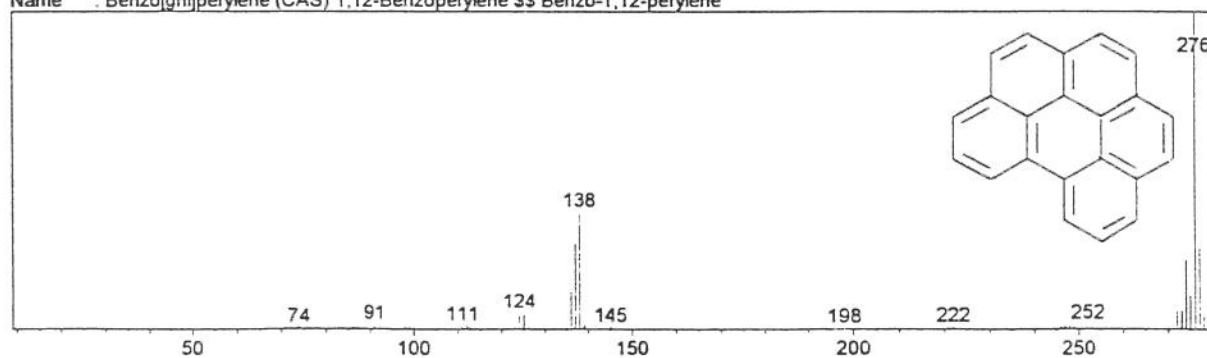
10. Dibenzo(ghi)perileno

Data2 WILEY139.LIB

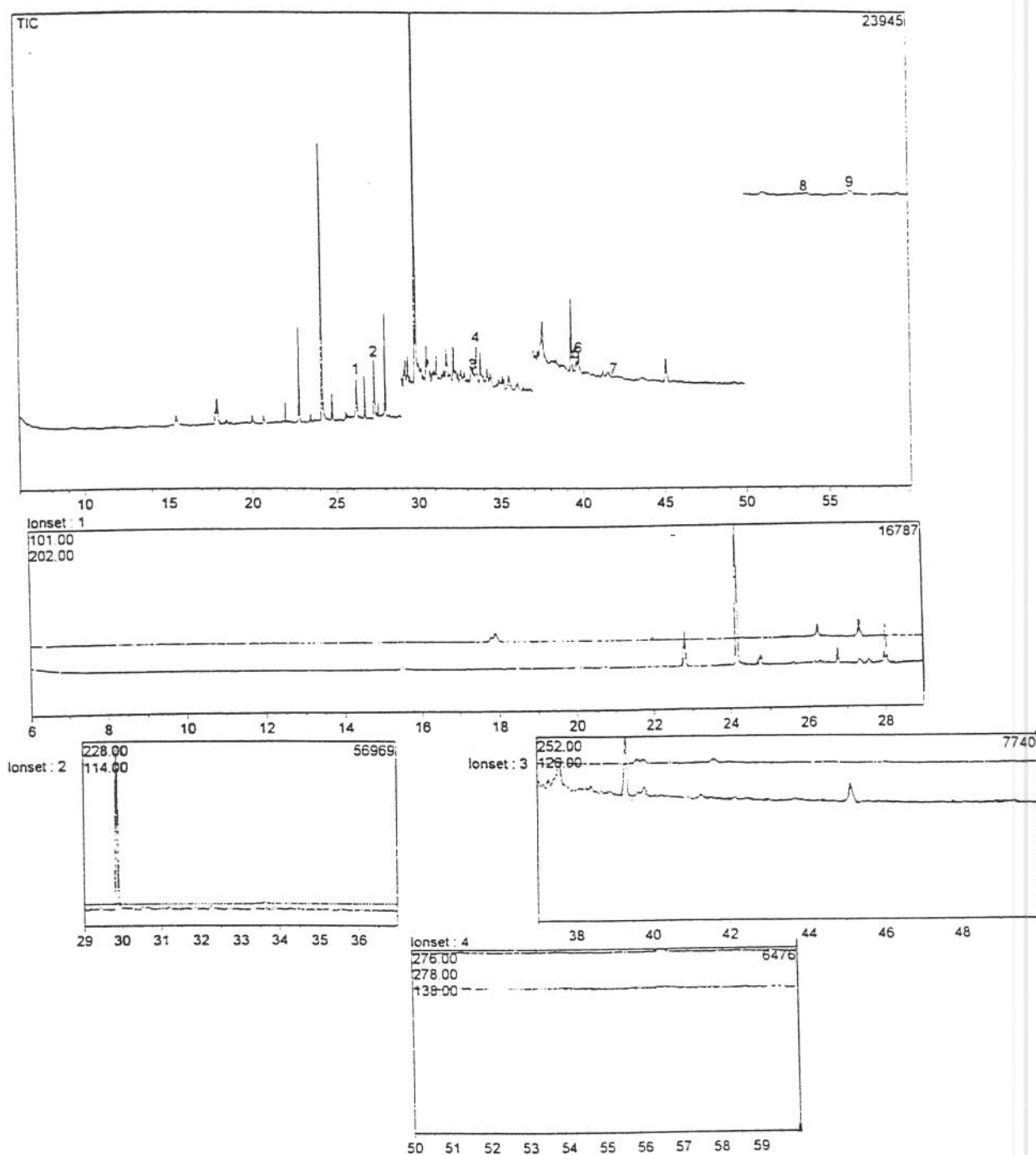
Entry : 84250 CAS : 191-24-2 Mol.Wgt. : 276

MolForm. : 12

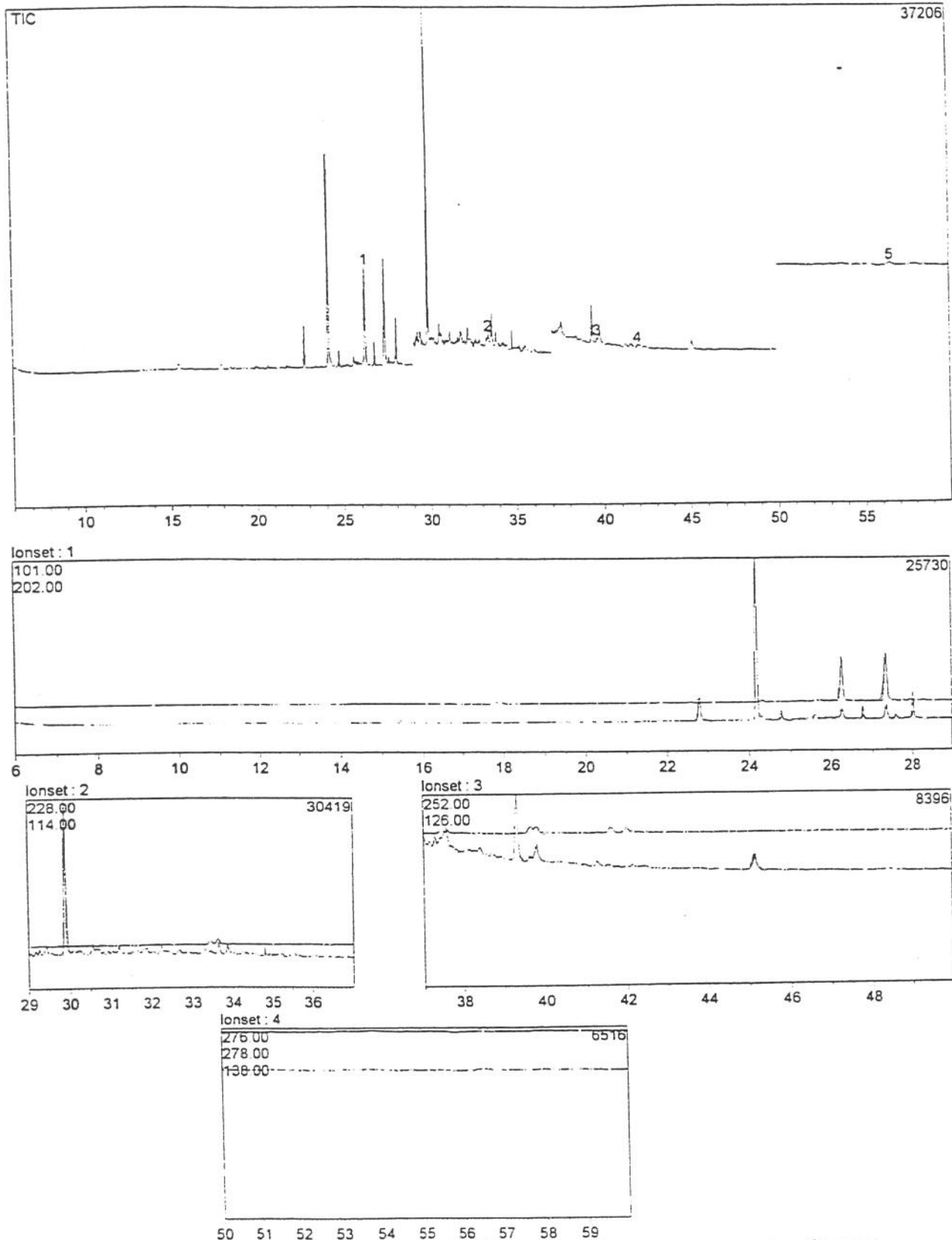
Name : Benzo[ghi]perylene (CAS) 1,12-Benzoperylene \$\$ Benzo-1,12-perylene



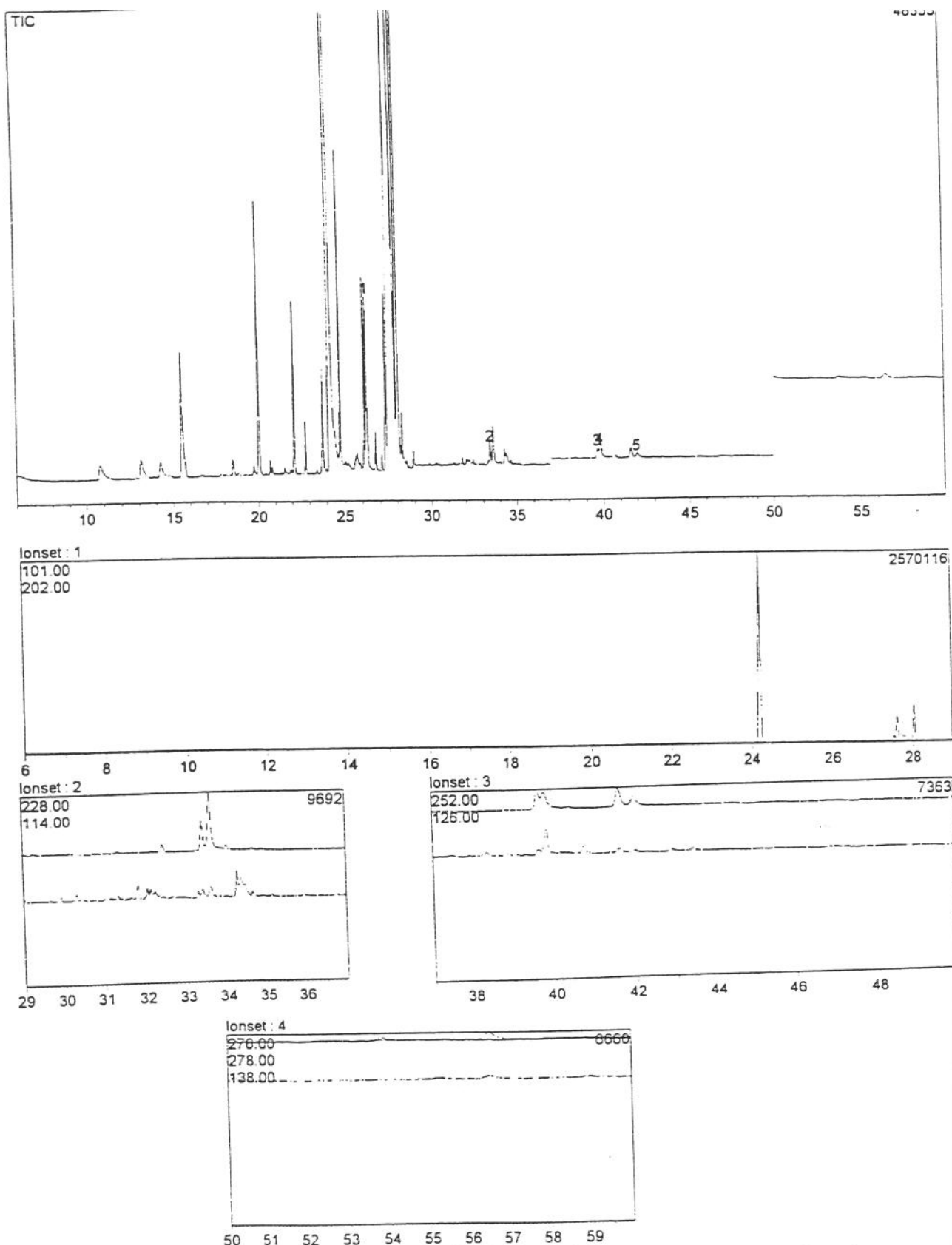
ANEXO 13. Espectros de massas dos padrões dibenzo(ah)antraceno e benzo(ghi)perileno. Condições cromatográficas: idem ao ANEXO 8.



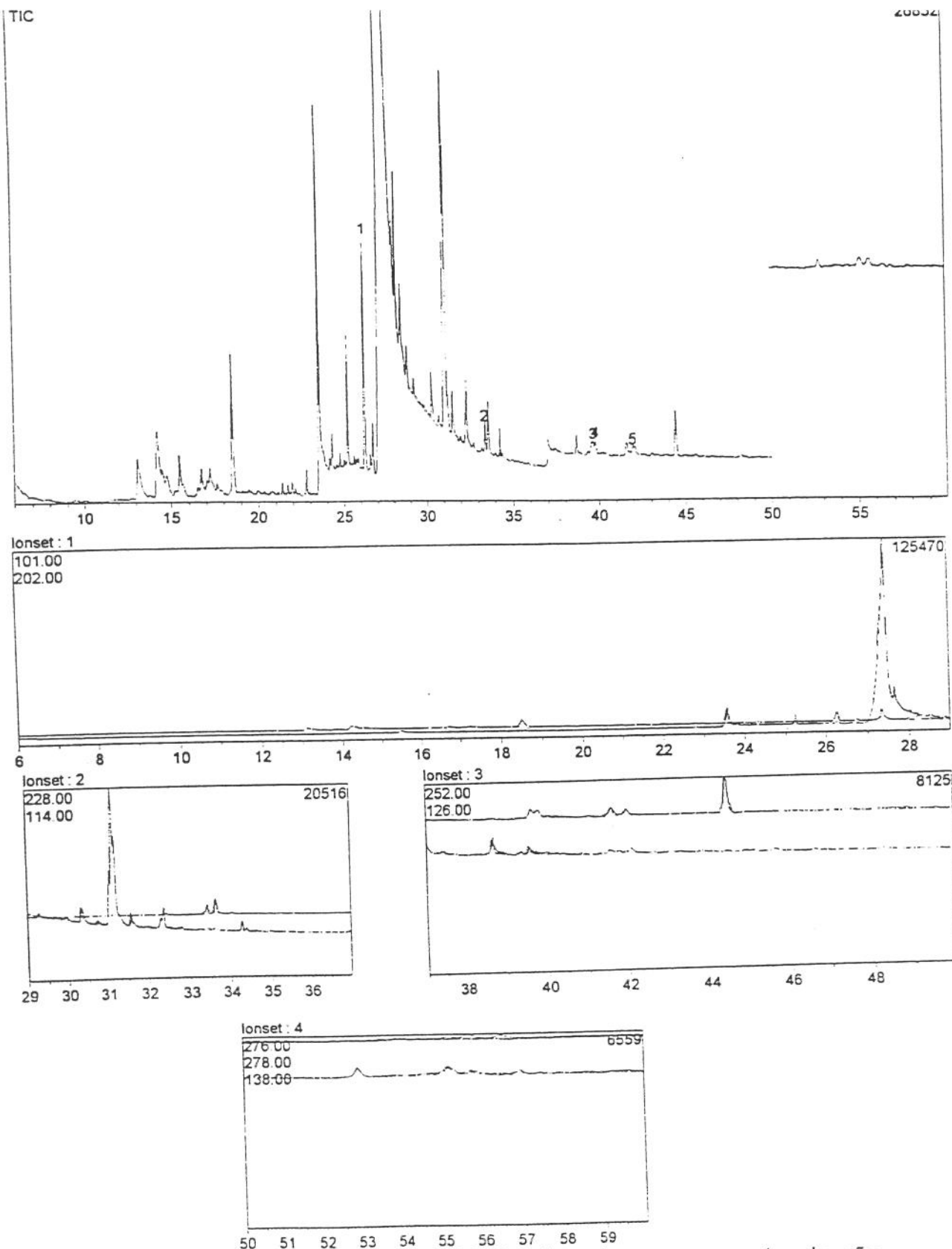
ANEXO 14. Cromatograma, obtido por CG-MS, referente a uma amostra de alface, mostrando os íons monitorados. HPAs: 1. fluoranteno, 2. pireno, 3. benzo(a)antraceno, 4. criseno, 5. benzo(b)fluoranteno, 6. benzo(k)fluoranteno, 7. benzo(a)pireno, 8. dibenzo(ah)antraceno, 9. benzo(ghi)perileno. Condições cromatográficas: idem ao ANEXO 8.



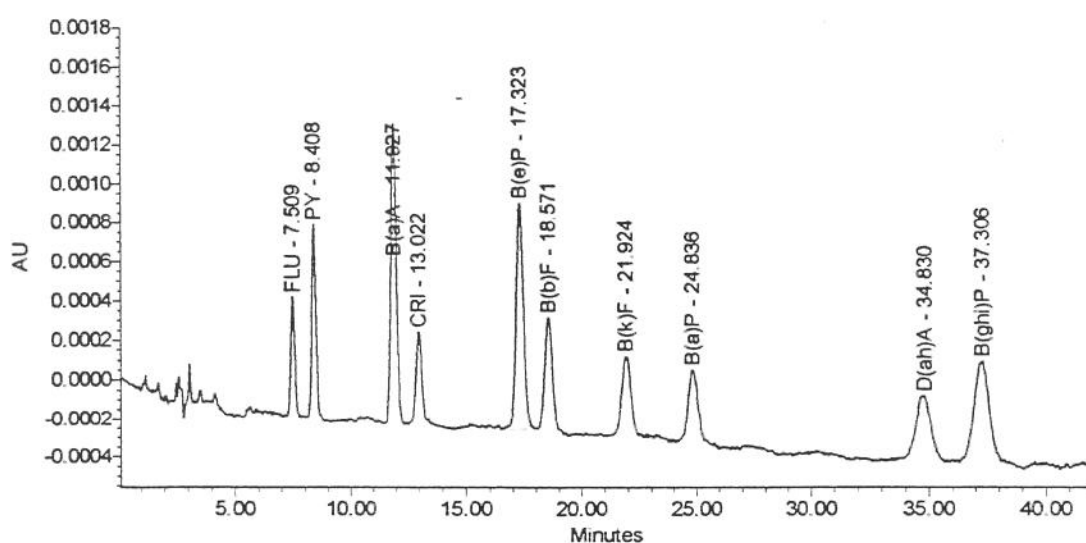
ANEXO 15. Cromatograma, obtido por CG-MS, referente a uma amostra de uva, mostrando os íons monitorados. HPAs: 1. fluoranteno, 2. benzo(a)antraceno, 3. benzo(b)fluoranteno, 4. benzo(a)pireno, 5. benzo(ghi)perileno. Condições cromatográficas: idem ao ANEXO 8.



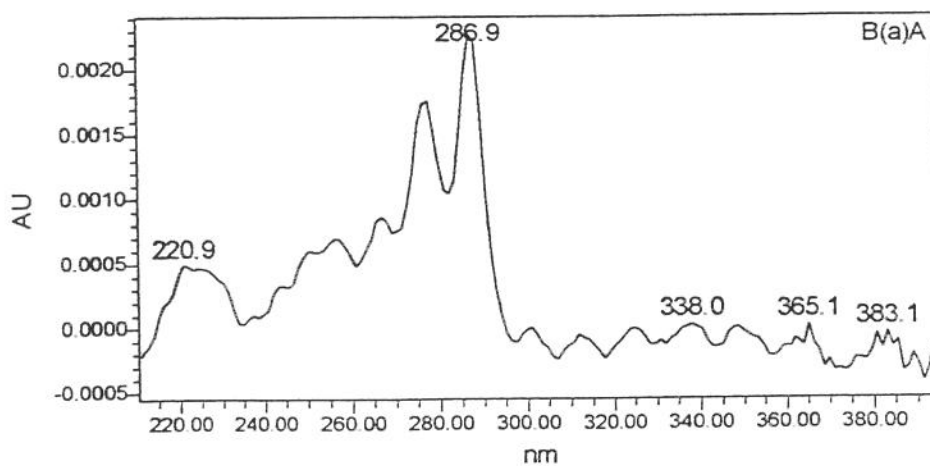
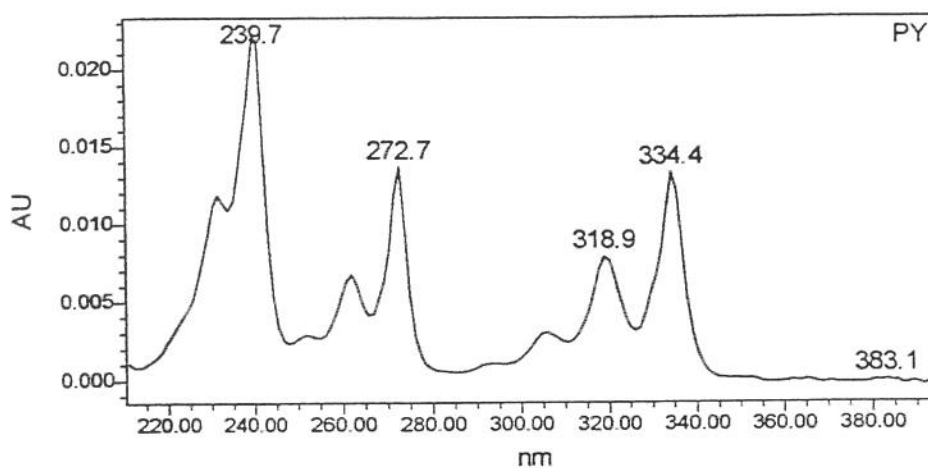
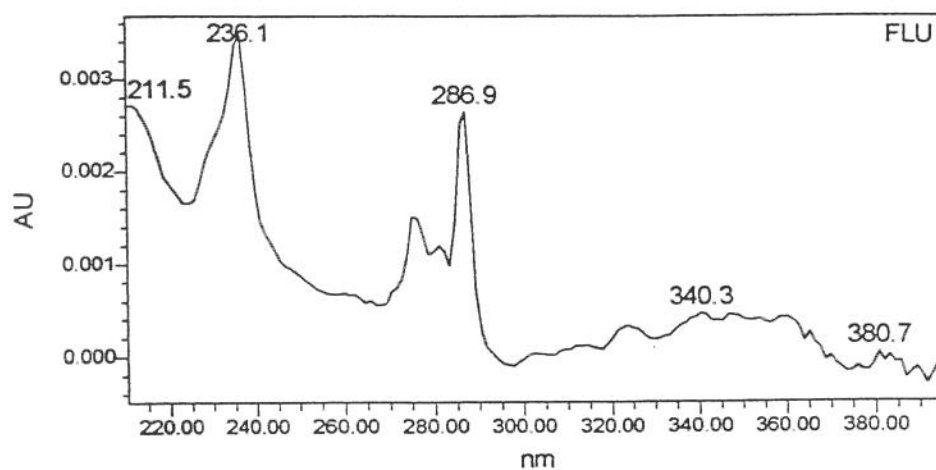
ANEXO 16. Cromatograma, obtido por CG-MS, referente a uma amostra de bolacha água e sal, mostrando os íons monitorados. HPAs: 1. fluoranteno, 2. benzo(a)antraceno, 3. benzo(b)fluoranteno, 4. benzo(k)fluoranteno, 5. benzo(a)pireno. Condições cromatográficas: idem ao ANEXO 8.



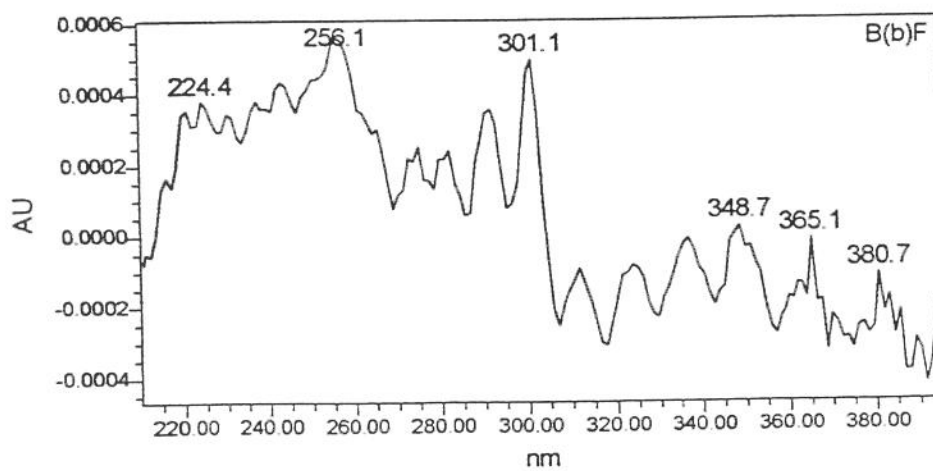
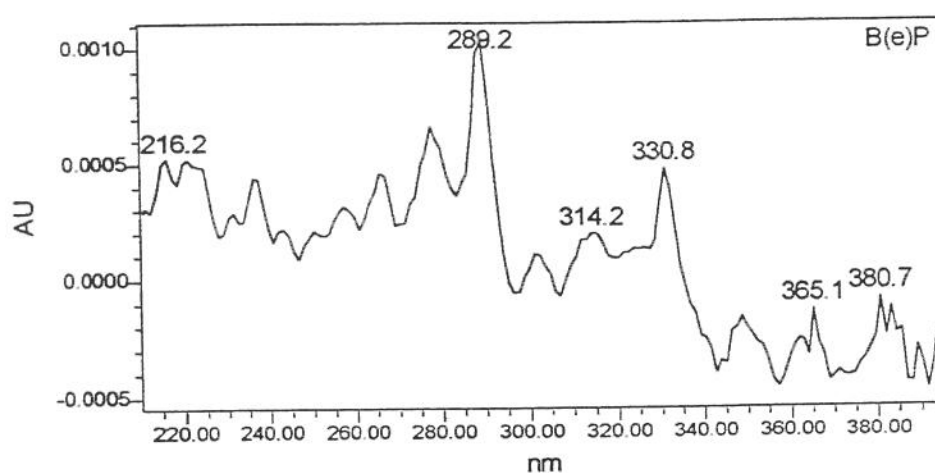
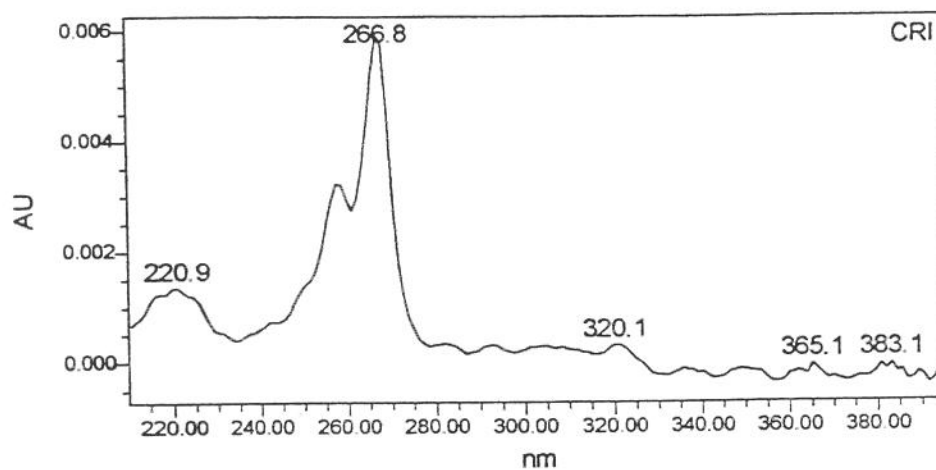
ANEXO 17. Cromatograma, obtido por CG-MS, referente a uma amostra de pão integral, mostrando os íons monitorados. HPAs: 1. fluoranteno, 2. benzo(a)antraceno, 3. benzo(b)fluoranteno, 4. benzo(k)fluoranteno, 5. benzo(a)pireno. Condições cromatográficas: idem ao ANEXO 8.



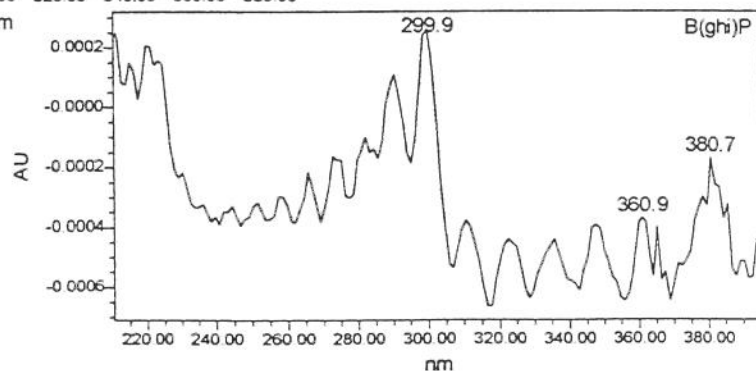
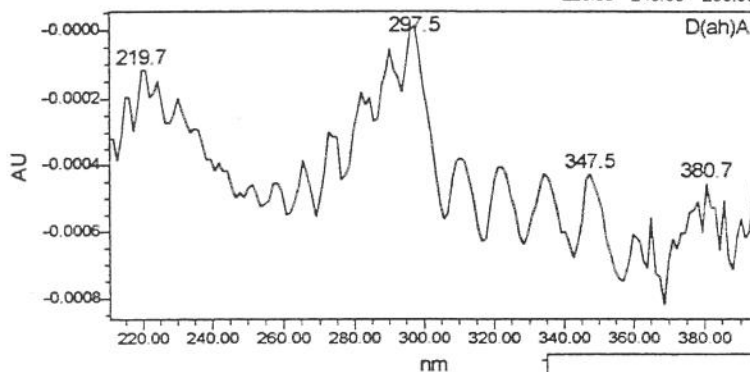
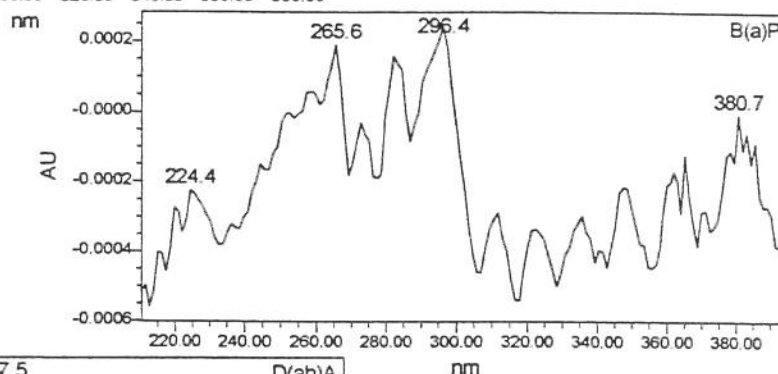
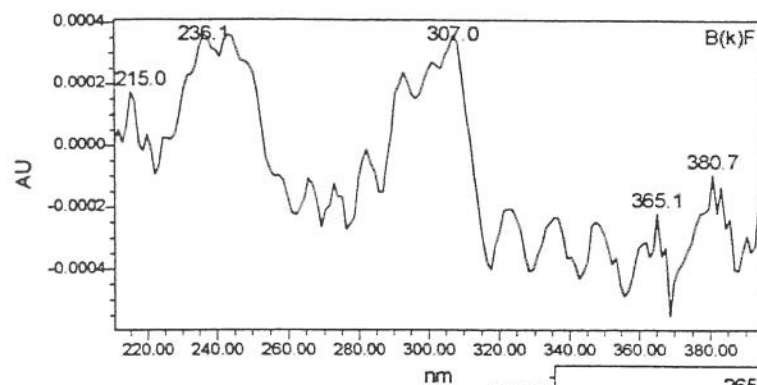
ANEXO 18. Cromatograma, obtido por CLAE com, referente à mistura de HPAs. Condições cromatográficas: coluna C18 (5 μ m-Vydac 201 TP); fase móvel acetonitrila-água (75:25, v/v), vazão: 1,0 ml/min; volume de injeção: 30 μ l; detector de arranjo de diodos (220 – 440 nm). Padrões: FLU: fluoranteno, PY: pireno; B(a)A: benzo(a)antraceno, CRI: criseno; B(e)P: benzo(e)pireno, B(b)F: benzo(b)fluoranteno, B(k)F: benzo(k)fluoranteno, B(a)P: benzo(a)pireno, D(ah)A: dibenzo(ah)antraceno e B(ghi)P: benzo(ghi)perileno.



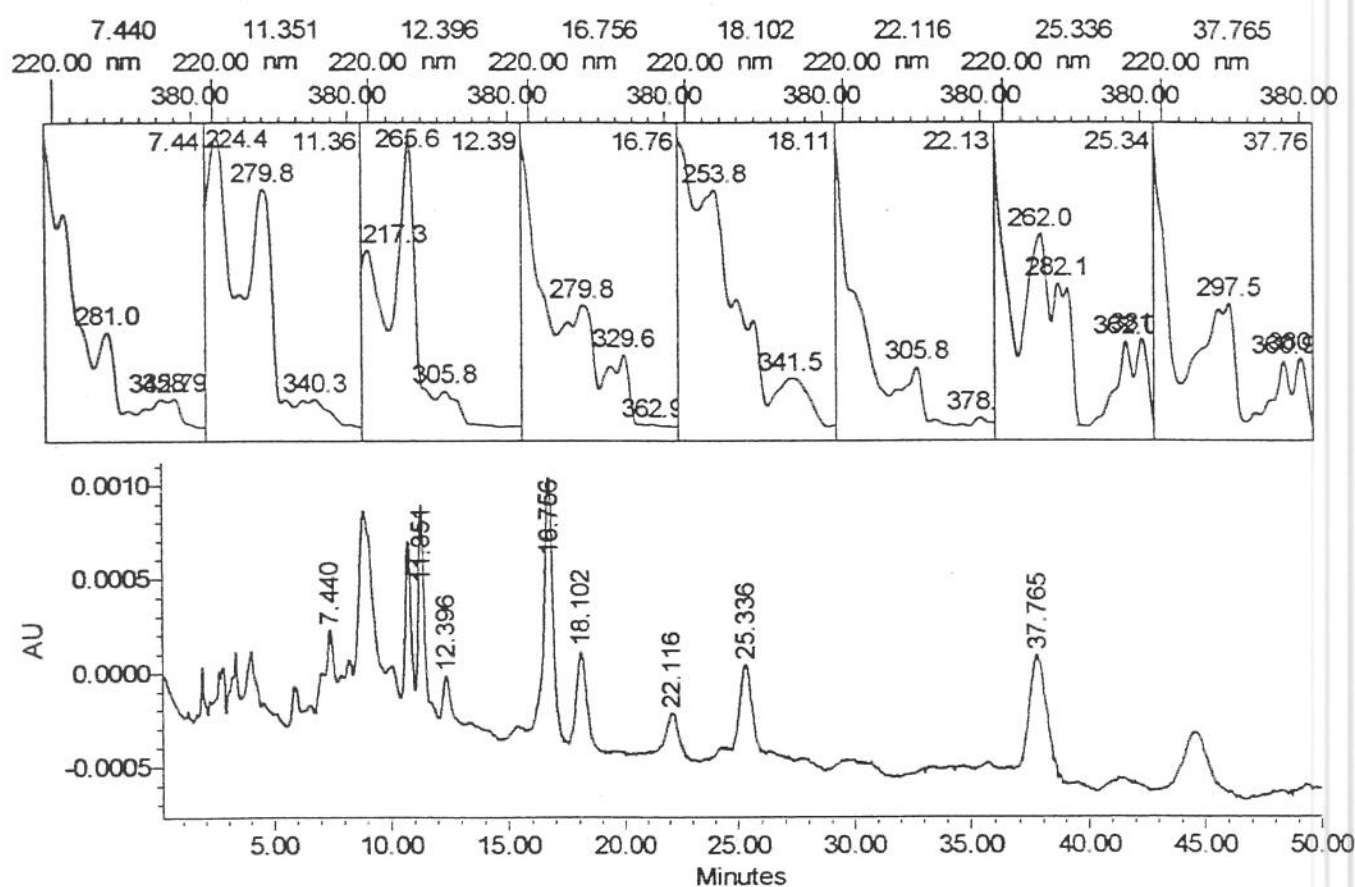
ANEXO 19. Espectro de absorbância dos HPAs: fluoranteno (FLU), pireno (PY) e benzo(a)antraceno (B(a)A) obtidos por detector de arranjo de diodos.



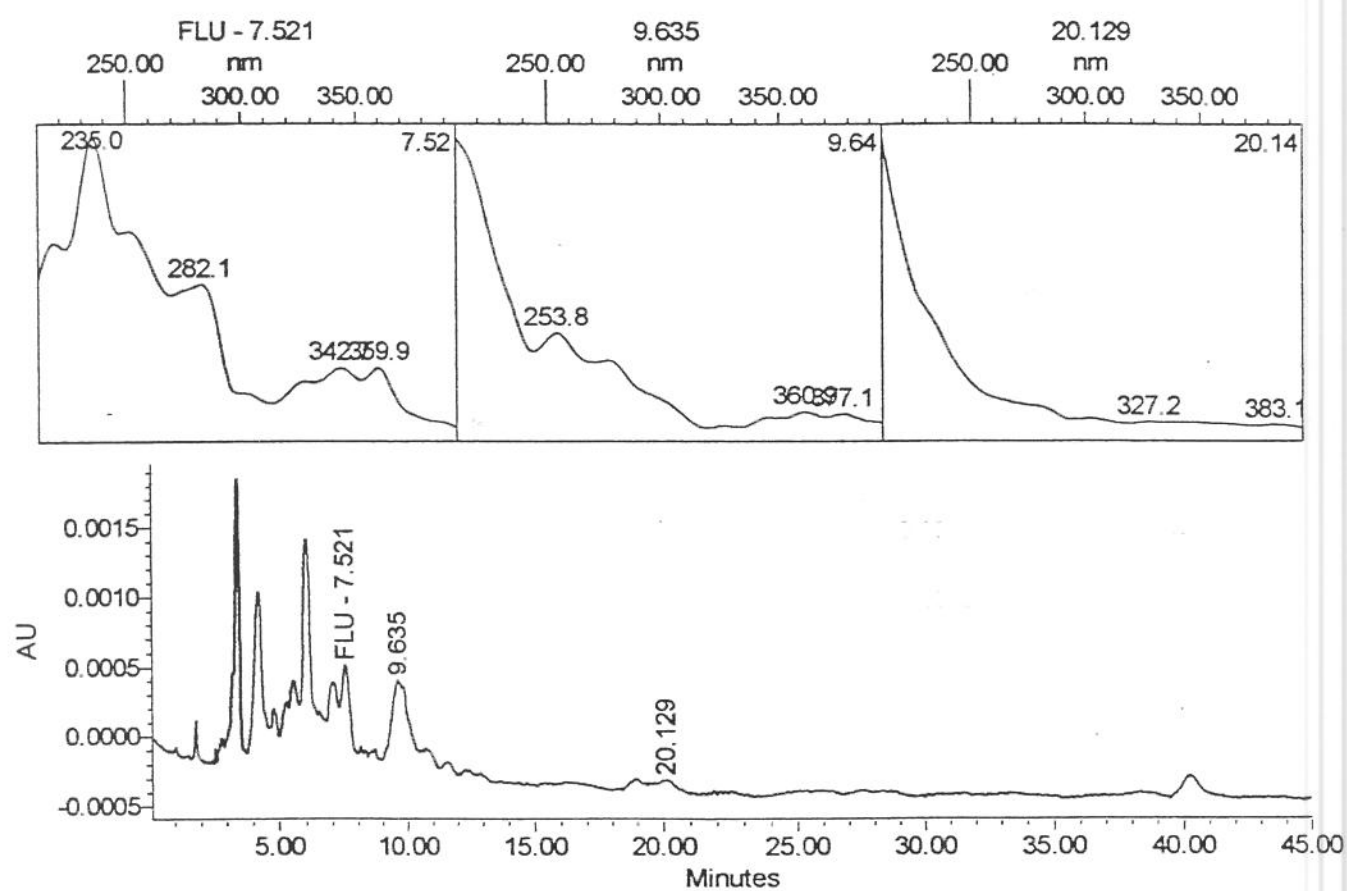
ANEXO 20. Espectro de absorbância dos HPAs: criseno (CRI), benzo(e)pireno (B(e)P), benzo(b)fluranteno (B(b)F) obtidos por detector de arranjo de diodos.



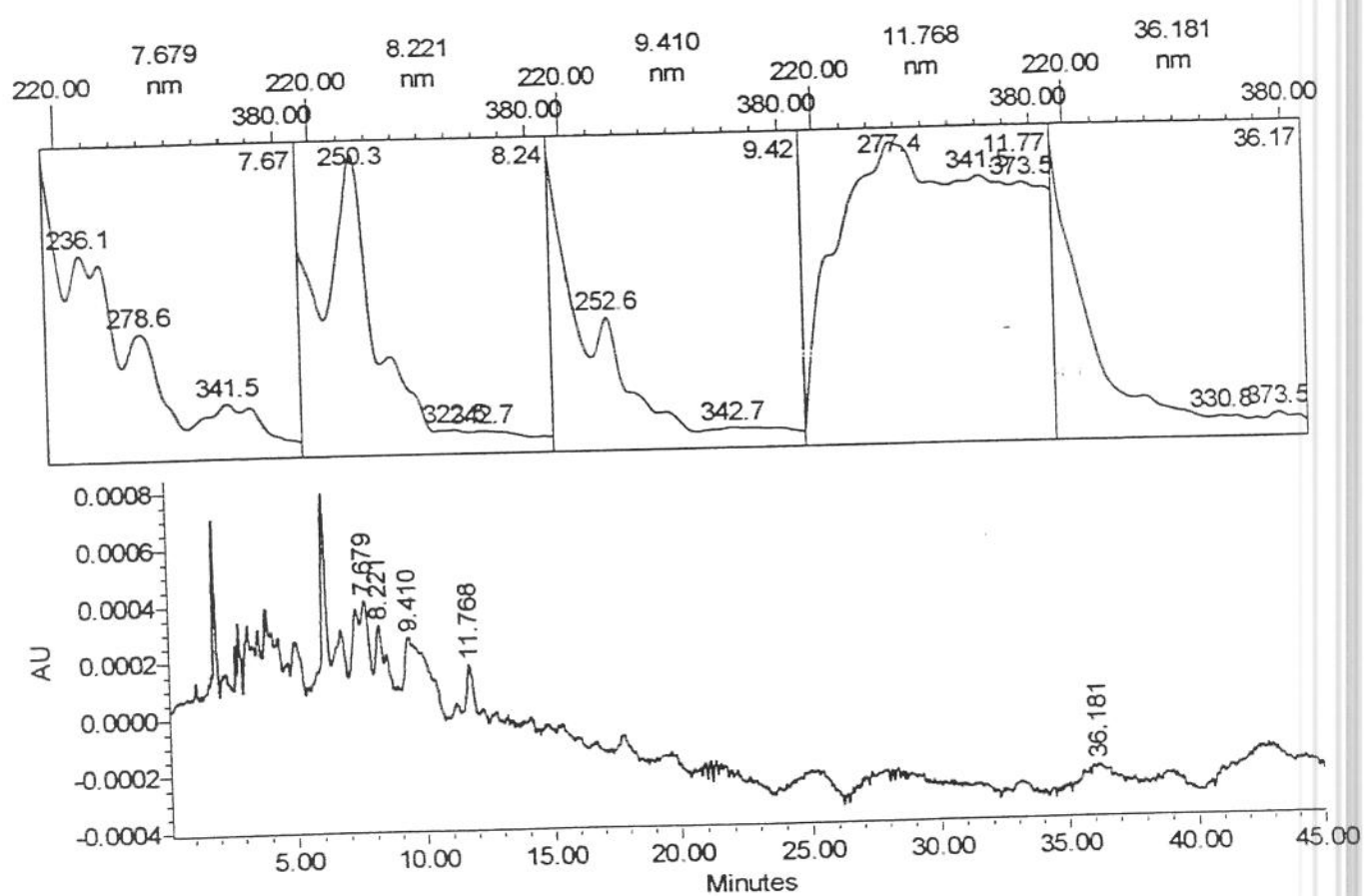
ANEXO 21. Espectro de absorvância dos HPAs: benzo(k)fluoranteno (B(k)F); benzo(a)pireno (B(a)P), dibenzo(ah)antraceno (D(ah)A) e benzo(ghi)perileno (B(ghi)P) obtidos por detector de arranjo de diodos.



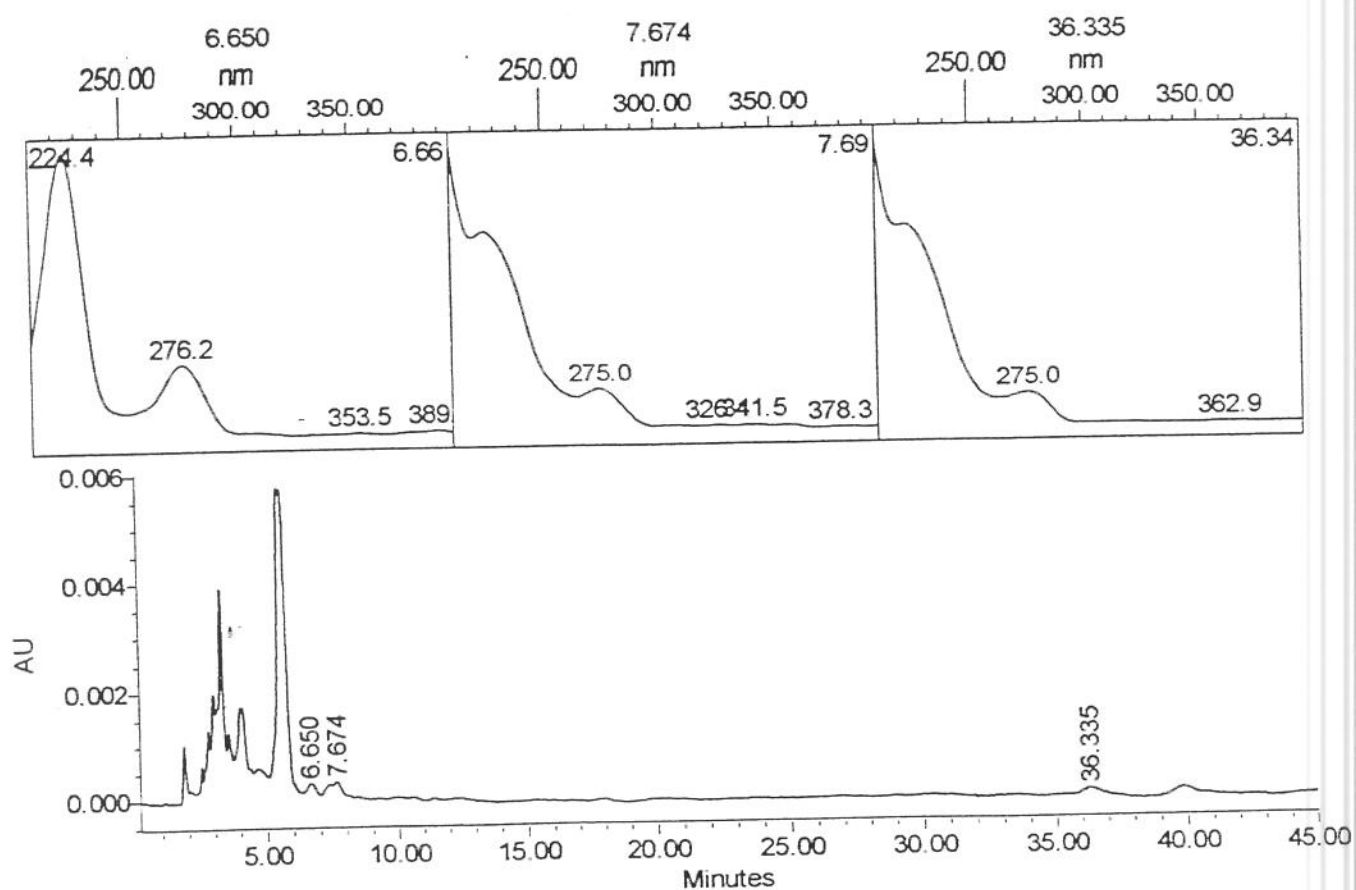
ANEXO 22. Cromatograma, obtido por CLAE, referente à uma amostra de óleo de soja. Condições cromatográficas: Idem ao ANEXO 18.



ANEXO 23. Cromatograma, obtido por CLAE, referente a uma amostra de bacon.
Condições cromatográficas: Idem ao ANEXO 18.



ANEXO 24. Cromatograma, obtido por CLAE, referente a uma amostra de pão.
Condições cromatográficas: Idem ao ANEXO 18.



ANEXO 25. Cromatograma, obtido por CLAE, referente a uma amostra de açúcar.
Condições cromatográficas: Idem ao ANEXO 18.