



**INSTITUTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**  
Centro de Ciência e Qualidade de Alimentos - CCQA

**DIOGO REIS DALLE MOLLE**

**AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO POR HIDROCARBONETOS  
POLICÍCLICOS AROMÁTICOS DE ÓLEOS VEGETAIS DE CANOLA,  
GIRASSOL E MILHO COMERCIALIZADOS NO BRASIL**

**CAMPINAS**  
**2017**

DIOGO REIS DALLE MOLLE

AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO POR HIDROCARBONETOS  
POLICÍCLICOS AROMÁTICOS DE ÓLEOS VEGETAIS DE CANOLA,  
GIRASSOL E MILHO COMERCIALIZADOS NO BRASIL

*Dissertação apresentada ao Instituto de  
Tecnologia de Alimentos para obtenção  
do título de Mestre em Ciência e  
Tecnologia de Alimentos.*

Aluno: Diogo Reis Dalle Molle

Orientador: Silvia Amelia Verdiani Tfouni

Este exemplar corresponde à versão final da Dissertação defendida pelo aluno Diogo Reis Dalle Molle e orientado pela Profa. Dra. Silvia Amelia Verdiani Tfouni.

**Campinas – SP**

**2017**

Agência: CNPq  
Nº do proc.: 444146/2014-8

## Ficha Catalográfica

Elaborada pela Bibliotecária Adriana Gomes do Nascimento CRB/8 8853 –  
Biblioteca Central do ITAL- Instituto de Tecnologia de Alimentos.

M726a

Molle, Diogo Reis Dalle

Avaliação da contaminação por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos de óleos vegetais de canola, girassol e milho comercializados no Brasil. Diogo Reis Dalle Molle / Dissertação de mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Campinas, SP: ITAL - Instituto de Tecnologia de Alimentos, 2017.

Orientador: Profa. Dra. Silvia Amelia Verdiani Tfouni  
Dissertação (mestrado) – Instituto de Tecnologia de Alimentos. Centro de Ciência e Qualidade de Alimentos.

1. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. 2. Óleos vegetais. 3. Cromatografia líquida de alta eficiência. I Tfouni, Silvia Amelia Verdiani. II Instituto de Tecnologia de Alimentos, CCQA - Centro de Ciência e qualidade de Alimentos. III. Título.

Título em inglês: Evaluation of polycyclic aromatic hydrocarbons in samples of corn, sunflower and canola oils from the Brazilian market.

Key-words: Polycyclic aromatic hydrocarbons, Vegetable oils, High performance liquid chromatography.

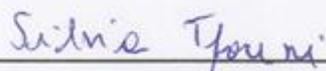
Titulação: Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos

Banca Examinadora: Profa. Dra. Silvia Amelia Verdiani Tfouni, Dra. Sônia Cláudia do Nascimento de Queiroz, Dr. Eduardo Vicente e Profa. Dra. Regina Prado Zanes Furlani.

Data da Defesa: 22/03/2017

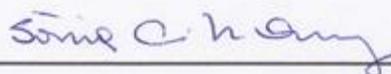
Programa de Pós-graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos

Este exemplar corresponde à redação final da Dissertação de Mestrado defendida por Diogo Reis Dalle Molle, aprovada pela Comissão Julgadora em 22/03/2017.



---

Profa. Dra. Silvia Amelia Verdiani Tfouni  
CCQA – ITAL – (Presidente)



---

Dra. Sônia Cláudia do Nascimento de Queiroz  
Embrapa (Titular)



---

Dr. Eduardo Vicente  
CCQA – ITAL (Titular)



---

Profa. Dra. Regina Prado Zanes Furlani  
CCQA - ITAL (Suplente)

## Agradecimentos

À Nathalia, meu amor.

Aos meus amados pais, Walkiria e Romualdo, pela minha vida e por todos os ensinamentos.

Aos meus irmãos, Gustavo e Fábio, pela amizade e força.

À minha orientadora Dra. Silvia Amelia Verdiani Tfouni, pela paciência e aprendizado.

Ao Centro de Ciência e Qualidade de Alimentos, pela oportunidade de desenvolver os experimentos.

As pesquisadoras Dra. Ana Maria Rauen de Oliveira Miguel, Dra. Maria Teresa Bertoldo Pacheco, Dra. Regina Prado Zanes Furlani, pela atenção, orientações e ajudas.

Aos pesquisadores Dr. Eduardo Vicente e Dr. Marcelo Antônio Morgano pelas orientações e ajudas.

Aos professores e coordenadores do curso de pós-graduação do Instituto de Tecnologia de Alimentos, pela construção de conhecimento e oportunidade.

Aos amigos Adriana, Aline, Beatriz, Carol Abballe, Esther, Fernanda, Heidy, Isinha, Josiane, Karen, Luana, Luís, Marcinha, Marília, Tainá, Táta.

À Fernanda M. L. Gomes, técnica do laboratório, pela amizade e auxílios.

A todos os que direta ou indiretamente contribuíram para que este trabalho fosse concluído.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo apoio financeiro.

## Resumo

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) são compostos formados a partir da queima incompleta de material orgânico e têm sido muito estudados devido ao potencial carcinogênico apresentado por alguns deles. A contaminação de óleos vegetais por HPAs é bastante comum e tem sido reportada como uma das maiores fontes de ingestão desses compostos, pela população, através da dieta. Os HPAs podem estar presentes em diferentes tipos de óleo vegetal, como soja, milho, girassol, canola, gergelim, bagaço de oliva, entre outros. O principal fator envolvido na contaminação desse tipo de produto é a etapa de secagem, tanto dos grãos quanto do bagaço de oliva. Sendo assim, o objetivo do presente trabalho foi coletar amostras de óleo de milho, óleo de girassol e óleo de canola disponíveis no comércio e analisar os produtos quanto à presença de 13 HPAs considerados carcinogênicos. Os níveis de HPAs nas amostras foram determinados através de cromatografia líquida de alta eficiência utilizando detector de fluorescência. A metodologia validada se mostrou adequada para a análise dos 13 HPAs em amostras de óleos de canola, girassol e milho. O criseno (Cry) foi o HPA analisado que teve o maior nível encontrado. Os níveis da somatória dos 13 HPAs variaram de 2,61 µg/kg a 38,10 µg/kg nas amostras de óleo de milho, não detectado a 30,97 µg/kg no óleo de canola e de 0,65 µg/kg a 17,88 µg/kg no óleo de girassol. Aproximadamente metade das amostras analisadas apresentou níveis de HPAs acima do limite estabelecido pela legislação europeia, demonstrando que há necessidade de estabelecimento de limites para esses compostos em óleos e gorduras para dessa forma minimizar a exposição da população a esses compostos carcinogênicos.

## **Abstract**

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are compounds formed during incomplete burning of organic material and have been extensively studied due to their carcinogenic potential. The contamination of vegetable oils by PAH is has been reported as one of the major sources of intake of these compounds by the population through diet. PAHs can be found in different types of vegetable oil, such as soy, corn, sunflower, canola, sesame, olive, among others. The main factor involved in the contamination of this type of product is the drying stage of the process. Therefore, the objective of the present study was to evaluate the presence of 13 carcinogenic PAHs in samples of corn, sunflower and canola oil. The PAH levels in the samples were determined by high performance liquid chromatography with fluorescence detector. The validated methodology was adequate for the analysis of the 13 PAHs in samples of canola, sunflower and corn oils. Chrysene (Cry) was the PAH with the highest level detected. The sum levels of the 13 PAHs ranged from 2.61 µg/kg to 38.10 µg/kg for corn oil, not detected to 30.97 µg/kg for canola oil and 0.65 µg/kg to 17.88 µg/kg for sunflower oil. Almost half of the analyzed samples had levels of PAHs above the limit established by European legislation, showing that there is need for Brazilian legeslation to regulate the levels of these compounds in oils and fats and thus minimize the exposure of the population to these carcinogenic compounds.

## Índice

Introdução Geral .....	1
Referências Bibliográficas .....	2
Objetivos .....	4
<b>Capítulo 1 – Revisão Bibliográfica .....</b>	<b>5</b>
1 Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos.....	7
1.1 Introdução .....	7
1.2 Características .....	8
1.3 Toxicidade/Metabolismo.....	8
1.4 Legislação .....	10
1.5 Presença em alimentos.....	10
2 Óleos vegetais .....	15
2.1 Tipos de óleos.....	15
2.2 Processamento convencional de óleos vegetais comestíveis.....	18
2.3 Consumo de óleos no Brasil .....	21
2.4 HPAs em óleos vegetais .....	22
3 Métodos Analíticos .....	23
3.1 Preparo da amostra.....	23
3.2 Determinação cromatográfica .....	25
4 Referências Bibliográficas .....	26
<b>Capítulo 2 - Avaliação da contaminação por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos de óleos vegetais comercializados no Brasil .....</b>	<b>35</b>
1 Introdução.....	38
2 Materiais e métodos.....	39
2.1 Materiais.....	39
2.1.1 Amostras .....	39
2.1.2 Padrões e reagentes .....	39
2.2 Método .....	39
2.2.1 Extração e limpeza .....	40
2.2.2 Análise cromatográfica .....	40
2.3 Validação da metodologia analítica.....	41

2.4	Análise Estatística .....	42
3	Resultados e discussão .....	42
4	Conclusões .....	50
5	Referências Bibliográficas .....	50

## Introdução

A contaminação de óleos vegetais por HPAs tem sido reportada como uma das maiores fontes de ingestão desses compostos, pela população, através da dieta (Toledo e Camargo, 1998; Moret e Conte, 2000; Teixeira et al., 2007; Camargo et al., 2011a). Existem poucos dados a respeito da contaminação de óleos vegetais comercializados no Brasil, sendo que os níveis reportados podem ser considerados altos se forem comparados com os limites estabelecidos pela Comunidade Européia. Os estudos realizados no país são, em sua maioria, antigos e avaliaram a presença de apenas um composto. Os únicos dados recentes e compreendendo análise de vários HPAs são referentes a amostras de óleo de soja estudadas por Camargo et al. (2011b). Devido ao potencial carcinogênico desses compostos, ao histórico de contaminação dos óleos vegetais e ao consumo regular desses produtos pela população brasileira, a presença de HPAs nessa classe de alimentos deve ser constantemente monitorada e avaliada.

Há algum tempo a necessidade de estabelecimento de limites para HPAs em alimentos tem sido manifestada por inúmeros países no âmbito do Codex Alimentarius, sendo este tema considerado prioritário dentro do Comitê do Codex para Aditivos Alimentares e Contaminantes (CCFAC). Em função da carcinogenicidade e genotoxicidade apresentada por esses compostos, não é possível assumir um limite mínimo para sua ingestão ou estabelecer uma ingestão semanal tolerável provisória (ISTP). Diante de avaliação feita pelo JECFA, o CCFAC recomendou que fossem elaboradas estratégias de modo a minimizar a contaminação de alimentos (WHO, 2005).

Para proteger a saúde pública e garantir a oferta de produtos seguros ao consumidor, é de extrema importância a realização de estudos que avaliem a presença de HPAs em alimentos e determinem a origem da contaminação, uma vez que a literatura científica carece de dados referentes à concentração conjunta de diferentes HPAs em amostras individuais de alimentos e bebidas de modo que uma avaliação precisa da exposição a esses compostos possa ser efetuada.

Frente ao exposto, a proposta do presente projeto é avaliar amostras de óleo de milho, óleo de girassol e óleo de canola de diferentes marcas e lotes e analisar os produtos quanto à presença dos 13 HPAs considerados carcinogênicos pelo JECFA.

Os níveis de HPAs determinados nas amostras serão comparados com os limites máximos permitidos estabelecidos para o benzo(a)pireno em óleo de bagaço de oliva pela legislação brasileira, assim como com aqueles estabelecidos para 4 HPAs em óleos e gorduras pela legislação da Comunidade Européia.

### **Referências bibliográficas**

Camargo, M.C.R.; Antonioli, P.R.; Vicente, E.; Tfouni, S.A.V. Polycyclic aromatic hydrocarbons in Brazilian soybean oils and dietary exposure. *Food Additives and Contaminants Part B*, 4 (2): 152-159, 2011a.

Camargo, M.C.R. Antonioli, P.R.; Vicente, E. HPLC-FLD simultaneous determination of 13 polycyclic aromatic hydrocarbons: validation of analytical procedure for soybean oils. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 22 (7): 1354-1361, 2011b.

Moret, S.; Conte, L.S. Polycyclic aromatic hydrocarbons in edible fats and oils: occurrence and analytical methods. *Journal of Chromatography A*, 882: 245-253, 2000.

Teixeira, V.H.; Casal, S.; Oliveira, M.B.P.P. PAHs content in sunflower, soybean and virgin olive oils: evaluation in commercial samples and during refining process. *Food Chemistry*, 104: 106-112, 2007.

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

WHO - World Health Organization. *Summary and conclusions of the sixty-fourth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*. Rome, 47p, 2005.

## Objetivos

Validar uma metodologia analítica para a determinação de 13 HPAs em óleos vegetais.

Analisar amostras de óleo de canola, girassol e milho quanto à presença dos 13 HPAs considerados carcinogênicos e genotóxicos pelo JECFA, a saber: benzo(a)antraceno, benzo(b)fluoranteno, benzo(j)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno, criseno, dibenzo(ah)antraceno, dibenzo(ae)pireno, dibenzo(ah)pireno, dibenzo(ai)pireno, dibenzo(al)pireno, indeno(1,2,3-cd)pireno e 5-metilcriseno. Os níveis de HPAs encontrados serão comparados com aqueles disponíveis na literatura e também com o limite estabelecido na legislação brasileira para benzo(a)pireno em óleo de bagaço de oliva, e os estabelecidos na legislação da Comunidade Européia para benzo(a)antraceno, criseno, benzo(b)fluoranteno e benzo(a)pireno em óleos e gorduras.

# Capítulo 1

---

Revisão Bibliográfica

# 1 HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS

## 1.1 Introdução

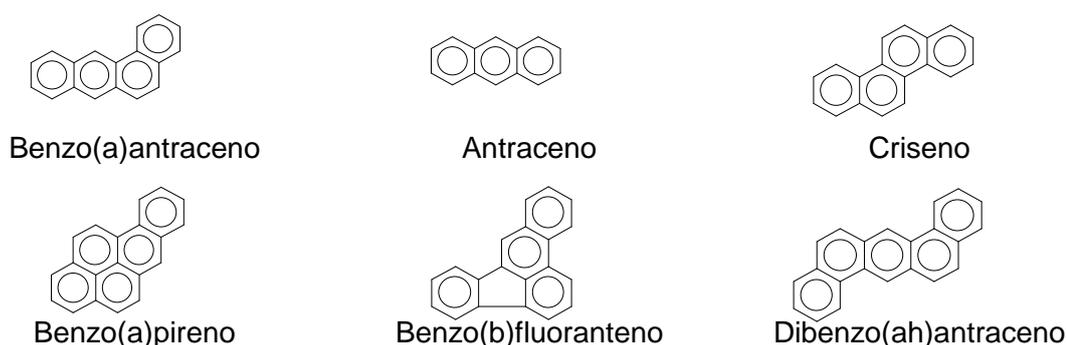
Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) constituem uma ampla classe de compostos formados a partir da queima incompleta de material orgânico, são considerados importantes contaminantes ambientais (WHO, 1998; WHO, 2005), e tem sido muito estudados devido ao potencial carcinogênico apresentado por alguns deles. As fontes geradoras de HPAs estão divididas em dois grupos de origem, as naturais derivadas da diagênese de precursores naturais, atividades magmáticas em fundo oceânico, emissões vulcânicas, erosão de sedimentos continentais, combustão espontânea da biomassa e incêndios florestais; e as fontes antropogênicas que são formadas pela queima de madeira, carvão, gás natural, derivados de petróleo, incineração de resíduos, produção de alumínio, ferro e aço entre outras, representando a principal forma de emissão de HPAs para a atmosfera (WHO, 1998; EFSA, 2008).

Os HPAs começaram a ser estudados em 1931 com o isolamento do benzo(a)pireno (BaP) de amostras de carvão. Anteriormente, no ano de 1922, foram publicados dados referentes aos riscos ocupacionais e ambientais dos HPAs após estudo demonstrar efeito carcinogênico em animais expostos a extratos orgânicos de fuligem. A partir destes estudos o BaP foi identificado em fuligem doméstica e posteriormente em material particulado ambiental, sendo caracterizado em 1970 como um agente cancerígeno de distribuição mundial (Caruso e Alaburda, 2008).

O consumo de alimentos é a maior forma de exposição da população não fumante aos HPAs (EFSA, 2008). A contaminação de alimentos por HPAs deve-se principalmente à poluição do ar e da água, à sua presença em solos terrestres e marinhos, e à sua formação durante o processamento de alimentos envolvendo defumação, torrefação e secagem direta com madeira (Bansal e Kim, 2015; Camargo et al., 2006; Jiang et al., 2015; WHO, 1998).

## 1.2 Características

Os HPAs são formados por dois ou mais anéis aromáticos fundidos, podendo ou não conter grupos substituintes ligados (*Figura 1*). Os HPAs são sólidos à temperatura ambiente e altamente lipofílicos, apresentando elevada solubilidade em solventes orgânicos e uma baixa solubilidade em água (Andelman e Suess, 1970; Fazio e Howard, 1983; WHO, 1998; Dabestani e Ivanov, 1999), sendo que cerca de 500 HPAs foram detectados no ar (EFSA, 2008).



**Figura 1** – Estruturas químicas de alguns HPAs

Durante o processo de formação dos HPAs, tanto a quantidade quanto a sua composição variam em função de fatores como as condições de reação, temperatura e quantidade de ar (Gomaa *et al.*, 1993; Caruso e Alaburda, 2008). O principal fator para a formação dos HPAs é o calor, sendo responsável pelo aumento linear da concentração desses compostos na faixa de temperatura de 400 a 1000°C. Acredita-se que a combustão envolva dois processos principais: a pirólise (decomposição dos compostos de alta massa molar em estruturas menores, a maioria radicais livres) e a pirossíntese (os compostos formados durante a pirólise se recombina para formar estruturas relativamente estáveis, entre elas os HPAs) (Park e Penning, 2009).

## 1.3 Toxicidade/Metabolismo

Os HPAs podem ser absorvidos pelo pulmão, trato gastro-intestinal ou pela pele. São substâncias potencialmente carcinogênicas que pertencem à classe dos pró-carcinogênicos, necessitando, portanto, de ativação metabólica para formar o carcinógeno ativo (IARC, 2010; EFSA, 2008). Nos últimos anos esses compostos passaram por várias avaliações toxicológicas e de segurança.

A IARC (Internacional Agency for Research on Cancer) classificou o HPA mais conhecido e estudado (benzo(a)pireno) no grupo 1, ou seja, como carcinogênico em humanos. Os HPAs dibenzo(a,h)anthracene e o dibenz(a,l)pireno foram classificados no grupo 2A, ou seja, prováveis carcinogênicos. O benzo(a)antraceno, benzo(b)fluoranteno, 5-metilcriseno, benzo(j)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, indeno(1,2,3-cd)pireno, dibenzo(ah)pireno, dibenzo(ai)pireno foram classificados como 2B, ou seja, possivelmente carcinogênicos. O dibenzo(ae)pireno foi classificado no grupo 3, sendo os compostos pertencentes a esse grupo não classificáveis quanto à sua carcinogenicidade para os seres humanos (IARC, 2010).

O JECFA (Comitê Conjunto FAO/OMS de Peritos em Aditivos Alimentares) durante sua 64ª reunião, realizada em 2005, avaliou o grupo dos HPAs e concluiu que 13 desses compostos são claramente carcinogênicos e genotóxicos: benzo(a)antraceno, benzo(b)fluoranteno, benzo(j)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno, criseno, dibenzo(ah)antraceno, dibenzo(ae)pireno, dibenzo(ah)pireno, dibenzo(ai)pireno, dibenzo(al)pireno, indeno(1,2,3-cd)pireno e 5-metilcriseno (WHO, 2005).

O painel de peritos em contaminantes da EFSA (European Food Safety Authority) revisou os dados disponíveis sobre ocorrência e toxicidade dos HPAs e concluiu que o benzo(a)pireno, que é tradicionalmente utilizado individualmente como marcador para a presença de HPAs em alimentos, não é adequado para esse fim, e que as somatórias de 4 HPAs (HPA4: benzo(a)pyrene, chrysene, benz(a)anthracene e benzo(b)fluoranthene) e 8 HPAs (HPA8: HPA4, benzo(k)fluoranthene, benzo(ghi)perylene, dibenz(a,h)anthracene e indeno(1,2,3-cd)pyrene) são os indicadores mais adequados para essa investigação, sendo que o HPA8 não agrega muito em comparação com o HPA4. (EFSA, 2008).

Além das avaliações toxicológicas, um total de 16 HPAs também está incluído em uma lista de poluentes prioritários regulamentada pela Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA). Os HPAs incluídos na lista são aqueles para os quais a Agência desenvolveu metodologias analíticas e são importantes para programas regulatórios de qualidade de água (EPA, 2014).

Uma vez absorvido pelo organismo, os HPAs passam por um processo de oxidação enzimática seguida de hidrólise com formação de diol-epóxidos que

é considerado um dos mecanismos de ativação mais aceito na literatura para bioativação dos HPAs carcinogênicos (Meire et al, 2007). O BaP é inicialmente oxidado pelo citocromo P450 (CYP) mono-oxigenases para vários epóxidos. O CYP1A1 pode metabolizar uma vasta gama de HPAs, mas foi demonstrado que outros CYPs, incluindo CYP1A2 e membros das famílias CYP1B, CYP2B, CYP2C e CYP3A da enzima catalisam a oxidação inicial do BaP e de outros HAPs em diferentes proporções. Os HPAs são indutores reconhecidos das enzimas CYP e a exposição a eles pode, por conseguinte, influenciar o equilíbrio das enzimas de fase I e II, que podem determinar se ocorre ou não uma resposta celular tóxica. Os genes de CYP de mamífero que codificam CYP1A1, 1A2 e 1B1 são regulados em parte pelo receptor de hidrocarboneto de arilo (AhR). As diferenças nas afinidades de AhR em ratinhos consanguíneos correlacionam-se com variações na indutibilidade do CYP e podem estar associadas a diferenças no risco de câncer causados por HPAs (IARC, 2010).

#### **1.4 Legislação**

No Brasil, a legislação vigente estabelece limites apenas para o benzo(a)pireno nas seguintes categorias de alimentos: aromatizantes/aromas de fumaça (0,03 µg/kg no alimento final), águas potáveis (0,7 µg/L) e óleo de bagaço ou caroço de oliva (2 µg/kg) (Brasil, 2003, 2004,2007).

A comissão da Comunidade Européia, em agosto de 2011, estabeleceu níveis máximos para benzo(a)pireno e para a soma de 4 HPAs (benzo(a)antraceno, criseno, benzo(b)fluoranteno e benzo(a)pireno) em alguns alimentos como: óleos e gorduras, carnes defumadas, moluscos bivalves e alimentos infantis a base de cereais. Na categoria de óleos e gorduras os limites estabelecidos foram de 2,0 µg/kg (para o benzo(a)pireno) e 10,0 µg/kg (para a somatória dos 4 HPAs) (CEC, 2011).

#### **1.5 Presença em alimentos**

Por serem contaminantes formados durante o processamento dos alimentos, os HPAs podem estar presentes em diversos grupos de alimentos.

## Alimentos infantis

O nível de contaminação das fórmulas para lactentes e das fórmulas de transição podem ser dependente tanto do nível de contaminação ambiental na área a partir da qual o leite foi colhido como das condições de secagem aplicadas. Quando os alimentos para bebês são produzidos a partir de matérias-primas frescas e posteriormente vaporizado e pasteurizado, a contaminação por HPAs pode ser também por resultado da contaminação ambiental de matérias-primas, especialmente vegetais (Ciecierska e Obiedziński, 2010).

Rey-Salgueiro et al. (2009) determinaram as concentrações de 11 HPAs em 19 amostras de formulações infantis e 17 amostras de cereais infantis coletados de supermercados. O benzo(k)fluoranteno foi encontrado em duas amostras, sendo uma de leite e uma de cereal, em níveis de 0,1 e 0,3 µg/kg respectivamente. Não foram detectados concentrações que excedessem os limites de benzo(a)pireno nas amostras analisadas (Rey-Salgueiro et al., 2009).

Outro estudo determinou a concentração de 19 HPAs em fórmulas para lactentes, fórmulas e transição e alimentos para bebês disponíveis comercialmente. A concentração total dos 19 HPAs variou de 0,28 a 7,45 µg/kg, sendo que o benzo(a)pireno foi detectado em apenas dois tipos de sopas com níveis muito inferiores ao limite máximo estabelecido no regulamento (CE) n. 1881/2006 de 1,0 µg/kg (Ciecierska e Obiedziński, 2010).

## Frutas e verduras

A dieta humana tem nos vegetais uma das principais fontes de contaminação por BaP, principalmente quando produzidas próximas de áreas com grande concentração de poluentes, pois os componentes particulados podem se depositar na superfície dos vegetais (Camargo e Toledo, 2002).

No estudo da contaminação por 10 HPAs em verduras e frutas da região de Campinas - SP, foi possível determinar o nível médio de ocorrência desses compostos em altas concentrações como em alface (13,53 µg/kg), tomate (9,50 µg/kg), repolho (8,86 µg/kg), maçã (4,05 µg/kg), uva (3,77 µg/kg) e pera (3,87 µg/kg), e esses resultados levaram a crer que a fonte de contaminação foi o tráfego de automóveis e a atividade industrial próxima as áreas de produção,

pois nas regiões afastadas esses níveis médios de HPAs eram mais baixos (Camargo e Toledo, 2003).

### Chás e café

No processo de secagem das folhas de chá usando a combustão de madeira pode haver a formação de grande quantidade de HPAs que se depositam no produto (Camargo e Toledo, 2002).

Uma investigação da ocorrência da 16 HPAs em erva mate teve como resultado níveis variando de 443 a 9001  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , sendo a etapa após secagem a que apresentou os maiores valores (Vieira et al., 2010).

Thea et al. (2016) analisaram chás de embalagens de marcas comerciais adquiridos em supermercados das cidades de Posadas e Buenos Aires (Argentina). Foram analisados 8 HPAs (HPA8: benzo(a)pireno, benzo(a)antraceno, criseno e benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, dibenzo(ah)antraceno, benzo(ghi)pirileno e indeno(1,2,3-cd)pireno) em infusões quentes e frias, tendo a soma do HPA8 variado de 371,2 a 2438,8  $\text{ng}/\text{L}$  e 19,2 a 937,3  $\text{ng}/\text{L}$  respectivamente (Thea et al., 2016).

Outro estudo realizado em Buenos Aires sobre a contaminação de chás (*Camellia sinensis*) avaliou a soma de 16 HPAs e verificou que os níveis estavam entre 509,7 e 2746,5  $\mu\text{g}/\text{kg}$  em massa seca (Londoño, 2015).

A presença de HPAs em café torrado se deve principalmente ao processo de torra. Estudo realizado por Tfouni et al. (2012) mostrou a presença de HPAs em café arábica e canephora após o processo de torra, com concentrações médias da soma de 13 HPAs aumentando de 0,086  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (café verde) para 0,172 a 0,498  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (café torrado). Outro estudo realizado com infusão de café cultivado na região de Campinas-SP, Brasil, relatou concentrações baixas, sendo a maior variação de 0,011 a 0,111  $\mu\text{g}/\text{kg}$  em infusões de *Coffea canephora* (Tfouni et al., 2013).

## Pão torrado

Estudo realizado na Espanha mostrou que o material utilizado durante o processamento de torra do pão pode contribuir para a contaminação por HPAs, sendo que os pães torrados direto no fogo e em carvão apresentaram concentrações de 7 dos 11 HPAs pesquisados acima de 350 µg/kg e os pães torrados em fornos elétricos e torradeiras não apresentaram contaminação (Rey-Salgueiro et al., 2008).

## Açúcar

Estudo realizado no Brasil de estudo de HPAs em amostras de açúcares refinados produzidos no período da queima da palha da cana, o que resultou em contaminação ambiental e das amostras, sendo detectadas concentrações de 5 dos 10 HPAs pesquisados onde a variação foi de 0,09 a 9,29 µg/kg (Camargo e Toledo, 2002).

Anos mais tarde, após a regulamentação da queima da palha da cana, foram avaliadas as concentrações de 5 HPAs em amostras de açúcar de cana comercializado no Brasil, onde a variação foi de não detectado a 1,35 µg/kg (Tfouni e Toledo, 2007).

## Óleos vegetais

Existem muitos estudos sobre a ocorrência de HPAs em óleos vegetais.

A presença de 13 HPAs foi avaliada, em amostras de óleos de soja coletadas na região de Caminas-SP, e os resultados para a soma dos 13 HPAs variou de 10,4 a 112,0 µg/kg (Camargo et al., 2011a).

Na Polônia, um estudo verificou a presença de 19 HPAs em óleos extraídos através de prensagem de fontes não convencionais como sementes de amaranto, linhaça, linho comum, camelina, abóbora, sésamo, papoula, mostarda, açafraão, sementes pretas, borragem, primula e noz; sendo que a soma das concentrações dos HPAs variaram de 23,4 a 234,3 µg/kg nas amostras de óleos de semente de papoula e abóbora respectivamente (Ciecierska e Obiedziński, 2013).

Em Shandong (China), foram analisadas 242 amostras de óleos comestíveis quanto a presença de 15 HPAs e foram observadas concentrações médias de 54,37 µg/kg da soma desses compostos e o BaP com média de 1,28 µg/kg, menor que os limites estabelecidos pela União Europeia e China (JIANG et al., 2015).

#### Grelhados e defumados

Um estudo realizado na Dinamarca analisou 24 HPAs em 203 amostras comerciais de churrasco incluindo carnes bovina, suína, frango, salmão e cordeiro; e verificou que a concentração da somatória de 4 HPAs (benzo(a)pireno, benzo(a)antraceno, criseno e benzo(b)fluoranteno) foi maior no lombo de porco (195 µg/kg) e menor no peito de frango (0,1 µg/kg). Esse estudo também fez a análise de 15 amostras de churrasco feitos com controle da temperatura de cocção, e as concentrações encontradas para a soma dos 4 HPAs foram menores que 0,1 µg/kg (Duedahl-Olesen et al., 2015).

Outro estudo investigou a presença de 16 HPAs em vários alimentos grelhados e defumados de estabelecimentos comerciais e restaurantes do Estado do Kuwait e verificou que as amostras apresentaram concentrações médias de BaP de 2,48 µg/kg, sendo esse valor maior do que o limite estabelecido pela União Européia (Alomirah et al., 2011).

#### Alimentos de origem marinha

Outra grande preocupação é a contaminação de produtos de origem marinha, pois a contínua presença desses contaminantes no meio ambiente é consequência direta de sua baixa solubilidade em água e de sua associação à matéria orgânica de solos e sedimentos, fonte alimentar para inúmeros organismos, ocasionando a incorporação dessas substâncias em diversos níveis da cadeia alimentar (Bobeda et al., 2013).

## 2 ÓLEOS VEGETAIS

No ano de 2005, havia no Brasil 52 unidades industriais de refino de óleo vegetal, em 2010 esse número subiu para 63 unidades e em 2015 chegou a 64 unidades com uma capacidade de processamento de 137.098 ton/dia, 176.834 ton/dia e 187.304 ton/dia respectivamente.

Óleos e gorduras têm um papel fundamental na alimentação humana. Além de fornecerem calorias (9kcal/g), agem como veículo para as vitaminas lipossolúveis, como A, D, E e K1, são fontes de ácidos graxos essenciais como o linoleico (ômega 6), linolênico (ômega 3) e araquidônico, sendo este último precursor de moduladores celulares como prostaglandinas, tromboxano e leucotrienos; e contribuem para a palatabilidade dos alimentos (Gioielli, 1996; Castro et al., 2004; SBC, 2013).

### 2.1 Tipos de óleos

Os óleos vegetais podem ser obtidos a partir de alguns grãos, das polpas de certos frutos e dos germes de alguns cereais, sendo que as principais fontes são: coco, algodão, palma (ou dendê), azeitona, amendoim, soja, girassol, milho e canola (Dorsa, 2004).

Por possuírem elevado teor de gorduras poliinsaturadas como apresentado na tabela 1, os óleos de girassol e canola atuam na prevenção de doenças cardiovasculares. Tais óleos são considerados altamente salutares, e juntamente com o de milho, alguns autores os classificam como óleos especiais (Freitas et. al, 1998; SBC, 2013).

Na realidade, os ácidos graxos poliinsaturados produzem efeitos especiais no organismo vivo e são denominados ácidos graxos essenciais. Estes ácidos graxos não podem ser sintetizados pelo organismo humano e, desta forma, devem ser obtidos através da dieta uma vez que são essenciais à vida. Estão incluídos entre os ácidos graxos essenciais os ácidos linoléico ( $\omega 6$ ) e  $\alpha$ -linolênico ( $\omega 3$ ) (Dossiê óleos, 2014).

Tabela 1. Teor de ácidos graxos em óleos vegetais.

Óleos	Ácidos graxos Saturados	Ácidos graxos Monoinaturados	Ácidos graxos poliinaturados	
			linoléico	linolênico
Canola	6%	58%	26%	10%
Girassol	11%	2%	69%	----
Milho	13%	25%	61%	1%
Oliva	14%	77%	8%	< 1%
Soja	15%	24%	54%	7%

Fonte: Dossiê óleos, 2014.

Segundo o regulamento técnico de identidade e qualidade de óleos vegetais refinados (IN 49/2006), considera-se óleo de canola o óleo refinado obtido de sementes das espécies *Brassica campestris L.*, *Brassica napus L.* e *Brassica juncea L.*, de girassol o óleo refinado obtido de sementes da espécie *Helianthus annuus L.* e óleo de milho o óleo refinado obtido do germe dos grãos da espécie *Zea mays L.*, e todos devem ser obtidos por meio de processos tecnológicos adequados (Brasil,2006).

Óleo de canola:

A canola é uma variedade da colza (*Brassica napus*, *B. campestris*) desenvolvida no Canadá e que apresenta um baixo teor de ácido erúxico, característico desta planta e que a torna imprópria ao consumo como alimento quando presente em altas quantidades (Dorsa, 2004; Dossiê óleos, 2014). Para fins comestíveis a presença do ácido erúxico não deve superar 2%, enquanto que na semente da colza o teor de erúxico atinge 50% (Dorsa, 2004). Testes biológicos em animais revelaram o potencial de dano ao coração de humanos pelo consumo de óleo com alto conteúdo desse ácido graxo. Por esse motivo foram então desenvolvidas variedades de colza com teores mais baixos de ácido erúxico e glucosinolatos (O'Brien 2009).

O óleo de canola apresenta em sua composição típica, 40% de óleo na semente e seu farelo tem um teor de 34% de proteína (Dorsa, 2004). Esse óleo contém o mais baixo teor de gorduras saturadas (7%) em comparação com os outros óleos refinados, além de ter teores de gorduras monoinsaturadas de 61% e o de poli-insaturadas de 32% (O'Brien, 2009; DOSSIE ÓLEOS, 2014).

Óleo de girassol:

O girassol (*Helianthus annuus*) é uma planta nativa da vasta região entre o Peru e o México. Planta herbácea anual da família das compostas, a mesma da margarida e da zínia, sendo dotada de um caule fino e ereto que ultrapassa com frequência os três metros de altura. O grande disco comumente chamado de flor, pode passar de vinte centímetros de diâmetro e é considerado pelos botânicos como um capítulo, sendo um tipo de inflorescência característico das compostas, constituído pelo grupamento de flores sem haste de sustentação que se inserem sobre um receptáculo único. As flores de coloração amarela, são estéreis na periferia e férteis no centro, e produzem aquênios (frutos secos), de sementes comestíveis, muito usadas na alimentação de pássaros (Dorsa, 2004).

O óleo de girassol é extraído das sementes (Dorsa, 2004). Apresenta baixo teor de gorduras saturadas (10%); aproxima-se do milho quanto ao teor de gorduras monoinsaturadas (24%), sendo o que possui maior teor de gorduras poliinsaturadas (66%). Este teor, em sua quase totalidade, é constituído pelo ácido linoléico, o qual, embora essencial ao desempenho das funções fisiológicas do organismo humano, não é sintetizado pelo mesmo. O óleo de girassol é indicado, sobretudo, para fritura, pois, por não ter cheiro, não altera o sabor dos alimentos (DOSSIE ÓLEOS, 2014). Outra característica importante é que este óleo é uma excelente fonte de vitamina E (Jorge, 2009).

Óleo de milho:

O milho (*Zea may L.*) é uma planta pertencente à família das gramíneas e nativa das Américas do Norte e do Sul (O'Brien, 2009).

O óleo de milho é obtido do germe removido durante o processamento do milho para a fabricação do amido (Dorsa, 2004). O gérmen representa 9% do grão e contém cerca de 83% do total de lipídios (Jorge, 2009). O teor de ácidos graxos saturados presente no óleo de milho é relativamente baixo (13%), tendo um bom percentual de gorduras monoinsaturadas (25%) e poliinsaturadas (62%). Os principais ácidos graxos que compõem o óleo de milho são: ácido linoléico (34 – 62%), ácido oléico (24 – 42%), ácido palmítico (9 – 14%), ácido esteárico (0,5 – 4%) e ácido linolênico (< 2%) (Jorge, 2009). O óleo de milho é

conhecido pela sua excelente estabilidade oxidativa. No gérmen encontram-se concentrados os tocoferóis, dos quais alfa-tocoferol é o mais prevalente. Estas substâncias são fontes de vitamina E e potentes antioxidantes possuindo importantes funções fisiológicas para o organismo humano (Paes, 2008).

## **2.2 Processamento convencional de óleos vegetais comestíveis**

A Instrução Normativa número 49 de 22 de dezembro de 2006 define o processamento de óleos dividido em duas etapas: o processo de extração como sendo o processo aplicado à matéria-prima para extrair o óleo, e o refino como sendo as etapas de tratamento do óleo bruto (produto da extração) que incluem degomagem, neutralização, clarificação e desodorização para tornar o óleo comestível (Brasil, 2006).

Porém a produção de óleos vegetais a partir de grãos (sementes) envolve as seguintes etapas de processamento: secagem dos grãos, armazenamento, preparo da matéria-prima (que pode envolver: limpeza, decorticação, trituração e cozimento), extração do óleo (que pode ser feita por prensagem mecânica ou com solventes) e refino (que inclui as etapas de degomagem, neutralização, clarificação e desodorização) (Castro, 2004).

Essas etapas podem ser executadas em unidades fabris conjugadas ou independentes, dependendo somente de aspectos econômicos relativos às fontes de matéria-prima e dos centros consumidores (Dorsa, 2004).

Colheita, recebimento, secagem e estocagem.

Cada tipo de planta tem um tempo ótimo para colheita das sementes, mas fatores como clima, tempo, doenças, insetos, aves ou mamíferos predatórios podem exigir que a semente seja coletada em menos tempo que o ideal (McCormack, 2004). Nesses casos, o produto a ser trabalhado no ano é recebido e armazenado durante um curto período de tempo (Dorsa, 2004).

A primeira etapa do processo é a pré-limpeza da matéria-prima, pois materiais estranhos reduzem o rendimento de óleo, afeta negativamente a qualidade do óleo e aumenta o desgaste e os danos ao equipamento de processamento (O'Brien, 2009; Dorsa, 2004). Os pedaços de ramos, folhas, palhas, torrões, poeira e etc são componentes típicos do material estranho

encontrado nos grãos (Silva, 2008). A pré-limpeza é feita nas peneiras gravitacionais (por diferença de peso) e nas peneiras classificadoras (por diferença de tamanho) (Dorsa, 2004).

Para manter o produto sem deterioração, o mesmo passa por um processo de secagem até atingir uma umidade máxima de 12%, podendo assim seguir para a estocagem ou ir para a extração e refino (Dorsa, 2004). A secagem permite antecipar a colheita, minimiza a perda do produto no campo, permite armazenagem por períodos longos e sem o perigo de deterioração do produto, mantém o poder germinativo por longos períodos e impede o desenvolvimento de microrganismos e insetos (Silva, 2008).

A secagem forçada dos grãos utilizam aparelhos que apresentam um sistema de aquecimento do ar que pode ser composto de fornalhas a lenha, queimadores de gás, ventiladores que compõem o sistema de movimentação e insuflação de ar. É um processo que consiste na passagem forçada de ar e ocorre por um período de tempo dependendo das condições desejadas (Silva et al., 2015).

#### Extração:

As matérias primas devem ser preparadas para a extração com o objetivo de facilitar a extração. Para isso é necessário passar o material por quebradores e trituradores, seguindo para o descascamento. A laminação é realizada por um par de rolos cilíndricos deixando os grãos bem finos e prontos para o cozimento, que promove uma ruptura adicional nas sementes por meio do calor úmido, do vapor direto ou do indireto. A temperatura de cozimento varia de acordo com a semente a ser processada. Antes de ser submetido ao processo de prensas contínuas, o material cozido deve ser secado (O'Brien, 2009).

No caso do milho, canola e girassol que apresentam elevado teor de óleo, a extração pode ser realizada por uma pré-prensagem seguida de extração por solvente. (Navarro e Rodrigues 2014; Antoniassi e Freitas, 2016a). A extração do óleo propriamente dita é um passo simples, sendo um processo de lixiviar o óleo para fora da massa ou floco contendo o solvente, geralmente o hexano (O'Brien, 2009). Para melhor efeito da extração, o hexano segue contra a corrente do material, assim o material sai do extrator sendo lavado com o hexano puro. Dessa forma, o farelo que sobra não contém mais que 1% de óleo

(Gioielli, 1996). O solvente contendo o óleo passa por evaporadores tubulares verticais aquecidos a vapor com o intuito de separar o óleo do hexano seguindo por condensadores tubulares resfriados à água, que tem a função de recuperar o hexano (Dorsa 2004). De maneira geral, os óleos brutos obtidos por extração por solventes são submetidos a processo de refino (Antoniassi e Freitas, 2016b).

Refino:

O primeiro passo do refino é a degomagem, que simplificada é o processo utilizado para remover os fosfatídeos ou gomas do óleo bruto. Essa etapa deve ser realizada para promover maior estabilidade do óleo, uma vez que os fosfatídeos também estão ligados com parte dos metais existentes no óleo bruto. Assim o óleo degomado pode ser estocado por longos períodos e facilita o refino alcalino ou físico (Dorsa, 2004).

O segundo passo do refino é a neutralização alcalina do óleo vegetal, que consiste na reação dos ácidos graxos livres responsáveis pela acidez do óleo, com uma solução de soda cáustica. Estes ácidos graxos serão então transformados em sabões que serão removidos do óleo neutro por processo físico feito em separadores centrífugos e de forma contínua (Dorsa, 2004; O'Brien, 2009). Para reduzir o conteúdo dos sabões residuais do óleo, é realizada uma lavagem com água (Dorsa, 2004).

A clarificação, também chamada de Branqueamento, é o terceiro passo do processo de refino dos óleos. De forma resumida, as funções do branqueamento são a redução dos níveis de pigmentos (cor), produtos de oxidação, fosfatídeos, sabões e traços de metais realizada através da adsorção destes na superfície de uma mistura de carvão ativado e de argilas naturais conhecidas como terra clarificante (Dorsa, 2004; O'Brien, 2009; Ramalho e Suarez, 2013).

A última etapa do processo de refino é chamada desodorização, que tem como finalidade a remoção de substâncias que dão ao produto odor desagradável. Essa etapa também melhora o sabor, cor e a estabilidade do produto, além de remover produtos indesejados como cetonas, aldeídos, álcoois, ácidos graxos livres de baixo peso molecular (Dorsa, 2004). Neste processo, conhecido como arraste a vapor, o óleo passa em contracorrente com vapor de

água. Durante este contato, o vapor retira as substâncias que conferem odor ao óleo (Ramalho & Suarez, 2013).

### 2.3 Consumo de óleos no Brasil

No Brasil, os principais óleos vegetais adquiridos para uso doméstico são os de soja, milho, girassol e canola, além do azeite de oliva, obtido a partir do fruto de azeitona (IBGE, 2010).

Segundo a última Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) 2008 – 2009, sobre a aquisição per capita anual de óleos, por grandes regiões do Brasil, houve maior consumo nas regiões centro-oeste e sul, com mais de 8 kg por pessoa ao ano. As regiões sudeste e norte apresentaram números um pouco menores, ao redor de 7 kg por habitante. A região onde os óleos foram menos adquiridos foi o Nordeste, com cerca de 64% da quantidade adquirida pela região que mais consumiu, conforme mostra a tabela 2 (IBGE, 2010).

Tabela 2 - Aquisição alimentar domiciliar per capita anual de óleos e gorduras, por Grandes Regiões - Brasil - período 2008-2009

Grupo de produtos	Aquisição alimentar domiciliar per capita anual (kg)					
	Brasil	Grandes Regiões				
		Norte	Nordeste	Sudeste	Sul	Centro-Oeste
Óleos	7,104	7,126	5,503	7,555	8,137	8,622
Azeite de oliva	0,178	0,081	0,063	0,293	0,151	0,124
Óleo de girassol	0,141	0,154	0,058	0,166	0,215	0,155
Óleo de canola	0,064	0,01	0,01	0,098	0,11	0,053
Óleo de milho	0,126	0,059	0,082	0,166	0,174	0,036
Óleo de soja	6,342	6,561	5,054	6,688	6,849	8,082
Óleo não especificado	0,117	0,209	0,133	0,082	0,126	0,143
Outros	0,136	0,053	0,103	0,062	0,512	0,03

Fonte: IBGE, Diretoria de Pesquisas, Coordenação de Trabalho e Rendimento, Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009.

Nota: As quantidades de produtos adquiridos na forma líquida foram transformadas em kg, considerando-se volume igual a peso.

## 2.4 HPAs em óleos vegetais

A contaminação de óleos vegetais por HPAs é muito comum e tem sido muito estudada ao longo dos anos, sendo reportada como uma das maiores fontes de ingestão desses compostos, pela população, através da dieta (Toledo e Camargo, 1998; Moret e Conte, 2000; Teixeira *et al.*, 2007; Jiang *et al.*, 2015). Os HPAs podem estar presentes, e têm tido seus níveis reportados, em diferentes tipos de óleo vegetal, como soja, milho, girassol, gergelim, bagaço de oliva, entre outros. Essa contaminação pode ocorrer de diferentes formas, porém, o principal fator envolvido é a etapa de secagem dos grãos ou do bagaço (Camargo e Toledo, 1998; Moret e Conte, 2000; Camargo e Toledo, 2002; Camargo *et al.*, 2012). Nessa etapa do processo tecnológico pode haver a formação seguida de contaminação dos produtos a serem secos com a utilização de madeira (WHO,1998). Tal fato é ocasionado pelo contato do produto da combustão com os grãos ou seus óleos (Abdel-Shafy e Mansour, 2016).

Estudos realizados apresentam níveis de HPAs em diversos tipos de óleos vegetais. Fromberg *et al.* (2007) analisaram amostras de diferentes tipos de óleos vegetais (como girassol, gergelim, canola e semente de uva) provenientes de diversos países europeus, e reportaram níveis médios de benzo(a)pireno variando de 0,12 a 11  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Pandey *et al.* (2004), por sua vez, analisaram 296 amostras de diferentes óleos vegetais provenientes da Índia quanto à presença de 10 HPAs, e como resultado 88,5% das amostras estavam contaminadas com ao menos um dos HPAs estudados. Teixeira *et al.* (2007) analisaram 15 HPAs em óleos de soja e girassol comercializados em Portugal. As amostras apresentaram níveis da somatória dos compostos variando de 8,78 a 10,81  $\mu\text{g}/\text{kg}$ .

No óleo de bagaço de oliva, por sua vez, Ballesteros *et al.* (2006) avaliaram a presença de 4 HPAs em produtos provenientes de uma região da Espanha e encontraram valores individuais que variaram de 0,5 a 88,7  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Sendo que León-Camacho *et al.* (2003) já reportaram níveis de benzo(a)pireno de até 400  $\mu\text{g}/\text{kg}$  em óleo de bagaço de oliva.

No Brasil, Toledo e Camargo (1998) avaliaram os níveis de benzo(a)pireno em amostras de óleos de milho produzidos no país e reportaram valores variando de não detectado a 25,17  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Pupin e Toledo (1996) avaliaram os níveis de benzo(a)pireno em óleos de milho, canola e girassol e

encontraram valores de até 58,9 µg/kg. Em estudo recente, Camargo *et al.* (2011a) avaliaram a presença de 13 HPAs em amostras de óleo de soja comercializadas no Brasil. Como resultado, foram detectados, para a somatória dos 13 HPAs, níveis de até 122,3 µg/kg. O estudo também mostrou uma grande variação nos níveis de HPAs entre as diferentes marcas analisadas, entre diferentes lotes de uma mesma marca, assim como, entre diferentes anos (safras) de coleta das amostras.

Camargo et al (2012) realizaram um estudo onde foi avaliada a influência do processo de refino na diminuição dos níveis de 13 HPAs em óleos de soja. As análises realizadas nos produtos intermediários (após etapas de neutralização, clarificação e desodorização) mostraram que os níveis de todos os compostos diminuíram após o processo de refino do óleo de soja. As etapas que mais contribuíram para a redução foram a neutralização e a desodorização. Os autores concluíram que um programa de monitoramento nas indústrias de refino de óleo seria altamente recomendável (Camargo et al, 2012).

### **3 Métodos analíticos**

Existem diversos métodos para análises de HPAs em alimentos e estes usualmente envolvem etapas de saponificação, extração com solventes, limpeza (clean up) e determinações cromatográficas.

#### **3.1 Preparo da amostra**

A preparação da amostra tem sido utilizada desde os primeiros tempos da química como um processo necessário para a adequação de amostras para torná-las passíveis de análise. Durante muito tempo a química analítica dependia fortemente da preparação da amostra para possibilitar as medições. Com o tempo, os avanços tecnológicos permitiram a substituição das antigas análises químicas por modernas técnicas instrumentais analíticas que são mais simples e requerem um processamento menos laborioso da amostra. Uma dessas técnicas instrumentais é a cromatografia que embora visasse reduzir a

preparação da amostra incorporando uma separação poderosa dos compostos, a preparação da amostra é ainda necessária (Moldoveanu, 2004).

Nos dias atuais, as 10 preparações de amostras mais usadas em técnicas cromatográficas nos setores da biotecnologia, saúde (incluindo os produtos farmacêuticos), bioenergia e ciência dos alimentos são: pesagem, diluição, filtração, centrifugação, ajuste de pH, extração líquido-líquido, turbilhonamento, evaporação, ondas sonoras e cromatografia em coluna (Raynie, 2016).

A eficiência de extração dos HPAs depende da polaridade do solvente, da natureza da matriz e da preparação da amostra. As taxas de recuperação dos HPAs pode ser elevada quando as amostras são totalmente solúveis nos solventes orgânicos utilizados para a extração (Stolyhwo e Sikorski, 2005).

Os procedimentos de extração dos HPAs em amostras descritos na literatura envolvem, em geral, as etapas de extração com solventes (soxhlet, banho de ultrassom, extração assistida por micro-ondas ou com solventes pressurizados –ASE), concentração do extrato em rota evaporador concomitante com leve fluxo de nitrogênio e dissolução do extrato seco em solvente apropriado (Cristale et al., 2008).

A extração líquido-líquido (ELL) ainda é uma das práticas mais utilizadas para extração dos HPAs das matrizes alimentares. Entretanto, o método é bastante trabalhoso e demanda diversas etapas, intensa manipulação das amostras pelos analistas e um alto custo pelo excessivo volume de solventes (Caruso e Alaburda, 2008). Visando a redução de grandes quantidades de solventes tóxicos, o formato miniaturizado da ELL denominado microextração em fase líquida (MEFL) aparece como uma alternativa aos protocolos tradicionais de preparação de amostras (González-Curbelo, 2013).

A extração em fase sólida (EFS) tem se mostrado uma ferramenta útil, nos últimos anos, na extração dos HPAs em alimentos e em bebidas em virtude da praticidade, reduzido tempo de análise e menor custo devido aos baixos volumes de solvente empregados. Sua maior aplicação, ainda, está relacionada à etapa de purificação dos extratos obtidos por ELL, ultrassom ou por outros métodos. A fase estacionária comumente usada para a limpeza é a sílica gel. A aplicação de ultrassom (US) para extração de HPAs foi uma das alternativas empregadas por alguns pesquisadores em substituição à ELL, e a técnica

consiste no banho de US com a amostra em solvente como hexano ou ciclohexano. Dependendo da matriz, podem ser usados outros solventes como o éter etílico, diclorometano, diclorometano/acetona ou clorofórmio (Caruso e Alaburda, 2008).

São poucos os trabalhos onde são citados os usos de extrator de Soxhlet, extração acelerada com solvente (EAS) e com fluido supercrítico para análise de HPAs em água e alimentos, porém também são técnicas empregadas na extração (Caruso e Alaburda, 2008; IARC, 2010).

### **3.2 Determinação cromatográfica**

Os primeiros métodos de quantificação de HPAs, utilizavam espectrofotometria na região eletromagnética do ultravioleta das frações de HPAs extraídas por partição e separadas por cromatografia em papel e camada delgada. A identificação dos compostos era feita por comparação dos espectros de fluorescência e de ultravioleta dos extratos com os obtidos a partir das soluções padrão (Caruso e Alaburda, 2008).

A partir de 1970, a quantificação de BaP e outros HPAs começou a ser realizada por cromatografia a gás (CG) com detector de ionização de chama (DIC). Esta técnica continua sendo empregada, porém atualmente se utiliza, preferencialmente, o detector de massas (MS). Boas separações podem ser obtidas com colunas capilares de sílica fundida, o que permite a análise de misturas bastante complexas de HPAs. As fases estacionárias mais empregadas neste tipo de análise são as de metilpolisiloxanas (Caruso e Alaburda, 2008).

Os primeiros trabalhos empregando a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) foram publicados no final da década de 70 e, atualmente, tem sido a técnica mais utilizada para a análise de HPAs e BaP em alimentos. O uso da CLAE permitiu o desenvolvimento de métodos mais sensíveis, podendo-se obter limites de detecção e de quantificação inferiores a 1 ppb (Caruso e Alaburda, 2008; IARC, 2010). A CLAE é adequada para a análise de compostos com pesos moleculares e pontos de ebulição mais elevados e, por conseguinte, tem sido amplamente utilizada para análise de HPAs. Para análise de HPAs, os detectores mais usados acoplados à CLAE são o ultravioleta (UV) e o fluorescência (FLD). O detector FLD tem as características de alta sensibilidade,

alta resolução e baixa detecção, portanto o CLAE-FLD tem maior sensibilidade para a determinação de HPAs exibindo efeitos fluorescentes, mas os compostos são identificados apenas pelo seu tempo de retenção (Huang et. al, 2013).

O CLAE pode ser acoplado ao detector de massas, que fornece a identificação do composto por meio da determinação da massa molecular. Esse acoplamento de técnicas entre a CLAE com o detector de massas quadrupolo (MS/MS), faz com que uma ampla gama de substâncias em matrizes biológicas complexas possam ser quantificadas em níveis baixos e com alta especificidade (Rey-Salgueiro et al., 2009).

#### 4 Referências bibliográficas

Abdel-Shafy, H. I.; Mansour, M. S. M. A review on polycyclic aromatic hydrocarbons: Source, environmental impact, effect on human health and remediation. *Egyptian Journal of Petroleum*, 25, 1, 107-123, 2016.

ABIOVE, Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais. Estatística. Disponível em:  
<<http://www.abiove.org.br/site/index.php?page=estatistica&area=NC0yLTE=>>.  
Acesso em: 12/12/2016

Alomirah, H.; Al-Zenki, S.; Al-Hooti, S.; Zaghoul, S.; Sawaya, W.; Ahmed, N. & Kannan, K. Concentrations and dietary exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) from grilled and smoked foods. *Food Control*, 22: 2028-2035, 2011.

Andelman, J. B.; Suess, M. J. Polynuclear aromatic hydrocarbons in the water environment. *Bulletin World Health Organization*, 43: 479-508, 1970.

Antoniassi, R.; Freitas, S. C. Processamento. *Agência Embrapa de Informação Tecnológica* Disponível em:  
<[http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/tecnologia\\_de\\_alimentos/arvore/CONT000gc8yujq302wx5ok01dx9lcx1g7v3u.html](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/tecnologia_de_alimentos/arvore/CONT000gc8yujq302wx5ok01dx9lcx1g7v3u.html)>. Acesso em: 14/12/2016 a.

Antoniassi, R.; Freitas, S. C. Refino. *Agência Embrapa de Informação Tecnológica*. Disponível em: <[http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/tecnologia\\_de\\_alimentos/arvore/CONT000gc8yujq302wx5ok01dx9lcjsc206v.html](http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/tecnologia_de_alimentos/arvore/CONT000gc8yujq302wx5ok01dx9lcjsc206v.html)>. Acesso em: 17/12/2016 b.

Ballesteros, E.; García Sánchez, A.; Ramos Martos, N. Simultaneous multidetermination of residues of pesticides in olive and olive-pomace oils by gas chromatography/tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1111: 89-96, 2006.

Brasil. *Resolução RDC nº 281*, de 06 de outubro de 2003.

Brasil. *Portaria nº 518* de 25 de março de 2004.

Brasil. *Instrução Normativa n. 49*, de 22 de dezembro de 2006.

Brasil. *Resolução RDC nº 2*, publicada no Diário Oficial da União, 17 de janeiro, 2007.

Camargo, M.C.R.; Toledo, M.C.F. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos – uma revisão. *Boletim SBCTA*, 36 (1): 69-78, 2002.

Camargo, M.C.R. & Toledo, M.C.F. Polycyclic aromatic hydrocarbons in Brazilian vegetables and fruits. *Food Control*, 14: 49-53, 2003.

Camargo, M.C.R.; Antonioli, P.R.; Vicente, E.; Tfouni, S.A.V. Polycyclic aromatic hydrocarbons in Brazilian soybean oils and dietary exposure. *Food Additives and Contaminants Part B*, 4 (2): 152-159, 2011a.

Camargo, M.C.R. Antonioli, P.R.; Vicente, E. HPLC-FLD simultaneous determination of 13 polycyclic aromatic hydrocarbons: validation of analytical procedure for soybean oils. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 22 (7): 1354-1361, 2011b.

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.

CEC – The Commission of the European Communities. Commission Regulation (EC) No 835/2011 of 19 August 2011 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels for polycyclic aromatic hydrocarbons in foodstuffs. *Official Journal of European Union*, 20.8.2011.

Caruso, M. S. F.; Alaburda J. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos - benzo(a)pireno: uma revisão. *Revista Instituto Adolfo Lutz*, 67, 1-27, 2008.

Castro, H. F. D.; Mendes, A. A.; Santos, J. C. D. Modificação de óleos e gorduras por biotransformação. *Quimica Nova*, 27, 1, 146-156, 2004.

Castro, H., F. Processos Químicos Industriais II, Apostila 5 óleos e gorduras UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO. Escola de Engenharia de Lorena – EEL, 2014. Disponível em: <<http://sistemas.eel.usp.br/docentes/arquivos/5840855/LOQ4023/Apostila5TecnologiaDeOleoseGorduras.pdf>>. Acesso em: 12/12/2016.

Ciecierska, M.; Obiedziński, M. W. Polycyclic aromatic hydrocarbons in infant formulae, follow-on formulae and baby foods available in the Polish Market. *Food Control*. 21, 1166 – 1172, 2010.

Ciecierska, M.; Obiedziński, M. W. Polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetable oils from unconventional sources. *Food Control*. 30, 556 – 562, 2013.

Dabestani, R.; Ivanov, I.N. Invited review – A compilation of physical, spectroscopic and photophysical properties of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Photochemistry and Photobiology*, 70 (1): 10-34, 1999.

Dorsa, R. Tecnologia de vegetais. Campinas: Ideal. 464p. 2004

Dossiê óleos: Óleos. *Food Ingredients Brasil*. São Paulo: Insumos. 16, 31, 38-43, 2014. Disponível em: <<http://www.revista-fi.com/materias/416.pdf>>. Acesso em: 12/12/2016.

EFSA – European Food Safety Authority. Polycyclic aromatic hydrocarbons in food, Scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain. *The EFSA Journal*, 724: 1-114, 2008.

EPA – United States Environmental Protection Agency. 2014. Priority pollutants. <http://water.epa.gov/scitech/methods/cwa/pollutants.cfm> (acesso em 22 de maio de 2014).

Fazio, T.; Howard, J. W. Polycyclic aromatic hydrocarbons in foods. In: Bjorseth, A. (Ed) *Handbook of polycyclic aromatic hydrocarbons*. New York: Marcel Dekker, 1983. Cap. 11, v.1, p.461.

Fonseca, H.; Gutierrez, L. E. Composição em ácidos graxos e óleos vegetais e gorduras animais. *Revista da USP*, v. 21, p. 485-490 1974 Disponível em: <<http://www.revistas.usp.br/aesalq/article/viewFile/39057/41941>>. Acesso em: 12/12/2014.

Freitas, S. M.; Ferreira, C. R. R. P. T.; Tsunehiro, A. O mercado de óleos vegetais e o potencial da cultura do girassol no Brasil, *Informações Econômicas*, SP, v.28, n.2, fev. 1998. Disponível em: <<http://www.iea.sp.gov.br/ftp/iea/ie/1998/tec1-0298.pdf>>. Acesso em: 12/12/2016.

Fromberg, A.; Hojgard, A.; Duedahl-Olesen, L. Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetable oils combining gel permeation chromatography with solid-phase extraction clean-up. *Food Additives and Contaminants*, 24 (7): 758-767, 2007.

Gioielli, L. A. Óleos e gorduras vegetais: composição e tecnologia, *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 5, 2, São Paulo 1996.

Gomaa, E. A.; Gray, J. I.; Rabie, S.; Lopez-Bote, C.; Booren, A. M. Polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked food product and commercial liquid smoke flavourings. *Food Additives and Contaminants*, 10 (5): 503-521, 1993.

González-Curbelo M. A., Hernández-Borges J., Borges-Miquel T. M., Rodríguez-Delgado M. A. Determination of organophosphorus pesticides and metabolites in cereal-based baby foods and wheat flour by means of ultrasound-assisted extraction and hollow-fiber liquid-phase microextraction prior to gas chromatography with nitrogen phosphorus detection. *Journal of Chromatography A*. 1313, 166–174, 2013.

Huang Y., Wei J., Song J., Chen M., Luo Y. Determination of low levels of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil by high performance liquid chromatography with tandem fluorescence and diode-array detectors. *Chemosphere*. 92, 1010–1016. 2013

IARC. 2010. Monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans. *Some Non-heterocyclic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Some Related Exposures*. 92. Lyon, France: IARC.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009*. Rio de Janeiro: IBGE. 282p. 2010.

INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. *Orientação sobre validação de métodos analíticos*. DOQ-CGCRE 008. Revisão 04. Julho, 2011.

Jorge, N. Química e Tecnologia de Óleos Vegetais São Paulo: Cultura Acadêmica: Universidade Estadual Paulista, Pró-Reitoria de Graduação, 165. 2009.

León-Camacho, M.; Vieira-Alcaide, I.; Ruiz-Méndez, M.V. Elimination of polycyclic aromatic hydrocarbons by bleaching of olive pomace oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 105: 9-16, 2003.

Londoño, V. A. G., Reynoso, C. M.; Resnik, S. L. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) survey on tea (*Camellia sinensis*) commercialized in Argentina. *Food Control*. 50, 31-37, 2015.

McCormack, J. H. "Seed processing and storage: principles and practices of seed harvesting, processing, and storage," *An organic seed production manual for seed growers in the Mid-Atlantic and Southern U.S.* Version 1.3. 28 páginas, 2004. Disponível em: < [http://www.carolinafarmstewards.org/wp-content/uploads/2012/05/SeedProcessingandStorageVer\\_1pt3.pdf](http://www.carolinafarmstewards.org/wp-content/uploads/2012/05/SeedProcessingandStorageVer_1pt3.pdf)>. Acesso em 16/12/2016.

Moldoveanu, S. C. Solutions and Challenges in Sample Preparation for Chromatography. *Journal of Chromatographic Science*, 42, janeiro, 2004.

Moret, S.; Conte, L.S. Polycyclic aromatic hydrocarbons in edible fats and oils: occurrence and analytical methods. *Journal of Chromatography A*, 882: 245-253, 2000.

Navarro, S. L. B.; Rodrigues, C. E. C. Estudo do processo de extração de óleo de gérmen de milho utilizando etanol como solvente. XX CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA. 19 a 22 de outubro de 2014, Florianópolis/SC. Disponível em: <<http://pdf.blucher.com.br/s3-sa-east-1.amazonaws.com/chemicalengineeringproceedings/cobeq2014/1527-18872-146993.pdf>>. Acesso em 18/12/2016.

O'Brien, R. D. *Fats and Oils: Formulating na Processing for Applications*. Terceira edição. Boca Raton: CRC Press. 744p. 2009.

Paes, M.C.D. Manipulação da composição química do milho: impacto na indústria e na saúde humana. 2008. Artigo em Hypertexto. Disponível em: <[http://www.infobibos.com/Artigos/2008\\_4/milho/index.htm](http://www.infobibos.com/Artigos/2008_4/milho/index.htm)>. Acesso em: 14/12/2016.

Pandey, M.K.; Mishra, K.K.; Khanna, S.K.; Das, M. Detection of polycyclic aromatic hydrocarbons in commonly consumed edible oils and their likely intake in the Indian population. *Journal AOCS*, 81 (12): 1131-1136, 2004.

Park, J.H.; Penning, T.M. Polyaromatic hydrocarbons. In: Stadler, R.H & Lineback, D.R. (Eds) *Process-induced food toxicants*. Oboken: John Wiley & Sons Inc., 2009. p.243-282.

Pupin, A.M.; Toledo, M.C.F. Benzo(a)pyrene in Brazilian vegetables oils. *Food Additives and Contaminants*, 13 (6): 639-646, 1996.

Ramalho, H. F.; Suarez, P. A. Z. A Química dos Óleos e Gorduras e seus Processos de Extração e Refino. *Revista Virtual de Química*, 5 (1), 2-15, 2013.

Raynie, D. E. Trends in Sample Preparation. *LG GC chromatographyonline.com* LCGC Europe. 29, 3, 142–152, 2016.

Rey-Salgueiro, L.; García-Falcón, M. S.; Martínez-Carballo, E.; Simal-Gándara J. Effects of toasting procedures on the levels of polycyclic aromatic hydrocarbons in toasted bread. *Food Chemistry*. 108, 607-615, 2008.

Rey-Salgueiro, L.; Martínez-Carballo, E.; García-Falcón, M.S.; González-Barreiro, C. & Simal-Gándara, J. Occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons and their hydroxylated metabolites in infant foods. *Food Chemistry*, 115: 814-819, 2009.

SBC: Sociedade Brasileira de Cardiologia. I Diretriz sobre o Consumo de Gorduras e Saúde Cardiovascular. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*. 100, 1(3), 1-40, 2013. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abc/v100n1s3/v100n1s3a01.pdf>>. Acesso em 15/01/2017.

Silva, E. S., Oliveira J., Machado A. V., Costa R. O. "Secagem de Grãos e Frutas: Revisão Bibliográfica." *Revista Brasileira de Agrotecnologia*, 5, 1, 19-23, 2015.

Silva, J. S. Secagem e armazenamento de produtos agrícolas. 2ª edição. Viçosa: *Aprenda Fácil*, 502, 2008.

Teixeira, V.H.; Casal, S.; Oliveira, M.B.P.P. PAHs content in sunflower, soybean and virgin olive oils: evaluation in commercial samples and during refining process. *Food Chemistry*, 104: 106-112, 2007.

Tfouni, S.A.V.; Toledo, M.C.F. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in cane sugar. *Food Control*, 18 (8): 948-952, 2007.

Tfouni, S.A.V.; Camargo, M.C.R. Polycyclic aromatic hydrocarbons. In: Nollet, L.; Toldrá, F. (Eds) *Food analysis by HPLC*. 3<sup>rd</sup> Edition. Boca Raton: CRC Press, 2012. Cap 28, 1003-1021.

Tfouni, S.A.V.; Serrate, C.S.; Leme, F.M.; Camargo, M.C.R.; Teles, C.R.A.; Cipolli, K.M.V.A.B. & Furlani, R.P.Z. Polycyclic aromatic hydrocarbons in coffee brew: influence of roasting and brewing procedures in two *Coffea* cultivars. *LWT – Food Science and Technology*, 50: 526-530, 2013.

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

Vieira, M.A.; Maraschin, M.; Rovaris, A.A.; Amboni, R.D.M.C.; Pagliosa, C.M.; Xavier, J.J.M. & Amante, E.R. Occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons throughout the processing stages of erva-mate (*Ilex paraguariensis*). *Food Additives and Contaminants*, 27: 776-782, 2010.

WHO - World Health Organization. Selected non-heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environmental Health Criteria*, Geneva, n.202, 1998.

WHO - World Health Organization. *Summary and conclusions of the sixty-fourth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*. Rome, 47p, 2005.

## Capítulo 2

---

Avaliação da contaminação por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos de óleos vegetais comercializados no Brasil

## **Avaliação da contaminação por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos de óleos vegetais de canola, girassol e milho comercializados no Brasil**

D. R. D. Molle; C. Abballe; F. M. L. Gomes; S. A.V. Tfouni.

### **Resumo**

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) são compostos formados a partir da queima incompleta de material orgânico e têm sido muito estudados devido ao potencial carcinogênico apresentado por alguns deles. A contaminação de óleos vegetais por HPAs é bastante comum e tem sido reportada como uma das maiores fontes de ingestão desses compostos, pela população, através da dieta. O objetivo do presente trabalho foi coletar amostras de óleo de canola, óleo de girassol e óleo de milho disponíveis no comércio e analisar os produtos quanto à presença de 13 HPAs considerados carcinogênicos. Os níveis de HPAs nas amostras foram determinados através de cromatografia líquida de alta eficiência utilizando detector de fluorescência. O método utilizado para avaliar os 13 HPAs foi o mesmo empregado por Camargo et al. (2011b) para análise de HPAs em óleo de soja. A metodologia se mostrou adequada para a análise dos 13 HPAs em amostras de óleos de canola, girassol e milho. O Criseno (Cry) foi o HPA analisado que teve o maior nível encontrado. Entre as marcas de óleos analisados, a maior variação encontrada dos níveis de HPAs foi de 3,67 µg/kg a 38,10 µg/kg no óleo de milho, seguido de 4,04 µg/kg a 27,13 µg/kg no óleo de canola e 1,67 µg/kg a 17,00 µg/kg no óleo de girassol. Praticamente metade das amostras analisadas apresentou níveis de HPAs acima dos limites estabelecidos pela legislação europeia, demonstrando que há necessidade do Brasil ter uma legislação determinando os níveis máximos permitidos para estes compostos em óleos e gorduras e dessa forma minimizar a exposição da população.

## 1 Introdução

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) são compostos lipofílicos, de dois ou mais anéis aromáticos, formados na queima incompleta da matéria orgânica. Compreendem uma família de mais de 100 compostos, sendo alguns suspeitos e outros confirmados de serem mutagênicos e/ou carcinogênicos para mamíferos. O JECFA (Comitê Conjunto FAO/OMS de Peritos em Aditivos Alimentares) durante sua 64<sup>a</sup> reunião (2005), avaliou o grupo dos HPAs e concluiu que 13 desses compostos são claramente carcinogênicos e genotóxicos: benzo(a)antraceno, benzo(b)fluoranteno, benzo(j)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno, criseno, dibenzo(ah)antraceno, dibenzo(ae)pireno, dibenzo(ah)pireno, dibenzo(ai)pireno, dibenzo(al)pireno, indeno (1,2,3 cd-pireno) e 5-metilcriseno (WHO, 2005). A IARC (Internacional Agency for Researchon Cancer) classificou o HPA mais conhecido e estudado (benzo(a)pireno) no grupo 1, ou seja, como carcinogênico em humanos (IARC, 2010). A comissão da Comunidade Européia, em agosto de 2011, estabeleceu níveis máximos para benzo(a)pireno e para a soma de 4 HPAs (HPA4: benzo(a)antraceno, criseno, benzo(b)fluoranteno e benzo(a)pireno) em alguns alimentos como: óleos e gorduras, carnes defumadas, moluscos bivalves e alimentos infantis a base de cereais.

A presença de HPAs em alimentos ocorre devido a processos envolvendo alta temperatura, como defumação, secagem, cozimento, ou como resultado de contaminação ambiental. A contaminação de óleos vegetais por HPAs é comum e tem sido estudada ao longo dos anos, sendo reportada como uma das maiores fontes de ingestão desses compostos pela população através da dieta (Toledo e Camargo, 1998; Moret e Conte, 2000; Teixeira et al., 2007; Domingos e Nadal, 2015). Os HPAs podem estar presentes, em diferentes tipos de óleo vegetal, como soja, milho, girassol, gergelim, bagaço de oliva, entre outros. Essa contaminação tem como principal fator envolvido a etapa de secagem dos grãos ou do bagaço de oliva (Camargo e Toledo, 1998; Moret e Conte, 2000; Camargo e Toledo, 2002; Camargo et al., 2012; Tfouni et al., 2014).

Assim o objetivo deste trabalho é avaliar os níveis dos 13 HPAs considerados carcinogênicos e genotóxicos pelo JECFA em óleos de canola,

girassol e milho comercializados no Brasil e comparar os valores encontrados com os estabelecidos pelas legislações brasileira e europeia.

## **2 Materiais e métodos**

### **2.1 Materiais**

#### **2.1.1 Amostras**

Foram coletadas no comércio do Estado de São Paulo, amostras de 70 óleos de diferentes marcas e lotes, sendo destes 23 unidades de óleo de canola, 26 unidades de óleo de girassol e 21 unidades de óleo do milho. As amostras foram analisadas em duplicata quanto à presença de 13 HPAs: benzo(a)antraceno (BaA), benzo(b)fluoranteno (BbF), benzo(j)fluoranteno (BjF), benzo(k)fluoranteno (BkF), benzo(a)pireno (BaP), criseno (Chy), dibenzo(ah)antraceno (DahA), dibenzo(ae)pireno (DaeP), dibenzo(ah)pireno (DahP), dibenzo(ai)pireno (DaiP), dibenzo(al)pireno (DalP), indeno(1,2,3-cd)pireno (IcdP) e 5-metilcriseno (5-MeChy).

#### **2.1.2 Padrões e reagentes**

Foram utilizados os padrões de HPAs das seguintes marcas: Supelco (BaA, DahP, DahA, DalP, DaeP, BjF), Sigma-Aldrich (DaiP, BkF, Chy, BbF, BaP, IcdP e IRMM BCR-08IR (5-MeChy).

Os solventes e reagentes de grau CLAE utilizados foram os seguintes: hexano, n,n-dimetilformamida, metanol e acetonitrila (JT Baker). Cartuchos de extração em fase sólida (SPE) (Sep-Pak C18 Vac, 500 mg, 3 ml). Filtros Millex HV com membrana de PVDF de 0,45 µm (Millipore). A água utilizada foi obtida através de um sistema de purificação Milli-Q (Millipore Co.).

### **2.2 Método**

O método utilizado para avaliar os 13 HPAs foi o mesmo empregado por Camargo *et al.* (2011b) para análise de HPAs em óleo de soja, conforme descrito a seguir.

### **2.2.1 Extração e limpeza**

Foi pesado 0,5 g da amostra e transferido para um funil de separação com 5 ml de hexano. A extração dos HPAs foi feita com 2 porções de 5 ml de dimetilformamida-água (9:1, v/v), e em seguida o extrato resultante foi coletado em um tubo com tampa rosqueável, seguido de secagem sob fluxo de nitrogênio (TurboVap LV, Caliper Life Science) até atingir aproximadamente 50% do volume inicial. O volume restante foi diluído com 5 ml de água.

Para a limpeza dos extratos foram utilizados cartuchos de extração em fase sólida (C18). Utilizando um manifold à vácuo da J. T. Barker, os cartuchos foram ativados com 5 ml de metanol seguido de 5 ml de água. As amostras foram aplicadas e o cartucho lavado com 10 ml de dimetilformamida-água (1:1, v/v) seguido de 10 mL de água. A água residual foi evaporada sob vácuo e posteriormente os HPAs foram eluídos com 10 ml de hexano coletados em tubos com tampa de rosca. O extrato obtido foi evaporado sob fluxo de N<sub>2</sub> até secagem completa e após foi diluído em 0,5 ml de acetonitrila. O extrato final foi filtrado (0,45 µm) para posterior análise por CLAE com detector de fluorescência.

### **2.2.2 Análise cromatográfica**

Os compostos foram analisados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com detecção por fluorescência. O equipamento utilizado foi da marca Shimadzu, constituído de bomba quaternária LC-20AT, acoplado ao degaseificador de solução DGU-20A5, injetor automático SIL-20AT, forno de coluna CTO-20A e detector de fluorescência RF-10A. O volume de injeção foi de 30 µL e para a separação foi utilizada uma coluna C18 polimérica Vydac 201 TP54 (25 cm x 4,6 mm d.i., 5µm) com temperatura estável em 30°C e um gradiente de fase móvel composto por acetonitrila-água a um fluxo de 1ml/min.

O gradiente de eluição iniciou com 70% de acetonitrila (ACN), aumentado linearmente para 75% ACN até 20 minutos e 100% ACN até 35 minutos permanecendo de forma isocrática até os 55 minutos quando retorna a 70% ACN e permanece de forma isocrática até 70 minutos de análise finalizando com a coluna estabilizada igual ao início da análise.

A detecção foi feita através de uma programação de comprimentos de onda de excitação e emissão iniciando com 274/414 para o BaA, Chy e o 5-MeChy; em 14 minutos e 30 segundos mudou para 312/507 para o BjF; em 16

minutos mudou para 290/430 para o BbF, BkF, BaP, DaIP e DahA; em 30 minutos mudou para 300/500 para o IcdP; em 33 minutos e 50 segundos mudou para 397/403 para o DaeP e em 42 minutos mudou para 304/457 para o DaiP e DahP.

### **2.3 Validação da metodologia analítica**

Para validação do método analítico foram contemplados os parâmetros sugeridos pelo INMETRO, a saber: limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ), recuperação, linearidade e repetibilidade (INMETRO, 2011).

As soluções padrão contendo 13 HPAs em acetonitrila foram injetadas em triplicata para a construção de uma curva de calibração em sete níveis de concentração (0,3; 0,5; 1,0; 2,0; 5,0; 10,0 e 20,0 ng/ml), onde a área de cada pico no cromatograma é proporcional a concentração dos compostos analisados.

Para os testes de recuperação foi utilizado óleo de canola devido ele ter apresentado as menores concentrações de HPAs, sendo fortificado com solução padrão de HPAs em 3 concentrações diferentes (1,0; 2,0 e 5,0 µg/kg), sendo realizadas cinco replicatas. Dessa forma foi possível estabelecer a exatidão, repetibilidade e a precisão intermediária, sendo esta última realizada em dois dias diferentes com amostras de óleo de canola fortificado com solução padrão de HPAs em concentração de 2,0 µg/kg totalizando 10 replicatas.

Através do cálculo da diferença percentual entre as concentrações dos 13 HPAs da amostra fortificada e da amostra branco, foi possível estabelecer a exatidão. A repetibilidade do método foi avaliada pelo coeficiente de variação (CV) associado às medidas de cada HPA durante os testes de recuperação. A precisão intermediária foi avaliada pelo CV de recuperações em dias diferentes, utilizando amostra fortificada no nível de 2 µg/kg, sendo realizadas cinco replicatas em cada dia.

O LOD foi calculado considerando os desvios padrão de sete análises independentes de amostras de óleo de canola fortificado com solução padrão em concentração de 1,0 µg/kg dos 13 HPAs. De acordo com a orientação do INMETRO para análise em nível de traços, a concentração mais baixa da curva analítica (0,3 ng/ml) foi adotada como LOQ.

## 2.4 Análise Estatística

Os dados foram processados no software Statistica 5.5 (Stat Soft Inc.) para análise de variância com um fator (one-way ANOVA) e comparação de médias (Teste Tukey) com 95% de confiança.

## 3 Resultados e discussão

A metodologia utilizada se mostrou adequada para a análise dos 13 HPAs em amostras de óleos de canola, girassol e milho. A linearidade das curvas de calibração se mostrou adequada, sendo que os coeficientes de correlação linear ( $r$ ) variaram de 0.9933 a 0.9998, conforme apresentados na tabela 1. O limite de detecção (LOD) do método variou de 0,07  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (BbF) a 0,30  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (Chy). O limite de quantificação (LOQ) foi de 0,30  $\mu\text{g}/\text{kg}$  para a maioria dos HPAs. O método apresentou menor sensibilidade para os compostos BjF e lcdP que consequentemente tiveram LOD e LOQ mais altos que os demais HPAs, sendo o LOD de 1,95  $\mu\text{g}/\text{kg}$  para o BjF e de 1,32  $\mu\text{g}/\text{kg}$  para o lcdP, e LOQ de 3,0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  para ambos. Os valores médios de recuperação obtidos ficaram entre 72% e 110% com um CV máximo de 20%, conforme resultados apresentados na tabela 2. Devido as recuperações estarem situadas na faixa de 50% a 120%, e o LOD e o LOQ estarem menores que 0,3 e 0,9  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , respectivamente, a metodologia adotada atende aos critérios de desempenho proposto pela União Europeia para a análise do benzo(a)pireno em alimentos (CEC, 2007).

Tabela 1: Parâmetros de validação da metodologia analítica para determinação de 13 HPAs em óleos vegetais (faixa linear, coeficiente de correlação, limites de detecção e quantificação).

HPA	Faixa linear (µg/L)	Coefficiente de correlação (r)	LOD (µg/kg)	LOQ (µg/kg)
BaA	0,3 - 20.0	0,9969	0,23	0,30
Chy	0,3 - 20.0	0,9970	0,30	0,30
5-MeChy	0,3 - 20.0	0,9957	0,26	0,30
BjF	3 - 200.0	0,9975	1,95	3,00
BbF	0,3 - 20.0	0,9962	0,07	0,30
BkF	0,3 - 20.0	0,9968	0,15	0,30
BaP	0,3 - 20.0	0,9964	0,10	0,30
DalP	0,3 - 20.0	0,9983	0,29	0,30
DahA	0,3 - 20.0	0,9961	0,18	0,30
Indeno	3 - 200.0	0,9958	1,32	3,00
DaeP	0,3 - 20.0	0,9933	0,17	0,30
DaiP	0,3 - 20.0	0,9989	0,23	0,30
DahP	0,3 - 20.0	0,9984	0,24	0,30

BaA: benzo(a)antraceno, Chy: criseno, 5-MeChy: 5 metilcriseno, BjF: benzo(j)fluoranteno, BbF: benzo(b)fluoranteno, BkF: benzo(k)fluoranteno, BaP: benzo(a)pireno, DalP: dibenzo(al)pireno, DahA: dibenzo(ah)antraceno, Indeno: indeno (1,2,3 cd-pireno), DaeP: dibenzo(ae)pireno, DaiP: dibenzo(ai)pireno, DahP: dibenzo(ah)pireno.

LOD: limite de detecção, LOQ: limite de quantificação.

Tabela 2. Exatidão, repetibilidade e precisão intermediária para a metodologia de análise de 13 HPAs em óleos vegetais.

	Nível 1 (1,0 µg/kg)		Nível 2 (2,0 µg/kg)		Nível 3 (5,0 µg/kg)		Precisão Intermediária <sup>2</sup>
	R (%) <sup>1</sup>	CV (%)	R (%) <sup>1</sup>	CV (%)	R (%) <sup>1</sup>	CV (%)	
BaA	75	8	85	10	92	8	4
Chy	84	14	104	6	104	9	3
5-MeChy	90	9	89	15	92	9	8
BjF	98	4	87	8	90	6	7
BbF	71	4	88	6	98	11	3
BkF	89	5	85	4	94	10	6
BaP	94	4	98	9	95	20	8
DalP	77	20	84	16	83	12	12
DahA	103	5	96	10	88	7	8
Indeno	102	4	93	6	96	6	5
DaeP	91	6	90	7	103	16	8
DaiP	110	16	106	4	101	6	6
DahP	105	8	106	7	106	4	6

BaA: benzo(a)antraceno, Chy: criseno, 5-MeChy: 5 metilcriseno, BjF: benzo(j)fluoranteno, BbF: benzo(b)fluoranteno, BkF: benzo(k)fluoranteno, BaP: benzo(a)pireno, DalP: dibenzo(al)pireno, DahA: dibenzo(ah)antraceno, Indeno: 1,2,3 cd-pireno, DaeP: dibenzo(ae)pireno, DaiP: dibenzo(ai)pireno, DahP: dibenzo(ah)pireno.

CV: coeficiente de variação, R: recuperação

<sup>1</sup> média de 5 replicatas.

<sup>2</sup> média de 10 replicatas

Conforme resultados apresentados na tabela 3, o Chy foi o HPA que apresentou a maior média de concentração entre todos os tipos de óleos, variando de não detectado a 13,11 µg/kg, seguido pelo BaP com concentrações variando de não detectado até 7,46 µg/kg. Os compostos DaiP e DahP, por sua vez, não foram detectados em nenhuma das amostras analisadas.

A legislação brasileira não estabelece limites máximos permitidos para HPAs em óleos vegetais, com exceção do óleo de bagaço de oliva, cujo limite é de 2,0 µg/kg para o BaP (Brasil, 2003). A legislação da Comunidade Europeia por sua vez estabelece limites para BaP e HPA4 de 2,0 µg/kg e 10 µg/kg, respectivamente (CEC, 2011). Das 71 amostras analisadas, verificou-se que os limites estabelecidos para o HPA4 e BaP foram ultrapassados em 34 e 36 amostras respectivamente. Levando essas informações em consideração, pode-se observar que os níveis de BaP detectados podem ser até 3 vezes maiores do que o estabelecido nas legislações. Adicionalmente, os dados obtidos mostram que metade das amostras analisadas continham concentrações de BaP superiores ao limite estabelecido na legislação. Em relação aos níveis de HPA4 encontrados, 66% das amostras apresentaram níveis acima do permitido pela legislação europeia.

Tabela 3: Níveis de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) em diferentes tipos de óleos vegetais.

	Média (µg/kg) (faixa de variação)												
	BaA	Chy	5-MeChy	BjF	BbF	BkF	BaP	DalP	DahA	Indeno	DaeP	Σ 13 HPAs	HPA4
canola (n=23)	1,99 nd - 4,69	3,84 nd - 7,94	1,15 nd - 2,77	0,27 nd - 3,67	2,03 nd - 4,78	0,44 nd - 1,05	2,82 a nd - 6,25	nd	nd	0,20 nd - 3,20	nd	13,56 a nd - 31,70	11,18 a nd - 22,15
girassol (n=26)	1,31 nd - 3,39	2,68 nd - 6,36	0,74 nd - 2,29	nd	1,12 0,29 - 2,48	0,26 nd - 0,54	1,39b 0,31 - 3,27	nd	nd	nd	0,01 nd - 0,49	7,56 b 0,65 - 17,88	6,52 b 0,65 - 15,61
milho (n=22)	3,06 0,41 - 6,67	6,04 1,14 - 13,11	1,63 nd - 3,51	0,43 nd - 3,05	2,70 0,57 - 5,40	0,57 nd - 1,12	3,03 a 0,27 - 7,46	0,02 nd - 0,48	0,02 nd - 0,43	0,65 nd - 3,53	0,10 nd - 1,15	17,20 a 2,61 - 38,23	14,19 c 2,61 - 30,98

Valores assinalados com a mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente ( $p < 0,05$ ).

BaA: benzo(a)antraceno, Chy: criseno, 5-MeChy: 5 metilcriseno, BjF: benzo(j)fluoranteno, BbF: benzo(b)fluoranteno, BkF: benzo(k)fluoranteno, BaP: benzo(a)pireno, DalP: dibenzo(al)pireno, DahA: dibenzo(ah)antraceno, Indeno: 1,2,3 cd-pireno, DaeP: dibenzo(ae)pireno, DaiP: dibenzo(ai)pireno, DahP: dibenzo(ah)pireno.

nd: não detectado

As tabelas 4, 5 e 6 apresentam os valores médios obtidos para BaP, HPA4 e somatória de 13 HPAs nas diferentes marcas de óleos avaliadas. Entre as marcas de óleo de canola analisadas (tabela 4), observa-se que 50% delas ultrapassaram o limite estabelecido pela comunidade europeia de 10 µg/kg para HPA4, enquanto que 70% das marcas apresentaram média de BaP acima de 2 µg/kg. O óleo de milho por sua vez (tabela 5) apresentou 78% das marcas com níveis de HPA4 e BaP acima dos limites da legislação. Embora o óleo de girassol tenha sido o tipo de óleo que apresentou as menores concentrações entre os três tipos analisados, a tabela 6 mostra que 40% das marcas tiveram suas concentrações acima do determinado pela legislação europeia para HPA4 e 10% ultrapassaram a concentração de 2 µg/kg de BaP.

Os valores das médias de HPA4 das marcas analisadas variaram de 1,40 µg/kg (Girassol, marca L) a 27,79 µg/kg (Milho, marca J). Tais resultados estão em consonância com os valores encontrados em outros estudos como os de Ciecierska e Obiedzinski, 2013 que analisaram óleos não convencionais de sementes de amaranto, linhaça, linho comum, camelina, abóbora, sésamo, papoula, mostarda, açafreão, sementes, borragem, primula e noz e tiveram resultados variando de não detectado a 35,03 µg/kg.

Tabela 4: Níveis de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em diferentes marcas de óleos de canola.

Marcas	Média (ug/kg) <sup>1</sup>		
	13 HPAs	HPA4	BaP
A (n=1)	4,04 c	4,04 b	0,82 ab
B (n=1)	13,11 bc	12,11 ab	2,73 ab
C (n=2)	19,08 ab	14,94 ab	3,60 ab
D (n=3)	9,56 bc	8,03 b	1,40 b
E	---	---	---
F (n=1)	5,45 bc	4,76 b	0,84 b
G (n=3)	6,85 bc	5,52 b	0,93 b
H (n=3)	8,94 bc	7,71 b	2,05 b
I (n=3)	12,06 bc	10,46 b	2,60 b
J	---	---	---
K (n=3)	17,40 b	14,94 ab	3,67 ab
L (n=3)	27,13 a	20,34 a	5,52 a

Valores assinalados com a mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente (p<0,05).

<sup>1</sup> Média de n lotes em duplicata

Tabela 5: Níveis de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em diferentes marcas de óleos de milho.

Marcas	Média (ug/kg) <sup>1</sup>		
	13 HPAs	HPA4	BaP
A (n=3)	29,70 ab	22,42 a	5,90 a
B	---	---	---
C	---	---	---
D (n=3)	14,71 cd	12,76 bc	2,37 cde
E (n=3)	14,81 cd	13,14 bc	2,87 bcd
F (n=2)	11,31 de	10,05 bcd	1,83 de
G	---	---	---
H (n=2)	19,97 bcd	16,80 abc	3,00 bcd
I (n=3)	23,02 bc	19,44 ab	4,12 abc
J (n=1)	38,10 a	27,79 a	5,57 ab
K (n=2)	9,96 de	8,67 cd	1,93 cde
L (n=3)	3,67 e	3,37 d	0,60 e

Valores assinalados com a mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente (p<0,05).

<sup>1</sup> Média de n lotes em duplicata

Tabela 6: Níveis de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em diferentes marcas de óleos de girassol.

Marcas	Média (ug/kg) <sup>1</sup>		
	13 HPAs	HPA4	BaP
A (n=2)	6,03 bc	5,23 b	1,34 abc
B (n=3)	14,43 a	12,23 a	2,46 a
C	---	---	---
D (n=3)	2,83 c	2,62 b	0,53 c
E (n=3)	3,20 bc	2,66 b	0,65 c
F (n=2)	17,00 a	14,98 a	2,53 a
G	---	---	---
H (n=3)	6,77 bc	5,73 b	1,64 abc
I (n=3)	5,16 bc	4,47 b	1,13 bc
J (n=1)	13,22 ab	11,26 a	1,97 ab
K (n=3)	11,70 ab	10,21 a	2,02 abc
L (n=3)	1,67 c	1,40 b	0,35 c

Valores assinalados com a mesma letra na mesma coluna não diferem significativamente ( $p < 0,05$ ).

<sup>1</sup> Média de n lotes em duplicata

Os resultados obtidos mostram que houve variação nas concentrações de HPAs entre os diferentes tipos de óleo estudados, entre as diferentes marcas de um mesmo tipo de óleo e entre os diferentes lotes de uma mesma marca. Considerando os diferentes tipos de óleo apresentados na tabela 3, o de girassol foi o que apresentou estatisticamente ( $p < 0,05$ ) os menores níveis médios da soma dos 13 HPAs, de HPA4 e de BaP, sendo 7,56  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 6,52  $\mu\text{g}/\text{kg}$  e 1,39  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , respectivamente. Não houve diferença significativa entre os resultados obtidos para o óleo de canola (13,56  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 11,18  $\mu\text{g}/\text{kg}$  e 2,82  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) e o de milho (17,20  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 14,19  $\mu\text{g}/\text{kg}$  e 3,03  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ).

Comparando com outro estudo que analisou óleo de soja, onde as médias encontradas para os 13 HPAs o BaP foram de 10,4 a 112,0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  e 0,5 a 15,8  $\mu\text{g}/\text{kg}$  respectivamente (Camargo et al. 2011a), os valores obtidos em óleos de canola, milho e girassol foram menores.

As tabelas 4, 5 e 6 apresentam as diferenças estatísticas ( $p > 0,05$ ) entre as diferentes marcas de óleos analisadas, sendo que os valores médios para a somatória dos 13 HPAs variou de 4,04  $\mu\text{g}/\text{kg}$  a 27,13  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (óleo de canola), 3,67  $\mu\text{g}/\text{kg}$  a 38,10  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (óleo de milho) e 1,67  $\mu\text{g}/\text{kg}$  a 17,00  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (óleo de girassol).

Essas variações podem ser explicadas devido ao fato de o Brasil possuir grandes extensões de terra e haver muitas origens geográficas para as matérias primas, sendo algumas mais sujeitas à contaminação ambiental do que outras. Outro fato que deve ser considerado são as diferenças na produção, podendo haver a formação de HPAs durante o processo de fabricação, pois na etapa de secagem dos grãos são utilizados diferentes fontes de calor e controles de temperatura.

Na tabela 7 estão apresentados os resultados dos diferentes lotes da mesma marca de cada tipo de óleo e suas diferenças estatísticas significativas ( $p > 0,05$ ). De todos os lotes analisados, a concentração média dos 13 HPAs variaram entre não detectado (óleo de canola, marca G, lote 1) a 38,23  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (óleo de milho, marca A, lote 3). Tais resultados estão compatíveis com os resultados observados em outros estudos. Tfouni et al. (2014) detectaram a soma dos 13 HPAs em óleos compostos em concentrações variando de 2,59  $\mu\text{g}/\text{kg}$  a 85,30  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Camargo et al. (2011 a) reportou níveis da somatória dos 13 HPAs em óleos de soja com variações de concentrações de 10,4  $\mu\text{g}/\text{kg}$  até 112,0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . Teixeira et al. (2007) ao analisar concentrações de 15 HPAs em óleos de girassol, soja e azeite de oliva virgem comercializados em Portugal, verificaram variação entre as amostras de 8,78  $\mu\text{g}/\text{kg}$  até 26,35  $\mu\text{g}/\text{kg}$ .

Tabela 7: Níveis da somatória de 13 hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em lotes de diferentes marcas de óleos de canola, girassol e milho.

Marca	Média ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) <sup>1</sup>								
	Óleo de canola			Óleos de girassol			Óleo de milho		
	lote 1	lote 2	lote 3	lote 1	lote 2	lote 3	lote 1	lote 2	lote 3
A	4,04	-	-	1,54 b	-	10,58 a	26,06 b	24,93 b	38,23 a
B	-	-	-	8,65 c	17,05 b	17,63 a	-	-	-
C	16,00 b	22,50 a	s/a	-	-	-	-	-	-
D	11,51 a	5,62 b	11,58 a	2,81 b	3,05 a	2,64 c	7,82 c	16,68 b	19,65 a
E	-	-	-	2,88 c	3,69 a	3,02 b	10,12 b	17,02 a	17,08 a
F	5,45	-	-	16,10 b	17,88 a	-	11,00 b	11,65 a	-
G	Nd c	7,20 b	13,35 a	-	-	-	-	-	-
H	7,57 c	11,45 a	7,91 b	2,57 c	7,72 b	10,00 a	19,18 a	20,24 a	-
I	11,84 b	9,18 c	15,31 a	1,69 c	6,37 b	7,41 a	18,77 b	14,59 b	35,61 a
J	-	-	-	13,22	-	-	38,10	-	-
K	3,98 c	25,81 a	22,42 b	13,88 a	8,80 c	12,21 b	6,09 b	13,88 a	-
L	31,70 a	21,87 b	30,36 a	2,49 a	0,65 c	1,78 b	5,19 a	2,61 b	3,01 c

Valores assinalados com a mesma letra na mesma linha entre as colunas dos três lotes do respectivo óleo não diferem significativamente ( $p < 0,05$ ).

<sup>1</sup> Média de duplicata

#### **4 Conclusões**

Os resultados obtidos a partir dos testes de recuperação, linearidade, limites de detecção e quantificação indicam que a metodologia é adequada e pode ser utilizada para análise dos 13 HPAs estudados em óleos de canola, girassol e milho.

Entre as amostras analisadas, praticamente metade apresentou concentrações de HPAs acima dos limites estabelecidos pelas legislações brasileira e europeia, indicando que os óleos vegetais continuam sendo uma classe de produtos passível de contaminação por esses compostos.

É recomendado que as empresas produtoras de óleos busquem alternativas no processamento destes produtos de modo a reduzir os níveis de contaminação por HPAs. Adicionalmente, é de grande importância que as autoridades estabeleçam limites máximos permitidos para HPAs em óleos vegetais.

#### **5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

Alomirah, H.; Al-Zenki, S.; Al-Hooti, S.; Zaghoul, S.; Sawaya, W.; Ahmed, N. e Kannan, K. Concentrations and dietary exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) from grilled and smoked foods. *Food Control*, 22: 2028-2035, 2011.

Andelman, J. B.; Suess, M. J. Polynuclear aromatic hydrocarbons in the water environment. *Bulletin World Health Organization*, 43: 479-508, 1970.

Ballesteros, E.; García Sánchez, A.; Ramos Martos, N. Simultaneous multidetermination of residues of pesticides in olive and olive-pomace oils by gas chromatography/tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1111: 89-96, 2006.

Bansal, V.; Kim K. Review of PAH contamination in food products and their health hazards. *Environment International*, 84: 26-38, 2015.

Brasil. *Resolução RDC nº 281*, de 06 de outubro de 2003.

Brasil. *Portaria nº 518* de 25 de março de 2004.

Brasil. *Resolução RDC nº 2*, publicada no Diário Oficial da União, 17 de janeiro, 2007.

Camargo, M.C.R.; Toledo, M.C.F. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos – uma revisão. *Boletim SBCTA*, 36 (1): 69-78, 2002.

Camargo, M.C.R. & Toledo, M.C.F. Polycyclic aromatic hydrocarbons in Brazilian vegetables and fruits. *Food Control*, 14: 49-53, 2003.

Camargo, M.C.R.; Antonioli, P.R.; Vicente, E.; Tfouni, S.A.V. Polycyclic aromatic hydrocarbons in Brazilian soybean oils and dietary exposure. *Food Additives and Contaminants Part B*, 4 (2): 152-159, 2011a.

Camargo, M.C.R. Antonioli, P.R.; Vicente, E. HPLC-FLD simultaneous determination of 13 polycyclic aromatic hydrocarbons: validation of analytical procedure for soybean oils. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 22 (7): 1354-1361, 2011b.

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.C.R.; Antonioli, P.R.; Vicente, E. Evaluation of polycyclic aromatic hydrocarbons content in different stages of soybean oils processing. *Food Chemistry*, 135: 937-942, 2012.

Caruso, M. S. F.; Alaburda, J. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos - benzo(a)pireno: uma revisão. *Revista Instituto Adolfo Lutz (Impr.)* [online]. 2008, 67, 1, 1-27. ISSN 0073-9855.

CEC – The Commission of the European Communities . Commission Regulation (EC) No 333/2007 of 28 March 2007. *Official Journal of European Union*, 29.03.2007.

CEC – The Commission of the European Communities. Commission Regulation (EC) No 835/2011 of 19 August 2011 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels for polycyclic aromatic hydrocarbons in foodstuffs. *Official Journal of European Union*, 20.8.2011.

Dabestani, R.; Ivanov, I.N. Invited review – A compilation of physical, spectroscopic and photophysical properties of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Photochemistry and Photobiology*, 70 (1): 10-34, 1999.

Dorsa, R. *Tecnologia de vegetais*. Campinas: Ideal. 464p. 2004.

EFSA – European Food Safety Authority. Polycyclic aromatic hydrocarbons in food, Scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain. *The EFSA Journal*, 724: 1-114, 2008.

EPA – *United States Environmental Protection Agency*. 2014. Priority pollutants. <http://water.epa.gov/scitech/methods/cwa/pollutants.cfm> (acesso em 22 de maio de 2014).

Fazio, T.; Howard, J. W. Polycyclic aromatic hydrocarbons in foods. In: Bjørseth, A. (Ed) *Handbook of polycyclic aromatic hydrocarbons*. New York: Marcel Dekker, 1983. Cap. 11, v.1, p.461.

Fromberg, A.; Hojgard, A.; Duedahl-Olesen, L. Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetable oils combining gel permeation chromatography with solid-phase extraction clean-up. *Food Additives and Contaminants*, 24 (7): 758-767, 2007.

Gomaa, E. A.; Gray, J. I.; Rabie, S.; Lopez-Bote, C.; Booren, A. M. Polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked food product and commercial liquid smoke flavourings. *Food Additives and Contaminants*, 10 (5): 503-521, 1993.

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*, 58 (4): 724-733, 1975.

IARC. 2010. Monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans. Some Non-heterocyclic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Some Related Exposures, 92. Lyon, France: IARC.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. *Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009*. Rio de Janeiro: IBGE. 282, 2010.

INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. *Orientação sobre validação de métodos analíticos*. DOQ-CGCRE-008. Revisão 04. Julho, 2011.

Jiang, D.; Xin, C.; Li, W.; Chen, J.; Li, F.; Chu, Z.; Xiao, P.; Shao, L. Quantitative analysis and health risk assessment of polycyclic aromatic hydrocarbons in edible vegetable oils marketed in Shandong of China. *Food and Chemical Toxicology*, 83: 61-67, 2015

León-Camacho, M.; Vieira-Alcaide, I.; Ruiz-Méndez, M.V. Elimination of polycyclic aromatic hydrocarbons by bleaching of olive pomace oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 105: 9-16, 2003.

Moret, S.; Conte, L.S. Polycyclic aromatic hydrocarbons in edible fats and oils: occurrence and analytical methods. *Journal of Chromatography A*, 882: 245-253, 2000.

Pandey, M.K.; Mishra, K.K.; Khanna, S.K.; Das, M. Detection of polycyclic aromatic hydrocarbons in commonly consumed edible oils and their likely intake in the Indian population. *Journal AOCS*, 81 (12): 1131-1136, 2004.

Park, J.H.; Penning, T.M. Polyaromatic hydrocarbons. In: Stadler, R.H & Lineback, D.R. (Eds) *Process-induced food toxicants*. Hoboken: John Wiley & Sons Inc., 243-282, 2009.

Pupin, A.M.; Toledo, M.C.F. Benzo(a)pyrene in Brazilian vegetable oils. *Food Additives and Contaminants*, 13 (6): 639-646, 1996.

Reis, R. M.; Camargo, M. C. R.; Furlani R. P. Z.; Tfouni S. V. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em azeites de oliva In: CONGRESSO INTERINSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 7, 2013 Campinas, São Paulo. Disponível em: <<https://www.ciic.cnptia.embrapa.br/resumo2013/RE13203.pdf>>. Data de acesso: 13/11/2016

Rey-Salgueiro, L.; Martínez-Carballo, E.; García-Falcón, M.S.; González-Barreiro, C. & Simal-Gándara, J. Occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons and their hydroxylated metabolites in infant foods. *Food Chemistry*, 115: 814-819, 2009.

Teixeira, V.H.; Casal, S.; Oliveira, M.B.P.P. PAHs content in sunflower, soybean and virgin olive oils: evaluation in commercial samples and during refining process. *Food Chemistry*, 104: 106-112, 2007.

Tfouni, S.A.V.; Toledo, M.C.F. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in cane sugar. *Food Control*, 18 (8): 948-952, 2007.

Tfouni, S.A.V.; Camargo, M.C.R. Polycyclic aromatic hydrocarbons. In: Nollet, L.; Toldrá, F. (Eds) *Food analysis by HPLC*. 3<sup>rd</sup> Edition. Boca Raton: CRC Press, 2012. Cap 28, p. 1003-1021.

Tfouni, S.A.V.; Serrate, C.S.; Leme, F.M.; Camargo, M.C.R.; Teles, C.R.A.; Cipolli, K.M.V.A.B. & Furlani, R.P.Z. Polycyclic aromatic hydrocarbons in coffee brew: influence of roasting and brewing procedures in two *Coffea* cultivars. *LWT – Food Science and Technology*, 50: 526-530, 2013.

Tfouni, S. A.V.; Padovani, G. R.; Reis, R. M.; Furlani, R. P.Z.; Camargo M. C.R. Incidence of polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetable oil blends. *Food Control*, 46: 539-543, 2014.

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

Vieira, M.A.; Maraschin, M.; Rovaris, A.A.; Amboni, R.D.M.C.; Pagliosa, C.M.; Xavier, J.J.M. & Amante, E.R. Occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons throughout the processing stages of erva-mate (*Ilex paraguariensis*). *Food Additives and Contaminants*, 27: 776-782, 2010.

WHO - World Health Organization. Selected non-heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons. *Environmental Health Criteria*, Geneva, n.202, 1998.

WHO - World Health Organization. *Summary and conclusions of the sixty-fourth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives*. Rome, 47p, 2005.

Yamanaka, E. S. Estudo do comportamento térmico de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em fuligem de cana-de-açúcar. 2012. 75 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química, 2012.

Yamamoto, Y.; Ishizaki, A.; Kataoka, H. Biomonitoring method for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in hair by online in-tube solid-phase microextraction coupled with high performance liquid chromatography and fluorescence detection. *Journal of Chromatography B*, 1000: 187-191, 2015.

# Anexos

---

## Anexo 1

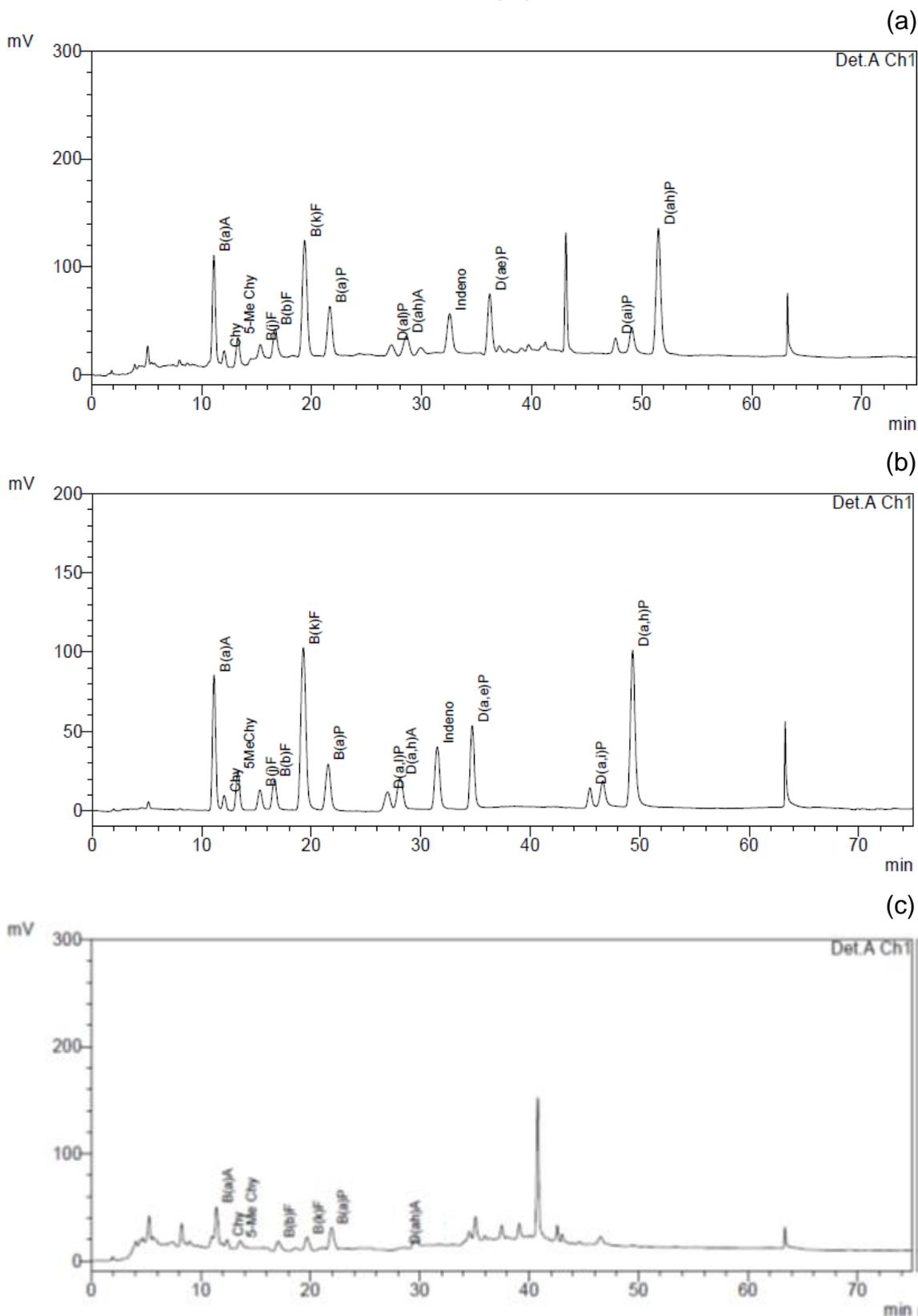


Figura 1: Cromatograma, obtido por CLAE, referente a amostra fortificada com 5 ppb (a), solução padrão 5 ppb (b) e amostra de óleo vegetal (c). Coluna polimérica C18 Vydac 201 TP 54 (25 cm x 4,6 mm d.i., 5 $\mu$ m), vazão: 1ml/min de fase móvel composto por acetonitrila-água com gradiente de eluição; temperatura: 30°C; detecção por fluorescência com programação de comprimento de onda.

Anexo 2

Tabela: Níveis dos Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) encontrados nas marcas de óleos de canola.

Marcas	Média (µg/kg) <sup>1</sup> (faixa)									
	BaA	Chy	5-MeChy	BjF	BbF	BkF	BaP	Indeno	13 HPAs	4 HPAs
A <sup>1</sup>	0,70	1,57	nd	nd	0,95	nd	0,82	nd	4,04	4,04
B <sup>1</sup>	2,47	4,83	0,40	nd	2,08	0,48	2,73	nd	13,11	12,11
C <sup>2</sup>	3,10	5,49	2,02	1,48	2,75	0,65	3,60	nd	19,08	14,94
	2,04 - 4,17	4,24 - 6,73	1,69 - 2,35	nd - 2,95	1,87 - 3,64	0,51 - 0,79	2,38 - 4,82		15,67 - 22,50	10,53 - 19,36
D <sup>3</sup>	1,43	3,67	1,21	nd	1,53	0,32	1,40	nd	9,56	8,03
	0,82 - 1,79	2,13 - 4,58	0,44 - 2,25		0,77 - 2,12	0,19 - 0,46	0,76 - 2,09		5,62 - 11,58	4,47 - 10,59
F <sup>1</sup>	1,05	2,03	0,44	nd	0,84	0,25	0,84	nd	5,45	4,76
G <sup>3</sup>	1,07	2,50	1,13	nd	1,01	0,20	0,93	nd	6,85	5,52
	nd - 2,16	nd - 4,70	nd - 2,24		nd - 1,93	nd - 0,38	nd - 1,94		nd - 13,35	nd - 10,73
H <sup>3</sup>	1,29	2,53	0,81	nd	1,85	0,42	2,05	nd	8,94	7,71
	0,96 - 1,86	1,90 - 3,18	0,39 - 1,14		1,48 - 2,26	0,37 - 0,51	1,37 - 2,49		7,47 - 11,45	6,63 - 9,79
I <sup>3</sup>	1,81	3,77	1,16	nd	2,24	0,48	2,60	nd	12,05	10,42
	1,31 - 2,41	2,24 - 4,64	0,74 - 1,61		1,72 - 2,60	0,43 - 0,56	1,74 - 3,70		9,18 - 15,31	7,64 - 13,14
K <sup>3</sup>	3,24	5,23	1,83	nd	2,80	0,63	3,67	nd	17,41	14,94
	0,75 - 4,69	1,22 - 7,94	0,18 - 2,77		0,81 - 4,18	0,29 - 0,89	0,73 - 5,34		3,98 - 25,81	3,51 - 22,15
L <sup>3</sup>	3,77	6,75	2,46	1,22	4,29	0,98	5,52	2,04	27,13	20,34
	3,45 - 4,01	6,36 - 6,96	2,43 - 2,49	nd - 3,67	3,75 - 4,78	0,88 - 1,05	4,95 - 6,25	nd - 3,20	21,87 - 30,97	18,51 - 21,55

BaA: benzo(a)antraceno, Chy: criseno, 5-MeChy: 5 metilcriseno, BjF: benzo(j)fluoranteno, BbF: benzo(b)fluoranteno, BkF: benzo(k)fluoranteno, BaP: benzo(a)pireno, DalP: dibenzo(al)pireno, DahA: dibenzo(ah)antraceno, Indeno: 1,2,3 cd-pireno, DaeP: dibenzo(ae)pireno, DaiP: dibenzo(ai)pireno, DahP: dibenzo(ah)pireno. nd: não detectado. <sup>1</sup> n=1 (1 lote), <sup>2</sup> n=2 (2 lotes), <sup>3</sup> n=3 (3 lotes).

Anexo 3

Tabela: Níveis dos Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) encontrados nas marcas de óleos de girassol.

Marcas	Média (µg/kg) <sup>1</sup> (faixa)								
	BaA	Chy	5-MeChy	BbF	BkF	BaP	DaeP	13 HPAs	4 HPAs
A <sup>2</sup>	0,95	1,91	0,58	1,04	0,22	1,34	nd	6,03	5,23
	0,22 - 1,68	0,62 - 3,19	nd - 1,15	0,32 - 1,75	nd - 0,44	0,31 - 2,37		1,48 - 10,58	1,48 - 8,98
B <sup>3</sup>	2,66	5,11	1,73	1,99	0,47	2,46	nd	14,43	12,23
	1,66 - 3,39	3,38 - 6,36	0,66 - 2,29	1,24 - 2,48	0,35 - 0,54	1,31 - 3,27		8,61 - 17,63	7,59 - 14,83
D <sup>3</sup>	0,44	1,13	0,15	0,52	0,05	0,53	nd	2,83	2,62
	0,42 - 0,47	1,02 - 1,24	nd - 0,24	0,46 - 0,55	nd - 0,15	0,47 - 0,63		2,64 - 3,05	2,58 - 2,66
E <sup>3</sup>	0,46	1,07	0,41	0,49	0,12	0,65	nd	3,20	2,66
	0,41 - 0,48	0,98 - 1,18	0,30 - 0,56	0,41 - 0,63	nd - 0,19	0,50 - 0,78		2,88 - 3,69	2,47 - 2,94
F <sup>2</sup>	3,24	6,94	1,52	2,28	0,50	2,53	nd	17,00	14,98
	3,10 - 3,38	6,75 - 7,12	1,28 - 1,75	2,10 - 2,45	0,49 - 0,52	2,40 - 2,66		16,12 - 17,88	14,35 - 15,61
H <sup>3</sup>	0,98	1,76	0,57	1,35	0,30	1,64	0,16	6,77	5,73
	0,39 - 1,47	0,01 - 2,89	nd - 0,97	0,49 - 1,81	nd - 0,47	0,69 - 2,42	nd - 0,49	2,58 - 10,00	2,58 - 8,59
I <sup>3</sup>	0,81	1,66	0,48	0,87	0,22	1,13	nd	5,16	4,47
	0,28 - 1,15	0,68 - 2,46	nd - 0,75	0,34 - 1,15	nd - 0,36	0,40 - 1,54		1,71 - 7,41	1,71 - 6,30
J <sup>1</sup>	2,44	5,00	1,49	1,85	0,47	1,97	nd	13,22	11,26
K <sup>3</sup>	2,36	4,25	1,07	1,58	0,42	2,02	nd	11,70	10,21
	1,66 - 2,94	3,01 - 5,60	0,67 - 1,35	1,42 - 1,68	0,37 - 0,52	1,68 - 2,23		8,80 - 14,09	7,76 - 12,37
L <sup>3</sup>	0,08	0,62	0,15	0,35	0,07	0,35	nd	1,67	1,40
	nd - 0,23	nd - 1,13	nd - 0,44	0,29 - 0,45	nd - 0,21	0,33 - 0,36		0,65 - 2,59	0,65 - 1,78

BaA: benzo(a)antraceno, Chy: criseno, 5-MeChy: 5 metilcriseno, BjF: benzo(j)fluoranteno, BbF: benzo(b)fluoranteno, BkF: benzo(k)fluoranteno, BaP: benzo(a)pireno, DaIP: dibenzo(al)pireno, DahA: dibenzo(ah)antraceno, Indeno: 1,2,3 cd-pireno, DaeP: dibenzo(ae)pireno, DaiP: dibenzo(ai)pireno, DahP: dibenzo(ah)pireno. nd: não detectado. <sup>1</sup> n=1 (1 lote), <sup>2</sup>n=2 (2 lotes), <sup>3</sup> n=3 (3 lotes).

Anexo 4

Tabela: Níveis dos Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) encontrados nas marcas de óleos de milho.

	Média (µg/kg) <sup>1</sup> (faixa)										
	BaA	Chy	5-MeChy	BjF	BbF	BkF	BaP	Indeno	DaeP	13 HPAs	4 HPAs
A <sup>3</sup>	3,94 3,04 - 5,36	8,22 6,59 - 9,17	2,66 2,23 - 3,05	1,02 nd - 3,05	4,36 2,96 - 5,40	0,89 0,71 - 1,07	5,90 4,63 - 7,46	2,33 nd - 3,53	0,38 nd - 1,15	29,70 24,93 - 27,40	22,42 19,35 - 27,40
D <sup>3</sup>	2,84 1,43 - 3,90	5,56 3,36 - 7,35	1,19 0,35 - 1,71	nd	1,98 1,33 - 2,36	0,44 0,31 - 0,51	2,37 1,04 - 3,35	nd	0,17 nd - 0,50	14,71 7,82 - 19,65	12,76 7,16 - 16,97
E <sup>3</sup>	2,89 2,19 - 3,33	5,36 4,46 - 5,83	1,06 0,60 - 1,53	nd	2,02 1,23 - 2,47	0,45 0,30 - 0,55	2,87 1,56 - 3,58	nd	0,16 nd - 0,47	14,81 10,33 - 17,08	13,14 9,44 - 15,00
F <sup>2</sup>	2,32 2,32 - 2,32	4,18 3,71 - 4,65	0,84 0,68 - 0,99	nd	1,72 1,58 - 1,86	0,42 0,41 - 0,44	1,83 1,33 - 2,32	nd	nd	11,31 10,98 - 11,65	10,05 9,89 - 10,22
H <sup>2</sup>	3,26 3,12 - 3,40	7,15 7,01 - 7,28	2,27 1,99 - 2,55	nd	3,39 3,37 - 3,41	0,69 0,67 - 0,71	3,00 2,98 - 3,11	nd	nd	19,97 19,71 - 20,24	16,80 16,61 - 16,99
I <sup>3</sup>	3,95 2,14 - 6,67	7,85 3,99 - 13,11	2,30 1,29 - 3,51	nd	3,52 2,23 - 4,89	0,78 0,52 - 1,12	4,12 2,94 - 6,31	0,39 nd - 1,17	0,11 nd - 0,32	23,02 14,59 - 35,61	19,44 11,30 - 30,98
J <sup>1</sup>	6,01	11,15	3,36	2,85	5,07	0,97	5,57	3,12	nd	38,10	27,79
K <sup>2</sup>	1,74 1,02 - 2,46	3,41 2,29 - 4,53	0,86 0,34 - 1,39	nd	1,59 1,01 - 2,18	0,43 0,33 - 0,53	1,93 1,07 - 2,79	nd	nd	9,96 6,05 - 13,88	8,67 5,38 - 11,96
L <sup>3</sup>	0,63 0,41 - 0,92	1,47 1,14 - 1,90	0,10 nd - 0,29	nd	0,67 0,57 - 0,82	0,08 nd - 0,25	0,60 0,27 - 0,87	nd	0,11 nd - 0,34	3,67 2,61 - 5,38	3,37 2,61 - 4,51

BaA: benzo(a)antraceno, Chy: criseno, 5-MeChy: 5 metilcriseno, BjF: benzo(j)fluoranteno, BbF: benzo(b)fluoranteno, BkF: benzo(k)fluoranteno, BaP: benzo(a)pireno, DalP: dibenzo(al)pireno, DahA: dibenzo(ah)antraceno, Indeno: indeno (1,2,3 cd-pireno), DaeP: dibenzo(ae)pireno, DaiP: dibenzo(ai)pireno, DahP: dibenzo(ah)pireno. nd: não detectado. <sup>1</sup> n=1 (1 lote), <sup>2</sup> n=2 (2 lotes), <sup>3</sup> n=3 (3 lotes).