

HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS (HPAS) EM ÓLEOS DE SOJA COMERCIAIS

PAULA R. ANTONIOLLI¹; EDUARDO VICENTE²; MÔNICA C. R. CAMARGO³

Nº 0801032

RESUMO

Este trabalho teve como objetivos desenvolver e validar uma metodologia analítica para a determinação dos Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) benzo(a)antraceno, criseno, benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(j)fluoranteno, benzo(a)pireno, dibenzo(a,h)antraceno, dibenzo(a,e)pireno, dibenzo(a,h)pireno, dibenzo(a,i)pireno, dibenzo(a,l)pireno, indeno(1,2,3-c,d)pireno e 5-metilcriseno em óleos de soja comercializados na cidade de Campinas, SP. A metodologia envolveu extração e pré-concentração dos HPAs em fase sólida (EFS) e determinação por cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por fluorescência. O método foi validado utilizando-se os parâmetros de precisão, recuperação, linearidade e sensibilidade (limites de detecção e quantificação). Os HPAs foram detectados em todas as amostras analisadas. Os níveis de contaminação variaram tanto entre as marcas, quanto entre lotes dentro de uma mesma marca. A concentração média da soma dos HPAs foi de 23,71 µg/kg. Considerando-se apenas o benzo(a)pireno, os valores encontrados em algumas marcas de óleo foram superiores àqueles aceitáveis pela Comunidade Européia.

ABSTRACT

This study was conducted in order to develop and validate a methodology to determinate the Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) benzo(a)anthracene, chrysene, benzo(b)fluoranthene, benzo(k)fluoranthene, benzo(j)fluoranthene, benzo(a)pyrene, dibenzo(a,h)anthracene, dibenzo(a,e)pyrene, dibenzo(a,h)pyrene,

1. Bolsista CNPq: Graduação em Química Mod. Tecnológica, IQ/UNICAMP, Campinas-SP, paulaantoniolli@yahoo.com.br.
2. Orientador: Pesquisador, Centro de Ciência e Qualidade de Alimento-CCQA/ITAL, Campinas-SP.
3. Colaborador: Pesquisador, Centro de Ciência e Qualidade de Alimento-CCQA/ITAL, Campinas-SP.

dibenzo(a,i)pyrene, dibenzo(a,l)pyrene, indeno(1,2,3-c,d)pyrene and 5-methylchrysene in soybean oils commercialized in Campinas, SP. The methodology used involved an extraction and pre-concentration step of these PAHs using phase solid extraction (SPE) and determination by high performance liquid chromatography with fluorescence detection. The method was validated using the parameters of precision, recovery, linearity and sensibility (detection and quantification limits). The PAHs were detected in all samples analysed. Variable levels of contamination were found within different brands of the same product and within different batches of the same brand. The mean concentration of the sum of total PAHs was 23,71 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Considering the benzo(a)pyrene some brands presented quantities above the level accepted by the European Community.

INTRODUÇÃO

A formação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em alimentos tem sido objeto de preocupação nos últimos anos, pois está diretamente relacionado com a segurança alimentar. Os HPAs representam uma importante classe de carcinógenos químicos que fazem parte do dia a dia do homem em função da poluição ambiental, exposição ocupacional e da alimentação. As principais fontes responsáveis pela presença desses contaminantes em alimentos e bebidas são as fontes naturais, a poluição, alguns tipos de processamentos (defumação, secagem, torrefação) e materiais de embalagens (Garcia-Falcón *et al.*, 2005; Lin *et al.*, 2005; WHO, 2005; WHO 2008). O Comitê Conjunto FAO/OMS de Peritos em Aditivos Alimentares (JECFA) durante sua 64^a reunião, realizada em fevereiro de 2005, após revisar e avaliar as informações toxicológicas de 33 HPAs, concluiu que treze, os quais são objetos de estudo no presente trabalho, são comprovadamente carcinogênicos e genotóxicos. Assim, visando proteger a saúde pública, a Comunidade Européia estabeleceu limites máximos para o benzo(a)pireno em alguns alimentos (CEC, 2005). Pesquisas realizadas em diversos países, assim como no Brasil, têm identificado o grupo dos óleos e gorduras como importante fonte de ingestão de HPAs (Camargo & Toledo, 2002; Falcó *et al.*, 2003; Lin *et al.*, 2005). Estudos anteriores mostraram que óleos vegetais disponíveis no comércio se encontravam contaminados com níveis elevados de benzo(a)pireno (Camargo & Toledo, 2002). Dentro desse cenário foi iniciado há dois anos no Instituto de Tecnologia de Alimentos, com recursos da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), um programa de monitoramento, estudos e pesquisas em HPAs, intitulado “Contaminação de Alimentos por Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos”. Com isso, o presente estudo

desenvolveu e validou uma metodologia para a determinação de HPAs em óleos de soja comerciais, assim como, investigou ao longo de seis meses a contaminação de diferentes marcas de óleos por esses compostos.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram adquiridos no comércio de Campinas, SP, três lotes de 10 marcas distintas de óleo de soja, totalizando 30 amostras, que foram preparadas da seguinte forma: pesou-se 0,5 g de óleo, diluiu-se em 5 mL de hexano e a mistura foi extraída duas vezes com porções de 5 mL de dimetilformamida-água (DMF-H₂O) (9:1, v/v). O extrato resultante foi diluído com água até a proporção de 1:1 (v/v) de DMF-H₂O. A amostra foi então introduzida em um cartucho de extração em fase sólida (EFS) C18 AccuBOND II, 500mg/3 mL (Agilent, HP). Primeiramente, os cartuchos foram ativados com 5 mL de metanol e 5 mL da mistura DMF-H₂O (1:1, v/v). Em seguida, as amostras foram aplicadas e o cartucho foi lavado com 10 mL de DMF-H₂O (1:1, v/v) e 10 mL de água. A água residual foi retirada por secagem sob vácuo. Os HPAs retidos na fase estacionária foram eluídos com 10 mL de hexano. O extrato obtido foi evaporado até secagem e diluído em 0,5 mL de acetonitrila. As amostras de óleo foram injetadas no cromatógrafo Shimadzu LC-20A Prominence com detector de fluorescência Modelo RF-10AXL. O aparelho também estava equipado com uma coluna Vydac C18 (201 TP), 25 cm x 4, 6 mm d.i., 5µm, a 30 °C. Os HPAs foram separados utilizando-se um gradiente linear composto de acetonitrila-água, com a composição de acetonitrila variando de 70 a 75% em 20 minutos, de 75 a 100% de 20 a 35 minutos, permanecendo em 100% até 55 minutos. A vazão da fase móvel foi de 1,0 mL/min e o volume injetado foi de 30 µL. A Tabela 1 apresenta a programação de comprimentos de onda utilizada para a detecção dos compostos. O método utilizado para quantificação foi o da padronização externa. O método foi validado utilizando-se os parâmetros de precisão, recuperação, linearidade e sensibilidade (limites de detecção e quantificação).

TABELA 1. Programação dos comprimentos de onda de emissão e excitação.

Tempo (min)	Excitação (nm)	Emissão (nm)	HPA detectado ¹
0,01	268	398	B(a)A, Cri, 5MeCri
16,70	312	507	B(j)F
18,20	290	430	B(b)F, B(k)F, B(a)P, D(al)P, D(ah)A
32,40	300	500	Indeno
34,90	290	410	D(ae)P, D(ai)P
45,00	304	457	D(ah)P

¹B(a)A: benzo(a)pireno; Cri: criseno; 5MeCri: 5-metilcriseno; B(j)F: benzo(j)fluoranteno; B(b)F: benzo(b)fluoranteno; B(k)F: benzo(k)fluoranteno; B(a)P: benzo(a)pireno; D(al)P: dibenzo(al)pireno; D(ah)A: dibenzo(ah)antraceno; Indeno: indeno(1,2,3, cd-pireno); D(ae)P: dibenzo(ae)pireno; D(ai)P: dibenzo(ai)pireno; D(ah)P: dibenzo(ah)pireno.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 apresenta os níveis médios e máximos da soma dos HPAs encontrados nas amostras de óleo de soja analisadas. Apenas o benzo(j)fluoranteno não foi detectado em qualquer um dos lotes de três das dez marcas de óleos de soja avaliadas. Quanto os demais hidrocarbonetos, os níveis de contaminação variaram tanto entre marcas, quanto entre lotes de uma mesma marca. O óleo I foi o que apresentou a maior contaminação média, com um somatório de 39,39 $\mu\text{g}/\text{kg}$ para os treze compostos analisados. Os valores máximos encontrados no óleo B foram provenientes de um único lote, cuja contaminação foi quase duas vezes superior à média obtida (61,62 $\mu\text{g}/\text{kg}$). Isso é motivo de preocupação por várias razões: o óleo de soja é o mais consumido entre a população brasileira, a marca B foi a mesma marca relatada por Camargo & Toledo (2002) como a mais contaminada em trabalhos anteriores e é, hoje em dia, uma das mais vendidas, de acordo com diferentes supermercados. Paralelamente, considerando-se apenas o benzo(a)pireno, quatro marcas de óleo de soja analisadas (B, C, D e I) apresentaram teores médios superiores ao estabelecido pela Comunidade Européia, que é de 2,0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ (CEC, 2005).

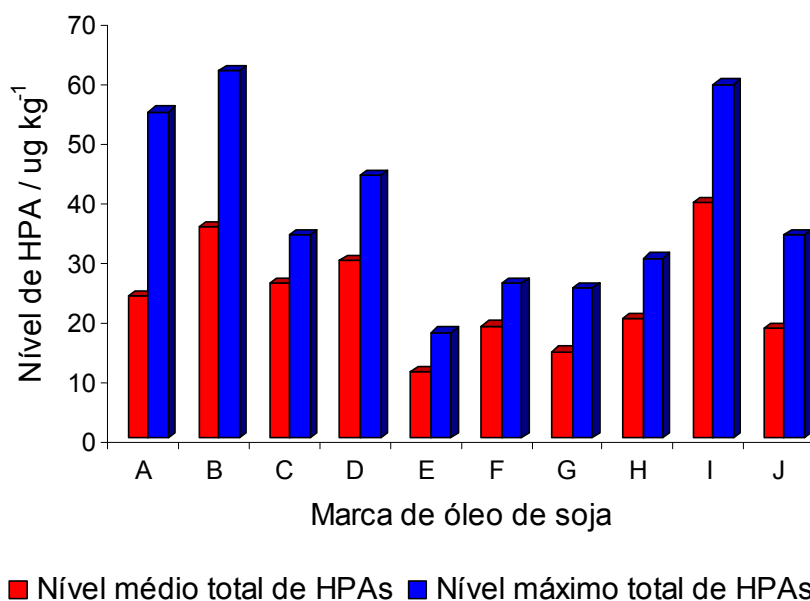


FIGURA 1. Níveis médios e máximos da soma de HPAs ($\mu\text{g}/\text{kg}$) em amostras de óleo de soja.

Quanto ao desenvolvimento do método, a precisão obtida foi menor do que 15%, a linearidade foi boa para todos os HPAs ($r > 0,999$), as recuperações obtidas variaram entre 62 e 120% e o limite de quantificação para o benzo(a)pireno foi de 0,25 µg/kg, conseguindo desta forma atingir os baixos níveis estabelecidos por órgãos internacionais.

CONCLUSÃO

O método apresentou bons resultados de recuperação, precisão e limite de quantificação para a maioria dos HPAs analisados. Todo o procedimento (incluindo a ESF e análise cromatográfica) requer aproximadamente 90 minutos. Isto, aliado a menor quantidade de solvente, de descarte de resíduos e exposição do analista, o torna adequado para análises de rotina. Em relação à contaminação dos óleos de soja analisados, quatro marcas apresentaram teores médios de benzo(a)pireno superiores ao estabelecido pela Comunidade Européia que é de 2,0 µg/kg (CEC, 2005). Considerando-se os valores máximos, metade dos óleos estava acima do limite permitido.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CAMARGO, M. C. R.; TOLEDO, M. C. F. Avaliação da contaminação de diferentes grupos de alimentos por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. *Brazilian Journal of Food Technology*. v. 5, n. 76, p. 19-26, 2002.

CEC – The Commission of the European Communities. Commission Regulation (EC) N° 208/2005 de 4 de fevereiro de 2005. *Official Journal of European Union*, p.3 8.2.2005.

FALCÓ, G.; DOMINGO, J.L.; LLOBET, J.M.; TEIXIDÓ, A.; CASAS, C.; MULLER, L. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in foods: human exposure through the diet in Catalonia, Spain. *Journal of Food Protection*, v.12, p. 2325-2331, 2003.

GARCIA-FÁLCON, M.S.; CANCHO-GRANDE, B.; SIMAL-GÁNDARA, J. Minimal clean-up and rapid determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in instant coffee. *Food Chemistry*, v. 90, p.643-647, 2005.

LIN, D.; YOUYING, T.; LIZHONG, Z. Concentrations and health risk of polycyclic aromatic hydrocarbons in tea. *Food and Chemical Toxicology*, v.43, p.41-48, 2005.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Summary and conclusions of the sixty-fourth meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Rome: WHO, 47p, 2005.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Proposed draft code of practice for the reduction of contamination of food with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) from smoking and direct drying processes. Summary and conclusions of the third one Joint FAO/WHO Food Standards Programme, Codex Committee on Contaminants in foods. Hague, The Netherlands, 31 março-4 abril, 2008.