

HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS EM ÓLEOS COMPOSTOS COMERCIALIZADOS NO BRASIL

GABRIELA R. **PADOVANI**¹; MÔNICA C. R. **CAMARGO**²; REGINA P. Z. **FURLANI**²;
SILVIA A. V. **TFOUNI**³

Nº 12220

RESUMO

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) são compostos formados a partir da queima incompleta de material orgânico, são considerados importantes contaminantes ambientais e têm sido muito estudados devido ao seu potencial carcinogênico. A contaminação de óleos vegetais por HPAs pode ser considerada como umas das maiores fontes de ingestão desses compostos através da dieta. Os óleos compostos são obtidos a partir da mistura de óleos de duas ou mais espécies vegetais, sendo o mais comum uma mistura de azeite de oliva e óleo de soja. O objetivo do presente estudo foi validar uma metodologia analítica para determinação de 13 HPAs em óleo composto e avaliar a presença desses contaminantes em produtos disponíveis no comércio. A método envolveu extração com hexano e dimetilformamida:água, limpeza em cartucho SPE C18 e determinação por HPLC com detector de fluorescência. A metodologia utilizada se mostrou adequada, com valores médios de recuperação entre 50,0% e 109,0% e limites de detecção e quantificação menores que 0,26 µg/kg e 0,34 µg/kg, respectivamente. HPAs foram detectados em todas as 24 amostras analisadas com a somatória dos compostos variando de 3,80 µg/kg a 48,91 µg/kg. Houve uma grande variação nos níveis de HPAs entre as diferentes marcas avaliadas e também entre diferentes lotes de uma mesma marca. Aproximadamente 46% das amostras apresentaram níveis de benzo(a)pireno acima do limite permitido para óleos e gorduras pela legislação européia (2,0 µg/kg).

¹ Bolsista CNPq: Graduação em Engenharia de Alimentos, Faculdade de Jaguariúna - FAJ, Jaguariúna-SP. ga.ramalho@hotmail.com.

² Colaboradora: Pesquisadora, CCQA/ITAL, Campinas-SP.

³ Orientadora: Pesquisadora, CCQA/ITAL, Campinas-SP.

ABSTRACT

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are organic compounds formed during incomplete combustion or pyrolysis of organic matter and have been widely studied due to their carcinogenic potential. The presence of PAHs in vegetable oils has been reported as one of the most important sources of these compounds intake. Oil blends are made by a mixture of oils from two or more vegetable species, usually olive oil and soybean oil. The objective of the present study was to validate an analytical methodology for determination of 13 PAHs in oil blends and evaluate their presence in products commercially available. The method involved liquid-liquid extraction with hexane and N,N-dimethylformamide, SPE clean-up with C18 cartridges and analyses by HPLC with fluorescence detection. Method was adequate for PAHs analyses presenting recovery of 50.0% to 109.0% and detection and quantification limits up to 0.26 µg/kg e 0.34 µg/kg, respectively. There was a high variability of PAHs levels among the different brands evaluated and also among different batches of the same brand. Approximately 46% of the samples presented benzo(a)pyrene levels above the maximum limit for oil and fats laid down by the European regulation (2.0 µg/kg).

INTRODUÇÃO

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) constituem uma ampla classe de compostos formados a partir da queima incompleta de material orgânico e são considerados importantes contaminantes ambientais. Ao longo dos anos esses compostos têm sido muito estudados devido ao seu potencial carcinogênico (WHO, 1998; WHO, 2005).

Os alimentos são uma das principais rotas de exposição humana aos HPAs. A presença desses compostos em alimentos se deve principalmente à contaminação ambiental e à sua formação durante o processamento de alimentos em etapas envolvendo defumação, torrefação e secagem direta com madeira (WHO, 1998).

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, azeitona, amendoim, soja, girassol, milho e canola (Dorsa, 2004). Os óleos mistos ou compostos são os produtos obtidos a partir da mistura de óleos de duas ou mais espécies vegetais, sendo que os mais comuns apresentam em sua composição uma mistura de azeite de oliva e óleo de soja.

A contaminação de óleos vegetais por HPAs é muito comum e tem sido muito estudada ao longo dos anos, sendo reportada como umas das maiores fontes de

ingestão desses compostos, pela população, através da dieta (Toledo e Camargo, 1998; Moret e Conte, 2000; Teixeira *et al.*, 2007). 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 (Toledo e Camargo, 1998; Moret e Conte, 2000).

Sendo assim, o objetivo do presente estudo foi validar uma metodologia analítica para determinação de 13 HPAs em óleo composto e avaliar a presença desses contaminantes nos produtos disponíveis no comércio.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostras:

Foram coletadas, em supermercados da região de Campinas-SP, amostras de oito diferentes marcas de óleo composto, sendo 3 lotes de cada, totalizando 24 amostras. Os óleos compostos foram então analisados em duplicata quanto à presença de 13 HPAs: benzo(a)antraceno (BaA), criseno (Chy), 5-metilcriseno (5MeChy), benzo(j)fluoranteno (BjF), benzo(b)fluoranteno (BbF), benzo(k)fluoranteno (BkF), benzo(a)pireno (BaP), dibenzo(al)pireno (DaIP), dibenzo(ah)antraceno (DahA), indeno(1,2,3 cd-pireno) (Indeno), dibenzo(ae)pireno (DaeP), dibenzo(ai)pireno (DaiP) e dibenzo(ah)pireno (DahP).

Extração e limpeza:

O método analítico foi baseado naquele proposto por Camargo *et al.* (2011a) e envolveu dissolução da matriz em hexano, extração com solução de dimetilformamida-água (9:1, v/v) e limpeza em cartuchos de extração em fase sólida (C18).

Análise cromatográfica:

A técnica empregada foi a cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por fluorescência. Para a separação dos compostos foi utilizada uma coluna C18 e um gradiente de fase móvel composta por acetonitrila-água a um fluxo de 1 mL/min e volume de injeção de 30 µL. A detecção foi feita através de uma programação de comprimentos de onda. A quantificação foi feita por padronização externa.

Validação das metodologias analíticas para HPAs: A curva de calibração foi construída com injeções em duplicata de soluções padrão dos 13 HPAs em acetonitrila com concentrações variando de 0,29 a 8,40 ng/mL. Para os testes de recuperação, amostras de óleo composto foram fortificadas com soluções padrão de HPAs em 3 diferentes concentrações (1,0, 2,0 e 5,0 µg/kg) e as análises foram feitas em cinco replicatas. A repetibilidade do método foi avaliada pelo coeficiente de variação (CV) associado às medidas de cada HPA durante os testes de recuperação. Os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) foram calculados de acordo com a orientação do INMETRO (2010).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A metodologia utilizada se mostrou adequada para a análise dos 13 HPAs em amostras de óleo composto. As curvas de calibração se mostraram lineares na faixa de trabalho utilizada, sendo que os coeficientes de correlação linear (r) variaram de 0,9991 a 0,9998. Os valores médios de recuperação obtidos ficaram entre 50,0% e 109,0%, com um CV máximo de 23,2%. O limite de detecção do método variou de 0,06 µg/kg (BjF) a 0,26 µg/kg (DaiP), e o limite de quantificação variou de 0,24 µg/kg (BjF) a 0,34 µg/kg (Indeno).

Esses resultados são considerados satisfatórios para determinações em níveis de µg/kg e atendem aos critérios de performance propostos pela União Européia para análise de BaP em alimentos, onde é estabelecido que o LOD e o LOQ sejam menores que 0,3 e 0,9 µg/kg, respectivamente, e que a recuperação fique na faixa de 50 a 120% (CEC, 2007).

A figura 1 apresenta a somatória dos 13 HPAs nas amostras de óleo composto avaliadas. Os HPAs foram detectados em todas as amostras analisadas com níveis variando de 3,80 µg/kg (marca B, lote 3) a 48,91 µg/kg (marca E, lote 1). Os HPAs BaA, Chy, BbF e DaeP foram detectados em todas as amostras, enquanto o DaiP e o DahP não se encontraram presentes nas mesmas.

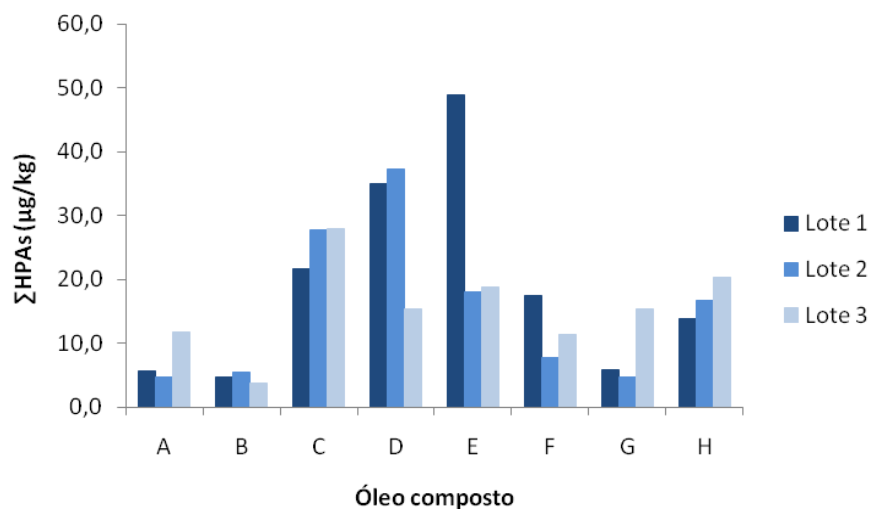


FIGURA 1. Níveis da somatória de HPAs, por lote, nas amostras de óleo composto analisadas.

De acordo com os resultados apresentados na figura 1 pode-se notar uma grande variação nos níveis de HPAs entre as amostras (55,8% entre as marcas avaliadas) e também entre diferentes lotes de uma mesma marca (de 10,3% para a marca B a 54,6% para a marca G). Esses resultados estão de acordo com os reportados na literatura, onde também houve grande variação nos níveis entre diferentes marcas e lotes de óleos vegetais (Ballesteros *et al*, 2006; Fromberg *et al*, 2007; Camargo *et al*, 2011b). Essa variabilidade é possivelmente devido às diferentes origens dos óleos e do seu processamento, principalmente na etapa de secagem a que os grãos são submetidos.

A legislação brasileira não estabelece limites máximos de HPAs em óleos compostos, há apenas regulamentação para óleo de bagaço ou caroço de oliva cujo limite é de 2,0 µg/kg para o BaP (Brasil, 2003). A legislação européia, por sua vez, estabelece o mesmo limite (2,0 µg/kg para BaP), entretanto ele abrange toda a categoria de óleos e gorduras (CEC, 2011). Ao se utilizar esse limite como base de comparação verifica-se que os valores determinados para esse composto, apresentados na tabela 1, podem ser considerados altos, sendo que 46% das amostras apresentaram níveis acima desse limite.

Tabela 1. Níveis de benzo(a)pireno em diferentes marcas e lotes de óleo composto.

Marca	BaP (µg/kg)*			
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Média
A	0,41	0,29	0,84	0,51
B	0,29	0,59	0,30	0,39
C	2,94	3,82	4,46	3,74
D	8,00	8,41	1,31	5,91
E	17,44	1,68	3,83	7,65
F	2,47	0,98	1,19	1,54
G	0,70	0,52	1,59	0,93
H	2,28	2,54	3,27	2,69

* Média de duplicata

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos a partir dos testes de recuperação, linearidade e limites de detecção e quantificação indicam que a metodologia é adequada e pode ser empregada para análise de 13 HPAs em óleo composto.

Houve uma grande variação nos níveis de HPAs encontrados nas diferentes marcas e lotes dos produtos analisados, o que mostra possíveis diferenças sazonais e de processamento empregadas na produção desse tipo de óleo.

Os níveis encontrados, quando comparados com a legislação, mostram que os óleos vegetais continuam sendo uma classe de produtos passíveis de contaminação por HPAs, sendo, portanto indicado que na legislação nacional limites máximos sejam estabelecidos para esses compostos em óleos vegetais e que esses produtos sejam constantemente monitorados.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela bolsa de iniciação científica concedida (PIBIC/CNPq) e à FAPESP pelo apoio financeiro ao projeto de pesquisa (processo 2011/10966-4).

REFERÊNCIAS

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**, Amsterdam, v. 1111, p. 89-96, 2006.

BRASIL. Resolução RDC nº 281, de 06 de outubro de 2003. **Diário Oficial da União**, 08 outubro, 2003.

CAMARGO, M.C.R. ANTONIOLLI, 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**, São Paulo, v. 22, n. 7, p. 1354-1361, 2011a.

CAMARGO, M.C.R.; ANTONIOLLI, P.R.; VICENTE, E.; TFOUNI, S.A.V. Polycyclic aromatic hydrocarbons in Brazilian soybean oils and dietary exposure. **Food Additives and Contaminants Part B**, London, v. 4, n. 2, p. 152-159, 2011b.

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*. Official Journal of European Union, 20.08.2011.

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

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**, London, v. 24, n. 7, p. 758-767, 2007.

INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. *Orientação sobre validação de métodos de ensaios químicos*. DOQ-CGCRE-008. Revisão 3. Fevereiro, 2010.

MORET, S.; CONTE, L.S. Polycyclic aromatic hydrocarbons in edible fats and oils: occurrence and analytical methods. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 882, p. 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**, Amsterdam, v. 104, p. 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**, Campinas, v. 18, n. 1, p. 73-76, 1998.

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.