

Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos - benzo(a)pireno: uma revisão

Polycyclic aromatic hydrocarbons - benzo(a)pyrene: a review

RIALA6/1146

Miriam Solange Fernandes CARUSO^{1*}, Janete ALABURDA²

* Endereço para correspondência: ¹Instituto Adolfo Lutz, Divisão de Bromatologia e Química, Laboratório de Cromatografia. Av. Dr. Arnaldo, 355 CEP 01246-902, São Paulo,SP/Brasil.E-mail: micaruso@ial.sp.gov.br

² Instituto Adolfo Lutz, Divisão de Bromatologia e Química, Seção de Química Biológica. Av. Dr. Arnaldo, 355, CEP 01246-902, São Paulo,SP/Brasil.

Recebido: 01/06/2007 – Aceito para publicação: 03/04/2008

RESUMO

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) constituem um grupo de compostos contendo dois ou mais anéis aromáticos condensados. Estes compostos são formados, principalmente, pela combustão incompleta da matéria orgânica. Os estudos em cobaias têm demonstrado que muito desses compostos, incluindo o benzo(a)pireno (BaP), são carcinogênicos e mutagênicos, sendo também considerados potencialmente genotóxicos e carcinogênicos para os humanos. O BaP é um dos HPAs mais estudados e é utilizado como indicador da presença de outros HPAs. Esse composto é um contaminante de ampla distribuição ambiental, presente em diversas matrizes, como solo, água, ar e alimentos. Na presente revisão são abordados os aspectos gerais dos HPAs, especialmente do BaP, assim como as metodologias analíticas publicadas desde a década de 1960. São apresentadas as modificações nos diferentes métodos de extração e nos solventes utilizados, as quais têm resultado numa significativa redução de tempo de análise, de volumes de solvente e de custo. São também discutidas as técnicas cromatográficas empregadas para a quantificação desses compostos, como CLAE e CGMS.

Palavras-chave. benzo(a)pireno, técnicas analíticas, alimentos, bebidas, água.

ABSTRACT

Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are a chemical group composed of more than one hundred organic compounds containing two or more condensed aromatic rings. They are produced by an incomplete combustion of organic material. Many of them, including benzo(a)pyrene (BaP), have shown to be carcinogenic and mutagenic in experimental animals, and these compounds have been regarded as potentially genotoxic and carcinogenic to humans. BaP has been the most commonly subject of study, and PAH compound has been used as an indicator of total PAHs contamination. The present review describes some general topics on PAHs, mainly BaP, including the analytical methodologies for its quantification, which have been reported since 1960. Modifications on different extraction methodology and solvents, which resulted in reduction of turn-around time, solvent volumes, and analysis cost are also discussed. Chromatography techniques for PAHs and BaP quantification, such as HPLC and GC-MS are commented.

Key words. polycyclic aromatic hydrocarbons, benzo(a)pyrene, analytical methodologies, food, beverage, water.

INTRODUÇÃO

Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos

Nas últimas décadas, a contaminação de alimentos por substâncias tóxicas tem sido objeto de intensas pesquisas. Diversas classes de compostos químicos de diferentes origens vêm sendo detectadas em alimentos e bebidas, dentre elas os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs)¹⁻⁶.

Os HPAs representam uma família de mais de 100

compostos orgânicos, formados por carbono e hidrogênio, contendo 2 ou mais anéis aromáticos condensados. São formados, principalmente, em processos de combustão incompleta de matéria orgânica e encontram-se na natureza como contaminantes de solos, ar, água e alimentos¹. Os HPAs são poluentes orgânicos de importância ambiental e de interesse toxicológico, pois muitos apresentam propriedades pré-carcinogênicas e/ou mutagênicas para homens e animais^{4,7}.

Origem

Os HPAs são produzidos por combustão incompleta ou pirólise da matéria orgânica. A formação pirolítica de HPAs é bastante complexa e variável, dependendo das condições reacionais. O esquema mecanístico aceito para esta reação envolve a polimerização via radicais livres, em várias etapas, até a formação de núcleos aromáticos condensados⁷. A formação destes compostos depende de fatores como tipo da biomassa presente, quantidade de oxigênio disponível, pressão e, principalmente, de calor, pois a concentração de HPAs aumenta linearmente na faixa de temperatura de 400 a 1000°C⁸.

Estudos revelam que os HPAs podem ser provenientes de várias fontes antropogênicas como queima de carvão, escapamentos de veículos, óleos lubrificantes usados em motores, fumaça de cigarro, dentre outras, bem como de fontes ambientais como erupções vulcânicas e queimadas espontâneas. A contribuição de fontes naturais é muito limitada, contribuindo com pequenas quantidades de HPAs, enquanto que as fontes antropogênicas representam o principal processo de emissão destes compostos^{2,3,9}.

Propriedades físico-químicas dos HPAs

As propriedades físicas e químicas dos HPAs são amplamente determinadas pelo sistema de duplas conjugadas presentes nas estruturas desta classe de compostos. À temperatura ambiente todos os HPAs são sólidos e apresentam, comumente, altas temperaturas de fusão e ebulição, baixas pressão de vapor e solubilidade em água. Os valores referentes a estas duas últimas propriedades tendem a diminuir com o aumento da massa molecular⁷.

Alguns HPAs são semi-voláteis, porém, muitos deles podem ser transportados até longas distâncias e serem adsorvidos em material particulado^{10,11}. HPAs com 2 ou 3 anéis aromáticos estão quase totalmente na fase de vapor; aqueles com 4 anéis encontram-se numa posição intermediária. Os HPAs com 5 ou mais anéis aromáticos são encontrados predominantemente em particulados (cinzas ou fuligens cujas partículas são menores que 2,5 µm)⁸.

Com relação à sua característica lipofílica, os HPAs tendem a se acumular em tecidos lipídicos de plantas e animais; com relação às plantas, estes compostos concentram-se mais na superfície (peles e folhas) do que nos tecidos internos¹⁰. Apesar da pouca solubilidade em água, os mesmos podem ser transportados em meios aquáticos, adsorvidos em partículas em suspensão, ficando posteriormente, depositados nos sedimentos¹¹. Devido a habilidade em filtração de água e por não apresentarem capacidade de biotransformá-los, determinados animais marinhos, como ostras e mexilhões, acabam acumulando os HPAs em seus organismos¹².

Os HPAs são quimicamente inertes, porém, quando reagem, participam de reações de substituição eletrofílica e de adição. No caso das reações de adição, os compostos formados tendem a sofrer reações de eliminação, regenerando a aromaticidade⁷.

Toxicidade

O interesse pelo estudo da contaminação por HPAs e seus derivados reside no fato de que muitos deles são potencialmente carcinogênicos e mutagênicos^{4,13}. Os HPAs estão entre aqueles poluentes ambientais que apresentam atividade cancerígena e mutagênica, podendo provocar tumoração em animais e mutação em bactérias².

A exposição humana aos HPAs pode ocorrer por diferentes vias, como inalação, pele ou por ingestão. A ação exercida pelos HPAs é ativada durante o seu processo metabólico, visando à formação de compostos hidrossolúveis para facilitar a sua excreção. O mecanismo de eliminação envolve a formação de epóxidos, seguidos de compostos polihidroxilados, os quais são mais solúveis em água, viabilizando a sua eliminação pela via urinária. Um destes intermediários pode reagir com a guanina do DNA e formar um aduto dando origem a processos de tumoração⁷.

Segundo a Agência Internacional de Pesquisas sobre o Câncer (IARC), os HPAs são classificados de acordo com a evidência de carcinogenicidade em humanos e em animais experimentais. A Tabela 1 apresenta a classificação de alguns HPAs de acordo com a evidência de sua carcinogenicidade¹⁴.

Tabela 1. Classificação de alguns HPAs de acordo com os grupos estabelecidos pela IARC, com relação à evidência carcinogenicidade¹⁴.

HPA	Classificação
Antraceno	Grupo 3
Benzo(a)antraceno	Grupo 2B
Benzo(b)fluoranteno	Grupo 2B
Benzo(j)fluoranteno	Grupo 2B
Benzo(k)fluoranteno	Grupo 2B
Benzo(g,h,i)fluoranteno	Grupo 3
Benzo(c)fenantreno	Grupo 2B
Benzo(a)pireno	Grupo 1
Benzo(e)pireno	Grupo 3
Criseno	Grupo 2B
Coroneno	Grupo 3
Dibenzo(a,c)antraceno	Grupo 3
Dibenzo(a,h)antraceno	Grupo 2 ^A
Dibenzo(a,j)antraceno	Grupo 3
Fluoranteno	Grupo 3
Fluoreno	Grupo 3
Indeno 1,23-cd-pireno	Grupo 2B
Naftaleno	Grupo 3
Pireno	Grupo 3

Incidência de HPAs nos alimentos

Os alimentos e bebidas são uma das maiores fontes de exposição humana aos HPAs. A ocorrência destes nos alimentos é influenciada pelas mesmas características físico-químicas que determinam sua absorção e distribuição em humanos². Diversos estudos têm sido realizados comprovando a presença destes compostos em vários alimentos brutos ou processados, além de bebidas e águas^{1,15-18}.

Os alimentos podem ser contaminados a partir de HPAs disseminados no meio ambiente (ar atmosférico, solo ou água) ou durante o processamento e cozimento. As principais etapas de processamento são secagem e defumação e as de cozimento são as que utilizam altas temperaturas, tais como aquelas que envolvem ações de grelhar, assar e fritar¹⁹. Em áreas distantes de centros urbanos e industriais, os teores de HPAs presentes nos alimentos não processados refletem a contaminação ambiental¹³.

Algumas pesquisas têm sido realizadas com o objetivo de se avaliar quais são os grupos de alimentos que mais contribuem na ingestão humana destes contaminantes. Diversos trabalhos relatam a ocorrência de HPAs em diversos tipos de alimento, incluindo óleos vegetais, margarinas, maionese, produtos defumados, chás, café, leite e produtos lácteos, cereais, frutas, vegetais, carnes, peixes e frutos do mar, entre outros^{15,16,18,20-23}.

Na Inglaterra, em um estudo realizado em 1983, foi verificado que dentre os grupos de alimentos, o dos óleos e gorduras e o dos cereais foram os que apresentaram os maiores níveis de HPAs. Apesar do grupo de óleos e gorduras apresentarem os maiores teores de HPAs, o grupo dos cereais foi o que mais contribuiu para a ingestão diária devido ao seu alto consumo¹⁸.

Na Holanda, verificou-se a presença de 17 HPAs nos principais grupos alimentícios que fazem parte da dieta da população, sendo que a ingestão de açúcar e correlatos foi uma das maiores fontes de HPAs. Nestes produtos foi observada uma elevada concentração de criseno, equivalente a 36 µg.kg⁻¹¹⁵. Em uma outra pesquisa também realizada na Holanda, os autores observaram altos teores de HPAs em mexilhão e em repolho²⁴. A estimativa da ingestão diária de HPAs foi de 1,1 a 22,0µg/pessoa/dia, sendo que 30% desse valor correspondeu aos HPAs com atividade carcinogênica.

Na Itália foi constatado que os grupos dos cereais, produtos lácteos, carnes, vegetais e frutas foram os maiores responsáveis pela ingestão de HPAs. A estimativa da ingestão foi de 3,0 µg/pessoa/dia com base em todos HPAs e de 1,4 µg/pessoa/dia para os carcinogênicos²³.

No Brasil, a ingestão diária de HPAs foi estimada em 11 regiões, com base em valores médios de consumo *per capita* de alimentos e em dados analíticos dos níveis de HPAs totais e carcinogênicos; foram escolhidos os alimentos representativos da dieta destas regiões. As maiores concentrações de HPAs foram obtidas no grupo de óleos e gorduras, seguido pelos grupos de açúcares e vegetais. Os óleos e gorduras se

destacaram como fonte de HPAs em 10 áreas estudadas, sendo que, somente em Belém, o grupo das carnes contribuiu de forma mais significativa para a ingestão diária desses contaminantes²⁵.

No âmbito do *Codex Alimentarius*, a necessidade de estabelecimento de limites para HPAs em alimentos tem sido manifestada por inúmeros países. Em 1991, o benzo(a)pireno foi reavaliado pelo Comitê Conjunto FAO/OMS de Peritos em Aditivos Alimentares (JECFA), que recomendou a elaboração de estratégias por parte das indústrias e dos consumidores para minimizar a exposição humana a este contaminante. Na 64ª Reunião do JECFA, realizada em Roma, em fevereiro de 2005, este Comitê identificou 13 HPAs como sendo genotóxicos e carcinogênicos, sendo eles: benzo(a)antraceno, benzo(b)fluoranteno, benzo(j)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno, criseno, dibenzo(a,h)antraceno, dibenzo(a,e)pireno, dibenzo(a,h)pireno, dibenzo(a,i)pireno, dibenzo(a,l)pireno, indeno[1,2,3-cd]pireno e 5-metilcriseno²⁶.

A Tabela 2 apresenta os teores de HPAs totais em algumas amostras de alimentos e bebidas. A partir dos dados é possível observar como o processamento pode influenciar na contaminação dos produtos, uma vez que os que apresentam os maiores teores de HPAs são aqueles submetidos a processos que envolvem elevadas temperaturas como secagem, torrefação ou defumação. Nas infusões de chá e café as concentrações de HPAs são relativamente menores em função da baixa solubilidade destes compostos em água, ficando depositados nas folhas ou partículas do pó. As bebidas alcoólicas foram as que apresentaram os teores mais baixos de HPAs, provavelmente, porque a destilação favorece a eliminação destes contaminantes^{1,5,7,10,16,17,19,21,27,28}.

Tabela 2. Concentração de HPAs totais em alguns tipos de alimentos e bebidas.

Gênero	HPAs Totais (ppb)	Referência
Óleos vegetais/gorduras	32,90	1
Margarinas	1,7 – 3,9	7
Carnes e derivados	13,43	16
Carnes defumadas (porco, salsicha e salmão)	5 - 52	19
Açúcar	15,44	1
Purê de batata	9,35 – 17,1	17
Vegetais	0,887	16
Pó de café	20,04	21
Café coado	3,0	21
Chá preto (folhas)	8800 ± 360	10
Chá verde (folhas)	566 ± 35	10
Chá mate (infusão)	0,6418 – 2,319	27
Cachaça	ND a 1,94	28
Rum branco	ND a 0,0009	5
Whisky	0,0036	5

ND = não detectado

Degradação

Os HPAs são quimicamente estáveis, mas são suscetíveis à oxidação e foto-degradação pela luz. As meias vidas no ar variam numa faixa de poucas horas a dias; já, no solo, estima-se que as meias vidas possam ser de vários meses a muitos anos⁹.

Os HPAs com 4 anéis aromáticos são biodegradáveis sob condições aeróbias e a velocidade de degradação diminui com o aumento do número de anéis. A biodegradação sob condições anaeróbias é lenta para todos os compostos. Normalmente, as reações acontecem pela introdução de dois grupos hidroxilas nos núcleos aromáticos, formando dihidrodíóis intermediários. A degradação bacteriana produz cis-dihidrodíóis intermediários, enquanto que o metabolismo dos fungos e mamíferos produz trans-dihidrodíóis intermediários. Certos tipos de algas também podem degradar os HPAs⁹.

Benzo(a)pireno

Dentre os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos, o benzo(a)pireno é um dos mais conhecidos e estudados. Segundo a recomendação da International Union Pure and Applied Chemistry, IUPAC, a grafia correta é benzo[a]pireno, enquanto que o Chemical Abstract adota benzo(a)pireno. Também são observados na literatura as seguintes formas: benzo(def)criseno; 1,2-benzopireno; 3,4-benzopireno; 6,7-benzopireno; alfa-benzopireno; benzo(alfa)pireno; 3,4-benzpireno; 3,4-benz(a)pireno; BaP e B(a)P^{4,9,29}.

Breve histórico

O início dos estudos dos HPAs teve sua origem em 1931 com o isolamento do benzo(a)pireno (BaP) a partir do carvão e sua síntese no mesmo ano. Os primeiros dados referentes aos riscos ocupacionais e ambientais dos HPAs foram obtidos em 1922 pela demonstração de que extratos orgânicos de fuligem eram carcinogênicos em animais. Além da atividade cancerígena do extrato de material particulado ambiental, o BaP foi identificado em fuligem doméstica e posteriormente em material particulado ambiental. Em 1970, ele foi caracterizado como um agente cancerígeno de distribuição mundial, em ambientes respiráveis e como constituinte de aerossóis urbanos³⁰.

Dentre os HPAs, o BaP tem sido o composto mais amplamente avaliado. Em fevereiro de 2005 a Comissão da Comunidade Européia, através do Regulamento (CE) n° 208 de 04 de fevereiro de 2005, estabeleceu níveis máximos para benzo(a)pireno em alguns alimentos, tais como: peixes, óleos e gorduras ($2,0\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$); crustáceos, carnes e peixes defumados ($5,0\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$); moluscos bivalves ($10,0\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) e alimentos infantis ($1,0\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)³¹. No Brasil, a legislação vigente somente determina que os aromatizantes/aromas de fumaça não poderão fornecer mais de $0,03\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ de benzo(a)pireno no alimento final³² e estabelece limite máximo de $0,7\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ de benzo(a)pireno em águas potáveis³³.

Características físico-químicas

O BaP possui a aparência de cristais amarelo-pálidos em forma de agulhas, fórmula molecular $\text{C}_{20}\text{H}_{12}$ e peso molecular 252,3⁹. Apresenta baixa volatilidade, seus pontos de fusão e ebulição são 178,1 e 310-312°C (a 10mmHg), respectivamente. Sua pressão de vapor (25°C) é $2,13 \times 10^{-5}$ e a constante de Henry (20°C) $1,86 \times 10^{-5}$. Sofre foto-oxidação quando exposto à luz solar ou radiação fluorescente. Reage com NO ou NO₂ para formar nitroderivados; é oxidado pelo ozônio, produzindo benzo(a)pireno-(1,6 ou 3,6)-quinona^{9,13}.

Como os demais HPAs, o BaP é lipossolúvel, apresentando coeficiente de partição octanol/água (log Kow) igual a 6,04 e solubilidade em água a 25°C de $3,8\mu\text{g}/\text{L}$ ¹³. Desta forma, em sistemas aquosos, o BaP tende a concentrar-se em sedimentos ou permanecer associado à matéria orgânica em suspensão⁹.

Toxicidade

O BaP é considerado um dos mais potentes agentes carcinogênicos em animais, além de embriotóxico e teratogênico¹⁴. Por esta razão, ele tem sido utilizado como indicador da presença de outros HPAs em amostras ambientais, alimentos e bebidas³¹.

Após ser absorvido por animais, o BaP é biotransformado no fígado por uma classe enzimática denominada citocromo P-450 monooxigenases. Nas células hepáticas, as reações catalisadas pela citocromo P450-monooxigenase se processam no compartimento celular composto por uma rede tridimensional de túbulos e cisternas interconectados, que vai desde a membrana nuclear até a membrana plasmática, isto é, no retículo endoplasmático. Estas conexões intracelulares permitem que, após as reações de biotransformação, os HPAs hidroxilados sejam eliminados da célula⁹.

A toxicidade do BaP é provocada por sua potente ação pró-carcinogênica uma vez que alguns dos seus metabólitos intermediários são intercalantes de DNA e, portanto, agentes mutagênicos/oncogênicos. Processos neoplásicos são claramente observados em fígado de peixes e mamíferos já após 6 h ao tratamento com concentrações de BaP da ordem de 250 ppb².

Metodologia analítica para determinação de BaP e outros HPAs em amostras de alimentos, bebidas e águas.

A metodologia para análise de BaP ou outros HPAs em alimentos vem sofrendo modificações visando aumentar a eficácia dos métodos em relação à extração, sensibilidade e reprodutibilidade, entre outros parâmetros. A Tabela 3 traz uma revisão de diversos trabalhos científicos desde a década de 60 nos quais estão descritos os métodos mais utilizados para análise de BaP ou HPAs em alimentos, bebidas e águas, bem como as respectivas concentrações encontradas. A seguir, estão descritas as metodologias de extração e de quantificação de HPAs comumente utilizadas.

Tabela 3. Evolução da metodologia para análise de HPAs e BaP ao longo do tempo.

ANO	REF.	AMOSTRA	BaP, ppb	MÉTODO	RECUPERAÇÃO	LD/LQ
1966	6	Alimentos defumados (500g): queijo tipo Gouda, peixes (salmão e esturjão), presunto, porco. Alimentos não defumados e queijo tipo Cheddar (500g).	Alimentos defumados.: ND-3,2 Peixes não defumados: BaP não encontrado Queijo tipo Cheddar: BaP não encontrado (apenas pireno e fluoranteno).	Saponificação com KOH etanólico; ELL com isoctano; purificação em coluna clássica de Florisil (elução com benzeno); ELL com H ₃ PO ₄ , DMSO/isoctano; purificação em coluna de Florisil (elução com benzeno); separação em cromatografia em papel e em camada delgada; Quantificação: medida da absorbância por espectrofotometria-UV. Reagentes e solventes utilizados (quantidades aproximadas): Na ₂ SO ₄ (785g), KOH (50g), Etanol (1350 mL), isoctano (1050 mL), benzeno (535mL), H ₃ PO ₄ (300mL), DMSO (150 mL).	P/ 2 ppb: Salsicha: 71% Queijo: 77% Peixe: 78%	Não citado.
1966	34	Óleos vegetais (200 g).	Óleos de soja, algodão, milho, oliva e amendoim: Traços de BaP.	ELL com isoctano, H ₃ PO ₄ e DMSO; purificação em coluna clássica e separação em cromatografia em papel e em camada delgada; quantificação: medida da absorbância por espectrofotometria-UV e espectrofotometria. Confirmação por GC-MS. Reagentes e solventes utilizados (quantidades aproximadas): isoctano (1060 mL), metanol (700 mL), benzeno (225mL), H ₃ PO ₄ (600mL), DMSO (175 mL).	P/ 2 ppb de HPA com 4 a 5 anéis: Média de 71 a 92%	Não citado.
1966	35	Salsichas alemãs, queijo e peixe (75 a 100g).	Alimentos totais: 1,0 a 3,2	Saponificação com KOH etanólico; ELL com isoctano; purificação em coluna clássica de Florisil (elução com benzeno); ELL com H ₃ PO ₄ , DMSO/isoctano; purificação em coluna de Florisil (elução com benzeno); separação em cromatografia em papel e em camada delgada; quantificação: medida da absorbância por espectrofotometria-UV. Reagentes e solventes utilizados (quantidades aproximadas): Na ₂ SO ₄ (785g), KOH (50g), Etanol (1350 mL), isoctano (1050 mL), benzeno (535mL), H ₃ PO ₄ (300mL), DMSO (150 mL).	P/ 2 ppb: Salsichas: 87 a 100%; Queijo: 73 a 76%; Peixe: 90 a 100%	Não citado.

Cont.

ANO	REF.	AMOSTRA	BaP, ppb	MÉTODO	RECUPERAÇÃO	LD/LQ
1968	20	Carne, peixe, frango, vegetais, bebidas, laticínios, óleos e gorduras (200 g).	Traços de BaP	Laticínios, carnes, peixes, frango, vegetais e bebidas: saponificação com KOH; todas as amostras: partição com isoctano, etanol-acetona-água e isoctano; purificação em coluna com Florisil (eluição com benzeno); partição com DMSO e isoctano; purificação em CCD; quantificação por espectrofotometriaUV. Confirmação por espectrofluorimetria.	P/2 ppb: Carne, peixe e frango: 78%; Vegetais: 76%; Bebidas: 80%; Laticínios: 94% Óleos e gorduras: 84%	LQ: 0,5 ppb
1968	36	Carne, frango e peixe.	Salsichas alemãs: ND a 0,5 Lingüiça: 0,5 Pastrami: ND Presunto defum.: 0,5 a 0,8 Bacon: ND Churrasco de porco: 5,0 Churrasco boi: 3,6 Frango def.: < 0,5 a 0,7 Peru defum.: < 0,5 Peixes def: ND a 7,0.	Saponificação com KOH etanólico; ELL com isoctano; purificação em coluna clássica de Florisil (eluição com benzeno); ELL com H ₃ PO ₄ , DMSO/isoctano; purificação em coluna de Florisil (eluição com benzeno); separação em cromatografia em papel e em camada delgada; quantificação: medida da absorbância por espectrofotometria-UV. Reagentes e solventes utilizados (quantidades aproximadas): Na ₂ SO ₄ (785g), KOH (50g), Etanol (1350 mL), isoctano (1050 mL), benzeno (535mL), H ₃ PO ₄ (300mL), DMSO (150 mL).	Amostras de alimentos (fortificadas com 0,2 µg de BaP): 50 a 100%.	LD: 0,5 ppb
1975	37	Grupo I: carne, frango, peixe e leveduras. Grupo II: óleos e gorduras (200 g).	—	Grupo I: saponificação com KOH metanólico. Grupo I e II: partição com ciclohexano, dimetilformamida-água e ciclohexano; purificação em colunas de sílica e Sephadex LH 20 (eluição com isopropanol); quantificação por CG - FID, coluna OV-101. Confirmação por GC/MS. Reagentes e solventes utilizados (quantidades aproximadas para análise do grupo I): KOH (34g); metanol (790 mL); ciclohexano (1820 mL); DMF (108 mL); isopropanol (240 mL). Reagentes e solventes utilizados (quantidades aproximadas para análise do grupo II): ciclohexano (2000 mL); DMF (900 mL); isopropanol (240 mL).	Carnes (2,6 ppb): 100% Óleos (1,96 ppb): 96%	Não citado.

Cont.

ANO	REF.	AMOSTRA	BaP, ppb	MÉTODO	RECUPERAÇÃO	LD/LQ
1976	39	Óleos vegetais, margarina, manteiga, peixes e ostras defumados, rum e aroma de fumaça.	Óleos vegetais: NQ a 9; Margarina: NQ; Manteiga: NQ; Carne de boi: NQ a 15; Peixe defumado: NQ; Ostra defumada: 9; Carne defumada: NQ; Aroma de fumaça: 1; Extrato de levedura: 4; Rum escuro: 1; Cera de parafina: 2 ppb.	Extração baseada em Grimmer e Böhnke (1975); separação por CG-DIC; quantificação por corte e pesagem dos cromatogramas.	—	LQ: 0,5 ppb
1979	66	Whiskies (100 mL)	BaP < LD	Extração com ciclohexano por 20 h em agitador mecânico; purificação por CLAE (coluna de sílica, de 25 cm, LiChrospher Si 100; fase móvel: pentano); análise da fração selecionada por CLAE por CG-FID em coluna OV-101 5% (4m); confirmação de BaP por HPLC-DF.	P/ 10 ppb: 60 ± 5%	LD: 1 ppb
1979	61	Provolone e bacon defumados; hambúrguer e salsicha cozidos; pão torrado; pó de café; infusões de chá e café; folhas de chá; azeite de oliva e manteiga.	Provolone defumado: 1,28; Bacon defumado: 0,25; Hambúrguer cozido: 0,05; Salsicha cozida: 0,05; Pão torrado: 0,56; Pó de café: 0,80; Cafê (infusão): 0,01; Folhas de chá: 9,51; Chá (infusão): 0,02; Azeite de oliva: 359; Manteiga: 0,47 a 0,91	Baseada em Grimmer e Böhnke (1975); confirmação por CG-MS.	Nível não relatado: P/ todas amostras: 93 a 95%.	Não citado.

Cont.

ANO	REF.	AMOSTRA	BaP, ppb	MÉTODO	RECUPERAÇÃO	LD/LQ
1981	48	Bacon, arenque defumado, queijo (100 g) Água (2,5 L) e fumaça.	Bacon: 0,05 Arenque: 0,10 Queijo: 0,20 Água filtrada: 0,2 a 0,3 ppt Água não filtrada: 17 a 20 ppt	Alimentos: ELL com ACN; saponificação com KOH alcoólico; limpeza em cartucho de EFS (sílica gel); separação em CCD (FM: etanol-tolueno-água); determinação por CLAE-DFI. Água: ELL com isooctano e determinação por CLAE-DFI.	Água (10 ppt): 96% "Bierwurst" (2,0 ppb): 100%	LD (alimentos): 0,02 ppb LD (água): 0,3 ppt
1982	57	Cevada malteada (25 g)	< 0,1 a 0,2	Extração com ciclohexano (CHX) em aparelho de ultrassom; purificação em coluna de sílica gel/alumina desativadas; partição entre dimetilsulfóxido (DMSO) e CHX; quantificação por CLAE-UV; confirmação por CLAE-DFI. Solventes utilizados (volumes aproximados): ciclohexano (280 mL); DMSO (45 mL).	P/ 2,5ppb: 83 ± 6,0%	LD: 0,1 ppb
1982	43	Óleos vegetais ou gordura fundida: uva, girassol, coco, soja, amendoim, canola. (100 g)	Uva: 0,60 Canola: 2,14 Girassol: 1,51 Coco: 2,58 Soja: 28:45 Amendoim: 10,69 a 105,74	ELL das amostras dissolvidas em 400 mL de CHX com 2 vezes de 100 mL de solução de cafeína-ácido fórmico (ácido fórmico 90% contendo 15% de cafeína); extração com 2 vezes 250 mL CHX; purificação em coluna clássica de sílica (elução com 110 mL de CHX); evaporação e reconstituição em tolueno; separação por cromatografia em camada delgada de alta eficiência; determinação por CG-DIC.	HPAs: 68 a 95	LD: 16 ng de coroneno em 100g de óleo.

Cont

ANO	REF.	AMOSTRA	BaP, ppb	MÉTODO	RECUPERAÇÃO	LD/LQ
1983	18	Alimentos que compõem a dieta do Reino Unido (50 g). Aromas de fumaça, carne defumada, bacon, peixe, óleos vegetais, café torrado, café solúvel, cereais torrados, ervas, especiarias, chá (5 g).	Cereais: 0,12 a 0,79; Carnes: 0,02 a 0,08; Peixes: 0,03 a 0,40; Óleos e gorduras: 0,19 a 3,74; Frutas e açúcares: 0,03 a 0,10; Vegetais: 0,02 a 0,17; Bebidas: ND a 0,02; Leite: 0,005 a 0,02	Saponificação com KOH metanólico; ELL com isooctano; purificação por EFS em Sep-pack de sílica; quantificação por CLAE-DFI.	Níveis de 0,03 a 10 ppb: 50%	LD: 0,1 ppb.
1987	44	Alimentos defumados: ND a 16,4 (enguia defumada) Ervas: < 0,3 a 7,5 (cardamomo) Especiarias: < 1 a 220 (páprica) Óleos vegetais: 0,2 a 170 (óleo de amendoim) Chás: 0,2 a 16,1 (folhas de chá) Chás defumados: 180		Saponificação com KOH metanólico; ELL com CHX; purificação em coluna de sílica (eluição com CHX; quantificação por CLAE-DFI; proposta de utilização da cromatografia em camada delgada (CCD) para análises de rotina, por medida fluorodensitométrica.	Níveis de 2,5 a 75 ppb: 82 a 103 %.	LD (HPLC): 0,04 a 0,2 ppb LD (CCD): 0,1 ppb
1987	45	Cafés torrado e verde (20g).	Café torrado: 0,1 a 0,5 Café verde: 0,0008 a 0,001	Extração com acetona; saponificação com KOH metanólico; ELL com CHX; purificação em coluna de sílica (eluição com CHX); quantificação por CLAE-DFI.	Café torrado (1 ppb): 88 ± 6% Café verde (13,2 ppt): 113%	LD: 0,1 ppb.

Cont.

ANO	REF.	AMOSTRA	BaP, ppb	MÉTODO	RECUPERAÇÃO	LD/LQ
1988	40	Aveia, trigo, arroz, farelos, mistura de aveia defumada, cevada e feijão.	Aveia: 0,5 a 1,3; Trigo: 0,2 a 0,4; Arroz: ND; Farelos: 5,4; Mistura de aveia defumada, Cevada e feijão: 0,6 a 160.	Baseada em Grimmer e Böhnke (1975) (com modificação através da adição de cafeína; confirmação por GC/MS).	P/ 0,1 ppb: 40 a 100% (HPAs totais).	LD: 20 pg/injeção (1 µL).
1990	15	221 tipos de alimentos diferentes (20 g).	ND (< 0,1) a 1,4. A maior contribuição para a ingestão diária de HPAs foi de açúcares, doces, cereais, óleos e gorduras e nozes. A ingestão média diária de HPAs estava entre 5 a 17 µg/dia, sendo que os HPAs carcinogênicos representavam metade deste total.	Saponificação com KOH etanólico; ELL com CHX; purificação em coluna clássica de sílica (eluição com CHX); quantificação por CLAE-DFI.	Alimentos com baixo teor de gordura (2ppb): 86 ± 13% Alimentos com alto teor de gordura (2ppb): 98 ± 6%.	LD: 0,1 ppb.
1992	51	Queijos defumados, cheddar e suíços (0,6 cm da camada externa)	ND	Extração baseada em Howard et al (1966); purificação em Sep-pack com CHX; quantificação por CLAE-DFI.	—	LD: 0,1 ppb.

Cont

ANO	REF.	AMOSTRA	BaP, ppb	MÉTODO	RECUPERAÇÃO	LD/LQ
1992	12	Mexilhões, ostras, mariscos, salmão, caranguejo (10g).	—	Saponificação com KOH metanólico; ELL com 1,12-triclorotrifluoroetano (TCTFE); purificação em cartucho de EFS com alumina, sílica, C18 (DCM e ACN); quantificação por CLAE-DFI. Solventes utilizados (volumes aproximados): KOH metanólico (100 mL), etanol (50mL); TCTFE (120 mL), DCM (35 mL), ACN (30mL).	Nível de 1,93 ppb: Mexilhões: 90,8 ± 2,3% Marisco: 90,8 ± 2,3% Ostras: 92,5 ± 2,3% Caranguejo: 91,4 ± 3% Salmão: 80,5 ± 3,2%	LQ: 0,17 ppb
1993	49	Ostras (20 g)	—	Saponificação com KOH metanólico; acidificação do extrato com ácido acético glacial; ELL com hexano; purificação em coluna clássica com ácido silícico e óxido de alumínio; ELL com hexano e DCM; cromatografia por permeação em gel (Sephadex LH20; Bio-Beads S-X8); quantificação por CLAE-UV e DFI; confirmação por CG-MS (scan).	Material de referência NIST 1674 ^a (16 HPAS em ACN): P/ 50 µL do mat. de ref.: 99% ± 6 (DP) P/ 100 µL do mat. de ref.: 78% ± 6 (DP)	Não citado.
1993	50	Peru, porco, frango, boi, peixes defumados e aroma de fumaça líquido.	Peru defumado: ND a 0,4; Frango defumado: ND a 0,8; Porco defumado: ND a 2,5; Boi defumado: 0,2 a 1,1; Trutas defumadas: ND; Ostras: 3,0; Salmão: 3,9; Aromas de fumaça: 0,1 a 3,4	Alimentos defumados: metodologia baseada em Joe et al. (1984). Aromas de fumaça: saponificação com KOH metanólico; ELL com CHX, metanol/água; purificação em coluna clássica de Florisil (eluição DCM e CHX); quantificação por CLAE-DFI e UV.	Carnes defumadas (3 a 5 ppb): Detec. UV: 98 ± 10%; Detec. FI: 80 ± 10,2% Aroma de fumaça: (3 a 5 ppb): Detec. UV: 76 ± 11,8%; Detec. FI: 66 ± 13,8%	Não citado.

Cont.

ANO	REF.	AMOSTRA	BaP, ppb	MÉTODO	RECUPERAÇÃO	LD/LQ
1995	58	Carne de porco defumada	ND	Extração com cloroformio e ultra-som; purificação em coluna de permeação em gel (Bio-Beads S-X3, eluição com cloroformio); quantificação por CLAE-DFI.	Níveis de 2 a 4 ppb: 88 ± 18%	LD: 0,03 ppb LQ: 0,1 ppb
1995	23	Vegetais, batatas, frutas, cereais, peixes, leite e derivados, carnes e ovos, churrasco de carne, óleos e gorduras, chocolates, bebidas (vinho, cerveja e café) (50g).	BaP: 0,001 (batatas) a 1,445 ppb (carne de boi). Os níveis mais altos de HPAs totais foram encontrados na pizza assada em forno à lenha, churrasco de boi e porco. Os níveis mais baixos de HPAs totais foram encontrados em batatas, peixe cozido, bebidas e ovos.	Saponificação com KOH metanólico; ELL com isooctano, metanol/água, DMF/água e isooctano; purificação em coluna clássica com Na ₂ SO ₄ anidro; quantificação por CLAE-DFI.	BaP: Média de 93%	Não citado.
1995	41	Cana-de-açúcar queimada e não queimada, aguardente, açúcar refinado, cristal, mascavo e demerara, e melado.	Cana crua: ND; Cana queimada: 0,10; Caldo de cana: ND; Açúcar mascavo: 0,15; Açúcar demerara: 0,56; Açúcar cristal: 0,29; Açúcar refinado: ND; Melado: 0,41; Aguardente: 0,27 a 0,40	Metodologia baseada em Grimmer e Böhnke (1975).	—	LD: 0,10 ppb.

Cont.

ANO	REF.	AMOSTRA	BaP, ppb	MÉTODO	RECUPERAÇÃO	LD/LQ
1996	62	Carnes de boi grelhadas em carvão.	—	Saponificação em NaOH; EFS em coluna com terra diatomácea (Extrelut 20) acoplada a uma coluna com ácido sulfônico, PRS (eluição com DCM); esta fração que contém os HPAs foi evaporada à secura e redissolvida em hexano; este extrato foi aplicado em uma coluna de EFS de sílica (eluição com hexano/DCM); evaporação à secura e ressuspensão em metanol; quantificação por CLAE-UV . A extração dos outros compostos foi realizada posteriormente, em outra coluna PRS e C18 (eluição das aminas heterocíclicas, AEAs, com acetato de amônio e dos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos nitrogenados, HPANs, com metanol/amônia; quantificação por CLAE-UV e detector eletroquímico; confirmação por GC/MS para HPAs e HPANs e por cromatografia a líquido com DAD para AEAs.	BaP (6 ppb): Média de 47 ± 6%.	LD: 0,6 ppb.
1996	63	Azeites de oliva (10 g).	ND a 164 Média para 17 marcas diferentes: 10,9	ELL com CHX, DMF/água e CHX; purificação em coluna clássica de sílica gel (eluição com CHX); quantificação por quantificação por CLAE-DFl.; confirmação e quantificação por CLAE-DAD.	P/ 0,53 ppb (n=1): 77,4% P/ 1,05 ppb (n=1): 93,3% P/ 2,1 ppb (n=4): 97,8 a 115,7% P/ 5,25 ppb (n=8): 76,1 a 90,5%	LD: 0,5 ppb

Cont.

ANO	REF.	AMOSTRA	BaP, ppb	MÉTODO	RECUPERAÇÃO	LD/LQ
1996	47	Whiskies (200 mL).	0,0013 a 0,0193 ppb	ELL com CHX; quantificação por CLAE-DFI.	—	Não citado.
1996	53	Peito, coração, fígado, pulmão de frango cozidos, frango e pato grelhados, estômago de porco e porco cozidos, lingüiça defumada, porco defumado.	Porco cozido, estômago de porco e lingüiça: ND; Porco defumado: 0,1; Peito, pulmão, fígado e coração de e frango cozido: ND; Frango grelhado: 4,6 ; Pato grelhado: ND.	Extração por Soxhlet com metanol e KOH; purificação em cartucho de EFS, Sep-pack com Florisil; quantificação por CLAE-UV e DFL. Solventes utilizados (volumes aproximados): metanol (200 mL), hexano (290 mL), DCM (12 mL).	Carne de pato: 86,5 ± 2,45%	LD (Detec. UV): 0,16 ng LD (Detec. Fluor.): 0,5 pg
1997	59	Água de torneira e água de rio.	Os melhores resultados foram obtidos com os discos de C18. A separação dos HPAs ocorreu em 13 min.	Extração com fluido super crítico (CO ₂) em aparelho equipado com arranjo de diodos, acoplado em linha com discos de EFS. Foram testados discos de C18 e de poliestireno-divinilbenzeno.	BaP (6 ppb): Média de 47 ± 6%.	LD (água do rio): 0,6 ppb LD (água de torneira): 1,5 ppb.
1998	60	Repolho, cenoura, alface, endívia e alho poró.	Ingestão média (ng de BaP/dia): - repolho: 0,24; - cenoura: 0,08; - alho poró: 0,06; - alface: 0,26; - endívia: 0,58 Conc. média de BaP (ppb): repolho: 0,14; cenoura: 0,11; alho poró: 0,15; alface: 0,28.	Extração por Soxhlet com diclorometano; purificação em coluna clássica de Florisil; quantificação por CLAE-DFI.	Níveis não relatados. HPAs totais: 71a 92% (5 a 15%)	Não citado.

Cont.

ANO	REF.	AMOSTRA	BaP, ppb	MÉTODO	RECUPERAÇÃO	LD/LQ
1999	19	Porco, salsicha e salmão defumados.	Porco: ND; Salsicha: ND; Salmão: ND.	<p>Comparação: Extração por Soxhlet e Acelerada com Solvente (EAS). EAS: adição de Na₂SO₄ anidro e Cl₁₈ às amostras; extração acelerada com 20 mL de solvente (DCM/ACN) em célula de extração, com pressão variando de 1000 a 1500 psi; purificação através da adição de H₂SO₄ (para remoção da camada dos lipídios - descartar); evaporação e eluição em coluna de EFS de Florisil com 10 mL de DCM; quantificação por GC/MS - SIM.</p>	<p>Peixe: - Soxhlet (0,3 ppm): 74 ± 14% - EAS (0,3 a 1,0 ppm): 70 ± 18% a 57 ± 6%</p> <p>Porco: - EAS (1 ppm): 77 ± 8%</p>	LD: 0,10 ppm
2000	7	Margarina, creme vegetal, halvarina, gordura vegetal hidrogenada, maionese (100 a 200 g).	Margarina: 0,11 a 1,23; Creme vegetal: 0,32 a 1,39; Halvarina: 0,14 a 0,63; Gordura vegetal h.: 0,01 a 0,32; Maionese: 0,12 a 6,99.	Baseada em Grimmer e Böhnke (1975); quantificação por CLAE-DAD. DFI. e confirmação por CLAE-DAD.	3 Níveis (0,54; 1,50; 3,72); Média de 97,8 ± 5,43%	LQ: 0,01 ppb
2001	17	Alimentos não gordurosos: purê de batata, batata e pão torrado (0,5g).	Purê de batata: NQ Batata: ND Pão torrado: ND	Extração em banho de ultrassom por 8 min. com 3 mL de éter etílico/DCM (1:1) e 1 mL de água (exceto para purê de batata, pois já apresenta umidade); centrifugação a 3000 rpm por 15 min.; uma alíquota de 0,5 mL foi evaporada à secura e redissolvida em 0,5 mL de ACN; quantificação por CLAE-DFI.	4 Níveis (6,0 a 90 ppb): Purê: 73 a 82% Batata: 71 a 89% Pão torrado: 68 a 89%	LQ: 0,07 ppb

Cont.

ANO	REF.	AMOSTRA	BaP, ppb	MÉTODO	RECUPERAÇÃO	LD/LQ
2001	25	Alimentos mais consumidos nas diferentes regiões do Brasil.	Vegetais: 0,08; Frutas: ND; Produtos lácteos: ND; Óleos e gorduras: 4,03; Cereais: 0,22; Legumes: 0,07; Tubérculos: 0,20; Bebidas: 0,22; açúcares: 0,19; Carnes: 0,27; outros: 0,23. Carnes: ND (carne cozida) a 4,86 (churrasco); Frango: 0,01 a 4,57 (churrasco); Peixes: 0,01 a 0,24(filé cozido); Defumados e embutidos de porco: ND a 0,2 (bacon frito); Frutas e vegetais: 0,01 a 0,48; Produtos lácteos: ND a 0,18 (iogurte congelado); Pães, <i>snacks</i> , cereais e grãos: 0,02 a 0,56 (pipoca); Doce e sobremesas: 0,01 a 0,47 (torta de abóbora).	Baseada em Grimmer e Böhmke (1975); quantificação por CLAE-DFI e confirmação por GC/MS, SIM.	3 Níveis (2,0; 4,0 e 8,0); Resultados não relatados.	LD: 0,07 ppb
2001	22	200 tipos diferentes de alimentos.		Saponificação em KOH alcoólico; ELL com isoocetano; purificação em coluna clássica com Florisil (eluição com CHX e benzeno); separação do BaP por CCD, em acetato de celulose (fase móvel: etanol/DCM); quantificação por espectrofluorimetria.	—	LD: 0,005 ppb
2002	54	Amostras de carne (25 g).	—	HPAs: saponificação em NaOH; 1ª EFS: cartucho com terra diatomácea (Extrelut-20) - eluição com 50 mL de DCM; 2ª EFS: cartucho com ácido propilsulfônico - eluição com 6 mL de ácido clorídrico 0,1 mL e 2 mL de água; 3ª EFS: cartucho com C18 - eluição com 20 mL hexano e 60 mL de hexano/DCM (60:40); quantificação por CLAE-UV; confirmação por GC/MS, SIM.	3 Níveis (4,9; 7,4; 7,6 ppb); 77 ± 2,9%	LD: 2,5 ng

Cont.

ANO	REF.	AMOSTRA	BaP, ppb	MÉTODO	RECUPERAÇÃO	LD/LQ
2002	1	Chá-mate e café em pó.	Pó de café: 1,23 Café fervido (pó fervido): 0,60 Café coado: 0,26 Chá-mate: 0,07	Baseada em Grimmer e Böhnke (1975); quantificação por CLAE-DAD.	3 Níveis (1,0; 2,0 e 4,0); Média: 96 ± 2,7%	LD (café): 0,07 ppb LD (chá): 0,07 ppb
2002	21	Alimentos mais consumidos no Brasil.	Produtos lácteos: ND; Produtos cárneos: 0,10 a 0,44; Tubérculos: ND a 0,39; Cereais/farinhas/massas: 0,08 a 0,115; Panificados: 0,29 a 0,35; Pizza: 0,23; Açúcares: 0,19; Leguminosas: ND a 0,10. Carnes e derivados: 0,098; Peixes e crustáceos: 0,235; Vegetais: 0,013; Tubérculos: 0,063; Produtos lácteos: 0,078; Leite: 0,011; frutas: 0,014; Ovos: 0,023; cereais: 0,262; Lentilhas e feijões: 0,058; Óleos e gorduras: 0,272.	Baseada em Grimmer e Böhnke (1975); quantificação por CLAE-DFI; confirmação por GC/MS, SIM.	Recuperação média: 3 Níveis (2,0; 4,0 e 8,0 ppb); 82,3 ± 6,4% a 93,3 ± 2,5.	LD: 0,07 ppb
2003	16	Alimentos mais consumidos na região da Catalunha, Espanha (2 a 4 g).	Óleo de coco bruto: 26; Óleo de coco refinado: 1,7; Óleo de girassol bruto: 3,6; Óleo de palma: 1,1; Estearina de palma: 0,7; Óleo da amêndoa de palma: < 0,3; Óleo de oliva: 0,5.	Saponificação em KOH alcoólico; ELL com CHX, DMF/ÁGUA, CHX. Apenas para frutas e vegetais: ELL com CHX-acetato de etila e purificação por cromatografia por permeação em gel; purificação em coluna clássica de sílica (para a maioria das amostras); quantificação por CLAE-DFI.	HPAs: 54,5 a 113% (16%)	LD: 0,2 ppb
2003	55	Óleos brutos e refinados (0,5 g).		Dissolução das amostras em 5 mL de hexano; ELL com 2 vezes 5 mL de DMF/água; diluição dos extratos combinados com água até atingir a proporção 1:1. EFS: foram testados cartuchos de C8, C12, Ciclohexil, fenil, aminopropil e C18. Melhor resultado com C18 (eluição com hexano).	P/ 1,25 ppb: 94 ± 3% P/ 12,5 ppb: 94 ± 2%	LQ: 0,3 ppb

Cont.

ANO	REF.	AMOSTRA	BaP, ppb	MÉTODO	RECUPERAÇÃO	LD/LQ
2004	56	Águas de consumo: 500 mL para EFS e 40 mL para MEFS.	EFS apresentou os menores limites de detecção e maiores recuperações que MEFS.	Preparo das amostras: adição de tiosulfato de sódio na concentração de 100 mg/L (para retirar cloro livre e prevenir oxidação); adição de ACN p/ evitar adsorção dos HPAS nas paredes dos frascos. Comparação entre 2 métodos de extração, EFS e MEFS. EFS: cartucho C18, 500 mg, eluição com 25 mL ACN/água e 5 mL de hexano. MEFS: fibras de PDMS; agitação dos 40 mL de água com ACN, agitação por 40 min. a 60°C.	EFS (4,0 ppt): 96 ± 2% MEFS (35 ppt): 7 ± 5%	EFS: LD: 0,1 ppt LQ: 0,3 ppt MEFS: LD: 6 ppt LQ: 20 ppt
2004	52	Margarina, maionese, azeite de oliva e óleos vegetais (0,5 g).	Margarina: < 0,3 Maionese: < 0,3 Azeite de oliva: 2,6 Óleos vegetais: < 0,3	Dissolução das amostras com 5 mL de hexano; ELL com 2 vezes 5 mL de DMF/água (9:1). Extratos combinados diluídos até a proporção 1:1; EFS com cartucho C18; lavagem com 10 mL de DMF/água (9:1) e 10 mL de água. Eluição dos HPAs com 4 mL de hexano; evaporação dos extratos à secura e ressuspensão em 0,2 mL de ACN; quantificação por CLAE-DFI.	Recuperação utilizando material de referência certificado - CRM 459): 3 Níveis (1,25; 12,5 e 125 ppb): 82,3 ± 6,4% a 93,3 ± 2,5	LD: 0,09 ppb LQ: 0,3 ppb.
2005	3	Amostras de aguardente (12 mL).	ND (cana não queimada) a 1,55 ppb (cana queimada).	EFS em cartucho de C18 (eluição com 2 mL de isopropanol e 2 mL de acetato de etila); quantificação por CLAE-DFI.	Nível não citado: 99,4 ± 4,20%	LQ: 0,01 ppb

Cont.

ANO	REF.	AMOSTRA	BaP, ppb	MÉTODO	RECUPERAÇÃO	LD/LQ
2005	5	Bebidas alcoólicas: vinho verde, vinho tinto, rum branco, vinho do Porto, jerez, aguardente de uva, brandy de jerez, whisky e ponche.	Vinho verde: ND Vinho tinto: 0,3 a 3,1 Vinho do Porto: 0,3 a 1,2 Jerez: 0,4 a 1,2 Rum branco: NQ a 0,7 Aguardente de uva: 0,3 a 10,3 Brandy de jerez: 2,6 a 6,3 Whisky: 0,9 Ponche: NQ a 0,5	Correção da graduação alcoólica das bebidas para 30-40% com adição de álcool ou água. EFS em coluna de C18 (eluição com 20 mL de ACN/água (20:80)). EFS em coluna de sílica (eluição com 10 e 6 mL de hexano). Evaporação à secura e ressuspensão em 0,5 mL de ACN; quantificação por CLAE-DFI.	Rum branco (5 ppb): 94 ± 9% Vinho tinto: (5 ppb): 100 ± 9%	LD: 0,0001 ppb LQ: 0,0003 ppb.
2005	27	Amostras de chá Mate em folhas (infusão de 1,0 g de folhas secas em 100 mL de água fervente por 5 min.).	ND (< 0,0012 ppb) a 0,0226 ppb	<u>Método I:</u> Condicionamento das barras de adsorção: agitação em frasco contendo 1 mL de DCM/metOH (1:1) por 5 min. (3 vezes), sob fluxo de nitrogênio (30 mL/min.). Extração de 10 mL de chá Mate à temperatura ambiente (velocidade 70 rpm por 2 h). Dessorção dos analitos: retirada das barras, secagem e transferência para frasco contendo 160 µL de ACN/água (4:1), por 15 min.; quantificação por CLAE-DFI. <u>Método II:</u> Extração de 11 mL de chá com 3 x 3 mL de hexano; agitação a 750 rpm por 10 min. junção dos extratos, filtração em Na ₂ SO ₄ . Evaporação à secura e redissolução em 1 mL de ACN; quantificação por CLAE-DFI.	P/ 0,1 ppb: 45,0±6,0%; P/ 1 ppb: 44,8 ± 3,8%	LD: 0,0012ppb LQ: 0,004 ppb

Cont.

ANO	REF.	AMOSTRA	BaP, ppb	MÉTODO	RECUPERAÇÃO	LD/LQ
2005	10	8 tipos diferentes de folhas de chá.	<p>P/ BaP:</p> <p>Folhas de chá verde: ND;</p> <p>Folhas de jasmim: 28,1;</p> <p>Folhas de chá preto: 39,7;</p> <p>Folhas de chá mate: 542,26</p> <p>P/ HPAs totais:</p> <p>Folhas de chá preto apresentaram a maior contaminação: 8.800 ± 360 ppb.</p>	<p>Folhas de chá (6g): extração, em triplicata, em aparelho de ultrassom por 30 min., c/ 20 mL de DCM; evap. à sec. e redissolução em 2 mL de hexano; purific. em coluna de sílica, eluição com 10 mL de hexano/DCM (1:1); evaporação à secura; ressusp. em 2 mL de ACN; quant. p/ CLAE-UV.</p> <p>Infusão de chá:</p> <p>20 g de folhas submersas em 500 mL de água ultra pura fervente (temperatura mantida em 90-92°C por 10, 30, 60 e 120 min.); fase aquosa recolhida em outro frasco e resfriada até 30 °C; extração, em triplicata, de 400 mL de chá frio em aparelho de ultrassom, a 30°C por 30 min., com 50 mL de DCM.; filtr. do extrato em coluna de sulfato de sódio anidro, lavagem com 10 mL de hexano/DCM (1:1); evap. à secura; redis. em 2 mL de hexano; purif. de 1,0 mL desta solução em coluna de sílica com 10 mL de hexano/DCM (1:1) e evap. à secura; ressusp. em 2 mL ACN; quantif. / CLAE-UV.</p>	<p>P/ HPAs com 4 a 6 anéis:</p> <p>80 a 85% (CV < 20,0%).</p>	<p>Folhas de chá:</p> <p>LQ: 3,28 ppb</p> <p>Infusão:</p> <p>LQ: 2,73 ppt</p>
2006	46	24 amostras de café verde e torrado	<p>Café verde: ND</p> <p>Café torrado: 0,47 a 12,52</p>	<p>Extração por Soxhlet por 6h com 250 mL de acetona; saponificação do extrato (evaporado) com KOH e metanol-água (9:1); ELL com 100 mL de CHX; purificação em coluna de sílica (eluição com 100 mL de CHX); quantificação por CLAE-DFI.</p>	<p>Faixa de 1,00 a 3,00 ppb:</p> <p>76 a 116%</p>	<p>LD: 0,03 ppb</p> <p>LQ: 0,10 ppb</p>

ANO	REF.	AMOSTRA	BaP, ppb	MÉTODO	RECUPERAÇÃO	LD/LQ
2006	42	Amostras de peixes secos e congelados; mexilhões congelados e enlatados; peixes defumados; camarões congelados enlatados; carne de siri congelada e enlatada; sardinha enlatada; atum enlatado (25g).	Filé de peixe: ND a 0,27 Sardinha em lata: 0,12 a 0,53 Atum: 0,09 a 0,33 Peixe defumado: 1,97 a 3,45 Camarão: 0,05 a 0,34 Mexilhão: 0,45 a 4,54 Carne de siri: 0,02 a 0,32	Saponificação em KOH etanólico; ELL com 400 mL de hexano; purificação por EFS em cartucho de sílica (eluição com 25 mL de hexano); evaporação à secua e redissolução em 1,0 mL de ACN; quantificação por CLAE-DFI; confirmação por CLAE-DFI nas mesmas condições, com variação dos comprimentos de onda.	P/ 2,3 ppb: 88 ± 6,7% P/ 4,5 ppb: 96 ± 2,9%	LD: 0,005 ppb LQ: 0,017ppb
2006	64	13 marcas diferentes de guaraná em pó (20 g).	ND a 3,69	Saponificação em KOH metanólico; ELL com 200 mL de hexano; purificação em coluna clássica com sílica (eluição com 85 mL de hexano); quantificação por CLAE-DFI.	P/ 1,2 ppb: 78,6% P/ 3,0 ppb: 78,0% P/ 9,5 ppb: 89,2%	LD: 0,08 ppb
2006	65	1350 amostras, entre: azeite de oliva (170); óleos comestíveis (170); cápsulas de suplementos alimentares (950); óleos usados nas cápsulas (veículo, 60)	Óleos : ≈80%: < 1,2 ppb; 1 amostra > 50 ppb; 1 amostra > 85 ppb Suplementos: ≈ 40%: < 1,2 ppb ≈ 30: > 40ppb (máx. 200ppb)	Extração com isopropanol em agitador por 30 min. Filtração. Purificação em coluna Chromsper-pi 7 µm, 80 mm <i>on line</i> (sistema doador-receptor de elétrons); separação em coluna C18, 25 cm, 5µm), em série; quantif. CLAE-DFI	Óleos: (1ppb): 99,9 % (±2,8) Suplementos (1ppb): 100,1 % (±4,1)	LD: 0,07 ppb LQ: 0,14 ppb
2007	28	25 marcas diferentes de cachaça (20 mL).	ND (< 0,011 ppb) a 0,36 ppb	Baseada em Grimmer e Böhnke (1975); quantificação por CLAE-DFI; confirmação por GC/MS, SIM.	3 Níveis (0,6 a 3,0 ppb); Média de 74,5 ± 11,5%	LD: 0,011 ppb

LD = limite de detecção, LQ = limite de quantificação, ND = não detectado

MÉTODOS DE EXTRAÇÃO

Extração líquido-líquido (ELL)

A ELL é uma das práticas mais utilizadas até os dias de hoje para isolar os HPAs das matrizes alimentares. Nas décadas de 1960 e 1970, a maioria dos trabalhos publicados relatava o emprego desta técnica; entretanto, de uma maneira geral, a metodologia era bastante complexa e demandava diversas etapas, que se alternavam em extração e purificação^{6,20,34-37}. Em suas pesquisas, Howard e colaboradores^{6,20} adotaram estes procedimentos na análise de determinados alimentos defumados como peixes, carnes, embutidos, queijos e alimentos não defumados, como laticínios, vegetais, bebidas, óleos e gorduras. A maioria das amostras foi submetida à uma saponificação prévia com KOH metanólico sendo, posteriormente, efetuadas as seguintes operações: ELL com isooctano; purificação em coluna clássica de Florisil, tendo como solvente de eluição o benzeno; uma segunda ELL com H₃PO₄ e dimetilsulfóxido/isooctano; novamente purificação em coluna e separação dos analitos em cromatografia em papel e em camada delgada^{6,34,35}. Os autores também fizeram uso de outros solventes na ELL, intercalando duas extrações com isooctano com uma combinação de etanol/água/acetona²⁰. Na mesma linha metodológica, Manoski et al., em 1968, avaliaram a contaminação de diversos tipos de embutidos, além de bacon, churrasco de porco e de boi, carnes de frango e de peru e peixes defumados³⁶.

A metodologia de extração adotada nos trabalhos anteriormente referidos envolve muitas etapas, o que demanda intensa manipulação dos analistas, alto custo pelo excessivo volume de solventes, em torno de 3000mL, e, principalmente, o manuseio de produtos tóxicos, como o benzeno. Atualmente, o uso deste solvente é desaconselhável devido às suas características cancerígenas³⁸.

Em 1975, Grimmer e Böhnke³⁷, propuseram uma metodologia que vem sendo bastante utilizada por diversos pesquisadores. Neste procedimento as matrizes eram divididas em dois grupos. Faziam parte do grupo I os alimentos que necessitavam ser saponificados por conterem proteínas e gorduras em sua composição, por exemplo, produtos de origem animal e vegetais; o grupo II compreendia todos os alimentos nos quais não havia necessidade de saponificação, como os açúcares, os óleos e gorduras. Apesar de envolver menos etapas, este método ainda empregava grandes quantidades de solventes, em torno de 2500mL, utilizados na ELL com ciclohexano, com dimetilformamida/água e novamente com ciclohexano. A etapa de purificação era feita em coluna clássica com ciclohexano³⁷. Esta metodologia vem sofrendo várias alterações desde a sua publicação, sendo que atualmente o volume de solvente empregado é quase 1/6 desse total^{1,7,16,25,28,39-42}.

Kolarovic e Traitler⁴³, em 1982, apresentaram os resultados de uma pesquisa sobre a contaminação de óleos vegetais por HPAs, na qual foi utilizada a ELL, porém de uma maneira simplificada; as amostras eram dissolvidas em 400mL de ciclohexano e submetidas a duas extrações com 100mL de

uma solução de cafeína-ácido fórmico e duas extrações com 250mL de ciclohexano, sendo que, devido a formação de um complexo cafeína-HPA, a extração é favorecida. A purificação era feita em coluna de sílica, tendo como eluente, 100mL de ciclohexano. Twominen et al⁴⁰, em um estudo sobre a presença de HPAs em cereais, também adicionaram cafeína às amostras, todavia a metodologia de extração adotada foi aquela proposta por Grimmer e Bönke³⁷.

A extração de HPAs utilizando partição com ciclohexano e purificação em coluna clássica, com mais alterações visando sua simplificação tem sido bastante empregada para diversas matrizes. Stijve e Hischenbeur⁴⁴ analisaram aromas de fumaça, carnes defumadas, peixes, óleos vegetais, cafés, cereais, especiarias e chá. Kruijff⁴⁵ e Badolato et al⁴⁶ empregaram-na em análises de café verde e torrado após saponificação com KOH metanólico, sendo que neste último trabalho, inicialmente, as amostras foram extraídas com acetona usando o extrator de Soxhlet. Este procedimento também foi utilizado por de Vos para avaliar a contaminação da dieta da população alemã por HPAs¹⁵. Igualmente, Kleijans et al. adotaram este método de extração para análise de whiskies⁴⁷.

Na literatura é relatado, ainda, o uso de outros tipos de solventes para a ELL, como por exemplo, acetato de etila (frutas e vegetais)¹⁶, acetonitrila (bacon, arenque e queijo)⁴⁸; hexano (ostras)⁴⁹, ciclohexano/metanol/água (aroma de fumaça)⁵⁰. É possível notar que há, por parte da comunidade científica, uma preocupação em optar pela utilização de solventes que atendam às características físico-químicas necessárias para análise de HPAs e que atinjam a máxima eficiência de extração com o menor volume possível.

Extração em fase sólida

Nos últimos anos, a extração em fase sólida (EFS) tem-se mostrado uma ferramenta útil na determinação de 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 de analitos obtidos por ELL, ultrassom ou por outros métodos. A fase estacionária comumente usada para a limpeza é a sílica gel^{8,18,42,51,52}, tendo sido relatado também, o emprego de Florisil para purificar extratos de carne e vísceras de porco, frango e pato⁵³.

Diversos autores apontam a EFS como método de extração de HPAs em alimentos^{3,54-56}. Barranco e colaboradores⁵⁵, em um estudo que envolveu amostras de óleos vegetais comestíveis, avaliaram a eficiência de extração de seis tipos de fases estacionárias, C8, C12, C18, ciclohexil, fenil e aminopropil. Os melhores valores de recuperação, em torno de 94%, foram obtidos com o cartucho de C18 e hexano como eluente. Em 2004, García-Falcón et al.⁵⁶ apresentaram os resultados da comparação entre dois métodos de extração para análise de HPAs em águas para consumo: EFS (cartucho de C18, eluição com 25mL de acetonitrila/água e 5mL de hexano) e

microextração em fase sólida, MEFS (fibras de dimetilsiloxano, agitação com 40mL de água, por 40 minutos a 60°C). Os autores concluíram que, dentre as duas técnicas avaliadas, a EFS apresentou as maiores porcentagens de recuperação (96%) e os menores limites de detecção; citaram também, que a MEFS necessita ainda de maior aprimoramento para aumentar a performance de extração.

Em 2005, Bettin e Franco³ utilizando a EFS avaliaram a contaminação por HPAs de 25 amostras de aguardente, obtidas a partir de cana queimada e não queimada; foram testadas diversas combinações de fase estacionária e solventes, chegando-se à conclusão que o melhor desempenho foi alcançado com cartuchos de C18, com eluição de 2mL de isopropanol e 2mL de acetato de etila, com uma porcentagem de recuperação superior a 90%.

Apesar de mais complexa, a análise de carnes por meio de EFS também foi possível. Wazecha et al⁵⁴ conseguiram separar HPAs, azarenos e aminoazarenos utilizando três tipos de cartuchos, com empacotamento e solventes distintos. Na primeira extração, foi utilizada terra diatomácea e 50mL de diclorometano, na segunda, a fase empregada foi ácido propilsulfônico usando para eluição de 6mL de HCl 0,1M e 2mL de água; finalmente, na terceira extração foi escolhida a fase C18, com 20mL de hexano e 60mL de hexano/diclorometano (60:40).

Extração com ultrassom

A aplicação de ultrassom (US) para extração de HPAs foi uma das alternativas empregadas por alguns pesquisadores em substituição à ELL^{10,17,57}. Joe et al.⁵⁷, em 1982, obtiveram resultados satisfatórios para análise de HPAs em cevada malteada; utilizando extração com ciclohexano em aparelho de US e, após purificação em coluna de sílica gel/alumina, foi realizada uma ELL com dimetilsulfóxido e ciclohexano.

Alimentos não gordurosos como purê de batata, batata e pão torrado foram avaliados quanto à presença de HPAs. Para a extração empregou-se banho de US e como solventes éter etílico e diclorometano. Segundo os autores, uma das vantagens deste método é que este dispensa a etapa de purificação¹⁷.

Lin, Tu e Zhu¹⁰ utilizaram a técnica com sucesso para análise de folhas de chá verde, preto e jasmim. Os analitos foram extraídos por 30 minutos em aparelho de US, com 20mL de diclorometano; os extratos foram purificados em coluna clássica de sílica com eluição de 10mL de hexano.

Outros solventes também podem ser utilizados para extração conjunta com US como diclorometano/acetona¹⁰ e clorofórmio⁵⁸.

Outros métodos de extração: Soxhlet, extração acelerada com solvente e com fluido super crítico

São poucos os trabalhos onde são citados os usos de extrator de Soxhlet, extração acelerada com solvente (EAS)¹⁹ e com fluido super crítico⁵⁹ para análise de HPAs em água e alimentos. Chen et al., em 1996, efetuaram a extração destes

compostos por Soxhlet em carnes e vísceras⁵³; Voutsas e Samara utilizaram a mesma técnica para avaliação de vegetais (repolho, cenoura, alface, endívia e alho poró)⁶⁰. Badolato e colaboradores, conforme citado anteriormente, também empregaram este procedimento no preparo das amostras de café verde e torrado⁴⁶.

Em 1999, Wang et al. compararam a extração por Soxhlet com a extração acelerada com solvente (EAS) em amostras de carne de porco, salsicha e salmão defumados. Na EAS foi adicionado às amostras Na₂SO₄ anidro e C18 em célula de extração com diclorometano/acetoneitrila sob pressão; as porcentagens de recuperação obtidas nos dois métodos foram similares, ficando em torno de 70% para 0,3ppm¹⁹. É importante observar, porém, que o nível de concentração em que as metodologias foram testadas é muito elevado em relação aos valores apresentados pelas amostras, de uma maneira geral, na faixa de ppb.

Métodos de quantificação

Os primeiros métodos de quantificação de HPAs, bem como BaP, 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^{20,35}. As recuperações obtidas para amostras de peixe, queijo e "frankfurter" defumados foram na faixa de 73 a 100% para concentrações de 2ppb⁶, enquanto que para diferentes amostras de produtos cárneos defumados as recuperações para BaP variaram entre 65 e 75% para concentrações de 1 a 4 ppb³⁶. Em um trabalho sobre dieta total, as recuperações obtidas para BaP em diferentes alimentos fortificados a 2 ppb foram 75 a 88% para carnes, peixe e frango; 75 a 84 % para vegetais; 75 a 100% para bebidas e 75 a 100% para óleos e gorduras²⁰.

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)^{37,43}. Esta técnica continua sendo amplamente empregada, sendo que 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 metilpolisiloxanas²⁵.

Grimmer e Böhnke analisaram 11 HPAs em alimentos defumados e óleos e gorduras empregando a técnica CG-DIC e coluna de 10m x 1,5-2mm empacotada com 5 % OV-101. O BaP apresentou tempo de retenção em torno de 40 minutos³⁷. Em 1979, Lintas et al. publicaram um método para análise de BaP em alimentos defumados, cozidos e tostados por CG-MS. Usaram coluna de 2m x 3mm empacotada com 3% OV-101 em Chromosorb W-HP operando isotermicamente a 250°C, energia de ionização 20 eV e monitoramento do íon a m/z 252. As recuperações para BaP foram na faixa de 93 a 95%⁶¹.

A análise de óleos vegetais por CG-DIC e coluna capilar de 30m x 0,3mm com fase estacionária OV-17-SE-30 permitiu a resolução de 15 HPAs em cerca de 25 minutos de corrida. As porcentagens de recuperações para 5 HPAs ficaram na faixa de 66 a 97%, sendo que para o BaP foram de 95 a 97% com coeficiente de variação de 0,42 a 0,73⁴³.

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, sendo que a confirmação da identidade dos HPAs previamente quantificados por CLAE tem sido realizada por CG-MS. O uso da CLAE permitiu o desenvolvimento de métodos mais sensíveis, podendo-se obter limites de detecção e de quantificação inferiores a 1 ppb^{21,25,49,62}.

A análise de BaP empregando a técnica CLAE é realizada em fase reversa com colunas de fase estacionária octadecilsilano (ODS ou C-18) e, geralmente, fase móvel água-acetonitrila. A detecção pode ser realizada por ultravioleta^{10,49,53,57,62,63} ou fluorescência^{28,42,46,52,64}, sendo que esta última é mais amplamente utilizada. A eluição pode ser realizada em modo gradiente ou isocrático, sendo que para a separação e quantificação de misturas de HPAs o modo gradiente é recomendado.

Em um trabalho de avaliação de BaP em amostras de cachaça por CLAE-DFI, os autores obtiveram valores médios de recuperação em torno de 74,5% para concentrações de 0,6 a 3,0ppb e limite de detecção de 0,011ppb²¹. Na quantificação de BaP em amostras de óleos comestíveis, os valores de recuperação foram de 99,9% com coeficiente de variação de 2,8% para concentrações de 1ppb, o método apresentou limite de detecção de 0,07ppb e de quantificação de 0,14ppb⁶⁵.

Em um trabalho de avaliação de BaP em amostras de peixes, camarões e frutos do mar enlatados utilizando a técnica CLAE-DFI, os limites de detecção e quantificação obtidos foram 0,005 e 0,017ppb, respectivamente, e os valores de recuperação de 88% para concentrações de 2,3ppb e 96% para 4,5ppb, com coeficientes de variação de 6,7 e 2,9, respectivamente⁴². Para a quantificação de BaP em amostras de café por CLAE-DFI, os limites de detecção e quantificação forem de 0,03 e 0,10ppb, respectivamente, e recuperações entre 76 e 116% para a faixa de concentrações de 1,0 a 3,0ppb⁴⁶.

Benzo(a)pireno em alimentos e bebidas

Vários estudos vêm sendo realizados com o objetivo de avaliar quais são os alimentos ou grupo de alimentos que mais contribuem na ingestão diária de BaP e/ou HPAs. Tem sido verificado que as fontes de exposição variam de acordo com o país e o respectivo hábito alimentar. Nos últimos anos, algumas dessas pesquisas indicam que os grupos formados pelos óleos e gorduras, cereais e açúcares são os que apresentam maiores níveis de contaminação^{1,15,18,22}.

De acordo com decisão do Comitê Científico da Alimentação Humana, da Comunidade Européia, os níveis de HPAs nos gêneros

alimentícios devem ser reduzidos a concentrações tão baixas quanto possível. Desta forma, através do Regulamento (CE) n° 208, de 04 de fevereiro de 2005, este Comitê determinou que se utilizasse o benzo(a)pireno como marcador relativo à ocorrência de outros HPAs cancerígenos e determinou limites máximos para este contaminante para alguns tipos de alimentos³¹; tais valores estão apresentados na Tabela 4.

Algumas pesquisas têm sido realizadas a fim de verificar a possível contaminação de bebidas alcoólicas por HPAs, dentre eles, o BaP. De um modo geral, os resultados de BaP obtidos têm sido relativamente baixos^{5,23,39,47,66}. Isto pode ser verificado no trabalho de Swallow, onde o teor encontrado em rum escuro foi de 1ng.mL⁻¹³⁹; em whiskies as concentrações de BaP situaram-se na faixa de 0,0013 a 0,0193ng.mL⁻¹⁴⁷ e na pesquisa de Toissant e Walker não foi detectada a presença deste contaminante (limite de quantificação: 1ng.mL⁻¹)⁶⁶. Em 2005, García-falcon e Simal-Gándara avaliaram a contaminação de vinho verde, vinho tinto, vinho do Porto, jerez, rum branco, aguardente de uva, brandy de jerez, whisky e ponche; os valores de BaP, em ng.mL⁻¹, obtidos resultaram em abaixo do limite de detecção (0,0001) para vinho verde, sendo que as maiores faixas de concentração encontradas variaram de 0,3 a 10,3 para aguardente de uva e de 2,6 a 6,3 para brandy de jerez; as demais bebidas revelaram teores menores que 3,1ng.mL⁻¹⁵.

No Brasil, poucos são os trabalhos desenvolvidos com relação à contaminação de bebidas por BaP, porém, alguns têm verificado a ocorrência deste composto em cachaças. A maioria deles relata como possíveis fontes de contaminação a queima do canavial, que é uma prática bastante adotada durante a fase da colheita da cana^{3,28,41}. Devido às conseqüências negativas que este procedimento acarreta ao meio ambiente, em 19 de setembro de 2002, foi sancionada a Lei n° 11.241, do Estado de São Paulo, a qual dispõe sobre a eliminação gradativa do uso do fogo como método depalhador e facilitador do corte da cana-de-açúcar. Os plantadores de cana são obrigados a reduzir essa prática e eliminar a queima da palha gradativamente até o ano de 2031⁶⁷.

Tabela 4. Níveis máximos de BaP em alguns tipos de alimentos (em µg/kg de peso fresco), de acordo com o Regulamento (CE) n° 208, de 04 de fevereiro de 2005, da Comunidade Européia³¹.

Produto	BaP (µg/kg de peso fresco)
Óleos e gorduras	2,0
Alimentos para lactentes e crianças	1,0
Carnes defumadas e produtos defumados à base de carnes	5,0
Partes comestíveis de peixes defumados	5,0
Partes comestíveis de peixes	2,0
Moluscos bivalves	10,0
Crustáceos e cefalópodes	5,0

CONCLUSÕES

Vários são os trabalhos publicados referentes à análise de HPAs e BaP em diferentes alimentos e, alguns, em bebidas. Nos últimos anos, também têm sido realizados estudos da ocorrência destes compostos em dietas totais.

A metodologia mais utilizada para a extração destes compostos é a saponificação, seguida da extração por partição e limpeza dos extratos utilizando cartuchos de extração em fase sólida. Para a quantificação, utiliza-se amplamente a CLAE com detecção de fluorescência e confirmação por CG-EM.

REFERÊNCIAS

1. Camargo MCR, Toledo MCF. Avaliação da contaminação de diferentes grupos de alimentos por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. *Braz J Food Technol* 2002a; 5:19-26.
2. European Commission. Health and Consumer Protection Directorate-General. Polycyclic aromatic hydrocarbons – Occurrence in foods, dietary exposure and health effects. SCF/CS/CNTM/PAH/29 ADD1 Final. Brussels, 2002.
3. Bettin SM, Franco DW. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em aguardentes. *Cienc Tecnol Aliment* 2005; 25(2):234-8.
4. IARC, International Agency for Research on Cancer. Monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to humans: Polynuclear Aromatic Compounds, 32, IARC, Lyon, 1983.
5. García-Falcón MS, Simal-Gándara J. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in alcoholic drinks and the identification of their potential sources. *Food Addit Contam* 2005; 22(9):791-7.
6. Howard JW, Teague RT Jr, White RH, Fry BE Jr. Extraction and estimation of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked foods. I. General Method. *J Assoc Off Anal Chem* 1966a; 49(3):595-611.
7. Lopes WA, Andrade JB. Fontes, formação, reatividade e quantificação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPA) na atmosfera. *Quim Nova*, 19(5):497-516, 1996.
8. Conde FJ, Ayala JH, Afonso AM, González V. Optimization of a sampling method to determine polycyclic aromatic hydrocarbons in smoke from incomplete biomass combustion. *Anal Chim Acta* 2004; 524:287-94.
9. IPCS. International Programme on Chemical Safety. World Health Organization. Environmental Health Criteria 2002. Selected non-heterocyclic. Polycyclic aromatic hydrocarbons. Geneva, 1998.
10. Lin D, Tu Y, Zhu L. Concentrations and health risk of polycyclic aromatic hydrocarbons in tea. *Food Chem Toxicol* 2005; 43:41-8.
11. Godoi AF, Ravindra K, Godoi RHM, Andrade SJ, Santiago-Silva M, Vaeck LV, Grieken RV. Fast chromatographic determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in aerosol samples from sugar cane burning. *J Chromatogr A* 2004; 1027:49-53.
12. Perfetti GA, Nyman PJ, Fisher S, Joe FL Jr, Diachenko GW. Determination of polynuclear aromatic hydrocarbons in seafood by liquid chromatography with fluorescence detection. *JAOAC Int* 1992; 75(5):872-7.
13. Pereira Netto AD, Moreira JC, Dias AEXO, Arbilla G, Ferreira, LFV, Oliveira AS, Berek J. Avaliação da contaminação humana por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e seus derivados nitrados (NPHAs): uma revisão metodológica. *Quim Nova* 2000; 23(6):765-73.
14. IARC, International Agency for Research on Cancer. Monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to humans. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, 2006b. [Acesso em 10/01/07]. Disponível em: http://monographs.iarc.fr/ENG/Meetings/92_pahs.pdf.
15. de Vos RH, Dokkum WV, Schouten A, Jong-Berkhout P. Polycyclic aromatic hydrocarbons in Dutch total diets samples (1984 - 1986). *J Food Chem Toxicol* 1990; 28(4):263-8.
16. Falcó G, Domingo JL, Llobet JM, Teixidó A, Casas C, Müller L. Polycyclic aromatic hydrocarbons in foods: human exposure through the diet in Catalonia, Spain. *J Food Prot* 2003; 66(12):2325-31.
17. Nieva-Cano MJ, Rubio-Barroso S, Santos-Delgado MJ. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons with fluorimetric detection following sonication without sample clean-up. Comparison of two spectrofluorimetric methods applied to water samples. *Analyst* 2001; 126:1326-31.
18. Dennis MJ, Massey RC, McWeeny DJ, Knowles ME, Watson D. Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in UK total diets. *J Food Chem Toxicol* 1983; 21(5):569-74.
19. Wang G, Lee AS, Lewis M, Kamath B, Archer RK. Accelerated solvent extraction and gas chromatography/mass spectrometry for determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked food samples. *J Agric Food Chem* 1999; 47:1062-66.
20. Howard JW, Fazio T, White RH, Klimeck BA. Extraction and estimation of polycyclic aromatic hydrocarbons in total diet composites. *J Assoc Off Anal Chem* 1968; 51(1):122-29.
21. Camargo MCR, Toledo MCF. Chá-mate e café como fontes de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) na dieta da população de Campinas. *Ciênc Tecnol Aliment* 2002b; 22(1):49-53.
22. Kaserouni N, Sinha R, Hsu CH, Greenberg A, Rothman. Analysis of 200 food items for benzo(a)pyrene and estimation of this intake in an epidemiologic study. *Food Chem Toxicol* 2001; 39:423-36.
23. Lodovici M, Dolara P, Casalini C, Ciappellano S, Testolin G. Polycyclic aromatic hydrocarbons contamination in Italian diet. *Food Addit Contam* 1995; 12(5):703-13.

24. Vaessen HAMG, Jekel AA, Wilbers AAMM. Dietary intake of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Toxic Environm Chem* 1988;16:281-94.
25. Camargo MSFO, Toledo MCF. Avaliação da ingestão de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) através da dieta, em diferentes regiões do Brasil. *Rev Bras Toxicol* 2001; 14(2):23-30.
26. JECFA. Joint FAO/WHO Expert Committee on food additives. Sixty-fourth Meeting, Rome, 2005. [Acesso em 02/10/05]. Disponível em: www.who.int/ipcs/food/jecfa/en/.
27. Zuin VG, Montero L, Bauer C, Popp P. Stir bar sorptive extraction and high-performance liquid chromatography - fluorescence detection for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in Mate teas. *J Chromatogr A* 2005; 1091:2-10.
28. Tfouni SAV, Machado RMD, Camargo MCR, Vitorino SHP, Vicente E, Toledo MCF. Polycyclic aromatic hydrocarbons in cachaça by HPLC with fluorescence detection. *Food Chem* 2007; 101:334-38.
29. The Merck Index. 11^a ed. Rahway: Merck & CO Inc, 1989.
30. Costa AF. Avaliação da contaminação humana por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs): 1-hidroxipireno urinário. [dissertação]. Rio de Janeiro: Centro de estudos de Saúde do trabalhador e Ecologia Humana da Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública; 2001.
31. EC. Commission of the European Communities. Commission Regulation (EC) n° 208/2005 of 4 February 2005a amending Regulation (EC) n° 466/2001 as regards polycyclic aromatic hydrocarbons. *Official Journal L034*:3-5.
32. Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n° 02, de 15 de janeiro de 2007. Aprova o Regulamento Técnico sobre Aditivos Aromatizantes. *Diário Oficial da União*; Brasília, 17 jan 2007.
33. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria n° 518, de 25 de março de 2004. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências. *Diário Oficial da União*; Brasília, 26 mar 2004.
34. Howard JW, Turicchi EW, White RH, Fazio T. Extraction and estimation of polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetable oils. *J Assoc Off Anal Chem* 1966b; 49(6):1236-44.
35. Howard JW, White RH, Fry BE Jr, Turicchi EW. Extraction and estimation of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked foods. II. Benzo(a)pyrene. *J Assoc Off Anal Chem* 1966c; 49(3):611-17.
36. Manoski AJ, Greenfield EL, Barnes CS, Worthington FL, Joe FL Jr. Survey of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked foods. *J Assoc Off Anal Chem* 1968; 51(1):114-21.
37. Grimmer G, Böhnke H. Polycyclic aromatic hydrocarbon profile analysis of high-protein foods, oils and fats by gas chromatography. *J Assoc Off Anal Chem* 1975; 58(4):725-33.
38. IARC, International Agency for Research on Cancer. Monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to humans. Some Industrial Chemical and Dyestuffs, Volume 29. [Acesso em 10/01/07]. Disponível em: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol29/volume29.pdf>.
39. Swallow WH. Survey of a polycyclic aromatic hydrocarbons in selected foods and food additives available in New Zealand. *New Zealand J Scien* 1976; 19:407-12.
40. Twominen JP, Pyysalo HS, Sauri M. Cereal products as a source of polycyclic aromatic hydrocarbons. *J Agric Food Chem* 1988; 36:118-20.
41. Serra GE, Pumpin AM, Toledo MCF. Ensaios preliminares sobre a contaminação da cana-de-açúcar e derivados por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos. *Bol SBCTA* 1995; 29(2):13-37.
42. Azeredo A, Toledo MCF, Camargo MCR. Determinação de BaP em pescados. *Ciênc Tecnol Aliment* 2006, 26(1):89-93.
43. Kolarovic L, Traitler H. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in vegetable oils by caffeine complexation and glass capillary gas chromatography. *J Chromatogr* 1982; 237:263-72.
44. Stijve T, Hirschhuber. Simplified determination of benzo(a)pyrene and other polycyclic aromatic hydrocarbons in various food materials by HPLC and TLC. *Dtsch Lebensmitt Rundsch* 1987; 83(9):276-82.
45. Kruijff N, Schouten T, van der Stegen GHD. Rapid determination of benzo(a)pyrene in roasted coffee and coffee brew by HPLC with fluorescence detection. *J Agric Food Chem* 1987; 35:545-549.
46. Badolato ESG, Martins MS, Aued-Pimentel S, Alaburda J, Kumagai EE, Baptista GG, Rosenthal. Systematic study of benzo[a]pyrene in coffee samples. *J Braz Chem Soc* 2006; 17(5):989-93.
47. Kleinjans JCS, Moonen EJC, Dallinga JW, Albering HJ, van den Bogaard EJM. Polycyclic aromatic hydrocarbons in whiskies. *The Lancet* 1996; 348:1731.
48. Crosby NT, Hunt DC, Philip LA, Patel I. Determination of polynuclear aromatic hydrocarbons in food, water and smoke using high-performance liquid chromatography. *Analyst* 1981; 106:135-45.
49. Thompson D, Jolley D, Maher W. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in oyster tissues by H.P.L.C. ultraviolet and fluorescence detection. *Microchem J* 1993; 47:351-62.
50. Gomaa EA, Gray JI, Rabie S, Lopez-Bote C, Booren AM. Polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked food products and commercial liquid smoke flavourings. *Food Addit Contam* 1993; 10(5):503-21.
51. Riha WE, Wendorff WL, rank S. Benzo(a)pyrene content of smoked and smoke-flavored cheese products sold in Wisconsin. *J Food Prot* 1992; 55(8):636-38.

52. Barranco A, Alonso-Salles RM, Crespo I, Berrueta LA, Gallo B, Vicente F, Sarobe M. Polycyclic aromatic hydrocarbons in commercial Spanish fatty foods. *J Food Prot* 2004; 267(12):2786-91.
53. Chen BH, Wang CY, Chiu CP. Evaluation of analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in meat products by liquid chromatography. *J Agric Food Chem* 1996; 44:2224-51.
54. Warzecha L, Strózyk, Janoszka B, Blaszczyk U, Bodzek D. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons, azaarenes, and aminoazaarenes in meat samples by solid-phase extraction (SPE) and HPLC. *Acta Chromatogr* 2002; 12:104-18.
55. Barranco A, Alonso-Salles RM, Bakkali A, Berrueta LA, Gallo B, Vicente F, Sarobe M. Solid-phase clean-up in the liquid chromatographic determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in edible oils. *J Chromatogr A* 2003; 988:33-40.
56. García-Falcón MS, Pérez-Lamela M, Simal-Gándara J. Comparison of strategies for extraction of high molecular weight polycyclic aromatic hydrocarbons from drinking waters. *J Agric Food Chem* 2004; 52:6897-903.
57. Joe, FL Jr, Salemme J, Fazio T. High-performance liquid chromatography with fluorescence and ultra-violet detection of polynuclear aromatic hydrocarbons in barley malt. *J Assoc Off Anal Chem* 1982; 65(6):1395-402.
58. Cejpek K, Hajslová, Jehlicková Z, Merhant J. Simplified extraction and clean-up procedure for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in fatty and protein-rich matrices. *Int J Env Anal Chem* 1995; 61:65-80.
59. Bernal JL, Nozal MJ, Toribio L, Serna ML, Borrull F, Marcé RM, Pocurull. E. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water by use of supercritical fluid chromatography coupled on-line to solid phase extraction with disks. *J Chromatogr A* 1997; 778:321-28.
60. Voutsas D, Samara C. Dietary intake of trace elements and polycyclic aromatic hydrocarbons via vegetables grown in an industrial Greek area. *The Sci Total Environ* 1998; 218:203-16.
61. Lintas C, Matthaëis MC, Merli F. Determination of benzo(a)pyrene in smoked, cooked and toasted food products. *Food Cosmet Toxicol* 1979; 17:325-28.
62. Rivera L, Curto MJC, Pais P, Galceran MT, Puignou L. Solid phase extraction for the selective isolation of polycyclic aromatic hydrocarbons, azarenes and heterocyclic aromatic amines in charcoal-grilled meat. *J Chromatogr A* 1996; 731:85-94.
63. Pumpin AM, Toledo MCF. Benzo(a)pyrene in olive oils on the Brazilian market. *Food Chem* 1996; 55(2):185-88.
64. Camargo MCR, Tfouni SAV, Vitorino SHP, Menegário TF, Toledo MCF. Determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em guaraná em pó (*Paullinia cupana*). *Ciênc Tecnol Aliment* 2006; 26(1):230-4.
65. Van Der Wielen JCA, Jansen JTA, Martena MJ, Groot HN, In't Veld PH. Determination of the level of benzo[a]pyrene in fatty foods and food supplements. *Food Addit Contam* 2006; 23(7):709-14.
66. Toussaint G, Walker EA. Use of high-performance liquid chromatography as a clean-up procedure in analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in alcoholic beverages. *J Chromatogr* 1979; 171:448-52.
67. São Paulo. Governo do Estado de São Paulo. Lei nº 11.241 de 19 de setembro de 2002. *Diário Oficial do Estado de São Paulo*. São Paulo, Seção 1, p.2.