



**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E
TECNOLOGIA SUL-RIO-GRANDENSE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E
CIÊNCIAS AMBIENTAIS**



MONISE ELLEN ALVES DA SILVA

**DETERMINAÇÃO DE HPAs EM PREPARAÇÕES COMERCIAIS COM BASE
EM PIMENTA**

**Pelotas
2021**

MONISE ELLEN ALVES DA SILVA

**DETERMINAÇÃO DE HPAs EM PREPARAÇÕES COMERCIAIS COM BASE
EM PIMENTA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciências Ambientais do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Sul-Rio-grandense como requisito parcial para obtenção de Título de Mestre.

Orientador: Pedro José Sanches Filho.

**Pelotas
2021**

Ficha Catalográfica

S586d Silva, Monise Ellen Alves da.
Determinação de HPAs em preparações comerciais com base em pimenta / por Monise Ellen Alves da Silva . – 2021.
108 f. : il. color.
Inclui artigo: Determinação de HPAs em preparações comerciais com base em pimenta.
Orientador: Prof. Dr. Pedro José Sanches Filho.
Dissertação (mestrado) - Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Sul-rio-grandense, Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciências Ambientais, Pelotas, 2021.
1. Contaminantes Ambientais. 2 Hidrocarbonetos - HPAs. 3. Segurança Alimentar. 4. Especiarias. 5. Cromatografia - GC-MS. I. Sanches Filho, Pedro José. II. Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Sul-rio-grandense - IFSul. III. Título.

CDD 615.9

Catálogo na publicação:
Bibliotecária Glória Acosta Santos CRB 10/1859
Biblioteca IFSul - Câmpus Pelotas

MONISE ELLEN ALVES DA SILVA

**DETERMINAÇÃO DE HPAs EM PREPARAÇÕES COMERCIAIS COM BASE
EM PIMENTA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharias e Ciências Ambientais do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Sul-Rio-grandense, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre.

Dissertação defendida e aprovada em: 30, Abril de 2021.

Banca examinadora:

Prof. Dr. Pedro José Sanches Filho
Orientador
IFSUL

Prof. Dr. Cláudia Magalhães do Valle
IFAM

Prof. Dr. Daniel Ricardo Arsand
IFSUL

Prof. Dr. Samanta Vieira Pereira
IFRJ

A Deus, pela oportunidade de me enviar a esta terra. Por seu fôlego de vida em mim me foi sustento e me deu coragem para enfrentar todos os desafios e possibilidades deste mundo.

AGRADECIMENTO

Agradeço, principalmente, à Deus, que me deu energia e benefícios para concluir todo esse trabalho.

Agradeço a minha família que me incentivaram todos os anos que estive me dedicando aos meus estudos.

Aos meus colegas da turma de Tecnólogos em Processos Químicos do IFAM em especial a Suane de Andrade Viana, que me incentivaram e me ajudaram a chegar até aqui.

Aos meus amigos Júlia Arduim, Catiúscia Weinert, Gustavo Fehrenbach, Vanderleia Senhor, pelo incentivo e apoio ao longo do mestrado.

Aos professores do Instituto de Educação Ciências e Tecnologia do Amazonas, por sua dedicação, atenção e ajuda.

Aos professores Charles Soares Huber e Pedro José Sanches Filho, por sua paciência e dedicação em me ajudar com suas orientações.

Ao meu amado esposo Fabrício Lüdtke Félix, que com muito carinho, amor e apoio, não mediu esforço para que eu chegasse até esta etapa de minha vida.

Agradeço ao departamento de química pela disponibilização do laboratório e material necessário para as pesquisas técnicas.

Agradeço ao grupo de Pesquisa em Contaminantes Ambientais, em especial aos estagiários Iago e Gustavo Vieira, pela ajuda com as análises.

Resumo

Os Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs), são substâncias tóxicas persistentes de grande interesse ambiental que estão distribuídas em todos os compartimentos ambientais como resultado de inúmeras atividades naturais e antropogênicas. Os HPAs estão entre aqueles poluentes ambientais que apresentam atividade cancerígena e mutagênica. A exposição humana aos HPAs pode ocorrer por diferentes vias como: inalação, ingestão, ou absorção cutânea. Os alimentos são considerados importante fonte de exposição humana, tanto devido à formação de HPAs durante o cozimento, quanto devido à deposição atmosférica sobre os grãos, vegetais e frutas. Neste estudo, foi analisada uma metodologia para a extração, pré-concentração e cleanup de hidrocarbonetos presentes em amostras comerciais de pimentas, com extração por solvente sob ultrassom, seguidas por fracionamento em cromatografia líquida preparativa em coluna e os extratos analisados por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas em modo SIM e SCAN com injeção splitless. Foram avaliados dois métodos de cleanup, sendo utilizado o que apresentou recuperações entre 94,5% e 99,0% para HPAs deuterados, gerando uma redução de tempo e volume de solventes. O método cromatográfico apresentou coeficientes de correlação lineares, precisão e exatidão que validam a eficiência e resultados do método utilizado. Os limites de detecção para os HPAs nas amostras variaram de 0,2 a 0,6 $\mu\text{g kg}^{-1}$ e de quantificação 0,7 a 2,0 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Foram encontrados 16 HPAs listados pela USEPA (United States Environmental Protection Agency). Os níveis determinados neste estudo estão bem acima dos recomendados por esta norma. O método comportou-se de forma adequada para determinação dos analitos conforme exigências dos órgãos de controle ambiental e os resultados apresentados indicam que as amostras de pimentas investigadas neste trabalho podem ser uma importante fonte de HPAs para a dieta humana.

Palavras-Chave: Especiarias, Pimentas, HPAs, GC/MS, Segurança Alimentar.

ABSTRACT

Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) are persistent toxic substances of great environmental concern that are distributed in all environmental compartments as a result of numerous natural and anthropogenic activities. PAHs are among those environmental pollutants that exhibit carcinogenic and mutagenic activity. Human exposure to PAHs can occur by different routes such as inhalation, ingestion, or cutaneous absorption. Food is considered an important source of human exposure, both due to the formation of PAHs during cooking and due to atmospheric deposition on grains, vegetables, and fruits. In this study, a methodology was analyzed for the extraction, pre-concentration and cleanup of hydrocarbons present in commercial chili samples, with solvent extraction under ultrasound, followed by fractionation in preparative liquid chromatography column and the extracts analyzed by gas chromatography coupled to mass spectrometry in SIM and SCAN mode with splitless injection. Two cleanup methods were evaluated, and the one that presented recoveries between 94.5% and 99.0% for deuterated PAHs was used, generating a reduction in time and solvent volume. The chromatographic method presented linear correlation coefficients, precision and accuracy that validate the efficiency and results of the method used. The detection limits for the HPAs in the samples ranged from 0.2 to 1.0 $\mu\text{g kg}^{-1}$ and quantification limits from 0.7 to 3.4 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Sixteen HPAs listed by the United States Environmental Protection Agency (USEPA) were found. The levels determined in this study are well above those recommended by this standard. The method behaved adequately for the determination of analytes according to the requirements of environmental control agencies and the results presented indicate that the samples of peppers investigated in this study may be an important source of PAHs for the human diet.

Keywords: Spices, Peppers, PAHs, GC/MS, Food Security

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Estrutura molecular dos 16 HPAs prioritários que constam na lista de indicadores de contaminação segundo a USEPA. Hpas de menor massa molecular (1 a 6) e de maior massa molecular (7 a 16)	15
Figura 2	Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em estrutura molecular, que apresentam a região de baía	17
Figura 3	Ativação metabólica do benzo(a)pireno com formação de diolepóxido	17
Figura 4	Crescimento e implosão de bola de um líquido irradiado com ultrassom	24
Figura 5	Etapas do SPE: condicionamento do sorvente, adição da amostra, remoção dos interferentes e eluição do analito	25
Figura 6	Esquema de um extrator soxhlet	26
Figura 7	Fluxograma da principais versões do método QuEchERS	27
Figura 8	Procedimento básico de operação da SPME. Processo de extração dos analitos da amostra e dessorção térmica no injetor de um cromatógrafo a gás	29
Figura 9	Diagrama esquemático das partes básicas de um cromatógrafo gasoso (GC)	31
Figura 10	Diagrama esquemático das partes básicas de um HPLC	33
Figura 11	Estrutura molecular da piperina	35
Figura 12	Estrutura molecular da capsaicina	35
Figura 13	Pimenta Caiena in natura e processada (em pó)	37
Figura 14	Páprica Defumada	38
Figura 15	Pimenta Calabresa em Pó	38
Figura 16	Fluxograma das principais especiarias para produção da pimenta Síria	38
Figura 17	Pimenta Merken	39

LISTA DE TABELA

Tabela 1	Propriedades físico-químicas dos 16 HPAs prioritários	15
Tabela 2	Potencial carcinogênico dos principais hidrocarbonetos policíclicos aromáticos	19
Tabela 3	Níveis máximos de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos de acordo com o regulamento nº835/2011 da União Europeia	21
Tabela 4	Critérios de desempenho de análise de benzo(a)pireno	22
Tabela 5	Informações sobre espaçamento, época de plantio e ciclos dos principais tipos de pimentas em diferentes regiões do país	36
Tabela 6	Recuperação do analito em função da concentração	42

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Ace - Acenafteno	IP – Indeno(1,2,3-c,d)Pireno
Acl - Acenaftileno	Kow - Coeficiente de partição octanol/água
An - Antraceno	LD – Limite de detecção
ASE - <i>Accelerated Solvent Extraction</i> (Extração Acelerada por Solvente)	LQ – Limite de quantificação
BaA - Benzo(a)antraceno	MAE – Microwave-assisted Extraction (Extração assistida por Microondas)
BaP - Benzo(a)pireno	MgSO ₄ – Sulfato de Magnésio
BbF - Benzo(b)fluoranteno	NaCl- Cloreto de Sódio
BghiP - Benzo(ghi)perileno	Naf - Naftaleno
BkF - Benzo(k)fluoranteno	ND – Não detectável
CCME – Canadian Council of Ministers of the Environmental (Conselho Canadense de Ministros de Meio Ambiente)	QuEChERS – Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe
CONTAM – Contaminants in the Food Chain (Contaminantes na Cadeia Alimentar)	Pir - Pireno
ChR - Criseno	r - coeficiente de correlação linear
DahA - Dibenzo(a,h)antraceno	RSD – Relative standard deviation (Desvio padrão relativo)
DCM - Diclorometano	SPE – Solid Phase Extraction (Extração em Fase Sólida)
EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária	SPME- Solid Phase Micro Extraction (Extração em Fase Sólida)
EFSA – European Food Safety Authority (Autoridade de Segurança Alimentar da Europa)	USEPA - <i>United States Environmental Protection Agency</i> (Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos)
EPA - Environmental Protection Agency (Agência de Proteção Ambiental)	ΣHPAs - Somatório de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos
ER – Erro relativo	
EU - European Union	
FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations (Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura)	
Fen - Fenantreno	
Fl - Fluoreno	
Flu - Fluoranteno	
GC/MS – Gas chromatography – mass spectrometry (Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas)	
HAs – Hidrocarbonetos alifáticos	
HPAs - Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos	
IARC – International Agency For Research on Cancer (Agência Internacional de Pesquisa em Câncer)	

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 HIDROCARBONETOS	13
2.1.1. Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos	13
2.1.2. Toxicidade dos Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos	16
2.1.3. Hidrocarbonetos Policíclicos aromáticos em Alimentos	19
2.1.4. Legislação para HPAs	20
2.2 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE HPAs	23
2.2.1. Extração sob Ultrassom	23
2.2.2. Extração em Fase Sólida	24
2.2.3. Extração Soxhlet	25
2.2.4. Extração QuEchERS	27
2.2.5. Extração Assistida por Microondas	28
2.2.6. Extração por Microextração em Fase Sólida	28
2.2.7. Métodos de análises para HPAs	30
2.2.7.1 Cromatografia Gasosa acoplada Espectrometria de Massas	30
2.2.7.2 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência	32
2.3. PRODUÇÃO DE PIMENTAS	34
2.3.1 Produção e Consumo de pimentas <i>Capsicum</i> no Brasil	35
2.4. VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA	39
2.4.1. Especificidade/Seletividade	40
2.4.2. Função de resposta	40
2.4.3. Linearidade e faixa de trabalho	40
2.4.4. Sensibilidade	41
2.4.5. Exatidão	41
2.4.6. Precisão	42
2.4.7. Limite de Detecção (LD)	43
2.4.8. Limite de Quantificação (LQ)	43
2.4.9. Robustez	44
3. REFERÊNCIAS	45
4. PRODUÇÃO CIENTÍFICA OU TECNOLÓGICA	63
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS	64
ANEXO I - Artigo	65
ANEXO II - Material Suplementar do artigo	90
ANEXO III - Regras de Submissão da Revista/Revista Ibero-Americana de	

1 INTRODUÇÃO

Os hidrocarbonetos estão listados como alguns dos principais contaminantes ambientais, pois são gerados com facilidade e apresentam grande dispersão (HARTZELL *et al.*, 2018). Dentre eles, os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) apresentam alta toxicidade à biota devido seu potencial carcinogênico e mutagênico (GARCIA *et al.*, 2014; PHILLIPS, 2020; SINGH *et al.*, 2020).

Os HPAs são moléculas diversificadas com mais de cem compostos orgânicos, constituídos apenas de carbono e hidrogênio, formados por dois ou mais anéis aromáticos condensados, cada qual contendo cinco ou seis átomos de carbonos (BUDZINKI *et al.*, 2004).

Grande parte da formação destes compostos se dá pela combustão incompleta de substâncias orgânicos e estão presentes na queima incompleta de óleos, petróleo e seus derivados, nos escapamentos de veículos, na fumaça de cigarro, na calefação, na queima de carvão ou madeira, na incineração de rejeitos, entre outros, (NETO *et al.*, 2000; HARTZELL *et al.*, 2018). Após formação, os HPAs distribuem-se nos compartimentos ambientais em proporções que dependem de suas propriedades físico-químicas e das características de cada compartimento ambiental (CHEN *et al.*, 2017).

Sabe-se que os alimentos e bebidas são uma das maiores fontes de exposição humana aos HPAs (LIN *et al.*, 2005; ROZENTALE *et al.*, 2017; BERTINETTI *et al.*, 2017; SILVA *et al.*, 2020). A ocorrência de contaminação em alimentos por HPAs provém de diferentes formas, incluindo o contato com a água, ar e/ou solo poluídos e pelo processamento de alimentos, principalmente os que apresentam elevadas temperaturas (secagem, defumação, tostagem, grelhagem) (CHUNG *et al.*, 2011; JUHURUL *et al.*, 2013; MARTIN *et al.*, 2015). A presença e as concentrações destes compostos estão relacionadas também com suas características físico-químicas como elevada lipofilicidade, a mesma propriedade que determina sua absorção, distribuição e bioacumulação no organismo humano (CARUSO e ALABURDA, 2008; PURCARO *et al.*, 2012; KUHN *et al.*, 2020).

Um dos alimentos que pode sofrer a contaminação por HPAs são as especiarias que incluem os diversos tipos de pimentas e vêm sendo usadas para atribuir sabor, cor, aroma e preservação para alimentos e bebidas. As especiarias

servem de ingredientes para alimentos processados, produtos à base de carne, laticínios e produtos de panificação (EFSA, 2008; EMBRUSCADO, 2015; SCHAARSCHMIDT, 2016).

A qualidade organoléptica e comercial dessas especiarias pode ser afetada pela origem, processos envolvidos na produção, presença de corantes e outros aditivos alimentares, sendo muitos desses proibidos. Os principais grupos químicos presentes em especiarias e que apresentam riscos à saúde, compreendem micotoxinas, resíduo de pesticidas, metais pesados, contaminantes orgânicos persistentes que incluem os HPAs (MORET *et al.*, 2010; MARTENA *et al.*, 2011; REINHOLS *et al.*, 2016; SCHAARSMIDT, 2016).

De acordo com Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA, 2020), não existe uma estimativa exata da produção de pimenta no País, mas acredita-se que são aproximadamente 5 mil hectares de área cultivada por ano, gerando uma produção de 75 mil toneladas de especiarias.

A grande parte da produção é cultivada por pequenos agricultores de diversas regiões brasileiras. Na região Sudeste consome-se principalmente a pimenta doce do tipo americana, pimenta cambuci, malagueta e cumari vermelha. Na região Nordeste, predominam as pimentas malagueta e pimenta de cheiro. Na região Norte, as pimentas mais apreciadas são a murupi, cumari do Pará e a pimenta de cheiro, na região Centro-Oeste, tradicionalmente são cultivadas e consumidas pimentas bode, malagueta, cumari do Pará, dedo de moça e mais recentemente pimenta de cheiro, anteriormente oriunda do Pará e atualmente já cultivada em Goiás (EMBRAPA, 2020).

Existem poucos resultados sobre estudos de contaminação de HPAs em pimentas. Pela base de dados Scopus (www.scopus.com), somente 13 publicações foram encontradas nos últimos 20 anos abordando o assunto.

Considerando o grau de toxicidade desses compostos e a necessidade de avaliar o seu aporte à dieta local através do consumo de pimentas, o objetivo deste estudo foi determinar a presença e níveis de HPAs em amostras comerciais de pimenta por Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (do inglês *gas chromatography coupled to mass spectrometry* - GC/MS).

Os objetivos específicos necessários para atingir o objetivo geral foram:

- Estabelecer as melhores condições e parâmetros instrumentais para determinação dos HPAs utilizando Cromatografia Gasosa acoplada a espectrômetro de massas;
- Avaliar métodos de pré-concentração e cleanup através da cromatografia líquida preparativa em coluna;
- Validar a metodologia;
- Determinação dos níveis de HPAs existentes nas amostras de pimentas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 HIDROCARBONETOS

Os hidrocarbonetos são compostos orgânicos que possuem átomos de hidrogênio e carbono em sua formação, podem apresentar ligações simples, duplas ou triplas e formam estruturas lineares, ramificadas ou cíclicas. As diferentes classes de hidrocarbonetos se comportam de maneira distinta no ambiente, ou seja, possuem distribuição, mecanismos de transportes, tempo de resistência e estabilidade química diversa. Estes compostos estão presentes na constituição da matéria orgânica de origem tanto vegetal como de animal, e também perfazem uma fração expressiva na composição do petróleo e seus derivados (OLIVEIRA, *et al.*, 2014).

Dentro das classes dos hidrocarbonetos destacam-se os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs), que são compostos de grande importância ambiental devido ao seu potencial tóxico e estão amplamente distribuídos no ambiente, em função da sua toxicidade fazem parte de monitoramentos ambientais, como a *United States Environmental Protection Agency* (USEPA, 1995; MARTIN *et al.*, 2015).

2.1.1. Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos

Os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) compõem uma família de mais de 100 compostos orgânicos com um ou mais anéis benzênicos condensados e pode ser dividida em duas classes: compostos com baixo peso de dois a três anéis molecular (1 a 6) e com maior peso molecular de quatro a seis anéis (7 a 16), conforme apresentados na Figura 1 (PIETZSCH *et al.*, 2017).

Os HPAs apresentam um alto grau de toxicidade, carcinogenicidade, teratogenicidade e mutagenicidade, por isto, os 16 HPAs apresentados na Figura 1

são listados pela European Union (EU) e pela *United States Environmental Protection Agency* (USEPA) como contaminantes prioritários (SUN *et al.* 2018 (b); TU *et al.*, 2018; SINGH *et al.*, 2020).

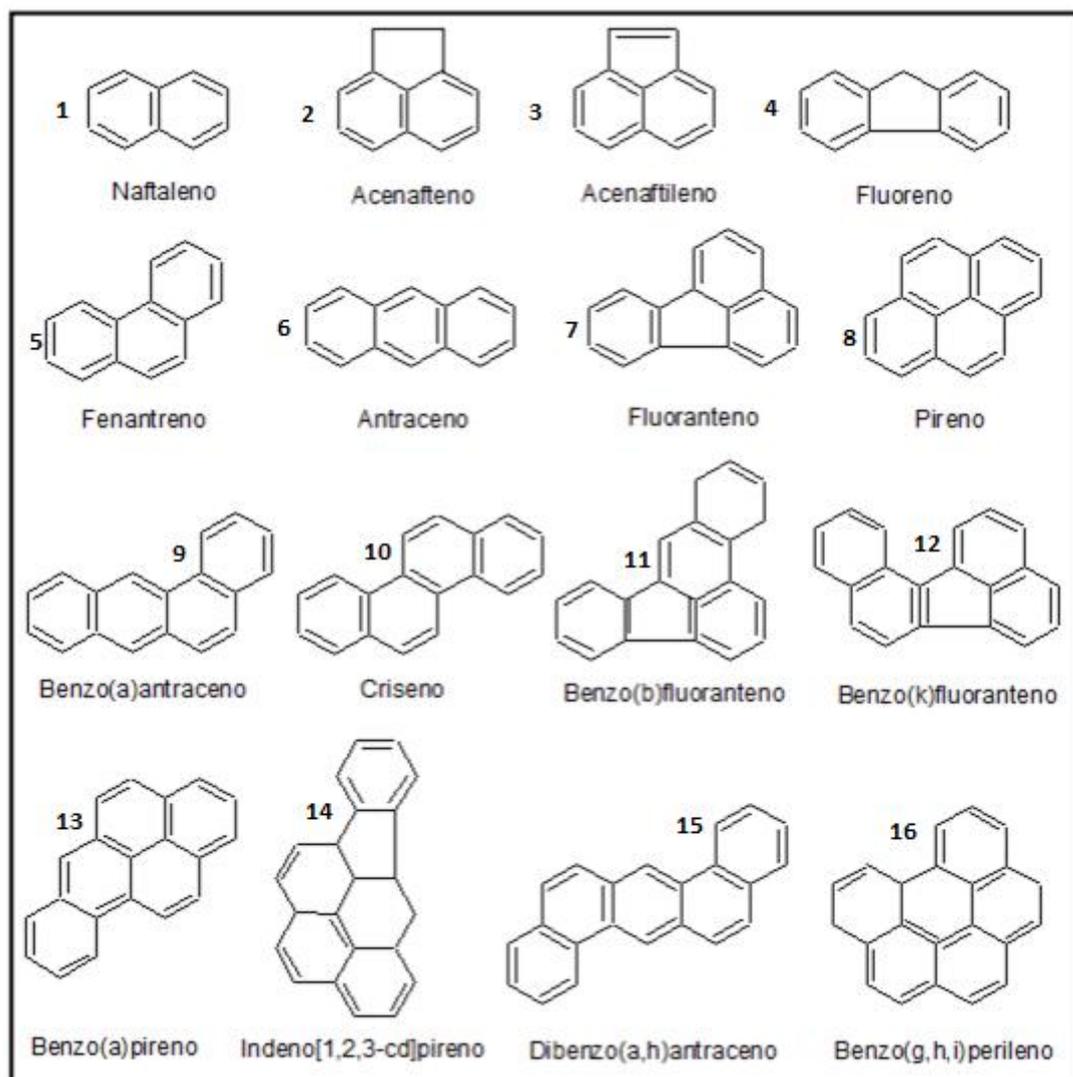


Figura 1: Estrutura molecular dos 16 HPA's prioritários que constam na lista de indicadores de contaminação segundo a USEPA. HPA's de menor massa molecular (1 a 6) e de maior massa molecular (7 a 16).

Fonte: Pietzsch, (2017).

Suas propriedades físico-químicas estão relacionadas com sua massa molecular e sua forma estrutural, quanto maior a massa molecular menor será a sua solubilidade, possuem um elevado Kow (coeficiente de partição, octanol/água), são estáveis ambientalmente, capaz de bioconcentrar e são bioacumuláveis. Sua volatilidade diminui com o aumento de seu peso molecular, como visualizado na Tabela 1 (AZEVEDO *et al.*, 2013, PIETZSCH *et al.*, 2017).

Tabela 1: Propriedades físico-químicas dos 16 HOPAs prioritários.

HPAs	Sigla	Número de anéis	PM (g.mol ⁻¹)	S (mg.L ⁻¹)	PV (Pa)	Log Kow
Naftaleno	Naf	2	128	30	10,4	3,37
Acenaftileno	Acl	3	152	3,93	8,9x10 ⁻¹	4,1
Acenafteno	Ace	3	154	3,93	2,9x10 ⁻¹	3,9
Fluoreno	Fl	3	166	1,98	8,0x10 ⁻²	4,2
Fenantreno	Fen	3	178	1,29	1,6x10 ⁻²	4,6
Antraceno	Na	3	178	7,0x10 ⁻²	8,0x10 ⁻⁴	4,5
Fluoranteno	Flu	4	202	1,4x10 ⁻¹	6,0x10 ⁻⁴	4,6
Pireno	Pir	4	202	2,6x10 ⁻¹	1,2x10 ⁻³	5,2
Benzo(a)Antraceno	BaA	4	228	1,4x10 ⁻¹	2,8x10 ⁻⁵	5,6
Criseno	Cri	4	228	2,0x10 ⁻³	8,4x10 ⁻⁵	5,9
Benzo(k)Fluoranteno	BkF	5	252	5,5x10 ⁻⁴	1,3x10 ⁻⁷	5,7
Benzo(b)Fluoranteno	BbF	5	252	1,5x10 ⁻³	6,7x10 ⁻⁷	5,8
Benzo(a)Pireno	BaP	5	252	3,8x10 ⁻³	7,3x10 ⁻⁷	6,5
Benzo(g,h,i)Perileno	BghiP	6	276	2,6x10 ⁻²	1,4x10 ⁻⁸	7,1
Dibenzo(a,h)Antraceno	DahA	5	278	5,0x10 ⁻³	1,3x10 ⁻⁸	6,5
Indeno(1,2,3-cd)Pireno	IP	6	276	6,2x10 ⁻²	1,3x10 ⁻⁸	6,6

Legenda: PM: peso molecular; S: solubilidade em água; PV: pressão do vapor; Kow: coeficiente de partição octanol/água; nd: não determinado.

Fonte: Adaptado de Garcia *et al.*, (2014).

Estes compostos são formados principalmente por fontes naturais, como queimadas de florestas, atividades vulcânicas, decomposição de material biológico, além de serem formados a partir de fontes antrópicas, tais como: a combustão incompleta da matéria orgânica em altas temperaturas e material fóssil (fonte pirolítica), maturação de matéria orgânica (processo petrogênico), produção de alumínio, produção de carvão, processos de defumação e secagem direta com madeira, torrefação, queima de plástico, fumaça de cigarro e produto de rápida degradação da matéria orgânica (processo de diagênese) (MARTIN *et al.*, 2015; HASSAN *et al.*, 2018).

São sólidos à temperatura ambiente, solúveis em solventes orgânicos, altamente lipofílicos e quimicamente estáveis, sendo biodegradados lentamente sob condições aeróbicas e dificilmente hidrolisados no meio ambiente. A

volatilidade diminui com o aumento do peso molecular, podendo ser encontrado tanto na fase gasosa quanto adsorvidos a partículas atmosféricas e do solo (SUN *et al.*, 2015 (a); LAWAL, 2017). Devido a sua baixa hidrossolubilidade e alta afinidade por material particulado, geralmente se depositam em sedimentos quando lançados na água (OLIVEIRA *et al.*, 2014; ARDUIM *et al.*, 2019). Portanto, estão presentes como contaminantes do ar, alimentos, solos e água (ZHOU e GAO, 2014; LAWAL, 2017; ROZENTALE *et al.*, 2017; ARDUIM *et al.*, 2019; SANCHES FILHO *et al.*, 2021). Devido à sua distribuição ambiental e ao seu caráter lipofílico, a contaminação humana por esses compostos podem ocorrer por absorção pela pele, ingestão ou inalação, sendo rapidamente distribuídas pelo organismo (GARCIA *et al.*, 2014; SINGH *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2020).

2.1.2. Toxicidade dos Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos

A partir do ano de 1931 começaram os estudos sobre os HPAs, com o isolamento do Benzo(a)Pireno a partir do carvão e sua síntese (CARUSO, ALABURDA, 2008; GARCIA, 2014). A sua identificação como uma nova substância química, em 1933, permitiu demonstrar que o BaP é um forte agente cancerígeno em animais e também para humanos. Nesse sentido, estudos mostram que determinados HPAs podem provocar câncer se inalados, ingeridos e mesmo após contato com a pele (SINGH *et al.*, 2020).

Segundo Neto *et al.* (2000) quando os HPAs estão no organismo eles são metabolicamente ativados, 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.

A estrutura dos HPAs, principalmente a posição do átomo de carbono, é que determina sua atividade biológica. Onde a região de baía é definida como uma área de canto aberto na molécula, região em que ocorrem processos relacionados com a toxicidade. A molécula diolépóxido é um metabólito intermediário dos HPAs formada na região de baía, altamente reativa, no processo de metabolismo, na qual está molécula compete covalentemente com o ácido desoxirribonucleico (do inglês *deoxyribonucleic acid*) denominado DNA formando adutos (ROCHA e NISHIO, 2016).

A indução da carcinogênese ocorre quando há formação de adutos de DNA num local crítico para a regulação, diferenciação ou crescimento celular. Os adutos de DNA representam uma das etapas críticas no modelo de carcinogênese e podem ser considerados biomarcadores de risco para o desenvolvimento de câncer, além de estarem relacionados com o déficit no desenvolvimento neurológico de crianças (ROCHA e NISHIO, 2016). A Figura 2 apresenta a região de baía nas respectivas moléculas do HPAs.

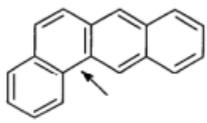
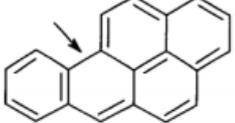
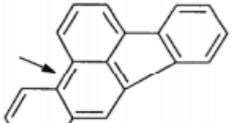
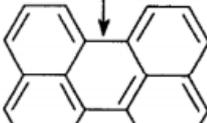
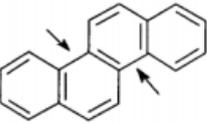
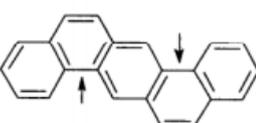
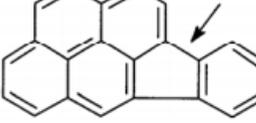
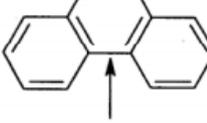
Benzo(a)antraceno	Benzo(a)pireno	Benzo(b)fluoranteno	Benzo(g,h,i)perileno
			
Criseno	Dibenzo(a,h)antraceno	Indeno (1,2,3-c,d)pireno	Fenantreno
			

Figura 2: Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em estrutura molecular, que apresentam a região de baía.

Legenda: A seta (↘) indica a região de baía.

Fonte: Rocha e Nishio, (2016).

A Figura 3 representa a ativação metabólica do benzo(a)pireno com formação de diolepóxido que ocorre em três etapas.

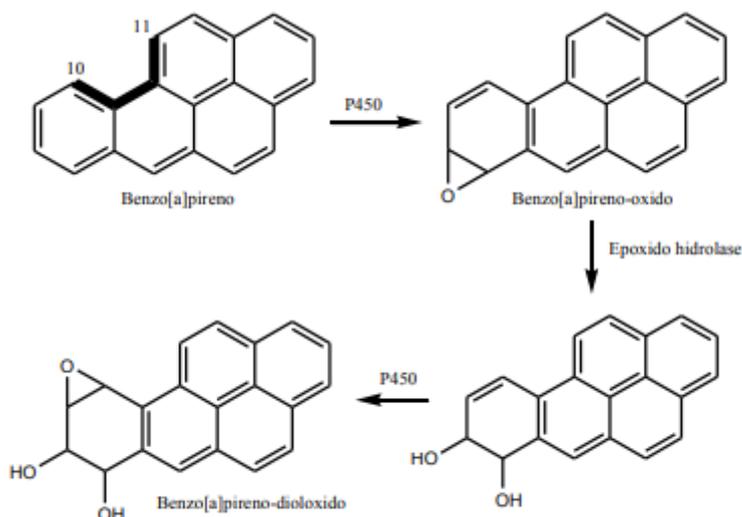


Figura 3: Ativação metabólica do benzo(a)pireno com formação de diolepóxido.

Fonte: Bernardo *et al.*, (2016).

Com a formação do metabólito, é provável que ele ataque eletroliticamente o DNA através do mecanismo S_N1 com a formação de carbocátions estáveis, portanto a sua reatividade com o DNA está diretamente ligada à facilidade de formação de cátions. Na Figura 3, o diolepóxido formado é o B(a)P-7,8-diol-9, 10-epóxido (B(a)P-diol epóxido). Este metabólito possui maior tendência à carcinogenicidade em relação a outros metabólitos do BaP, que possuem o anel epóxido em outras posições, ou seja, a interação com o DNA é favorecida quando o B(a)P-7,8-diol-9,10-epóxido é formado na ativação metabólica, assim o anel epóxido a ser formado no diol fará parte da região de baía dos HPAs, que no caso do B(a)P fica entre as posições 10 e 11 (BERNARDO *et al.*, 2016).

Logo a toxicidade destes compostos através da inalação depende muito do grau de contaminação atmosférico, que está diretamente relacionado à urbanização, ao tráfego de veículos e à industrialização (GARCIA, 2014). Enquanto a absorção dérmica se dá quando as pessoas residem ou trabalham em ambientes diretamente influenciados por estas fontes (LAWAL, 2017). Já, a alimentação é uma das principais vias de exposição humana à HPAs (ZELINKOVA e WENZL, 2015; MARTIN *et al.*, 2015).

Além disso as propriedades mutagênicas, carcinogênicas e teratogênicas são determinadas pelo número de anéis da molécula (WU *et al.*, 2020). Por isso, muitos HPAs são considerados compostos tóxicos, até mesmo em pequenas concentrações, sendo que os compostos de menor massa molecular formados por dois ou três anéis (como Naftaleno, Fenantreno e Antraceno) têm uma elevada toxicidade, mais baixo ou nenhum potencial carcinogênico, enquanto os compostos de maior massa molecular contendo quatro, cinco ou seis anéis (como Benzo(a)Pireno) possuem baixa toxicidade, mas um grande potencial carcinogênico (BERNARDO *et al.*, 2016; SINGH *et al.*, 2020).

No regulamento da Comissão das Comunidades Europeias nº 208/2005, determinou a utilização do BaP como marcador, por ser um potencial carcinogênico, representando à ocorrência de outros HPAs cancerígenos, além de estabelecer os limites para este composto em alguns alimentos, por ele ser mais nocivos à saúde (EC, 2005).

De acordo com o Conselho Canadense de Ministros do Meio Ambiente (CCME, 2008), os efeitos agudos causados por esses compostos atingem,

principalmente, o rim e o fígado, levando a inflamações cutâneas, hiperqueratose e ulcerações, além de causarem alterações nos linfonodos e indução de efeitos imunossupressores. Já para Agência Internacional de Pesquisa em Câncer (IARC), os níveis detectáveis de HPAs podem ser observados em muitos órgãos, sendo encontrados em maiores níveis no fígado (IARC, 2013).

Conforme estudos realizados pelo IARC, os HPAs são classificados de acordo com a evidência de carcinogenicidade em humanos e em animais experimentais (IARC, 2013). A Tabela 2 apresenta o potencial carcinogênico de alguns HPAs.

Tabela 2: Potencial carcinogênico dos principais hidrocarbonetos policíclicos aromáticos.

HPAs	Grupo	Ano
ACP ¹	3	2010
ACY ²	NC	2010
ANT ³	3	2010
B(a)A ⁴	2B	2010
B(a)P ⁵	1	2012
B(b)F ⁶	2B	2010
B(ghi)F ⁷	3	2010
B(k)F ⁸	2B	2010
ChR ⁹	2B	2010
DhA ¹⁰	2B	2010
PHE ¹¹	2 ^a	2010
FLT ¹²	3	2010
FLR ¹³	3	2010
IcP ¹⁴	2B	2010
NAP ¹⁵	2B	2002
PYR ¹⁶	3	2010

Legenda: Grupo 1: carcinogênico para humanos; Grupo 2A: provavelmente carcinogênico para humanos; Grupo 2B: possivelmente carcinogênico para humanos; Grupo 3: não classificável em relação à carcinogenicidade para humanos; NC: não classificado; ¹acenafteno; ²acenaftileno; ³antraceno; ⁴benzo(a)antraceno; ⁵benzo(a)pireno; ⁶benzo(b)fluoranteno; ⁷benzo(ghi)perileno; ⁸benzo(k)fluoranteno; ⁹criseno; ¹⁰dibenzo(a,h)pireno; ¹¹fenantreno; ¹²fluoranteno; ¹³fluoreno; ¹⁴indeno(1,2,3-cd)pireno; ¹⁵naftaleno; ¹⁶pireno.

Fonte: Adaptado de IARC, (2013).

2.1.3. Hidrocarbonetos Policíclicos aromáticos em Alimentos

Os alimentos são uma das maiores fontes de contaminação de HPAs nos seres humanos. A ocorrência destes compostos nos alimentos é influenciada pelas mesmas características físico-químicas que determinam sua absorção e distribuição em humanos. Muitos estudos têm sido realizados comprovando a presença destes compostos em vários alimentos brutos ou processados, além de bebidas e águas (CARUSO e ALABURDA, 2008; GARCIA, 2014; LAWAL, 2017).

Como dito anteriormente, a presença de HPAs em alimentos se dá devido à disseminação deste composto no meio ambiente (ar, solo ou água) ou durante o processamento e cozimento. As principais etapas de processamento que disseminam os HPAs são secagem e defumação e as de cozimento são as que envolvem altas temperaturas na faixa de 400 a 1000°C, tais como aquelas que envolvem ações de grelhar, assar e fritar (ROZENTÄLE *et al.*, 2015; SILVA *et al.*, 2020; KUHN *et al.*, 2020).

Na grelhagem utilizando o carvão vegetal, torna-se possível reduzir os níveis de HPAs em até 74% quando a fumaça é removida, e em até 89% quando não ocorre o gotejamento da gordura no carvão (MARTIN *et al.*, 2015; LEE *et al.*, 2016). A utilização de grelha elétrica aumentou de 5 a 13 vezes a concentração de HPAs em pescado, coração de galinha e carne suína, em comparação aos níveis iniciais do contaminante (CHENG *et al.*, 2019). Além disso, diferentes tipos de gorduras animais terão diferentes efeitos nos níveis de HPAs durante o processo de grelhagem (CHENG *et al.*, 2019; WU *et al.*, 2020).

Em áreas distantes dos centros urbanos e industriais, os teores de HPAs presentes nos alimentos, que são processados, refletem a contaminação ambiental (REIS *et al.*, 2016). Por isso, que os HPAs têm sido encontrados em diversos tipos de alimentos incluindo óleos vegetais, margarinas, maionese, produtos lácteos, frutas, vegetais, carnes, peixes defumados, produtos à base de defumação, chá-mate, café, açúcar, cereais, água, peixes e crustáceos, carnes grelhadas e assadas, cacau, chocolate, dentre outros (CARUSO e ALABURDA, 2008; PAZ *et al.*, 2017; MOZANER *et al.*, 2019).

Assim, as pimentas podem apresentar contaminação por HPAs, devido aos processos de defumação ou secagem ao ar quente ou quando exposta ao sol. Já a desidratação delas é obtida pela defumação (FASANO *et al.*, 2016; MONAGOMARAÑA *et al.*, 2016; ROZENTALE *et al.*, 2016).

2.1.4 Legislação para HPAs

De acordo com a Comissão das Comunidades Europeias (EC, 2005), através do regulamento de nº208/2005 determinou a utilização do BaP como marcador, representando a ocorrência de outros HPAs cancerígenos, além de estabelecer os limites para este composto em alguns alimentos, pois é considerado um dos mais nocivos à saúde. A *European Food Safety Authority* (EFSA),

estabeleceu um somatório de 4 HPAs (BaA, ChR, BaP e BbF), como um marcador mais adequado para presença de HPAs, onde foram especificados no regulamento de nº 835/2011(EU, 2011 a).

A Tabela 3 demonstra os níveis estabelecidos por esta norma.

Tabela 3 – Níveis máximos de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos de acordo com o regulamento nº835/2011 da União Europeia.

Tipos de alimentos	Níveis Máximos ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	
	Benzo(a)Pireno	Σ HPAs 4 (B(a)A+ChR+B(a)P+B(k)F)
Óleos e gorduras	2,0	10,0
Grãos de cacau	5,0	35,0
Produtos derivados de cacau	5,0	30,0
Óleo de coco	2,0	20,0
Carne defumada	5,0	30,0
Produtos à base de carne defumada	2,0	12,0
Peixe defumado e produtos de pesca defumado	5,0	30,0
Caranguejos e crustáceos defumados	2,0	12,0
Espadilhas defumadas e espadilhas defumadas em latas	5,0	30,0
Moluscos bivalves e produtos defumados	6,0	35,0
Alimentos transformados à base de cereais e alimentos para bebês	1,0	1,0
Fórmulas para lactentes e fórmulas de transição, incluindo leite para bebês	1,0	1,0
Alimentos dietéticos	1,0	1,0

Legenda: B(a)A (Benzo(a)Antraceno); ChR (Criseno); BaP (Benzo(a)Pireno); BkF (Benzo(k)Fluoranteno).

Fonte: Adaptado de EU, (2011^a).

Além disso o regulamento nº 836/2011 (EU, 2011b) da Comissão das Comunidades Europeias, diz respeito aos métodos de amostragem e análise para o controle oficial dos níveis de chumbo, cádmio, mercúrio, estanho, inorgânico, 3-

MCPD e Benzo(a)Pireno em produtos alimentares. A Tabela 4 destaca os critérios de desempenho para métodos de análise de benzo(a)pireno.

Tabela 4 – Critérios de desempenho para métodos de análise de benzo(a)pireno

Parâmetro	Valor
Aplicabilidade	Alimentos especificados no Regulamento (EU) n° 835/2011
Limite de detecção	Menor do que 0,3 µg kg ⁻¹
Limite de quantificação	Menor do que 0,9 µg kg ⁻¹
Recuperação	50 a 120%
Especificidade	Livre de interferências de espectrais, verificação de detecção positiva

Fonte: Adaptado EU, (2011b).

Nos Estados Unidos a Associação, de Alimentos em Conserva (*Snack Food Association, SFA*) estabelece que os aromas/aromatizantes dos condimentos utilizados na produção de alimentos industrializados não devem possuir teores de BaP e BaA superiores a 10 µg kg⁻¹ e 20 µg kg⁻¹ (SIMKO, 2002). A legislação Americana é focada na redução dos HPAs em questões ambientais através da USEPA (GARCIA *et al.*, 2014; ARDUIM *et al.*, 2019).

Na Alemanha, a Sociedade Alemã da Ciência dos Lipídeos (*German Society for Fat Science*), fixou limites de 25 µg kg⁻¹ para os HPAs totais e de 5 µg kg⁻¹ para os HPAs de elevada massa molecular em alimentos defumados (MORET *et al.*, 2010).

Já no Brasil a legislação existente para HPAs em alimentos é muito limitada, existe apenas legislação para área de proteção ambiental. Para alguns grupos de alimentos há legislação, os limites estabelecidos são somente para o BaP, porém existem limitações consideráveis, pois são encontrados HPAs com mais de um composto coexistente. O órgão responsável pela regulação no Brasil é a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA).

O Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), ainda não estabeleceu limites para a maioria dos alimentos possíveis de contaminação por HPAs. A ANVISA na Resolução n° 2/2007 determinou limite para BaP para alimentos que passaram por processo de defumação de 0,03 µg kg⁻¹ e a Portaria n° 2.914/2011, estabeleceu um limite de 0,7 µg L⁻¹ para água envasada e gelo (ANVISA, 2005,2007).

2.2 MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE HPAs

A literatura dispõe de uma variedade de técnicas de extração para a determinação de HPAs em alimentos. Dentre as mais utilizadas estão a extração por ultrassom (LIN *et al.*, 2005; LAWAL, 2017; PARIS *et al.*, 2019; SANCHES FILHO *et al.*, 2021), soxhlet (LUQUE-GARCIA, 2004; WANDA *et al.*, 2011; BOBEDA, 2014), fase sólida (GALLINARO e FRANCO, 2009; THEA *et al.*, 2016, WANG *et al.*, 2021), QuEchers (PRESTES *et al.*, 2009; SURMA *et al.*, 2014; PERESTRELO *et al.*, 2019), microondas (HERNÁNDEZ-PÓVEDA *et al.*, 2008; BOUTEMTAM *et al.*, 2020) e microextração em fase sólida (QUINTEIRO *et al.*, 2003, PARIS *et al.*, 2018). Abaixo serão apresentadas detalhadamente cada uma das extrações citadas anteriormente.

2.2.1. Extração sob Ultrassom

A extração utilizando os banhos de ultrassom são frequentemente usadas para análise de HPAs e n-alcanos em sedimentos e em alimentos (LIN *et al.*, 2005; FERREIRA, 2015; ARDUIM *et al.*, 2019; SANCHES FILHO *et al.*, 2021). É uma etapa de extração já padronizada pela EPA 8310 (EPA,2015).

Lin, Tu e Zhu (2005), utilizaram a técnica com sucesso para análise de folhas de chá verde, preto e jasmim. Os analitos foram extraídos por 30 minutos em banho ultrassônico, com 20,0 mL de diclorometano, os extratos foram purificados em coluna clássica de sílica com eluição de 10,0 mL de hexano.

Este método possui uma eficiência de extração, que está relacionada com o fenômeno de cavitação, que é a formação e o colapso de microbolhas que absorvem mais energia do ultrassom e implodem, como demonstra a Figura 4. Durante a implosão ou colapso das microbolhas há uma produção de altas temperaturas e pressão em torno de 5000 °C e 1000 atm. Quando a cavitação ocorre em um solvente junto com uma amostra sólida, ocorre a produção de microjatos de solvente com alta velocidade ($v > 100$ m/s), os quais são responsáveis pela extração e transferência dos analitos da amostra sólida para o solvente (SUSLICK, 1989; CARUSO e ALABURDA, 2008; CHUAH *et al.*, 2017).

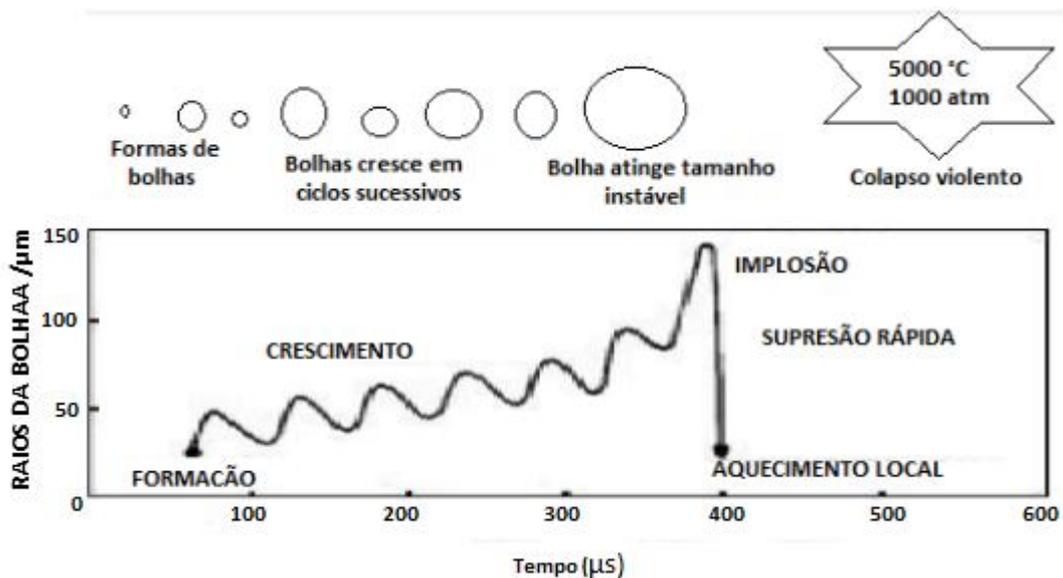


Figura 4: Crescimento e implosão de bola de um líquido irradiado com ultrassom.
Fonte: Adaptado Suslick, (1989).

Apresenta algumas vantagens como: a rapidez, pois a média de tempo gasto é de 1 hora e 30 minutos, a simplicidade no processamento da amostra e o baixo custo de operação (SUSLICK, 1989; CHUAH *et al.*, 2017)

2.2.2. Extração em Fase Sólida

A extração em fase sólida (*Solid-phase Extraction SPE*) foi introduzida em 1976 para suprir as desvantagens apresentadas pela extração líquido-líquido e hoje, consiste no método mais popular de preparo de amostra em análises de rotina (JARDIM, 2010).

A técnica consiste na aplicação de amostras líquidas contendo os analitos no topo de uma coluna ou cartucho e eluída através do sólido adsorvente (THEA *et al.*, 2016). Após a fase líquida ser drenada, o analito retido no adsorvente é eluído com um solvente mais seletivo e de polaridade adequada para, finalmente, ser coletado para análise (BOBEDA, 2014). Esta técnica de separação baseia-se nos mesmos mecanismos da cromatografia líquida de baixa pressão e, do ponto de vista prático, comporta-se como um sistema cromatográfico de coluna aberta que contém a fase sólida (CALDAS *et al.*, 2011), conforme mostrado na Figura 5.

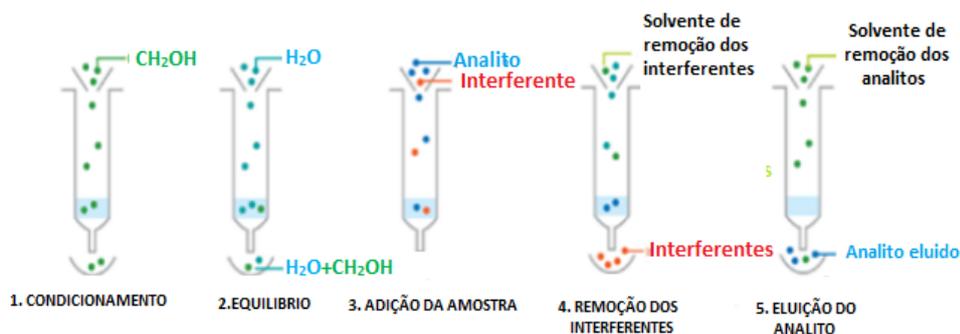


Figura 5. Etapas do SPE: condicionamento do sorvente, adição da amostra, remoção dos interferentes e eluição do analito.

Fonte: Borges (2016).

Possui um vasto campo de aplicação como análises de fármacos, nas áreas de bioquímica e de química orgânica, alimentos, como: carnes, cereais, pescado e bebidas, além de ser, também, muito usada em matrizes de amostras ambientais, como, água, solo e ar. O uso para extração de HPA's têm mostrado excelente seletividade e também índices adequados de recuperação para estes contaminantes nestes diferentes tipos de matrizes (GALLINARO e FRANCO, 2009).

Esta técnica pode ser utilizada diretamente acoplada às técnicas de *Accelerated Solvent Extraction* (ASE), o que contribui para diminuir o tempo de preparo da amostra para análise, a fim de evitar a perda do analito, que ocorre normalmente quando o preparo do extrato envolve etapas variadas, ou a contaminação do extrato devido sua manipulação (CALDAS *et al.*, 2011).

As vantagens apresentadas por esta técnica de extração é o menor consumo de solventes orgânicos, a não formação de emulsões, a facilidade de automação, as altas porcentagens de recuperação do analito, volumes reduzidos de resíduos tóxicos, capacidade de aumentar seletividade da concentração do analito e disponibilidade comercial. Já por outro lado, apresenta desvantagens no tempo elevado de análise, os altos custos dos cartuchos e dos dispositivos comerciais multivias (manifolds) e a dificuldade em selecionar o sorvente adequado para a aplicação desejada (MOLLE, 2017).

2.2.3. Extração Soxhlet

A extração por soxhlet é o método reconhecido pela USEPA para extração de compostos orgânicos, semi-voláteis e não voláteis de matrizes sólidas (USEPA, 1996).

A extração funciona através do fenômeno de refluxo, onde a amostra é colocada em um cartucho de celulose dentro de um extrator soxhlet que durante o processo é gradualmente preenchido com solvente condensado que provém de um balão de destilação sob aquecimento, conforme ilustrado na Figura 6. Quando o solvente atinge um nível de transbordamento, ocorre o processo de sifonagem, onde o sifão aspira todo o conteúdo do suporte do dedal e o transporta de volta ao balão de destilação (LUQUE-GARCÍA e DE CASTRO, 2004).

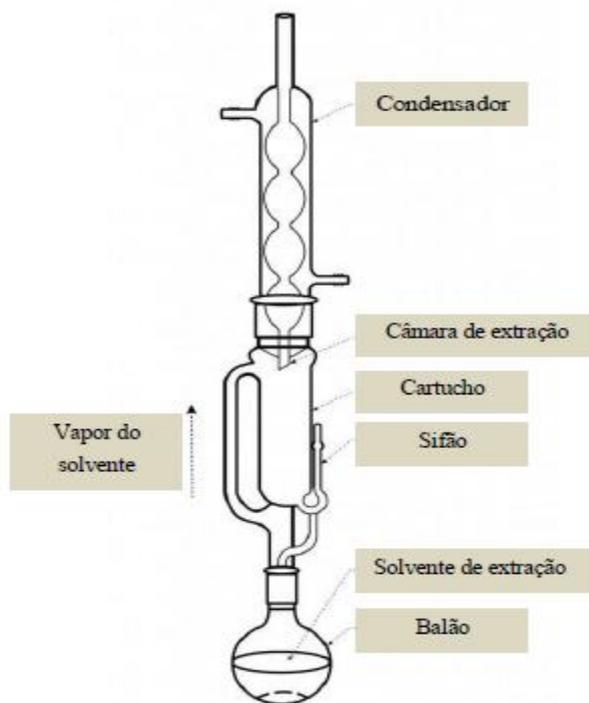


Figura 6. Esquema de um extrator soxhlet.
Fonte: Adaptado de Bobeda, (2014).

Este método é muito utilizado em diversos estudos, para análise de contaminantes ambientais e também em alimentos, como foi o apresentado por Wandan *et al.* (2011), que determinaram a presença de benzo(a)pireno em amêndoas granuladas de cacau e concluíram que esses níveis são considerados altos em comparação com parâmetros utilizados.

Devido ao seu grande potencial extrator, a metodologia utilizando o soxhlet é usada para diversos tipos de análise, sendo mais utilizada na área ambiental em diversas amostras sólidas e para a extração de diversos produtos e é fácil reprodutibilidade, contudo possui a desvantagem em seu processo com o uso muito grande de solvente, tendo em vista que o solvente necessita permanecer em refluxo

durante 12 a 36 horas para alcançar uma eficiência de extração (BOBEDA, 2014; CASTRO *et al.*, 2021).

2.2.4. Extração QuEChERS

O método de extração QuEChERS é um dos mais promissores, envolvendo quantidades reduzidas de solventes orgânicos e vidrarias, segundo os princípios da química verde (PERESTRELO *et al.*, 2019). Esse método tem como vantagem ser rápido, fácil, barato, eficaz, robusto e seguro (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe) (PRESTES *et al.*, 2009).

Embora tenha sido originalmente projetado para a extração de resíduos de agrotóxicos em frutas e vegetais, o método QuEChERS tem sido amplamente estudado para determinação de diferentes compostos nas mais diversas matrizes (ARIAS, 2019).

Surma *et al.* (2014), aplicaram o método para a determinação de HPAs em alimentos de origem animal, onde foi possível identificação desses compostos em todas as amostras, dentro dos limites estabelecidos pelo regulamento da nº 835/2011 (EU,2011).

Esse método possui várias versões, como por exemplo uma extração com aceto nitrila, seguida de partição líquido-líquido (adição de $MgSO_4$ e $NaCl$ e posterior etapa de purificação com extração em fase sólida dispersiva (ANASTASSIADES *et al.*, 2003; PRESTES *et al.*, 2009; DEMARCO, 2017; ARIAS, 2019). Conforme demonstrado na Figura 7.

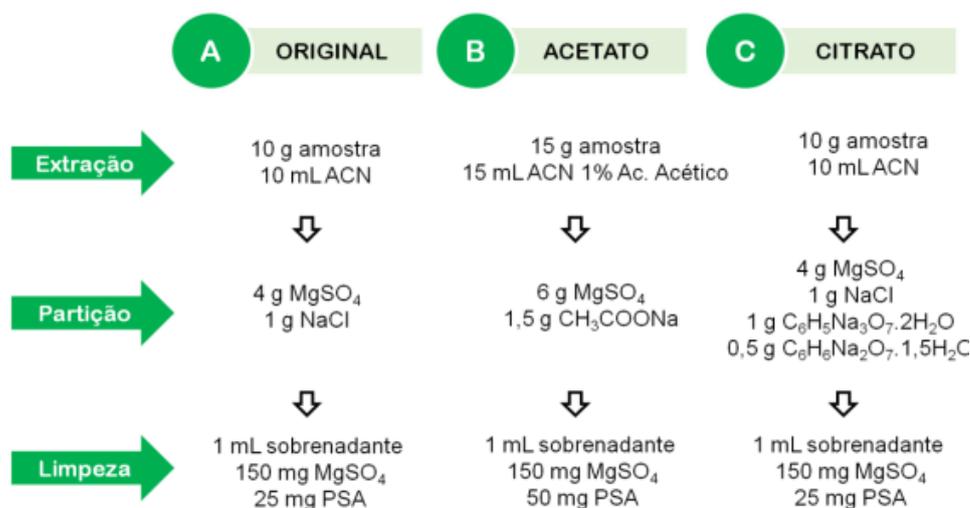


Figura 7. Demonstração das principais versões do método QuEChERS.

Fonte: Demarco, (2017).

2.2.5. Extração Assistida por Microondas

A extração assistida por microondas (do inglês *microwave assisted extraction* - MAE), consiste no aquecimento do solvente extrator em contato com a amostra pela energia das microondas. A partição dos analitos da matriz para o solvente extrator depende da temperatura e da natureza do solvente (HERNÁNDEZ-PÓVEDA *et al.*, 2008).

A energia de microondas é uma forma não ionizante que cria uma radiação eletromagnética que causa movimento molecular, por migração de íons e rotação de dipolos, mas normalmente não causa alterações na estrutura molecular (SHU *et al.*, 2003).

Além de ter uma faixa de frequência de 300 a 300.000 MHz (BOUTEMTAM *et al.*, 2020). Para aquecer uma amostra por microondas é necessária a presença de um composto dielétrico. Quanto maior a constante dielétrica, maior a liberação de energia térmica e mais rápido se dá o aquecimento em uma dada frequência. A capacidade de um solvente absorver a energia de microondas e transferi-la, na forma de calor, para outras moléculas depende em parte do fator de dissipação (SHU *et al.*, 2003; BOUTEMTAM *et al.*, 2020).

O MAE é muito usado para extração de HPAs de amostras ambientais sólidas, Shu *et al.* (2003), realizaram um procedimento de extração assistida por microondas para HPAs em poluentes ambientais. Seu procedimento otimizado usou uma mistura de tolueno-acetona (95:5) em 150 W por 20 minutos, onde obteve uma recuperação para os HPAs contidos em NIST SRM-1649a variou de 77-116 %. Em análise de HPAs em alimentos não se tem muitos estudos relacionados a esta técnica de extração.

2.2.6. Extração por Microextração em Fase Sólida

A microextração em fase sólida (do inglês *solid phase microextraction* SPME) é uma microtécnica de extração e de pré-concentração de analitos, pois esses processos são realizados em escala muito pequena (QUINTEIRO apud VALENTE e AUGUSTO, 2003). A SPME apresenta diversas vantagens quando comparada a técnicas convencionais permitindo a automação das análises, concentração dos analitos, reutilização das fibras de extração e simplificação da instrumentação analítica, além de ser usada para extrair diferentes analitos, em

diversos campos da pesquisa como química forense, ambiental, área farmacêutica, alimentícia (NASCIMENTO *et al.*, 2018).

Além de possui um dispositivo básico que abrange um bastão de fibra óptica de sílica fundida com sua extremidade recoberta por um filme, conforme a Figura 8.

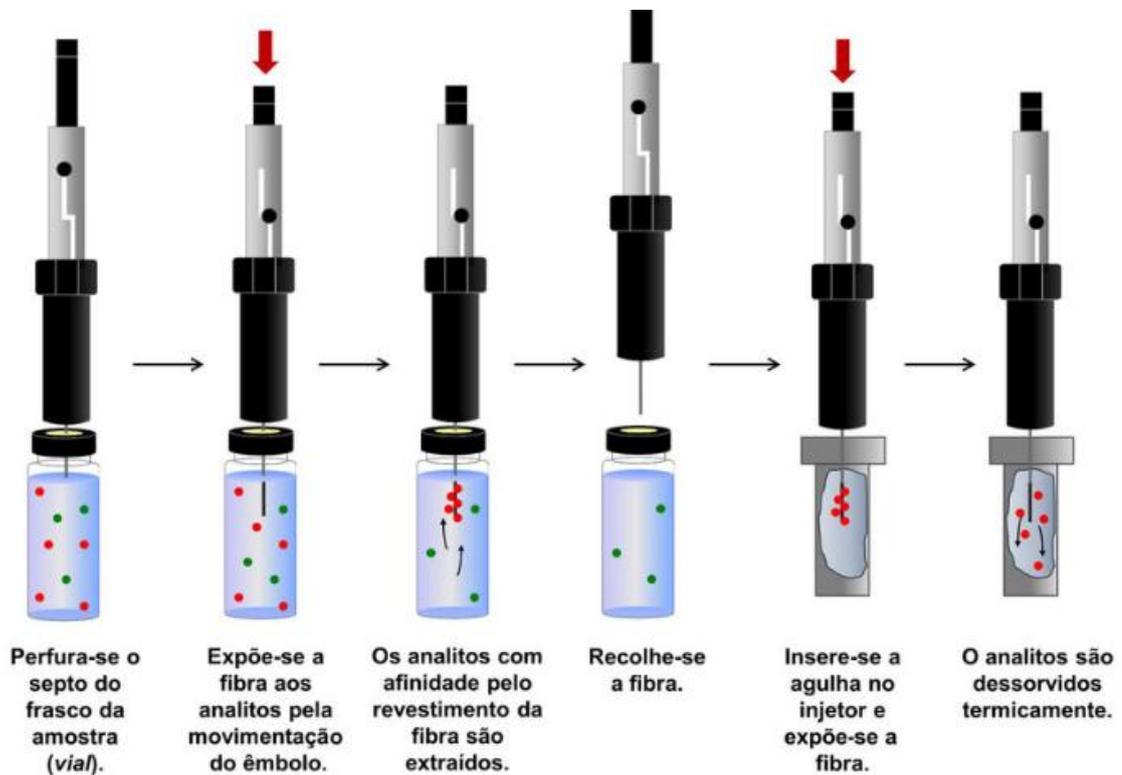


Figura 8. Procedimento básico de operação da SPME. Processo de extração dos analitos da amostra e dessorção térmica no injetor de um cromatógrafo a gás.

Fonte: Nascimento *et al.*, (2018).

A extração e concentração do soluto ocorrem através dos processos de sorção (absorção ou adsorção) do soluto em uma fina camada de fase extratora (com espessura de 7 a 100 μm), polímero ou sólido adsorvente, que reveste superfície extrema de uma fibra de sílica fundida (KATAOKA e SATO, 2011).

Esta técnica quando acoplada a sistemas analíticos fornece análises rápidas com baixo consumo de solventes tóxicos e com maior precisão analítica. No acoplamento com a cromatografia gasosa (SPME/GC) a fibra é inserida diretamente no injetor já aquecido após o processo de extração, onde os analitos serão termicamente dissolvidos para a coluna analítica. Desta maneira, não há necessidade de utilizar solventes orgânicos. Outra maneira de se utilizar a SPME é acoplando-a com a cromatografia líquida (SPME/LC), nesse caso há necessidade de uma interface apropriada na forma de um T, onde a fibra é inserida na parte

superior e na parte lateral e inferior, onde conecta-se a válvula de seis pórticos do HPLC (COELHO *et al.*, 2008; KNOW *et al.*, 2013).

2.2.7. Métodos de análises para HPAs

A exposição dos HPAs no organismo humano tem gerado muita preocupação o que gera uma grande atenção para desenvolvimento de metodologias para identificação e determinação desses compostos em nível de traços em diversas matrizes.

Os métodos cromatográficos são bastante empregados na atualidade para análise de HPAs em alimentos diversos.

Sanches Filho *et al.* (2021), desenvolveram um método para a determinação de HPAs em marcela utilizando a cromatografia gasosa acoplada com espectrometria de massa, onde identificou concentrações elevada de HPAs para chá, resultando em níveis que podem causar danos à saúde.

Lee *et al.* (2016), estabeleceram um método usando GC/MS para identificar os efeitos dos procedimentos em uso de grelha, e determinar os níveis de HPAs em carnes grelhadas, resultando na identificação dos HPAs cancerígenos, através da combustão de gotejamentos da gordura. Surma *et al.*, (2014), também desenvolveram um método usando o GC/MS, para a determinação de HPAs em alimentos de origem animal, onde mostraram recuperações na faixa de 72,4-110,8%.

Zachara *et al.* (2017), determinaram o teor de 4 HPAs (Benzo(a)Pireno, Benzo(a)Antraceno, Benzo(b)Fluoranteno e Criseno) em amostras de carnes defumadas, peixes e óleos vegetais usando cromatografia líquida de alta performance (HPLC), com detector de fluorescência, obteve valores de limite de detecção e quantificação de 0,18 e 0,25 $\mu\text{g kg}^{-1}$.

2.2.7.1 Cromatografia Gasosa acoplada Espectrometria de Massas

A cromatografia é uma técnica de separação bastante utilizada em diversas áreas de pesquisa, com destaque para a química orgânica, química de produtos naturais e química ambiental (LAWAL, 2017; LIMA, 2019).

As separações em cromatografia gasosa são obtidas por uma série de partições entre uma fase gasosa em movimento e uma fase estacionária (normalmente líquida) mantida em um tubo de pequeno diâmetro (a coluna), após

uma mistura ser injetada como uma banda estreita. A amostra é introduzida na coluna na forma de vapor (DEGANI *et al.*, 1998; LINO *et al.*, 2006).

Na coluna, a solubilidade de cada componente na fase gasosa depende da sua pressão de vapor, que por sua vez é uma função da temperatura da coluna e da afinidade entre o composto e a fase estacionária. Diferenças na pressão de vapor fazem com que as moléculas de cada componente sejam divididas entre a fase gasosa móvel e a fase estacionária. Um detector monitora a composição do fluxo de gás conforme ele emerge da coluna, carregando os componentes separados, e os sinais resultantes fornecem dados requeridos para a análise. A Figura 9 mostra os componentes básicos de um cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrômetro de massas (BARTLE e MYERS, 2002;).

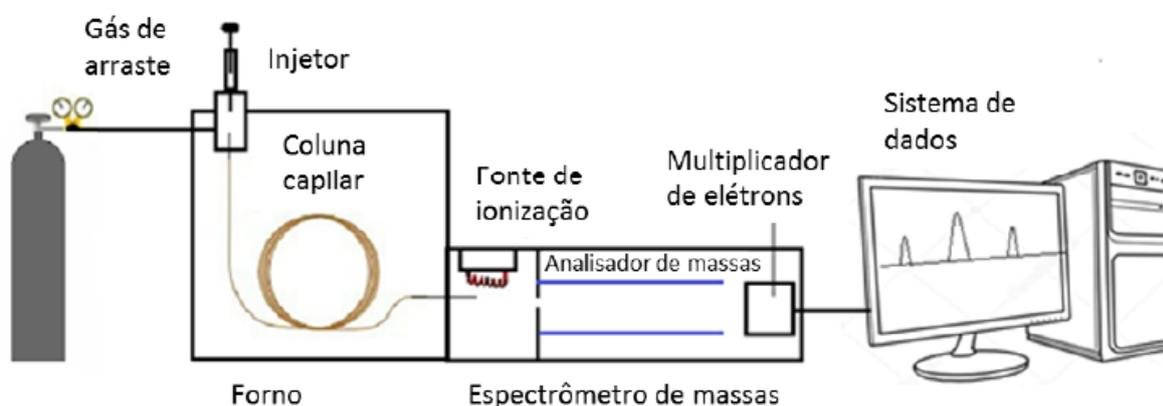


Figura 9. Diagrama esquemático das partes básicas de um cromatógrafo gasoso (GC).
Fonte: Adaptado de Lima, (2019).

A cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC/MS) é a combinação sinérgica de duas técnicas microanalíticas, um cromatógrafo a gás que separa os componentes de uma mistura no tempo, e um espectrômetro de massas que fornece informações que auxiliam na identificação estrutural de cada componente. Caracterizam-se por técnicas bastante compatíveis, pois as técnicas de ionização por espectrometria de massa requerem analitos em fase gasosa e são, portanto, idealmente adequadas para a cromatografia gasosa que requer, do mesmo, amostras volatilizadas (LIMA, 2019).

Análises por espectrometria de massas dependem de dois processos básicos que ocorrem no analisador: ionização e separação de massas. Diferentes métodos de ionização podem ser combinados com as diferentes técnicas de separação de massa, dependendo dos resultados desejados (SPARKMAN *et al.*, 2011).

A cromatografia gasosa faz uso basicamente de dois tipos de método de ionização: ionização química e ionização por impacto eletrônico. Por trazer mais detalhes sobre as estruturas dos compostos a ionização por impacto eletrônico costuma ser a forma mais comum. Nesse tipo de ionização o analito entra na câmara de ionização a baixas pressões sendo fragmentado quando colide com elétrons acelerados por um potencial de 70 eV provenientes de um filamento focado através da câmara. Onde os fragmentos gerados como íons positivos são então encaminhados ao analisador que separa as massas e envia ao detector (BARTLE e MYERS, 2012).

Os analisadores mais comuns de massa são aqueles baseados no tempo de voo dos íons de massa diferentes, conhecido como TOF (*Time of flight*); os analisadores baseados na oscilação dos íons em torno de um eletrodo central, sendo a oscilação dependente da massa do íon, conhecido como *Orbitrap* (*Electrostatic Axially Harmonic Orbital Trapping*), e os analisadores do tipo quadrupolo e *íon trap* que separam as massas de acordo com a estabilidade frente a um campo eletromagnético (SPARKMAN *et al.*, 2011; LIMA, 2019).

A escolha do analisador geralmente está baseada no tipo de dado que se deseja gerar, sendo alguns analisadores mais adequados para a análise qualitativa (analisadores de alta resolução), enquanto outros são mais adequados para análises quantitativas. As análises quantitativas normalmente requerem analisadores mais seletivos, que são capazes de eliminar, com eficiência, possíveis interferências contidas na amostra (SPARKMAN *et al.*, 2011).

2.2.7.2 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

A cromatografia líquida de alta eficiência (do inglês *High Performance Liquid Chromatography* - HPLC) é a técnica cromatográfica de grande versatilidade e poder analítico, que pode ser aplicada a qualquer composto com solubilidade em um líquido que pode ser utilizado como fase móvel. A HPLC é utilizada na análise de alimentos para quantificar pequenas moléculas e íons e para separar e purificar macromoléculas (REUHS, 2017).

A HPLC utiliza um suporte com partículas diminutas responsáveis pela alta eficiência, sendo um método adequado para separação de espécies iônicas e macromoléculas (DEGANI *et al.*, 1998). Devido à utilização de colunas com grande capacidade de separação, a realização da HPLC requer a utilização de

equipamentos específicos, com o uso de bombas e colunas que suportam altas pressões necessárias para eluição da fase móvel (LINO *et al.*, 2006).

A Figura 10 mostra os componentes básicos de um HPLC, onde a fase móvel deve ser um solvente que dissolva a amostra sem que qualquer interação química ocorra entre ambas. A fase estacionária deve ser compatível com o detector, possuindo polaridade adequada para permitir a separação adequada dos componentes da amostra. Já a coluna cromatográfica deve ser confeccionada de material inerte e que resista a altas pressões. Por fim os detectores devem apresentar ampla faixa de aplicação, sendo que os mais utilizados são os espectrais (PERES, 2002; MEYER, 2013).

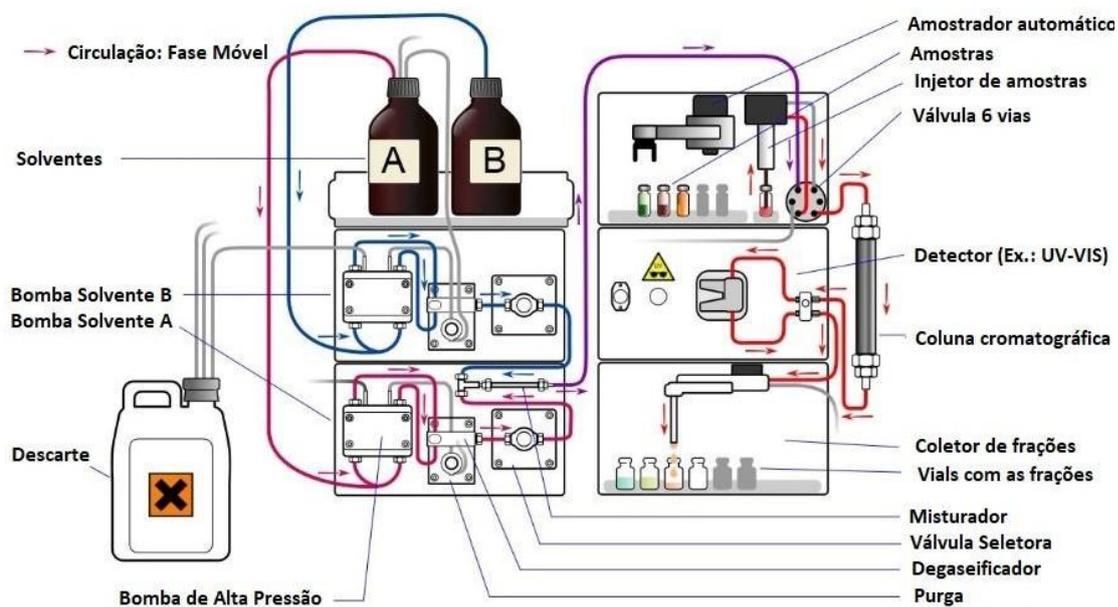


Figura 10. Diagrama esquemático das partes básicas de um HPLC.
Fonte: Adaptado de Peres, (2002).

Recentemente a evolução das colunas e da fase estacionária permitiu o uso de partículas muito pequenas, desenvolvendo assim a cromatografia líquida de ultra eficiência (U-HPLC). A U-HPLC é um método cromatográfico com análises mais rápidas, consumo menor de solventes e com eficiência muito mais elevada que a HPLC (LINO *et al.*, 2006).

2. 3. PRODUÇÃO DE PIMENTAS

Desde antiguidade ervas e especiarias têm sido usadas em todo o mundo para dar sabor e conservar alimentos (SCHWEIGGERT *et al.*, 2007; PEREIRA, 2018).

De acordo com Pinto *et al.* (2013), as pimentas têm como centro de origem a América, sendo cultivadas em clima tropical e semi-temperado.

Schweigert *et al.* (2007), afirmam que as especiarias são produzidas a partir de uma grande variedade de partes de plantas como rizomas, cascas, folhas, frutos e sementes, e que as mesmas passam por um processo de produção que inclui: pré-tratamento, secagem, limpeza, moagem, embalagem, armazenamento e uma descontaminação microbiana.

A colheita e pós-colheita é realizada manualmente ou mecanicamente, seguido pela secagem das pimentas, que são cortadas e colocadas para secar espalhadas no solo ou em plataformas elevadas, e secas ao sol. Outra forma de secagem pode ocorrer usando fogões em que o fogo aberto ou aquecido por tubos de ferro fornecem o calor para a secagem (SCHWEIGGERT *et al.*, 2007; FASANO *et al.*, 2016; MONAGO-MARAÑA *et al.*, 2016).

Após o processamento, os temperos são geralmente embalados em pacotes e armazenados por um a três meses até que são entregues aos comerciantes. Além da operação de secagem, o armazenamento é outra crítica, um ponto de controle e o controle da temperatura de armazenamento e a umidade é imprescindível para evitar danos ao tempero (SCHWEIGGERT *et al.*, 2007).

As pimentas são plantas utilizadas na alimentação, que produzem sensações picantes e de calor devido aos seus componentes químicos. Há dois gêneros de pimentas mais conhecidos, o *Piper* e o *Capsicum* (SEMEDO *et al.*, 2004; BOMTEMPO, 2007).

O gênero *Piper* é o mais antigo, pertencente à família das *piperaceae*, tendo como a mais conhecida a pimenta-do-reino (*Piper nigrum*), como é conhecida no Brasil e seu princípio ativo é a piperina, responsável pelo sabor picante (BOMTEMPO, 2007; FERREIRA, 2018). A Figura 11, demonstra a fórmula molecular da piperina.

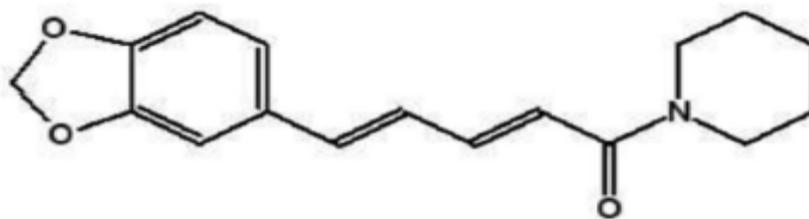


Figura 11. Estrutura molecular da *piperina*.

Fonte: Adaptado de Semedo et al. (2004).

O gênero *Capsicum* possui cerca de 30 espécies que pertencem à família das *solanáceas* e seu principal ativo é a *capsaicina* (Figura 12), cuja importância é o fato de não se modificar com calor, álcool, vinagre ou óleo, mantendo assim o sabor picante e aroma natural (SEMEDO *et al.*, 2004; BONTEMPO, 2007; REYES-ESCOGIDO *et al.*, 2011; LUN *et al.*, 2017)).

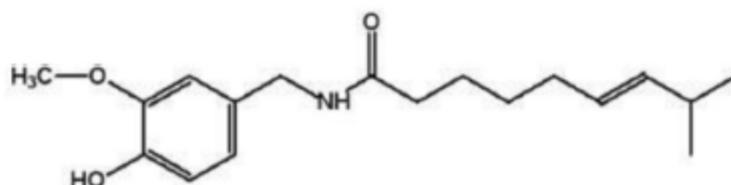


Figura 12. Estrutura molecular da *capsaicina*.

Fonte: Adaptado de Semedo et al. (2004).

São esses capsaicinóides, que são produzidos nas células epidérmicas da placenta dos frutos, que conferem às bagas de tais plantas a pungência, um atributo relacionado ao grande número de usos humanos, entre eles o condimentar, o repelente, o ritual e o medicinal (REYES-ESCOGIDO *et al.*, 2011; BAE *et al.*, 2012; LUN *et al.*, 2017).

Segundo Barchenger e Bosland (2016), o gênero *Capsicum* apresenta grande diversidade de forma, tamanho e cor dos frutos, além de possuir uma variedade morfológica, agrupando as pimentas em espécies como: *C. annuum*, *C. frutescens*, *C. chinense*, *C. baccatum* e *C. pubescens*.

2.3.1 Produção e Consumo de pimentas *Capsicum* no Brasil

No Brasil os principais produtores das pimentas *Capsicum* são cultivadas nos estados do Rio Grande do Sul, Roraima, Goiás, Minas Gerais e Ceará, conforme demonstrado na Tabela 5.

Tabela 5 – Informações sobre espaçamentos, época de plantio e ciclo dos principais tipos de pimentas em diferentes regiões do país.

Região	Tipo de Pimenta	Espaçamento (mxm)	Estande (nº da semente)	Época da semente	Ciclo da cultura
São Paulo	Dedo-de-Moça	1,50 x 1,00	6.500	Dez a Jan	12 meses
	Pimenta de cheiro				
Goiás e DF	Bode	1,20 x 0,80	10.400	Nov a Jan	12 meses
	Cumari do Pará				
	Malagueta	1,50 x 1,00	6.500	Nov a Jan	12 meses
Catalão –GO	Jalapeño	1,00 x 0,33	30.000	Fev a Mar	6 a 7 meses
Paraopeba – MG	Malagueta	1,00 x 0,80	12.500	Dezembro	12 meses
Pelotas – RS	Dedo-de-Moça	0,80 x 0,50	12.500	Agosto	8 meses
Ceará	Tabasco				

Fonte: Adaptado de Reifschneider, 2000.

Assim, o cultivo segue o modelo de agricultura familiar e de integração de pequeno agricultor e a indústria. Os estados da região Sul são provavelmente os que menos consomem pimentas in natura no País, havendo uma preferência pelas formas processadas, como molhos, conservas e pimentas desidratadas (DO RÊGO *et al.*, 2016).

Na região Sudeste consome-se principalmente a pimenta doce do tipo americana, pimenta cambuci, malagueta e cumari vermelha. Na região Nordeste, predominam as pimentas malagueta e pimenta de cheiro. Na região Norte, as pimentas mais apreciadas são a murupi, cumari do Pará e a pimenta de cheiro, na região Centro-Oeste, tradicionalmente são cultivadas e consumidas pimentas bode, malagueta, cumari do Pará, dedo de moça e mais recentemente pimenta de cheiro, anteriormente proveniente do Pará e atualmente já cultivada em Goiás (EMBRAPA, 2020).

As pimentas do gênero *Capsicum* no ramo das exportações são as mais comercializadas pelo mundo, segundo dados da Food and Agriculture Organization. No Brasil, entre os anos de 2010 e 2014 a produção destes produtos responderam por aproximadamente 3.500 toneladas anuais. Em relação ao consumo mundial destas pimentas, as informações supõem 1,11 (g per capita/dia) no mesmo período (FAO, 2017).

Logo as pimentas que são mais consumidas no Brasil e no Mundo se destacam por marcarem presença na gastronomia, além de trazer benefícios para a saúde. A seguir algumas das espécies que são bastante consumidas mundialmente.

- Pimenta Caiena é uma espécie *Capsicum baccatum*, uma variante da pimenta malagueta, conhecida como dedo-de-moça ou chifre-de-veado, é caracterizada por frutos de maiores dimensões e coloração mais intensa como demonstrado na Figura 13. Em sua composição possui uma mistura de pimentas vermelhas secas (malagueta, dedo-de-moça, chifre-de-veado) (BONTEMPO, 2007). Além de se destaca por possuir uma concentração maior de *capsaicina*, o que ocasiona mais ardência (CARVALHO *et al.*, 2009).



Figura 13. Pimenta Caiena in natura e processada (em pó).
Fonte: Carvalho *et al.* (2009).

- Páprica é um produto obtido a partir de frutas desidratadas e moídas de certas variedades de pimentão vermelho relacionado a espécie *Capsicum annum* (CARVALHO *et al.*, 2006), conforme a Figura 14. É obtida a partir de pimentões secos, por fumaça (fogo de carvalho ou azinheira), podendo também ser secas ao ar quente ou ao sol. A desidratação das frutas é obtida com um sistema de defumação, com três características fundamentais: sabor, estabilidade de cor e aroma (MONAGO-MARAÑA *et al.*, 2016).



Figura 14. Páprica Defumada.
Fonte: Embrapa, (2006)

- Pimenta Calabresa, não é uma espécie de pimenta mas apenas uma pimenta desidratada que se comercializa na forma de flocos com sementes ou em pó. No Brasil, utilizam-se as sementes da pimenta dedo-de-moça (*Capsicum baccatum*) para a sua produção (BONTEMPO, 2007).



Figura 15. Pimenta Calabresa em pó.
Fonte: Bontempo, (2007).

- Pimenta síria, não é considerada uma pimenta, mas sim uma mistura de especiarias (pimenta-da-Jamaica, pimenta-do-reino, canela, cravo-da-índia e noz-moscada) (BONTEMPO, 2007).



Figura 16. Fluxograma das principais especiarias para produção da pimenta síria.
Fonte: Autor, (2021).

- Merken, é uma mistura de pimentas da espécie (*Capsicum van.lungun*), são produzidas artesanalmente, consiste em expor os alimentos à fumaça de

fogões ou braseiros, onde se queima a lenha para desidratar os frutos, é esse contato com a fumaça que vai conferir a cor e sabor (ARCE e CHARÃO-MARQUES, 2019).



Figura 17. Pimenta Merken.
Fonte: Arce e Charão-Marques, (2019).

2.4. VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA

O desenvolvimento de um método analítico, seja sua adaptação ou otimização, envolve um processo de avaliação que estime sua eficiência na rotina do laboratório (BRITO *et al.*, 2003).

De acordo com a norma NBR ISO/IEC 17025 (ABNT, 2001), para validar um método é preciso confirmar, por exame e fornecimento de evidência objetiva, que os requisitos específicos para um determinado uso pretendido seja atendido, ou seja, a validação de metodologias analíticas é o primeiro passo para a garantia da qualidade em um laboratório.

A garantia da qualidade analítica é uma medida completa que o laboratório deve garantir para obter dados de alta qualidade. Além do uso de métodos de verificação e/ou padronização, outras medidas devem ser seguidas tais como procedimentos de controle da qualidade interno eficazes como por exemplo (uso de materiais de referência, calibração de equipamentos, controle de documentos, entre outros) (BURIN *et al.*, 2008).

Assim a validação de métodos analíticos se caracteriza com diversos parâmetros, ou figuras de mérito. Analisados em conjunto, os resultados desses parâmetros são capazes de demonstrar se o método analítico proposto é adequado para solucionar o problema analítico (GIUDICE, 2016; RDC166/2017).

2.4.1. Especificidade/Seletividade

A especificidade define a capacidade de um método de detectar analitos na presença de outros componentes na matriz. Já a seletividade consiste na capacidade do método analítico de identificar ou quantificar o analito de interesse, inequivocamente, na presença de componentes que podem estar presentes na amostra, como impurezas, diluentes e componentes da matriz. (BRITO *et al.*, 2003).

Segundo Cassini *et al.* (2013), a especificidade pode ser realizada comparando os valores medidos de amostras fortificadas e não fortificadas contendo possíveis interferências com soluções de amostras padrão.

2.4.2. Função de resposta

O gráfico de análise deve fornecer dados estatísticos sobre o ponto de intersecção, a equação de regressão linear, correlação ou coeficiente de determinação e a concentração estimada do calibrador de solução padrão. Portanto, é necessário usar um número suficiente de soluções padrões para definir completamente a relação entre a concentração e a resposta. Pelo menos cinco valores de concentração dentro de um intervalo definido podem ser usados para construir um gráfico de análise (BRITO, *et al.*, 2003; GIUDICE, 2016), conforme a Equação 1, onde B corresponde à média das medidas do branco, S a sensibilidade do método e x a concentração do analito na amostra.

$$F(x) = B + Sx \quad (\text{Eq 1})$$

2.4.3. Linearidade e faixa de trabalho

De acordo com a resolução (RDC/166/2017) a linearidade de um método é demonstrada por sua capacidade de obter respostas analíticas diretamente proporcionais à concentração de um analito em uma amostra.

Este parâmetro pode ser comprovado analisando o coeficiente de correlação, que não deve ser estaticamente diferente de 1 (avaliado pelo teste 't' Student) e observar que a inclinação da reta seja diferente de zero. Portanto, espera-se que o coeficiente angular obtido seja estatisticamente diferente de zero e o coeficiente de correlação seja estatisticamente igual a um, dessa forma, é possível determinar em um primeiro momento que os resultados obtidos se

direcionam a uma resposta linear e a partir daí, determinar o melhor modelo a ser utilizado (BRITO *et al.*, 2003; GIUDICE, 2016).

2.4.4. Sensibilidade

A sensibilidade é definida como a razão entre a inclinação da curva analítica e o desvio padrão do sinal analítico em uma determinada concentração. Esse parâmetro leva em consideração o ruído presente nos sinais de resposta (GIUDICE, 2016), expresso na Equação 2, onde S é a sensibilidade, dx é a variação da resposta e dy a variação da concentração.

$$S = \frac{dx}{dy} \quad (\text{Eq. 2})$$

Em métodos sensíveis, pequenas diferenças na concentração de alto analito podem causar grandes diferenças no valor do sinal de análise medido. Este padrão indica a capacidade do procedimento analítico gerar um valor da propriedade monitorada ou medida, causada por pequeno incremento na concentração ou quantidade do analito (BRITO *et al.*, 2003, BURIN *et al.*, 2008).

2.4.5. Exatidão

Segundo Skoog *et al.* (2008), a exatidão é a concordância entre a média do valor observado ou estimado e o valor teórico tido como verdadeiro ou como referência, podendo expressar em erro absoluto ou erro relativo. Ela deve ser expressa pela relação percentual de recuperação do analito de concentração conhecida e a concentração teórica correspondente conforme a seguinte Equação 3 (RDC166/2017).

$$Rec \% = \frac{[\text{valor obtido} - \text{valor real}]}{\text{Valor real}} \times 100 \quad (\text{Eq.3})$$

O teste de recuperação usado para avaliar a exatidão do método de análise é o modelo mais comum usado para verificar o processo de analitos. Isso ocorre uma vez que a taxa de recuperação reflete a relação entre a quantidade de analito recuperada no processo e a quantidade real na amostra (BRITO *et al.*, 2003). A exatidão é expressa como um erro percentual do sistema inerente ao processo. Devido à baixa taxa de recuperação do extrato, a medição imprecisa do volume do material ou a perda de material causada pelas substâncias interferentes na amostra, podem causar erros sistemáticos (BURIN *et al.*, 2008).

Os modelos mais utilizados para avaliar a exatidão de um método analítico são: materiais de referência certificados, comparação de métodos, ensaios de recuperação e adição de padrão (VALDERRAMA *et al.*, 2009).

A Association of Official Analytical Chemists (AOAC) sugeriu valores de recuperação para o analito em estudo, os valores estão demonstrados na Tabela 6. Esses valores são estimados considerando-se que análises de elementos majoritários costumam apresentar erros sistemáticos relativos muito inferiores àqueles obtidos para analitos em concentrações muito pequenas.

Tabela 6. Recuperação do analito em função da concentração.

Concentração do analito em (%)	Intervalo de recuperação aceito (%)
≥ 10	98 – 102
≥ 1	97 – 103
≥ 0,1	95 – 105
≥ 0,01	90 – 107
≥ 0.01 - ≥ 0,0001	80 – 110
≥ 0,00001	60 – 115
≥ 0,0000001	40 – 120

Fonte: Adaptado BRITO *et al.*, (2009).

2.4.6. Precisão

A precisão consiste em avaliar a proximidade entre os resultados obtidos por meio de ensaios com amostras preparadas conforme descrito no método analítico a ser validado. Podendo ser expressa pelo desvio (S) padrão e pelo coeficiente de variação (CV), conforme demonstrado na equação 4 (RDC166/2017).

$$CV\% = \frac{s}{M} \times 100 \quad (\text{Eq.4})$$

A precisão pode ser denominada por repetibilidade, quando se avalia o método com condições fixas e em curto intervalo de tempo, por precisão intermediária, quando se promove alguma alteração intralaboratorial, como, por exemplo, experimentos realizados por diferentes analistas e reprodutibilidade que atesta a precisão em ensaios interlaboratoriais. (VALDERRAMA *et al.*, 2009).

2.4.7. Limite de Detecção (LD)

O limite de detecção (LD) é obtido pela menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectado, porém não necessariamente quantificado, sob as condições experimentais estabelecidas (BRITO *et al.*, 2009; RDC 166/2017).

O LD pode ser calculado por métodos visuais pela relação do sinal-ruído. Para o método que usa a curva analítica, ele pode ser definido como a concentração analítica que responde a um determinado fator de confiança superior ao desvio padrão (BURIN *et al.*, 2008; VALDERRAMA *et al.*, 2009).

Para determinação da razão sinal/ruído se realiza a comparação dos sinais medidos da amostra com baixas concentrações conhecidas do analito com as do branco, estabelecendo-se a concentração mínima, na qual o analito pode ser detectado. Considera-se aceitável a razão do sinal/ruído com o valor 3 para estimar o limite de detecção (BRITO *et al.*, 2003).

Pode ser expresso pela seguinte equação 5, onde s corresponde ao desvio padrão da resposta, S o coeficiente angular do gráfico de calibração (sensibilidade do método (IUPAC, 2002).

$$LD = \frac{3 \times s}{S} \quad (\text{Eq. 5})$$

2.4.8. Limite de Quantificação (LQ)

O limite de quantificação (LQ) é a quantidade mínima de analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob condições experimentais. Pode ser estimado por meio do sinal/ruído, desvio padrão e por processos estatísticos através da curva de calibração (BRITO *et al.*, 2003; GIUDICE, 2016).

O procedimento do sinal/ruído, determina a comparação dos sinais medidos da amostra com baixas concentrações conhecidas do analito com as do branco, onde estabelece uma concentração mínima na qual o analito pode ser identificado e quantificado com precisão e exatidão. Sua razão comumente aceita é 10:1 e pode ser expresso pela seguinte equação 6, onde s corresponde ao desvio padrão da resposta, S o coeficiente angular do gráfico de calibração (sensibilidade do método) (BRITO *et al.*, 2003; BURIN *et al.*, 2008).

$$LQ = \frac{10 \times s}{s} \quad (\text{Eq.6})$$

2.4.9. Robustez

É a capacidade do método de não ser afetado por variações de determinados fatores a que o método pode estar sujeito como, por exemplo, temperatura, umidade e analista. O método é dito robusto quando não é afetado por essas pequenas variações (VALDERRAMA *et al.*, 2009; GIUDICE, 2016).

A robustez é avaliada durante a fase de desenvolvimento e depende do tipo de processo em estudo. Nos testes são aplicados experimentos estatísticos que examinam, simultaneamente, os efeitos de alterações em diferentes variáveis do método (RDC166/2017).

No caso de métodos cromatográficos, as variações referem-se a diferentes tipos de colunas, temperatura e fluxo, entre outras. Os testes de robustez, em geral, servem para indicar os fatores que podem influenciar, significativamente, a resposta do método estudado (BRITO *et al.*, 2003).

3. REFERÊNCIAS

ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas, **NBR ISO/IEC 17025**: requisitos gerais para competência de laboratórios e ensaios de calibração. Rio de Janeiro, 2001, p.20.

ANASTASSIADES, M; LEHOTAY, S. J; STAJNBAHER, D; SCHENCK, F. J. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and dispersive solid-phase extraction for the determination of pesticide residues in produce. **Journal of AOAC International**, v. 86, p. 412-431, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1093/jaoac/86.2.412>.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada RDC nº. 274, de 22 de janeiro de 2005. **Regulamento técnico para águas envasadas e gelo**. Disponível em: <<https://www.cetesb.sp.gov.br>>. Acesso em 21 jan.2021.

ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução da Diretoria Colegiada RDC nº. 2, de 15 de janeiro de 2007. **Regulamento Técnico sobre Aditivos Aromatizantes**. Disponível em: <<https://www.portal.anvisa.com.br>>. Acesso em 21 jan.2021.

ANTONIO, A. S; WIEDEMANN, L. S. M; VEIGA JÚNIOR, V. F. The genus *Capsicum*: a phytochemical review of bioactive secondary metabolites. **RSC Advances**. 2018. DOI: <https://doi.org/10.1039/c8ra02067a>.

ARCE, A; CHARÃO-MARQUES, F. Espaços ambíguos e a inovação neoliberal contemporânea: o caso do Merkén. *Redes Santa Cruz do Sul*, **Online**, ISSN 1982-6745.

ARDUIM, J; HACKBART, H.C. S; AMARAL, M. A. F. S; SANCHES FILHO, P. J. Otimização de metodologia para análise de hidrocarbonetos em sedimentos lagunares. v.10, n.3. **Revista Ibero – Americana de Ciências Ambientais**. 2019. DOI: <https://doi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2019.003.0015>.

ARIAS, J. L. De. O. Determinação de conservantes em alimentos processados empregando QuEChERS, SILLME e HPLC-UV: Estudos de métodos e estimativa da ingestão diária. **Tese de Doutorado, Programa de Pós-Graduação em**

Química Tecnológica e Ambiental da Universidade Federal de Rio Grande, Rio Grande, RS. 2019.

AZEVEDO, J. A. H., ARAÚJO, R. S; SILVA, G. M. M. (2013). Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos atmosféricos de fontes automotivas: uma breve revisão. **Holos**, 1, 102-114. DOI: <https://doi.org/10.15628/holos.2013.1234> .

BAE, H; JAYAPRAKASHA, G. K; JIFON, J; PATIL, B. S. Variation of antioxidant activity and the levels of bioactive compounds in lipophilic and hydrophilic extracts from hot pepper (*Capsium spp.*) cultivars. **Food Chemistry**, vol 134, Issue 4, 2012, pp. 1912-1918. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.03.108>.

BARCHENGER, D. W; BOSLAND, P. W. Scientia Horticulturae Exogenous applications of capsaicin inhibits seed germination of *Capsicum annum*. **Scientia Horticulturae**, v. 203, p. 29-31, 2016. DOI: <https://doi.org/10.106/j.scienta.2016.03.009>.

BARTLE, K. D; MYERS, P. History of gas chromatography. **Tendências TrAC em Química Analítica**, vol 21,ed. 9-10, 10 de setembro de 2012, p.547-557. DOI:[https://doi.org/10.106/S0165-9936\(02\)00806-3](https://doi.org/10.106/S0165-9936(02)00806-3).

BERNARDO, D. L; BARROS, K. A; SILVA, R. C; PAVÃO, A. C. Carcinogenicidade de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos. **Química Nova**, vol.39, nº7, 789-794, 2016. DOI: <https://dx.doi.org/10.5935/0100-4042.20160093>.

BERTINETTI, I. A; FERREIRA, C. F; MONKS, J. L. F; SANCHES FILHO, P; ELIAS, M. C. Accumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in rice subjected to drying with different fuels plus temperature, industrial processes and cooking. **Journal of Food Composition and Analysis**. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jtca.2017.12.009>.

BOBEDA, C. R. R. Otimização de separação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos por cromatografia líquida de alta eficiência utilizando metodologia da superfície de resposta para análise de amostras de mexilhão e salmão defumado. 2014. **Tese de Doutorado. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos**, 2014.

BONTEMPO, M. Pimenta: e seus benefícios à saúde. São Paulo: Alaúde, 2007.

BORGES, R. B. Otimização das condições de extração e análise de herbicidas triazínicos com o emprego de cartuchos de extração em fase sólida (SPE) à base de monólitos polímeros. Monografia (Graduação). Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás, Campus Inhumas, **Curso de Licenciatura em Química**, 2016.

BOUTEMTAM, L; BOUKHATEM, M, N; MESSAOUDI, M. BEGAA, S. BERNARFA, A; FERHAT, M. A. Understanding the phenomena of extraction of essential oils by the microwave accelerated distillation process: case of the Washington Navel variety. **European Journal of Biological Research**. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.3881852>.

BRASIL. Portaria MS nº2914, de 12 de dezembro de 2011. Dispõe sobre procedimentos de controle de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. **Ministério da Saúde**. Disponível em: <<https://www.bvsms.saude.gov.br>>. Acesso em 20 de jan.2021.

BRITO, N. M; JUNIOR, O. P. De. A; POLESE. L; RIBEIRO, M. L. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente, v. 13, 2003. (BRITO, 2003).

BUDZINSKI, H; MAZÉAS, O; TRONCZYNSKI, J; DÊSAUNAY, Y; BOCQUENÊ,G; CLAIREAUX,G. Link between exposure of fish (*Solea solea*) to PAHs and metabolites: Application to the 'Erika' oil spill. **Aquatic Living Resources**, 1793), 329-334, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1051/alr.2004040>.

BURIN, R; BURIN, V. M; TAHA, P; BORDIGNHON-LUIZ, M. T. Validação de uma metodologia analítica para determinação de cálcio em produtos cárneos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, 28(4):973-978, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612008000400033>.

CALDAS, S. S;GONÇALVES, F. F; PRIMEL, E. G; PRESTES, O. D; MARTINS, M. L; ZANELLA, R. Principais técnicas de preparo de amostras para determinação de resíduo de agrotóxicos em água por cromatografia líquida com detecção por arranjo

de diodos e por espectrometria de massas. **Química Nova [online]**. 2011, vol.34, n.9, pp.1604-1617. ISSN 0100-4042. DOI: <http://dx.doi.org/101590/S0100-404220011000900021>.

CARUSO, M. S. F; ALABURDA. J. Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos – benzo(a)pireno: uma revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)**, v.67, nº.1, p. 1-27, abr. 2008.

CARVALHO, S. I. C. De; BIANCHETTI, L. De. B; RIBEIRO, C.S.Da.C; LOPES,C. A. Pimentas do gênero *Capsicum* no Brasil. Brasília: **Embrapa Hortaliças**, 2006. Disponível em: <<https://www.embrapa.br>>. Acesso em 17 de fev. 2021..

CARVALHO, S. I. C. de; RIBEIRO, C. S.da. C; HENZ, G. P; REIFSCHNEIDER, F. J. B. “BRS Mari”: nova cultivar de pimenta dedo-de-moça para processamento, 2009. **Embrapa Hortaliças**. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/783051/brs-mari-nova-cultivar-de-pimenta-dedo-de-moca-para-processamento>>. Acesso em 12 de abr.2021

CAVALCANTE, R. M; LIMA, D.M. de; CORREIA, L. M; NASCIMENTO, R. F. Técnicas de extrações e procedimentos de clean-up para a determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em sedimentos da Costa do Ceará. **Química Nova**. vol. 31. n. 6, São Paulo, 2008. DOI: <https://dx.doi.org/10.159/S0100-40422008000600019>.

CASSINI, S. T. A; ANTUNES, P. W. P; KELLER, R. Validação de método analítico livre de acetonitrila para análise de microcistinas por cromatografia líquida de alta eficiência. *Quím. Nova* [online]. 2013, vol.36, n.8, pp.1208-1213. ISSN 0100-4042. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422013000800019>.

CASTRO, P. A; VÁZQUEZ, E. R. A; ESPINOSA, A. J. F. A rapid Soxhlet and mini-SPE method for analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in atmospheric particles. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**. 2021 Mar. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00216-021-03188-9>.

CCME. Canadian Council of Ministers of the Environment. Carcinogenic and other polycyclic aromatic hydrocarbons. Environmental and human health effects. PN 1401, 2008, 229 P.

CHENG, J.; ZHANG, X.; MA, Y.; TANG, Z. Concentrations and distributions of polycyclic aromatic hydrocarbon in vegetables and animal-based foods before and after grilling: Implication for human exposure. **Science of The Total Environment**, v. 690, p. 965-972, 2019. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.07.074>.

CHEOK, C. Y; SOBHI, B; MOHD ADZAHAN, N; BAKAR, J; ABDUL RAHMAN, R, Ab; KARIM, M. S; GHAZALI, Z. Physicochemical properties and volatile profile of chili shrimp paste as affected by irradiation and heat. **Food Chemistry**, 2016, p.10-18, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.08.011>.

CHUAH, Lai Fatt et al. A review of cleaner intensification technologies in biodiesel production. **Journal of cleaner production**, v. 146, p. 181-193, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.05.017>.

COELHO, E; FERREIRA, C; ALMEIDA. Analysis of Polynuclear Aromatic Hydrocarbons by SPME-GC-FID in Environmental and Tap Waters. **J. Braz Chem. Soc.** vol.19, n°6, p.1084-1097, 2008. DOI: <https://dx.doi.org/10.1590/S0103-505320080600006>.

DEGANI, A. L; CASE, Q. L; VIEIRA, P. C. Cromatografia um breve ensaio. **Química Nova**, São Paulo, n. 7, pp. 21-25, 1998.

DEMARCO, M. Determinação de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) em Mexilhão empregando o método QuEChERS e HPLC-FD. Dissertação de Mestrado – Universidade Federal de Santa Maria, **Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de Pós-Graduação em Química**, RS, 2017.

DO RÊGO, E. R; FINGER, F. L; DO RÊGO, M. M. Production and Breeding of Chilli Peppers (*Capsicum spp.*). **Editora: Springer**, 1ª ed. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-3-319-06532-8>.

EC, (2005). Commission Regulation n°. 208/2005/EC OF 4 February 2005 amending Regulation (EC) n°. 4667/2001 as regards polycyclic aromatic hydrocarbons. **OJEU**. L34:3-5.

EFSA. (2008). Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the European Commission on Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Food. **The EFSA Journal**, 724, 1–114.

EFSA. (2009). Guidance on Safety assessment of botanicals and botanical preparations intended for use as ingredients in food supplements. **The EFSA Journal**, 1249, 1-29.

EMBRUSCADO, M. E. (2015). Herbs and spices as antioxidants for food preservation. In F. Shahidi (Ed.), **Handbook of Antioxidants for Food Preservation** (pp. 251-283). Oxford: Woodhead Publishing. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/B978-1-78242-089-7.00011-7>.

EMBRAPA. Pimenta (*Capsicum spp.*). Comercialização. Embrapa Hortaliças, 2020. Disponível em: <<https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br>> Acesso em 17 de fev. 2021.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Pré-produção Características Cultivares *Capsicum annum*.2010. Disponível em: <<https://agencia.cnptia.embrapa.br>>. Acesso em 14 de abr.2021.

EPA. Environmental Protection Agency. Method 8310 Polycyclic aromatic hydrocarbons. Disponível em : <<https://epa.gov/sites/production/files/2015-12/documents/8310>>.

EU (European Union). Commission Regulation (EU) No 835/2011 of 19 August 2011 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels for polycyclic aromatic hydrocarbons in foodstuffs. **Official Journal of the European Union**, Bruxelas, 20 ago. 2011. L 215, p. 4-8. (a)

EU (European Union). Commission Regulation (EU) N° 836/2011 of 19 August 2011 amending Regulation (EC) N° 333/2007 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels lead, cadmium, mercury, inorganic tin,

3-MCPD and benzo(a)pyrene in foodstuffs. **Official Journal of the European Union**, Bruxelas, 20 ago 2011. L 2015, p. 9-16. (b).

FAO. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Discussion paper on the establishment maximum levels for mycotoxins in spices. **Codex Alimentarius Commission**. World Health Organization, 2017. Disponível em <<https://www.fao.org>>. Acesso em 18 de fev.2021.

FASANO, E; YEBRA-PIMENTEL, I; MARTÍNEZ-CARBALLO, E; SIMAL-GÁNDARA. Profiling, distribution and levels of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons in traditional smoked plant and animal foods. **Food Control**, 59 (2016), 581-590. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.06.036>.

GALLINARO, C. A; FRANCO, D. W. Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) em cachaça, rum, uísque, e álcool combustível. **Química Nova**. São Paulo, v.32, n. 6, p. 1447-1451, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000600016>.

GARCIA, L. P; GONÇALVES, B. L; PANHO, G; SCUSSEL, V. M. Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos em Alimentos: Uma revisão. **PUBVET**, Londrina, V. 8, n.19, Ed.268, Art.1788, Outubro, 2014. Disponível em: <[https://www.pubvet\].com.br](https://www.pubvet].com.br)>. Acesso em 15 jan. 2021.

GIUDICE, G. H. Parâmetros de uma validação analítica: uma revisão bibliográfica. **Acta de Ciências e Saúde**, n.05, v.01. 2016.

GUIZELLINI, G. M; SILVA, S. A; TORRES, E. A. F. S; SOARES-FILHO, R. A. M; ALMEIDA, A. P; SAMPAIO, G. R. Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos em Chocolates Comerciais com diferentes porcentagens de sólidos de cacau. 7º Simpósio de Segurança Alimentar: Inovação com Sustentabilidade. **On Line**. 27-29, out. 2020. Disponível em :<<https://www.schneautomacao.com.br>>. Acesso em 27 de jan.2021.

HASSAN, H. M.; CASTILLO, A. B.; YIGITERHAN, O.; ELOBAID, E. A.; AL-OBAIDLY, A.; AL-ANSARI, E.; OBBARD, J. P.. Baseline concentrations and distributions of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in surface sediments from the Qatar marine environment. **Marine Pollution Bulletin**, v.126, p.58-62, 2018.

DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.10.093>.

HARTZELL, S. E.; UNGER, M. A.; VADAS, G. G.; YONKOS, L. T. Evaluating porewater polycyclic aromatic hydrocarbon– related toxicity at a contaminated sediment site using a spiked field-sediment approach. **Environmental toxicology and chemistry**, v. 37, n. 3, p. 893-902, 2018. DOI: <https://dx.doi.org/10.1002/etc.4023>.

HERNÁNDEZ-PÓVEDA, G. F; MORALES-RUBIO, A; PASTOR-GARCÍA, A; GUARDIA De. La, M. Extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from cookies: A comparative study of ultrasound and microwave assisted procedures. **Food Additives and Contaminants**. DOI: <https://doi.org/10.1080/02652030701616017>.

IARC. Agência Internacional de Pesquisa em Câncer. (2012). Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, overall evaluation of carcinogenicity. **Chemical Agents and Related Occupations**. (V. 100F). Lyon: IARC.

INCA. Instituto Nacional do Câncer. Hidrocarboneto Policíclico Aromático. Causas e Prevenção, 2018. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br>. Acesso em 05 de Dez de 2020.

IUPAC. International Union of Pure and Applied Chemistry (**IUPAC**): 2002. Harmonized Guidelines for Single Laboratory Validation of Methods of Analysis.

JARDIM, I. C. S. F. Extração em Fase Sólida: Fundamentos Teóricos e Novas Estratégias para Preparação de Fases Sólidas. **Scientia Chromatographic**. Vol.2, nº1, 13-25, 2010.

JAHURUL, M. H. A; JINAP, S; Z Aidul, I. S. M; SAHENA, F; FARHADIAN, A; HAJEB, P. Determination of fluoranthene, benzo[b]fluoranthene and benzo[a]pyrene in meat and fish products and their intake by Malaysian. **Food Bioscience**, Volume 1, March 2013, p.73-80. DOI: <https://doi.org/10.106/j.fbio.2013.03.006>.

KATAOLA, H; SAITO, K. Recent advances in SPME Techniques in biomedical analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.jpba.2010.12.010>.

KUHN, A. V; COZER, N; PONT, G. D; SANDAUSKAS-HENRIQUE, H. Gerenciamento de Risco Alimentar e Conscientização Relacionado ao Consumo de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) em Pescado. **Anais do Encontro Nacional de Pós –Graduação – IX ENPG Vol.4 p. 351,2020**. Disponível em: <<http://periodicos.unisanta.br/index.php/ENPG/article/view/2611>>. Acesso em: 10 jan.2021.

KWON, T. Y; PARK, J. S; JUNG, M. Y. Headspace-Solid Phase Microextraction – Gas Chromatography – Tandem Mass Spectrometry (HS-SPME-GC-MS²) Method for the Determination of Pyrazines in Perilla Seed Oils: Impact of Roasting on the Pyrazines in Perilla Seed Oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. DOI: <http://doi.org/10.1021/jf402487a>.

LAWAL, A. T. Polycyclic aromatic hydrocarbons. A review. **Cogent Environmental Science**. DOI: <https://doi.org/10.1080/23311843.2017.1339841>.

LEE, J.; KIM, S.; MOON, J.; KIM, S.; KANG, D.; YOON, H. Effects of grilling procedures on levels of polycyclic aromatic hydrocarbons in grilled meats. **Food Chemistry**, v. 199, p. 632- 638, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.12.017>.

LIMA, E. M. De. Otimização e Validação de Metodologias analíticas em GC-MS aplicadas à Biodegradação de Poluentes Orgânicos persistentes e óleos essenciais de pimentas. **Tese de Doutorado, Programa de Pós-Graduação em Química, São Carlos, 2019**.

LIN, D.; TU, Y.; ZHU, L. (2005) Concentrations and health risk of polycyclic aromatic hydrocarbons in tea. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.43, p.41-48, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2004.08.010>.

LINO, C. M; SILVA, L. J. G; PENA, A. S. Metodologias analíticas para determinação das fumonisinas em milho e alimentos à base de milho. **Química Nova**.vol,29, n.2. São Paulo, 2006. DOI: <https://dx.doi.org/10.159/S0100-4042200>

6000200021.

LUQUE-GARCIA, J. L.; DE CASTRO, M. L. Ultrasound-assisted soxhlet extraction: an expeditive approach for solid sample treatment: application to the extraction of total fat from oleaginous seeds. **Journal of Chromatography A**, v. 1034, n. 1-2, p. 237-242, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.02.020>.

LU, M; HO, C-T; HUANG, Q. Extraction, bioavailability, and bioefficacy of capsaicinoids. **Journal of Food and Drug Analysis**. v. 25, Issue1, January 2017, p.27-36. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2016.10.023>.

MARTENA, M. J; GUTTERS, M. M. P; De GROOT, H. N; KONINGS, E. J. M; RIETJENS, I. M. C. M. (2011). Monitoring of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH) in Food Supplements Containing Botanicals and Other Ingredients on the Dutch Market. **Food Additives & Contaminants: Part A**, 28, 925–942. DOI: <https://doi.org/10.1080/19440049.2011.569573>.

MARTIN, R; HOLLAND, J; DOWDING, A; PETCH, S; WHITE, S; FERNANDES, A; MORTIMER, D. Investigation into the formation of PAHs in foods prepared in the home to determine the effects of frying, grilling, barbecuing, toasting and roasting. **Food and Chemical Toxicology**, 78, 1-9. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2014.12.018>.

MEYER, V. R. Practical High-Performance Liquid Chromatography. **Fifth Edition**.2013.

MOLLE, D. R. D. Avaliação da contaminação por Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos de óleos vegetais de canola, girassol e milho comercializado no Brasil. **Dissertação de Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos. Campinas, SP: ITAL- Instituto de Tecnologia de Alimentos**, 2017.

MONAGO-MARAÑA, O; PÉRE, R. L; ESCANDAR, G. M; PEÑA, A. M. De. La; DIAZ, T. G. Combination of Liquid Chromatography with Multivariate Curve Resolution – Alternating Least-Squares (MCR-ALS) in the Quantitation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Present in Paprika Samples. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 2016. DOI: <https://dx.doi.org/10.1021/acs.jafc.6b03852>.

MORET, S; PURCARO, G; CONTE, L. S. (2010). Polycyclic Aromatic hydrocarbons (PAHs) Levels in Propolis and Propolis-based Dietary Supplements from the Italian Market. **Food Chemistry**, 122, 333-338. DOI: <https://dx.doi.org/10.106j.foodc/hem.2010.02.041>.

MOZANE, L. De. Q; ALMEIDA, P. De; SILVA, S. A. Da. Polycyclic aromatic hydrocarbons: a review on the methodologies of the analysis and the levels of contamination in smoked meat products. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**. 2019. DOI: <https://doi.org/10.18241/rial.v78i134697>.

NASCIMENTO, R. F. Do; LIMA, A. C. A. De; BARBOSA, P. G. A; SILVA, V. P. A. Da. Cromatografia gasosa: aspectos teóricos e práticos. 2018. **Imprensa Universitária da Universidade Federal do Ceará (UFC)**.

NETTO, A. D. P; DIAS, J. C. M.; ARBILLA, G; OLIVEIRA, L. F; BAREK, J. Avaliação da contaminação humana por Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos e seus derivados nitratos: uma revisão metodológica, **Química Nova**, v. 23, n. 6, p. 765-773, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422000000600010>.

OLIVEIRA, T. De. S; BARCELLOS, R. L; CHETTINI, C. A. F; CAMARGO, P. B. De. Modern sedimentary processes and the distribution of organic matter in a tropical estuarine system, Recife, PE, Brazil. **Journal of Integrated Coastal Zone Management**. 2014. DOI: <https://doi.org/10.5894/rgci470>.

PARIS, A; GAILLARD, J. L; LEDAUPHIN, J. Rapid Extraction of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Apple: Ultrasound-Assisted Solvent Extraction Followed by Microextraction by Packed. **Food Analytical Methods**. v.12, issue 10, 1 October 2019, p. 2194-2204. DOI: 10.1007/s12161-019-01568-7.

PARIS, A; LESAUPHIN, J; LOPEZ, C; HENNEQUIN, D; GAILLARD, J. L. Trace amount determination of monocyclic and polycyclic aromatic hydrocarbons in fruits: Extraction and analytical approaches. **Journal of Food Composition and Analysis**. 67, 110-118. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.12.034>.

PAZ, A. P. S. Da; NASCIMENTO, E. C. P; MARCONDES. M. C. F. Da. SILVA; HAMOY. M; MELLO, V. J. De. The presence of polycyclic aromatic hydrocarbons in food products and their relationship with the cooking method and nature of the

food. **Brazilian Journal Food Technology**, Campinas, v.20, e2016102, 2017. DOI: <http://dx.doi.org/1590/1981-6723.10216>.

PEREIRA, R. D. Caracterização de pimentas do gênero *Capsicum spp.* Trabalho de **Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia), Universidade Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Agronomia, Recife, BR-PE**, 2018. Disponível em: <<https://www.repository.ufrpe.br>>.

PERES, T. B. Noções básicas de cromatografia. **Biológico**, São Paulo, v. 64, n. 2, pp. 227-229, 2002.

PERESTRELO, R; SILVA, P; PORTO-FIGUEIRA, P; PEREIRA, J; MEDINA, S; CÂMARA, J. S. QuEChERS – Fundamentos, relevantes improvements, applications and future trends. **Analytica Chemical Acta**, v.1070, p. 1-28, 2019. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.aca.2019.02.036>.

PHILLIPS, D. H. Polycyclic aromatic hydrocarbons in the diet. **Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis**. 2020. DOI: [https://dx.doi.org/10.116/S1383-5742\(99\)00016-2](https://dx.doi.org/10.116/S1383-5742(99)00016-2)

PIETZSCH, R. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em sedimentos recentes da Baía de Guaratuba-PR. 2017. Disponível em: <https://app.uff.br/riuff/handle/1/3494>. Acesso em 10 jan. 2021.

PINTO, C. M. F; PUNTO, C. L. De. O; DONZELES, S. M. L. Pimenta *Capsicum*: propriedades químicas, nutricionais, farmacológicas e medicinais e seu potencial para o agronegócio. **Revista Brasileira de Agropecuária (BRAS)**, v.3, n.2, p.108-120, Dezembro, 2013. DOI: <https://doi.org/10.21206/rbasv3i2.225>.

PISSINATTI, R, NUNES, C. M; SOUZA, A. G. De; JUNQUEIRA, R. G; SOUZA, S. V. C. De. Simultaneous analysis of 10 polycyclic aromatic hydrocarbons in roasted coffee by isotope dilution gas chromatography-mass spectrometry: Optimization, in-house method validation and application to an exploratory study. **Food Control**. Vol 51 may, 2015, p.140-148. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.11.003>

PRESTES, O. D; FRIGGI, C. A; ADAIME, M. B; ZANELLA, R. QuEChERS – A modern sample preparation method for pesticide multiresidue determination in food by chromatographic methods coupled to mass spectrometry. **Química Nova**, vol. 32 n. 6, São Paulo, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-4042200900060004> 6.

PURCARO, G; MORET, S; CONTE, L. Overview on polycyclic aromatic hydrocarbons: Occurrence, legislation and innovative determination in foods. **Talanta**. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2012.10.041>.

QUINTEIRO, L. M. Da. C; NOBRE, A. L. Da. R; FERREIRA, A. B. B; GODOY, R. L. De. O; CASTRO, I. M. De. Microextração em fase sólida: Fundamentos e Aplicações em Análise de Alimentos. **B.CEPPA**. Curitiba, v. 21, n.1, p. 1-30, Jan./jun. 2003. DOI: <https://dx.doi.org/10.5380/cep.v21i1.1145>.

REINHOLDS, I; PUGAJEVA, I; BAVRINS, K; KUCKOVSKA, G; BARTKEVICS, V. (2016). Mycotoxins, pesticides and toxic metals in commercial spices and herbs. **Food Additives & Contaminants: Part B**, In Press. DOI: <https://dx.doi.org/10.1080/19393210.2016.1210244>.

REIS, R.M; FURLANI, R. P. Z; GOMES, F. M. L; MORGANO, M. A; TFOUNI, S. A. V. Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos em chás: avaliação da presença utilizando QuEChERS e HPLC-FLD. In: XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos: Alimentação: a árvore que sustenta a vida. X CIGR Section VI Internacional Technical Symposium Food: the tree that sustains life. 24-27, out, 2016. FAURGS, Gramado, RS. **Anais eletrônicos**. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/sbctars-eventos/xxvcbcta/anais/files/74.pdf>>. Acesso em 19 jan. 2021.

REUHS, B. L. High-Performance Liquid Chromatography. **Foods Analysis**, pp.213-226. DOI: https://doi.org/10.1007/978-3-319-45776-5_13.

RESOLUÇÃO DA DIRETORIA COLEGIADA - RDC Nº 166, de 24 de julho de 2017. Disponível em:<<https://portal.anvisa.br>>. Acesso em 29 mar. 2021.

REYES-ESCOGIDO, M; GONZALEZ-MONDRGN, E. G; VAZQUEZ-TZOMPAN

TZI. (2011). Chemical and Pharmacological Aspects of Capsaicin. **Molecules**, 16(2), 1253-1270. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules16021253>.

ROCHA, S. M; NISHIO, F.Y. Contaminação por Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) em Mananciais: evidências de risco à saúde no Município de São Paulo. **InterfacEHS**. Saúde, Meio Ambiente e Sustentabilidade. Vol. 11 nº 1. São Paulo, 2016. Disponível em: <https://www3.sp.senac.br/hotsites/blogs/InterfacEHS>.

ROZENTĀLE, I; STUMPE-VIKSNA, I; ZAC'S, D; SIKSNA, I; MELNGAILE, A; BARTKEVICS, V. Assessment of dietary exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons from smoked meat products produced in Latvia. **Food Control**. 54 (2015), 16-22. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.01.017>.

ROZENTALE. I; LUN. A.Y; ZACS. D; & BARTKEVICS. V. The occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons in dried herbs and spices, **Food Control** (2017). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.04.018>.

SALVI, A. De. O. Caracterização Fitoquímica e avaliação do potencial antioxidante e antimicrobiano de *Capsicum Chinense Jacquin* (Pimenta-de-bode roxa). **Dissertação de Mestrado, da Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós - Graduação em Farmácia**, 2015. Florianópolis, SC.

SANCHES FILHO, P.J; ARDUIM, J; BETEMPS, G. R; ANDRADE, G.O; SILVA, R. C.S. Da. Evaluation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Achyrocline Satureioides (Marcela) and its Infusion. v. 12, n.1 (2021): **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais** – Jan 2021. DOI: <https://doi.org/10.6008/CBCPC2179-6858.2021.001.0043>.

SEMEDO, J.M; AUSTIN, D.F. 2004 *Capsicum frutescens*. Composição bromatológica da pimenta malagueta in natura e processada em conserva." Itapetinga–BA: UESB (2011).

SCHAARSCHMIDT, S. (2016). Public and private standards for dried culinary herbs and spices – Part I: Standards defining the physical and chemical product quality and safety. **Food Control**, 70, 339 – 349. DOI: <https://doi.org/10.1016./j.fo>

odcont.2016.06.004.

SILVA, S.A; ROSSI, G.Z. De; ALMEIDA, A.P; GUIZELLINI, G. M; TORRES, E.A. F.S; SAMPAIO, G.R. Benzo(a)Pireno como contaminante em produtos cárneos embutidos comerciais. 7º Simpósio de Segurança Alimentar. Inovação com Sustentabilidade. **On Line**. 27-29, out, 2020. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-eventos/-/evento/422821/7-simposio-de-seguranca-alimentar>. Acesso em 18 jan.2021.

SILVA, S. A. Da; SAMPAIO, G.R; TORRES, E. A. F. Da. S. Optimization and validation of a method using UHPLC-fluorescence for the analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in cold-pressed vegetable oils. **Food Chemistry**. 2016. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.11.098>.

SIMKO, P. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in smoked meat products and smoke flavouring food additives. **Journal of Chromatography B**, 770(1-2), 3-18. DOI: 10.1016/s0378-4347(01)00438-8.

SINGH, L; AGARWAL, T; SIMAL-GANDARA, J. PAHs, diet and cancer prevention: Cooking process driven-strategies. **Trends in Food Science & Technology**, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.03.030>.

SCHWEIGGERT, U. W. Effects of processing and storage on the stability of free and esterified carotenoids of red peppers (*Capsicum annum*L.) and hot chilli peppers (*Capsicum frutescens* L.). **European Food Research and Technology**. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00217-006-0413-y>.

SHU, Y. Y.; Tey, S. Y.; Wu, D. K. S. Analysis of polycyclic aromatic hydrocarbons in airborne particles using open-vessel focused microwave-assisted extraction. **Analytica Chemical Acta**, 495: 99-108, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2003.08.040>.

SKOOG, D. A; WEST, D. M; CHROUSSH, S. R. Fundamentos de Química Analítica. 8 edª. São Paulo: Cengage Learning, 2008.

SPARKMAN, O. D; PENTON, Z; KITSON, F. G. Gas Chromatography and Mass Spectrometry: A Practical Guide. **Academic Press**, Oxford, 2011.

SUSLICK, K. S. The chemical effects of ultrasound. **Scientific American**, v. 260, n. 2, p. 80-86, 1989.

SUN, C; ZHANG, J; MA, Q; ZHANG, F; CHEN, Y. Risk Assessment Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Sediments From a Mixed-Use Reservoir. **Human and Ecological Risk Assessment: An International Journal**, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1080/10807039.20151079775>. (a).

SUN, R; SUN. Y; LI, Q. X; ZHENG, X; MAI.BIXIAN. Polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments and marine organisms: Implications of anthropogenic effects on the coastal environment. **Science of the Total Environment**, v. 640, p. 264–272, 2018. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.05.320>. (b).

SURMA, M; SADWOSKA-ROCIK, A; CIESLIK, E. The application of d-SPE in the QuEChERS method for the determination of PAHs in food of animals with GC-MS detection. **Eur Food Res Technol**. 2014. DOI: <https://dx.doi.org/10.1007/s00217-014-2181-4>.

THEA, A. E; FERREIRA, D; BRUMOVSKY, L. A; SCHMALKO, M. E. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in yerba maté (*Ilex paraguariensis st.hil*) traditional infusions (mate and tereré). **Food Control**. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcond.2015.07.046>.

TOFFOLI, A. L. De; LANÇA, F. M. Recent advances on in-tube solid phase micro extraction (SPME) and its application to environmental and food analysis. **Scientia Chromatographic**. 2015. Instituto Internacional de Cromatografia. DOI: <https://dx.doi.org/10.4322/sc.2016.011>.

TU, Y. T. et al. Source identification and ecological impact evaluation of PAHs in urban river sediments: A case study in Taiwan. **Chemosphere**, v. 194, p. 666-674, 2018. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.12.008>.

USEPA. Risk Assessment Handbook: Human Health Evaluation. **Manual Nº 2001-4**. Washington, D. C. 1995.

USEPA - United States Environmental Protection Agency. **Method 3540C- Soxhlet Extraction**, US Environmental Protection Agency, Washington, DC. 1996.

VALDERRAMA, P. BRAGA, J. W. B; POPPI; R.J. Estado da arte de figuras de mérito em calibração multivariada. **Química Nova**.v. 32, n. 5, 1278-1287, 2009. DOI: 10.1590/s0100-40422009000500034.

ZACHARA, A; GALKOWKSA, D; JUSZCZAK, L. Method Validation and Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Vegetable Oils by HPLC-FLD. **Food Anal. Methods**, 2017. DOI: <https://dx.doi.org/10.1007/s1261-0116-0673-5>.

ZELINKIVA, Z; WENZL, T. The Occurrence of 16 EPA PAHs in Food – A Review. **Polycyclic Aromatic Compounds**. DOI: <https://doi.org/10.1080/10406638.2014.918550>.

ZHANG, Y; CUI, B; ZHANG, Q; LIU, X. Polycyclic aromatic hydrocarbons in the food web of Coastal Wetlands: Distribution, sources and potential toxicity. **Clean - Soil, Air, Water**, 43, 881–891, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1002/clean.201400305>.

ZHOU, Q; GAO, Y. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in water samples by temperature-controlled ionic liquid dispersive liquid-liquid microextraction combined with high performance liquid chromatography. **Analytical Methods**. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1039/c3ay42254b>.

WANG, N; LU, Y; CUI, B. Preparation and Application of β -Cyclodextrin Functionalised Graphene Oxide-Grafted Silica Sorbents for Solid-Phase Extraction (SPE) of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from Fried Food Using a Box-Behnken Design. **Food Analytical Methods**. DOI: <https://doi.org/10.000/s1261-021-010013-4>.

WANDAN, E. N.; ELLEINGAND, E. F.; NDOUBA, A. M. A screening for benzo[a]pyrene in cocoa beans subjected to different drying methods during on farm processing. **IJEST**, v. 3, n. 5, p. 3621-3630, 2011. Disponível em:<<https://www.semanticscholar.org>>. Acesso em 26 de jan.2021

WU, S.; GONG, G.; YAN, K.; SUN, Y.; ZHANG, L. Polycyclic aromatic hydrocarbons in edible oils and fatty foods: Occurrence, formation, analysis, change and control. **Advances in Food and Nutrition Research**. 2020. DOI:<https://dx.doi.org/10.1016/>

bs.afnr.2020.02.001.

4. PRODUÇÃO CIENTÍFICA OU TECNOLÓGICA

Eventos

Participação em eventos, congressos, exposições e feiras

XVII Congresso Latino Americano de Cromatografia. 2019. (Congresso).

Optimization of Chromatographic Methods for Determination of PAHs in Peppers.

Trabalho aceito por periódico:

Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais (RICA V12 N06 2021),

QUALIS Referência B1 (2017-2020), para lançamento até junho/julho de 2021.

**ANEXO 1: DETERMINAÇÃO DE HPAs EM PREPARAÇÕES COMERCIAIS COM
BASE EM PIMENTA**

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Pode-se observar que os parâmetros obtidos para o método quantitativo (erro relativo, coeficiente de correlação e desvio padrão relativo) nos mostraram que o método cromatográfico em modo SIM é exato e preciso, com limites de detecção e quantificação adequados e sensibilidade e seletividade também adequadas, visto que, os compostos em sua maioria apresentaram boa resolução e separação dos demais compostos presentes na matriz, o que fornece segurança na determinação dos mesmos.

Ao realizarmos a comparação dos métodos de clean-up, selecionamos o método 2 que utiliza apenas sílica como adsorvente, por ser mais econômico e ambientalmente amigável pois consome menos solventes orgânicos, portanto menos reagentes.

Ao avaliarmos o método como um todo (extração, clean-up, e determinação cromatográfica em modo SIM) também foi caracterizado como preciso e exato com níveis de recuperação, com base nos HPAs deuterados, aceitos pelos órgãos ambientais como as recomendações da União Europeia e do INMETRO.

A aplicação da metodologia nas amostras de pimentas, permitiu a identificação e a determinação de índices elevados de HPAs encontrados que podem estar atribuídos, principalmente, ao seu processo de produção com altos níveis de temperaturas no processo de secagem e defumação.

Dessa maneira, a metodologia usada constitui-se como uma alternativa simples e adequada para o estudo e determinação de HPAs presentes em amostras de preparações comerciais com base em pimentas.

O estudo cromatográfico das demais frações pode trazer informações adicionais como caracterização fitoquímica dos produtos comerciais à base de pimentas.

ANEXO I

Artigo

Determinação de HPAs em preparações comerciais com base em pimenta

Resumo

Este estudo avalia a presença e os níveis de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em amostras comerciais de pimentas, usando extração sob ultrassom acompanhada de etapas de cleanup e determinação por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. Foram avaliados os 16 HPAs listados como contaminantes ambientais prioritários pela *United States Environmental Protection Agency* e utilizados como parâmetros a soma de Benzo(a)Antraceno, Criseno, Benzo(b)Fluoranteno e Benzo(a)Pireno os HPAs4 indicadores usados pela Agência Europeia de Segurança Alimentar para a presença desta classe de hidrocarbonetos em alimentos e a soma total para HPAs de maior peso molecular (Benzo(k)Fluoranteno, Benzo(b)Fluoranteno, Benzo(g, h, i)Perileno, Indeno(1, 2, 3-cd)Pireno estabelecida pela *German Society for Fat Science*. Foram encontrados os dezesseis HPAs, destacando-se como majoritários o Fenantreno, seguido pelo Criseno, Benzo(a)Antraceno, Acenaftileno e por último o Fluoreno. As concentrações de HPAs 4 variaram de $92,2 \mu\text{g Kg}^{-1} \pm 1,9\%$ a $2989,6 \mu\text{g Kg}^{-1} \pm 14,9\%$ nas amostras de pimentas. A soma dos HPAs prioritários nas amostras comerciais de pimenta variou de $1626,6 \mu\text{g Kg}^{-1} \pm 4,5\%$ e $34640,1 \mu\text{g Kg}^{-1} \pm 17,5\%$. As concentrações de HPAs nas amostras de pimentas ultrapassaram os valores permitidos pelo órgão de controle em alimentos, resultando em níveis que podem causar danos à saúde.

Palavras-chave: Contaminantes ambientais, Especiarias, Segurança Alimentar, GC/MS.

Determination of PAHs in commercial preparations based on peppers

Abstract

This study assesses the presence and levels of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in commercial pepper samples, using extraction under ultrasound followed by steps of cleanup and determination by gas chromatography coupled to mass spectrometry. The 16 PAHs listed as priority contaminants by the United States Environmental Protection Agency were evaluated and the sum of the four PAHs (Benzo(a)Anthracene, Chrysene, Benzo(b)Fluoranthene, Benzo(a)Pyrene) indicated by the European Food Safety Agency for the presence of PAHs in food and the total sum for higher molecular weight PAHs (Benzo(k)Fluoranthene, Benzo(b)Fluoranthene, Benzo(g,h,i)Perylene, Indene(1, 2, 3-cd)Pyrene established by the German Society for Fat Science were used as parameters in the samples. The sixteen PAHs listed in most of the samples were found, standing out as major Phenanthrene, followed by Chrysene, Benzo(a)Anthracene, Acenaphthylene, and finally Fluorene. The concentrations of PHAs 4 (EU) ranged from $92.2 \mu\text{g kg}^{-1} \pm 1.9\%$ to $1858.3 \mu\text{g kg}^{-1} \pm 14.9\%$ in the pepper samples. The sum of the priority PAHs in the commercial pepper samples ranged from $1626.6 \mu\text{g kg}^{-1} \pm 4.5\%$ to $34640.1 \mu\text{g kg}^{-1} \pm 17.5\%$. The concentrations of PAHs in the pepper samples exceeded the values allowed by the control organ in food, resulting in levels that can cause damage to health.

Keywords: Environmental Contaminants, Spices, Food Security, GC/MS.

Introdução

Os hidrocarbonetos estão listados como alguns dos principais contaminantes ambientais, pois são gerados facilmente a partir de fontes naturais e por diferentes atividades antrópicas, apresentando grande dispersão ambiental (HARTZELL *et al.*, 2018).

Dentre eles, os hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) apresentam alta toxicidade à biota devido seu potencial carcinogênico e mutagênico (GARCIA *et al.*, 2014).

Os HPAs são moléculas diversificadas com mais de cem compostos orgânicos, constituídos apenas de carbono e hidrogênio, formados por dois ou mais anéis aromáticos condensados, cada qual contendo cinco ou seis átomos de carbonos (BUDZINKI *et al.*, 2004). A grande parte da formação destes compostos se dá pela combustão incompleta de compostos orgânicos e estão presentes na queima incompleta de óleos, petróleo e seus derivados, nos escapamentos de veículos, na fumaça de cigarros e assemelhados, na calefação, na queima de carvão ou madeira, na incineração de rejeitos, entre outros (NETO *et al.*, 2000; HARTZELL *et al.*, 2018). Após formação, os HPAs, distribuem-se nos compartimentos ambientais em proporções que dependem de suas propriedades físico-químicas e das características de cada compartimento ambiental (CHEN *et al.*, 2017).

De acordo com Pietzch (2017), esses compostos podem se dividir em duas classes: compostos com baixa massa molecular (Naftaleno, Acenaftileno, Acenafteno, Fluoreno, Fenantreno e Antraceno) e com alta massa molecular (Fluoranteno, Pireno, Benzo(a)Antraceno, Criseno, Benzo(k)Fluoranteno, Benzo(b)Fluoranteno, Benzo(a)Pireno, Dibenzo(a,h)Antraceno, Benzo(g,h,i)Perileno, Indeno(1,2,3-cd)Pireno). Nestes hidrocarbonetos estão os 16 HPAs listados pela *United States Environmental Protection Agency* (USEPA) como contaminantes prioritários e suas estruturas moleculares estão apresentadas na Figura 1 (SUN *et al.*, 2018; TU *et al.*, 2018).

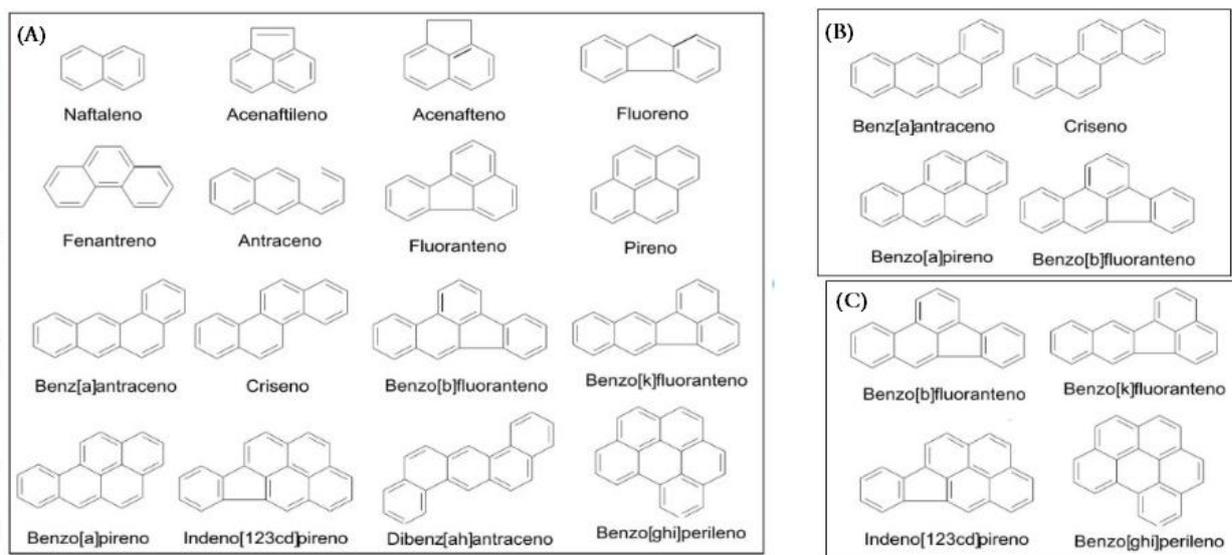


Figura 1: (A) Estruturas moleculares dos 16 HPAs contidos na lista de contaminantes prioritários pela USEPA;

(B) HPA4 - *European Food Safety Authority*; **(C)** HPAs de alta massa molecular pela *German Society for Fat Science*. Fonte: Pietzsch, (2017) e Bettin e Franco (2005).

Embora dezenas de HPAs tenham sido isolados e estudados, destacam-se os avaliados em alimentos e reconhecidos por organizações internacionais como *World Health Organization* (WHO), *Food and Agriculture Organization* (FAO) e *International Agency for Research on Cancer* (IARC) pelo potencial carcinogênico. Os 13 desses compostos em evidência, são: o Benzo(a)Antraceno (B(a)A), o Criseno (ChR), o Benzo(b)Fluorantebo (B(b)F), o Benzo(j)Fluoranteno (B(j)F), o Benzo(k)Fluoranteno (B(k)F), o Benzo(a)Pireno (B(a)P), o Dibenzo(a,h)Antraceno (DhA), o Dibenzo(a,e)Pireno (DeP), o Dibenzo(a,h)Pireno (DhP), o Dibenzo(a,i)Pireno (DiP), o Indeno(1,2,3-dc)Pireno (IcP) e o 5-Metilcriseno (5MC) (FAO, 2008). Dentre estes compostos, o Benzo(a)Pireno (BaP) apresenta como efeito mais significativo comprovado a carcinogenicidade (IARC, 2012).

Assim, a exposição ocupacional a misturas contendo HPAs está associada a diversos tipos de câncer como: os de pulmão, pele, bexiga, entre outros (INCA, 2018).

Sendo uma classe com centenas de compostos e imprescindível seu monitoramento, a *Contaminants in the Food Chain* (CONTAM) juntamente com a *European Food Safety Authority* (EFSA) atribuíram como indicadores dos níveis de HPAs em alimentos o Criseno, Benzo(a)Antraceno, Benzo(b)Fluoranteno e o Benzo(a)Pireno, sendo esses compostos definidos como os HPAs4 (EFSA, 2008). Na Alemanha, a *German Society for Fat Science* também fixou um limite total de HPAs em alimentos para o teor de HPAs de alta massa molecular (BETTIN e FRANCO, 2005).

Os alimentos e bebidas são uma das maiores fontes de exposição humana aos HPAs (LIN *et al.*, 2005; ROZENTALE *et al.*, 2017; BERTINETTI *et al.*, 2017; SILVA *et al.*, 2020).

A ocorrência de contaminação em alimentos por HPAs provém de diferentes formas, incluindo o contato com a água, ar e/ou solo poluídos e pelo processamento de alimentos, principalmente os que apresentam elevadas temperaturas (secagem, defumação, tostagem, grelhagem) (CHUNG *et al.*, 2011; JUHURUL *et al.*, 2013). A presença e as concentrações destes compostos estão relacionadas também com suas características físico-químicas como elevada lipofilicidade, a mesma propriedade que determina sua absorção, distribuição e bioacumulação no organismo humano (CARUSO e ALABURDA, 2008; PURCARO *et al.*, 2012; KUHN *et al.*, 2020).

As especiarias, incluindo os diversos tipos de pimentas, vêm sendo usadas para atribuir sabor, cor, aroma e preservação para alimentos e bebidas. Elas servem de ingredientes para alimentos processados, produtos à base de carne, laticínios e produtos de panificação e maioria dos produtos culinários (EFSA, 2008; EMBRUSCADO, 2015; SCHAARSCHMIDT, 2016; ROZENTALE *et al.*, 2017).

A qualidade organoléptica e comercial dessas especiarias pode ser afetada pela origem,

processos envolvidos na produção, presença de corantes e outros aditivos alimentares, sendo muitos desses proibidos. Os principais grupos químicos presentes em especiarias e que apresentam riscos à saúde, compreendem micotoxinas, resíduo de pesticidas, metais pesados, contaminantes orgânicos persistentes que incluem os HPAs (MORET *et al.*, 2010; MARTENA *et al.*, 2011; REINHOLDS *et al.*, 2016; SCHAARSMIDT, 2016).

De acordo com Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), não existe uma estimativa exata da produção de pimenta no país, mas acredita-se que são aproximadamente 5 mil hectares de área cultivada por ano, gerando uma produção de 75 mil toneladas de especiarias. A grande parte da produção é cultivada por pequenos agricultores de diversas regiões brasileiras. Na região Sudeste consome-se principalmente a pimenta doce do tipo americana, pimenta Cambuci, malagueta e cumari vermelha. Na região Nordeste, predominam as pimentas malagueta e pimenta de cheiro. Na região Norte, as pimentas mais apreciadas são a murupi, cumari do Pará e a pimenta de cheiro, e na região Centro-Oeste, tradicionalmente são cultivadas e consumidas pimentas bode, malagueta, cumari do Pará, dedo de moça e mais recentemente pimenta de cheiro, anteriormente importada do Pará e atualmente já cultivada em Goiás (EMBRAPA, 2020). Existem poucos resultados sobre estudos de contaminação de HPAs em pimentas. Pela base de dados Scopus (www.scopus.com), somente 13 publicações foram encontradas nos últimos 20 anos abordando o assunto.

Considerando o grau de toxicidade desses compostos e a necessidade de avaliar o seu aporte à dieta local por meio do consumo de pimentas, o objetivo deste estudo foi determinar a presença e níveis de HPAs em amostras comerciais de pimenta por Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (do inglês *gas chromatography coupled to mass spectrometry* - GC/MS).

Material e Método

Para o desenvolvimento deste estudo foram selecionadas cinco amostras de pimentas: AP1- Pimenta Merken (*Capsicum van.lungun*); AP2-Páprica Picante Defumada (*Capsicum annuum*); AP3-Pimenta Síria; AP4-Pimenta Calabresa (*Capsicum baccatum*) e AP5-Pimenta Caiena em Pó (*Capsicum frutescens*), adquiridas em locais comerciais aleatórios no período de novembro de 2018 à janeiro de 2019. Após a aquisição, as amostras foram armazenadas em recipientes de vidro (transparente) previamente descontaminados e colocados no dessecador.

A descontaminação feita com solução Extran (MA02 – Neutro, MERCK®) e água corrente (torneira), lavados com água destilada e posteriormente com água deionizada; após os recipientes foram levados à estufa a 105°C por 2 horas e, por fim, lavados com 1 mL (1:1 v/v) da solução de acetona e hexano e secos em estufa a 105°C por 30 minutos (ABNT, 2015).

As determinações de umidade e concentração de HPAs nas amostras foram realizadas em triplicata.

Solventes e reagentes

A determinação dos HPAs se deu por meio do uso de duas misturas padrão (MP1 e MP2). A MP1 consiste em 16 HPAs (1-Naf, 2-Acl, 3-Ace, 4-Fl, 5-Fen, 6-An, 7-Flu, 8-Pir, 9-B(a)A, 10-ChR, 11-B(b)F, 12-B(b)F, 13-B(b)P, 14-IP, 15-DhA, 16-B(ghi)P, a 2000 mg L⁻¹ adquirido da Supelco (BELLEFONTE, PA, EUA). A segunda mistura (MP2) refere-se aos HPAs deuterados (Fenantreno-D10, Chrysene-D12, Perileno-D12), a 2000 mg L⁻¹ adquirido da Supelco (Sulpeco park, Bellefonte, PA, EUA). Os solventes e reagentes usados para extração e cleanup por cromatografia líquida preparativa em coluna com: hexano, diclorometano, acetona, sulfato de sódio anidro, neutral alumina (type 507, 70-290 mesh ASTM), e sílica gel (70-230 mesh ASTM) adquiridos da Merck Chemical Industries. Toda a água ultrapura utilizada no estudo foi produzida com auxílio de um sistema de purificação de água Milli-Q (Millipore Co.).

Determinação de umidade

Como caracterização preliminar, foi determinada a umidade segundo o método indireto onde 2.0 g de cada amostra foram mantidas em estufa a 100-105°C por 24 horas, para desidratação. A umidade foi calculada por diferença de peso e expressa em porcentagem (AOAC, 2002), conforme Equação 1 onde m_i corresponde à massa inicial e m_f à massa final.

$$Umidade(\%) = \frac{(m_i - m_f)}{m_i} \cdot 100 \quad (\text{Eq. 1})$$

Extração de HPAs em preparações comerciais com base em pimenta

A extração de HPAs das amostras foi fundamentada na técnica de Lin *et al.* (2005), utilizada para análises em chás. As amostras ($\pm 2,0$ g) foram adicionadas a 30,0 mL de solução de hexano/acetona (94:6, v/v) e sonificadas (frequência de 40 kHz) em um banho termostatizado a 30°C (USC 4800A Unique) por 15 minutos. O extrato foi levado à filtração simples e a fase líquida levada à rota-evaporação para remoção dos solventes.

Para avaliar o desempenho da extração, uma massa de 2,0 g (amostra AP1) foi fortificada com 20 $\mu\text{g kg}^{-1}$ da mistura MP2 (Fenantreno – D10, Chrysene – D12, Perylene – D12).

Cromatografia Líquida Preparativa e coluna (CLP) - métodos de Cleanup

Para a pré-concentração e cleanup, dois métodos foram estudados. No método 1, os extratos foram fracionados em coluna de vidro (21 x 1,1 cm d.i.), empacotada com 1,0 g de Na₂SO₄ anidro ativado, 3,2 g de sílica gel 60 (70-230 mesh ASTM) 5% desativada, 1,8 g de alumina desativada a 2% e 1,0 g de Na₂SO₄ anidro. O extrato foi aplicado na coluna e eluído com 20,0 mL de hexano para a fração F1(alifático), 20,0 mL de uma mistura de diclorometano/hexano (1:5, v/v)

seguidos de 20,0 mL de uma mistura de diclorometano/hexano (1:1, v/v) que gerou a fração F2 (HPAs) (UNEP, 1992).

Para o método 2, os extratos foram fracionados em coluna de vidro (21 x 1,1 cm d.i.) preenchida com 3,0 g de sílica gel 60 (malha 70-230 ASTM), desativada com 15% de água e 2,0 g de Na₂SO₄ anidro. O extrato foi aplicado na coluna e eluído com 5,0 mL de hexano para a fração F1 (alifático) e 25,0 mL de diclorometano/hexano (1:4, v/v) para a fração F2 (HPAs) (BETTIN e FRANCO, 2005; SANCHES FILHO *et al.*, 2021).

Para o desenvolvimento desta etapa, foram utilizados os extratos de Pimenta Merken (*Capsicum van. Lungum*) e foram submetidos aos dois procedimentos de cleanup.

Análise Cromatográfica GC/MS

Os volumes das frações F1 e F2 foram recompostos para 1,0 mL com diclorometano, sob uma suave corrente de nitrogênio gasoso de pureza 99,90% e submetidos à determinação por cromatografia gasosa acoplada à espectrômetro de massas.

A alíquota de 1 µL de cada extrato (em triplicata) foi injetada automaticamente em modo splitless em cromatógrafo gasoso acoplado ao espectrômetro de massas (GC/MS – QP2010 Ultra Shimadzu), sendo equipado com auto amostrador AOC-20i Shimadzu. As condições cromatográficas são mostradas na Tabela 1. A quantificação dos HPAs foi realizada em modo SIM (*single ion monitoring*). A identificação dos compostos foi baseada no tempo de retenção de cada analito em comparação com os da mistura padrão (MP1) e m/z correspondentes a cada composto.

Tabela 1: Condições cromatográficas para a determinação de HPAs.

Parâmetro	Especificação
Coluna	OV-5ms coluna (30m x 0,25 mm d.i. x 0,25 µm espessura de filme (J & W Scientific, Folson, CA, USA)
Modo de Injeção	Splitless
Temperatura do injetor	280°C
Temperatura da interface	200°C
Ionização	Elétron-Impacto (EI) em 70 Ev
Gás de transporte/fluxo	Hélio (99,999%) 1,0 mL min ⁻¹
Temperatura do forno (F2)	Temperatura inicial 60°C (5 min), 8°C/min, 200°C 5°C/min, 300°C(20min).
Íons Monitorados (modo SIM) HPAs	m/z: 128, 152, 154, 166, 178, 202, 228, 252, 276, 278
Íons Monitorados (modo SIM) HPAs Deuterados	m/z: 188, 240, 264

Otimização do método cromatográfico

Para otimização do método cromatográfico, foi utilizado padrão de 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$, contendo os 16 HPAs estudados, onde foi cromatografado em modo SCAN para determinação da ordem de saída através dos tempos de retenção e identificação dos principais íons no espectro de massas.

Para avaliação do método cromatográfico, foram construídas curvas de calibração preparadas a partir de padrões que compreendem 16 HPAs diluídos com diclorometano. Os parâmetros analíticos analisados foram linearidade, precisão, exatidão, limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ).

A linearidade foi avaliada por meio da construção de curva de calibração em faixas entre 25 a 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$ dos padrões, onde usou-se pelo menos seis pontos, construída pelo método dos mínimos quadrados e expresso como coeficiente de correlação linear. Para a determinação de LD e LQ, foram calculados com base na análise do sinal do branco considerando 3 vezes o desvio padrão para LD e 10 vezes o desvio padrão para LQ e dividido pelo coeficiente angular das curvas analíticas referente a cada analito (IUPAC, 1997).

Os estudos de precisão do método cromatográfico foram realizados a partir das medidas obtidas para o padrão de 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ ($n= 7$), sendo avaliada por meio do desvio padrão relativo expresso % (ARDUIM *et al.*, 2019).

A exatidão foi avaliada por meio do erro relativo, sendo este a diferença entre o valor encontrado a partir das curvas analíticas para o padrão de 500 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Controle de qualidade do método de extração e cleanup selecionados

No controle de qualidade, foi avaliada a precisão por meio do desvio padrão relativo de cada triplicata em relação aos 16 HPAs analisado nas amostras, e a exatidão e o efeito de matriz, através dos ensaios de recuperação onde uma massa de 2,0 g (AP1) foi fortificada com 20 $\mu\text{g kg}^{-1}$ da mistura MP2 (Fenantreno – D10, Chrysene – D12, Perylene – D12). As recuperações foram calculadas através da razão entre a quantidade determinada de HPAs deuterados e a quantidade de HPAs adicionada, multiplicada por 100.

Os procedimentos realizados foram seguidos com análise do branco para avaliar a potencial interferência de contaminantes no ambiente de trabalho, limpeza da vidraria, bem como, oriundos dos reagentes utilizados.

Aplicação a amostras de pimenta

Após a otimização de todas as etapas, a metodologia foi aplicada nas amostras de pimentas.

A avaliação do nível de contaminação das amostras de pimenta foi realizada através da concentração total de HPAs, dos HPAs 4 e da concentração total dos HPAs de alta massa molecular, como são especificados no Regulamento da Comissão das Comunidades Europeias n° 835/2011 (EU, 2011) e pela *German Society for Fat Science*.

Resultados e Discussão

Otimização do método GC/MS

Com base no estudo da mistura dos 16 HPAs em modo SCAN, foi possível determinar a ordem de saída de cada composto. A Figura 2 apresenta o cromatograma para a mistura padrão contendo os HPAs prioritários, onde foram avaliados os tempos de retenção e seus respectivos espectros de massa. Nos detalhes da imagem do cromatograma (regiões indicadas como A, B e C), observa-se a identificação dos HPAs e a seguir a comparação entre o espectro de massas gerados a partir dos padrões e o espectro da biblioteca espectral NIST – 05 do equipamento. A identificação usa a comparação de espectros (com as bibliotecas NIST e WILEY).

Através dos espectros de massas, verifica-se que o íon molecular corresponde ao íon base para os 16 HPAs. Assim, foram selecionados os íons com razão massa/carga (m/z) 128, 152, 154, 166, 178, 202, 228, 252, 276 e 278 para os HPAs, sendo estes utilizados para a quantificação dos compostos por GC/MS em modo SIM.

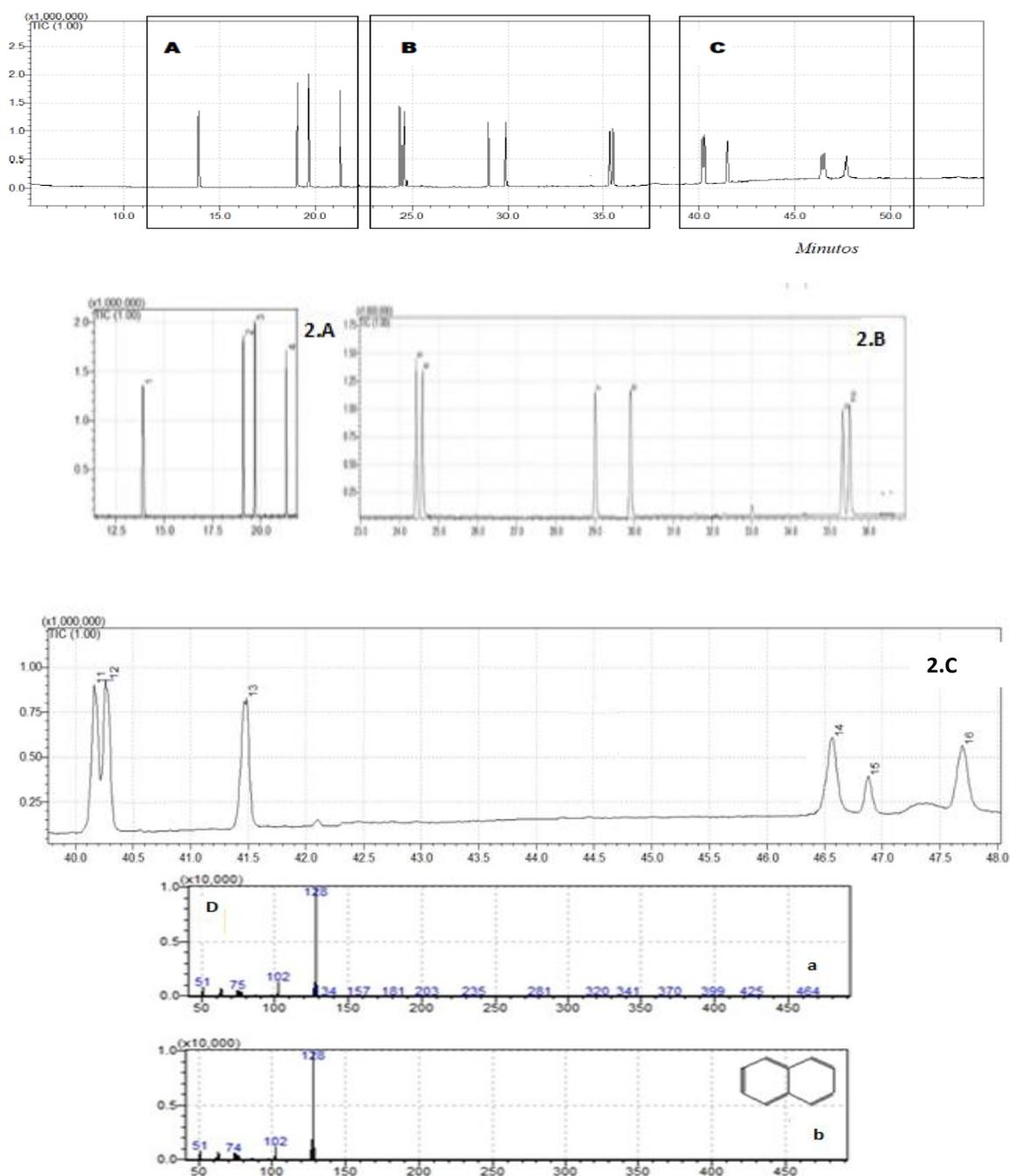
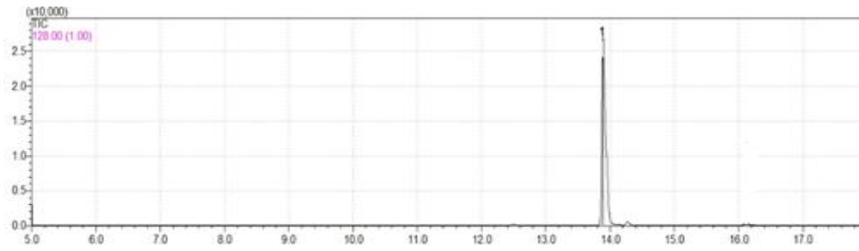


Figura 2. Cromatograma em modo SCAN, com os 16 HPAs prioritários e detalhes com os íons selecionado para o modo SIM ;(A) Identificação do picos: 1 (íon 128) Naftaleno ;2 (íon 152) Acenaftileno; 3 (íon 154) Acenafteno; 4 (íon 166): Fluoreno; (B) picos: 5 e 6 (íon 178) Fenantreno e antraceno; 7 e 8 (íon 202): Fluoranteno e Pireno; 9 e 10 (íon 228) Benzo(a)Antraceno e Criseno; (C) picos 11, 12 e 13 (íon 252): Benzo(k)Fluoranteno, Benzo(b)Fluoranteno, e Benzo(a)Pireno; 14 e 16 (íon 276) Benzo(g,h,i)Perileno e): Indeno(1,2,3cd)Pireno; e 15 (íon 278) Dibenzo(a,h)Antraceno; (D) Comparação entre os espectros de massa obtido a partir do padrão naftaleno (a) e da biblioteca do equipamento (b).

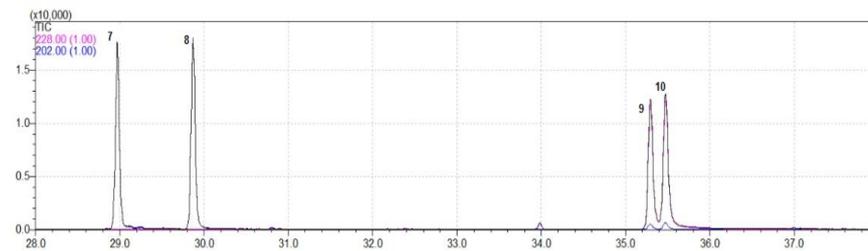
Para o aumento da sensibilidade e a detecção no espectrômetro de massas, foi alterada do modo SCAN para o modo SIM, empregando os íons m/z correspondente ao íon molecular e o íon base de cada analito e ainda definindo as janelas de tempo para monitoramento dos íons.



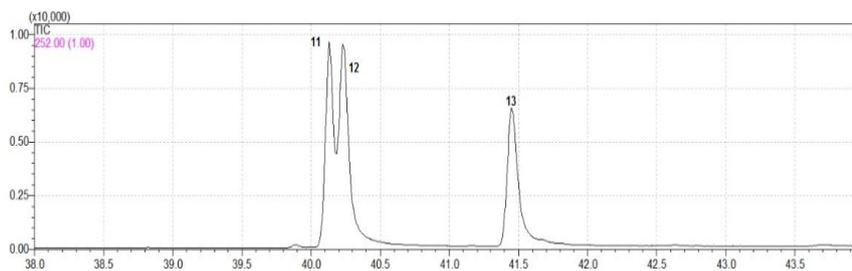
(a)



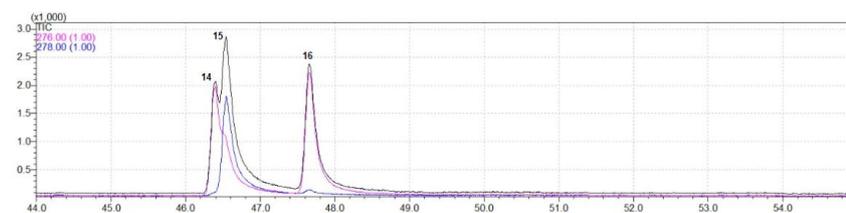
(b)



(c)



(d)



(e)

Figura 3: Cromatogramas apresentando as janelas de tempo de retenção para os 16 HPAs prioritários. (a)Janela – 1 (5-18 minutos) m/z 128; (b)Janela - 2 (18-28 minutos) m/z 152,154,166,178; (c)Janela - 3 (28-38 minutos) m/z 228,202; (d)Janela - 4(38-44 minutos) m/z 252; (e)Janela - 5 (44-52 minutos) m/z 276, 278.

A Figura 3 apresenta o cromatograma em modo SIM para o padrão de $500 \mu\text{g L}^{-1}$, indicando as janelas e íons selecionados: os picos relativos aos íons m/z 128 do Naftaleno, 152 do Acenaftileno, 154 do Acenafteno, 166 do Fluoreno, 178 do Fenantreno e Antraceno, 202 do Fluoranteno e Pireno, 228 do Benzo(a)Antraceno e Criseno, 252 do Benzo(k)Fluoranteno,

Benzo(b)Fluoranteno e Benzo(a)Pireno, 276 Benzo(g,h,i)Perileno e Indeno(1,2,3-cd)Pireno e o 278 do Dibenzo(a,h)Antraceno. Os picos encontram-se resolvidos, não interferindo nas determinações quantitativas, uma vez que estes são específicos de cada analito. Adicionalmente, o uso em modo SIM realiza um cleanup eletrônico com o desaparecimento de alguns contaminantes quando aplicado na determinação dos HPAS nas amostras de pimenta, pois só registrará compostos que apresentarem os íons selecionados. Estas condições reunidas foram utilizadas para as demais etapas do estudo

Validação do Método Cromatográfico

A Tabela 2 mostra as figuras de mérito para o método proposto de análise de HPAs em amostras de pimentas.

Tabela 2: Parâmetro de calibração do método quantitativo.

HPAs	Y=aX+b			$\mu\text{g Kg}^{-1}$	$\mu\text{g L}^{-1}$	RSD%	ER%
	A	b	r	LD/LQ	LD/LQ		
Naf	320,39	-39841	0,996	0,3/1,1	0,6/1,9	12,0	-6,8
Acl	243,86	-43820	0,998	0,4/1,3	0,7/2,3	7,5	-7,7
Ace	182,11	3499	0,997	0,5/1,7	0,9/3,0	0,8	-0,5
Fl	168,82	-37619	0,998	0,5/1,8	1,0/3,3	4,5	-3,6
Fen	225,76	-6200	0,996	0,4/1,4	0,7/2,4	13,7	1,6
Na	232,11	-61899	0,996	0,4/1,3	0,7/2,4	18,3	5,9
Flu	194,55	-29855	0,998	0,4/1,4	0,8/2,6	5,8	-10,2
Pir	208,46	-32148	0,998	0,4/1,4	0,7/2,4	5,7	-10,2
B(a)A	145,62	-19144	0,999	0,6/1,9	1,0/3,5	1,4	-8,1
ChR	144,57	-23845	0,999	0,6/2,0	1,1/3,5	2,6	0,7
B(k)F	109,92	-12681	0,999	0,2/0,7	0,4/1,3	11,0	-4,1
B(b)F	111,60	-11603	0,999	0,2/0,7	0,4/1,3	6,6	-1,1
B(a)P	88,75	-8066	0,999	0,3/0,9	0,5/1,6	10,4	2,3
BghiP	67,41	-23067	0,997	0,5/1,5	0,8/2,7	15,6	11,9
DahA	74,89	-21620	0,999	0,4/1,4	0,7/2,5	16,9	11,8
IP	69,00	-17669	0,998	0,4/1,5	0,8/2,7	14,2	15,3

Y= aX+b (a - coeficiente angular; b - coeficiente linear); r - coeficiente correlação linear; LD - limite detecção; LQ - limite de quantificação.

Pode-se observar que para as faixas de trabalho estudadas (25 a 5000 $\mu\text{g L}^{-1}$) para o método apresentou uma resposta linear com coeficientes de correlação (r) variando entre 0,996 a 0,999. Estes valores situam-se acima do preconizado (>0,9) como adequado na validação e

métodos quantitativos pelo INMETRO (2003). O método apresentou exatidão e precisão para maioria dos analitos, com ER% -1,1 a 15,3% e RSDs entre 1,4 a 18,3% para HPAs. Este valor foi considerado equivalente àquela encontrada por outros autores em análises de HPAs em matrizes vegetais como Rozentale *et al.* (2017) e Sanches Filho *et al.* (2021) e adequado para método cromatográficos de acordo com INMETRO (2003).

Os LD e LQ considerando a massa de 2,0 g para as Amostras de Pimenta (APs) e considerando a recuperação de 100% variaram de 0,2 – 0,6 $\mu\text{g kg}^{-1}$ e 0,7 – 2,0 $\mu\text{g kg}^{-1}$ respectivamente. Observa-se que os maiores valores referem-se a compostos que possuem menor fator de resposta. Os valores obtidos estão em uma faixa mais alta, que os encontrados por Rozentale *et al.* (2017) em amostras de especiarias diversas, que apresentou variações de LDs de 0,04 a 0,09 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Para o cálculo dos limites de detecção nas amostras de pimenta, consideramos a massa de aproximadamente (2,0 g), logo, massas maiores implicam em menores limites de detecção e quantificação. O regulamento de nº 836/2011 (EU, 2011) da Comissão das Comunidades Europeias estabeleceu um limite de detecção (< 0,3 $\mu\text{g kg}^{-1}$) e de quantificação (< 0,9 $\mu\text{g kg}^{-1}$) somente para análise de benzo(a)pireno. Verificou-se que nesse estudo os limites de LD e LQ para benzo(a)pireno está de acordo com o limite exigido.

O coeficiente angular(a) reflete a sensibilidade do método analítico. Para os HPAs, observou-se uma queda na sensibilidade com o aumento do peso molecular. Este comportamento pode estar relacionado à redução do fator resposta (Figura 3d, 3e), que também prejudica a exatidão e precisão dos métodos.

Resultados da comparação dos métodos de Cleanup

A Tabela 3 apresenta os níveis de HPAs encontrados pelos dois métodos de cleanup para a amostra AP1. Os resultados apresentados na Tabela 3 mostram que o método 2 resulta em níveis mais altos de HPAs que o método 1, principalmente para os compostos mais leves, indicando que o método 2 recupera mais compostos. A perda maior no método 1 pode estar relacionada ao volume maior de solvente na eluição da fração 2 a ser evaporada, o que favorece a perda dos analitos mais leves. Com RSD variando de 1,8 e 12,9%, o método apresenta precisão aceitável (inferiores a 20%) para a faixa de concentração de $\mu\text{g kg}^{-1}$ (BRITO *et al.*, 2003). Sendo assim, e considerando ser mais econômico e ambientalmente amigável, pois consome menos solvente orgânicos e menos reagentes, se utilizou o método 2 nos estudos de recuperação e para análise das demais amostras de pimentas.

Tabela 3: Concentrações de HPAs em $\mu\text{g kg}^{-1}$ e RSD% em base seca, determinados na comparação dos métodos de cleanup para amostras AP1.

Compostos	Método 1		Método 2	
	Média	RSD	Média	RSD
	$\mu\text{g kg}^{-1}$	%	$\mu\text{g kg}^{-1}$	%
Naf	146,7	6,9	224,9	2,4
Acl	308,8	5,8	1473,7	11,8
Ace	209,6	10,7	371,3	6,0
Fl	279,7	4,8	1279,0	10,9
Fen	2608,8	10,4	13162,6	18,0
Na	531,8	8,1	3157,7	15,7
Flu	801,3	4,1	6500,7	15,9
Pir	686,5	2,0	5490,1	14,5
BaA	143,7	1,7	570,5	9,2
ChR	212,1	2,8	998,8	15,8
BkF	101,2	3,4	133,6	16,5
BbF	74,3	0,7	126,4	17,5
BaP	63,5	4,3	162,5	18,0
BghiP	196,9	3,4	204,6	9,3
DahA	402,5	9,2	403,5	9,5
IP	373,1	10,7	380,2	2,9

A tabela 4 apresenta os resultados para estudo de recuperação da amostra fortificada com HPAs deuterados.

Tabela 4: O estudo de recuperação para amostras de AP ($\mu\text{g Kg}^{-1}$) \pm desvio padrão relativo (\pm RSD%).

HPAs	AP $\mu\text{g Kg}^{-1}$		
	Valor	Valor	Recuperação
	Fortificado	Encontrado	(%)
Phenanthrene D10	20,0	19,8 \pm 8,4	99,0
Chrysene D12	20,0	18,9 \pm 8,7	94,5
Perylene D12	20,0	18,9 \pm 9,0	98,8

Os valores descritos na Tabela 4 são equivalentes aos publicados por outros autores que já trabalharam com matrizes desta natureza. Rozentale *et al.* (2017) encontraram valores para

recuperações na faixa de 72 a 107%, enquanto Hwang *et al.* (2019) de 91,4 a 103,1%. O RSD está de acordo com os dados apresentados na Tabela 3 e confirma a precisão adequada do método.

Além disso, estes valores atendem às exigências do regulamento UE 836/2011 e do parecer da EFSA em conjunto com o CONTAM, que estabelece limites de recuperações de 50 a 120% (EFSA, 2008).

Resultados em amostra de Pimentas

Na caracterização preliminar, foi determinada a umidade das cinco amostras. A Tabela 5 mostra o teor de umidade das amostras para as cinco pimentas analisadas.

Tabela 5: Caracterização preliminar de pimentas: umidade.

Amostras	Umidade (%±RSD%)
AP1	11,1 ± 7,8
AP2	10,7 ± 5,6
AP3	8,2 ± 2,5
AP4	9,3 ± 0,8
AP5	7,2 ± 2,7

RSD: desvio padrão relativo.

Amostras (AP1): pimenta merken; (AP2): páprica picante defumada; (AP3): pimenta síria; (AP4): pimenta calabresa moída; e (AP5): pimenta caiena em pó.

Em comparação com outros estudos, os valores entre 7,2 a 11,1% são considerados adequados, segundo a *American Spice Trade Association* (ASTA, 1999) que recomenda teor máximo de umidade de 11% para as pimentas *Capsicum*. Valores similares foram encontrados por Zaki *et al.* (2013) que obtiveram 8,6 a 10,8% de umidade em amostras de páprica.

A Tabela 6 apresenta o nível de HPAs determinado neste estudo para as APs. Os HPAs foram encontrados em 100% das amostras analisadas, predominantemente os compostos de menor peso molecular (2 a 4 anéis). A Figura 4 apresenta a comparação entre os cromatogramas em modo SCAN e SIM com a identificação do HPAS na amostra AP1.

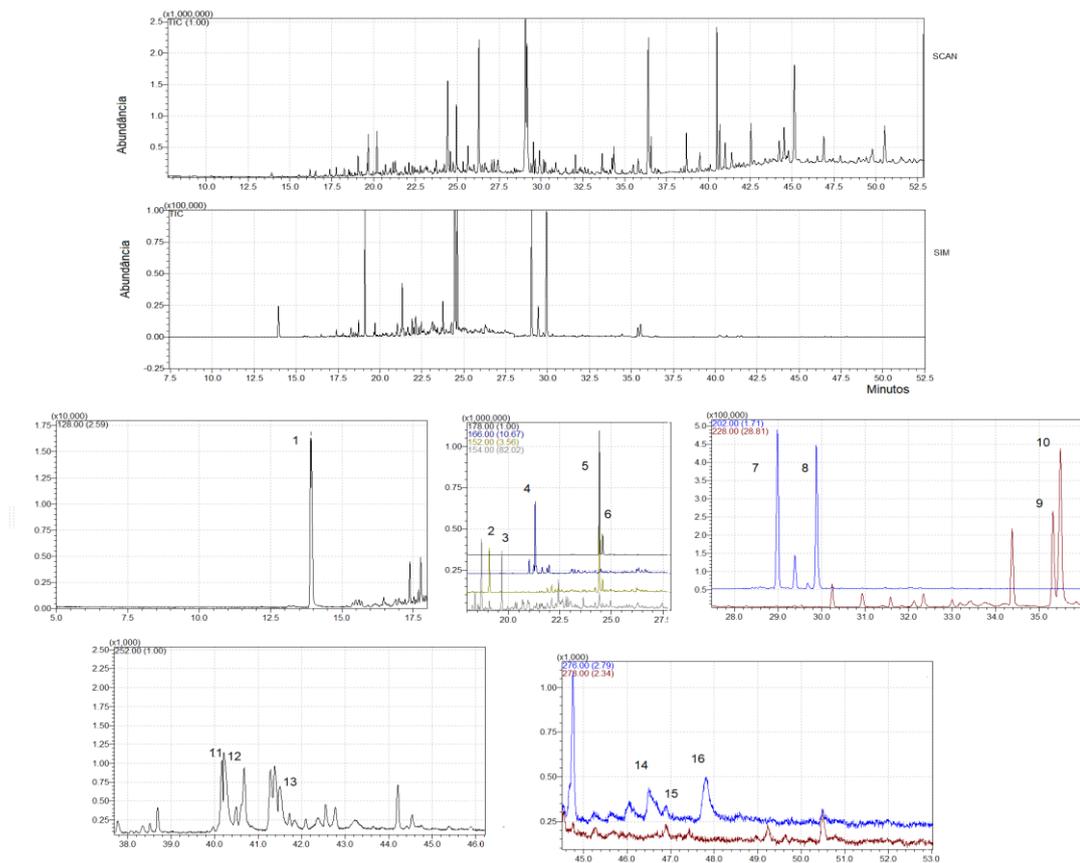


Figura 4. Identificação dos HPAs encontrados na amostra AP1 comparação dos cromatogramas em modo SIM e SCAN.

O Σ HPAs totais variaram de $1626,6 \mu\text{g kg}^{-1} \pm 7,3\%$ a $34640,1 \mu\text{g kg}^{-1} \pm 17,5\%$. Essas concentrações estão acima das encontradas por Londoño *et al.* (2015), que apresentaram Σ HPAs entre $509,7 \mu\text{g kg}^{-1}$ a $2746,5 \mu\text{g kg}^{-1}$, indicando que os níveis de HPAs encontrados neste trabalho são elevados. Os principais compostos em todas as amostras foi o Fenantreno, seguido pelo Criseno, Benzo(a)Antraceno, Acenaftileno e por último o Fluoreno. A maior presença de HPAs de 3 a 4 anéis é atribuída aos altos teores oriundos de chamas do processo de defumação (AZEVEDO *et al.*, 2013; FASANO *et al.*, 2016).

O Naftaleno, Acenafteno, Acenaftileno, Fluoreno, Fenantreno, Antraceno e Criseno, foram detectados e quantificados em todas as amostras comerciais de pimenta. O Fluoranteno e o Pireno foram detectados apenas nas AP1, AP2 e AP4. Nas demais amostras, estes compostos não foram quantificados em função de interferência do éster metílico do ácido linoleico e do éster etílico do ácido 9,12- octadecadienoico, que coeluem com este HPAs apresentando o fragmento m/z 202. Situação foi confirmada através das análises das frações em modo SCAN. Somente na AP1 foram detectados todos os 16 HPAs prioritários indicados pela USEPA (1996).

Tabela 6: Concentrações de HPAs em base seca, determinados nas amostras de pimenta.

HPAs	AP ($\mu\text{g Kg}^{-1} \pm \text{RSD}\%$)					Limites permitidos Kg^{-1}
	AP1	AP2	AP3	AP4	AP5	
Naf	224,9 \pm 2,4	23,8 \pm 5,9	498,6 \pm 11,3	66,7 \pm 7,7	320,5 \pm 15,1	
Acl	1473,7 \pm 11,8	24,9 \pm 13,9	191,4 \pm 16,2	18,4 \pm 6,2	70,7 \pm 7,9	
Ace	371,3 \pm 6,0	49,9 \pm 12,9	219,4 \pm 17,7	126,6 \pm 18,2	136,7 \pm 4,3	
Fl	1279,0 \pm 10,9	33,3 \pm 7,4	2815,8 \pm 4,8	45,0 \pm 8,2	185,0 \pm 0,7	
Fen	13162,6 \pm 18,0	75,5 \pm 17,8	492,2 \pm 7,1	517,6 \pm 18,5	1281,6 \pm 18,9	
Na	3157,7 \pm 15,7	37,0 \pm 10,9	92,1 \pm 5,5	51,0 \pm 1,1	42,6 \pm 11,3	
Flu	6500,7 \pm 15,9	45,2 \pm 2,6	Interf	181,7 \pm 15,7	Interf	
Pir	5490,1 \pm 14,5	75,2 \pm 17,6	Interf	994,7 \pm 11,6	405,2 \pm 4,8	
BaA	570,5 \pm 9,2	94,1 \pm 12,7	1949,5 \pm 13,0	Nd	251,7 \pm 4,8	
ChR	998,8 \pm 15,8	64,4 \pm 8,3	501,9 \pm 9,1	21,7 \pm 20,0	116,2 \pm 0,8	
BkF	133,6 \pm 16,5	Nd	548,0 \pm 9,4	Nd	156,7 \pm 22,2	
BbF	126,4 \pm 17,5	Nd	379,1 \pm 7,2	Nd	197,8 \pm 19,9	
BaP	162,5 \pm 18,0	Nd	159,0 \pm 18,0	129,6 \pm 5,3	143,1 \pm 16,4	0,03***
BghiP	204,6 \pm 9,3	655,5 \pm 17,0	1342,8 \pm 7,9	Nd	500,9 \pm 2,4	
DahA	403,5 \pm 9,5	Nd	423,2 \pm 26,6	Nd	Nd	
IP	380,2 \pm 2,9	448 \pm 5,5	659,8 \pm 5,1	Nd	217,5 \pm 18,2	
Total	34640,1 \pm 17,5	1626,9 \pm 7,3	10273,0 \pm 3,6	3976,6 \pm 13,6	2958,7 \pm 4,5	
ChR+BaA+BbF+BaP	1858,3 \pm 14,9	158,3 \pm 5,3	2989,6 \pm 6,5	92,2 \pm 1,9	719,1 \pm 4,1	35,0**
BbF+BkF+BghiP+IP	844,8 \pm 9,3	1103,5 \pm 12,1	2197,4 \pm 8,8	Nc	1504,1 \pm 13,4	5,0*

*Limite estabelecido para somatório total de HPAs pela *German Society for Fat Science*; **Regulamento 835/2011/EC; ****European Union (88/388/ec)*. Interf: interferência. Nd: não detectado. Nc: não calculado. Amostras (AP1): pimenta merken; (AP2): páprica picante defumada; (AP3): pimenta síria; (AP4): pimenta calabresa moída; e (AP5): pimenta caiena em pó.

O nível médio de ΣHPA4 encontrado nas amostras variam de 92,2 $\mu\text{g kg}^{-1} \pm 1,9\%$ a 1858,3 $\mu\text{g kg}^{-1} \pm 14,9\%$. Outros estudos, como os realizados por Rozentale *et al.* (2017), mostraram resultados a partir de 1,01 $\mu\text{g kg}^{-1}$ a 13,59 $\mu\text{g kg}^{-1}$. Observou-se, também, que as concentrações encontradas excedem os limites considerados seguros para ΣHPA4 definidos no regulamento 835/2011/EC que pré-estabelece o valor de 35 $\mu\text{g kg}^{-1}$.

A *German Society for Fat Science* também considera como parâmetro o valor total para HPAs de maior massa molecular para (Benzo(k)Fluoranteno, Benzo(b)Fluoranteno, Benzo(g,h,i)Perileno, Indeno(1,2,3-cd)Pireno) e fixou um limite de 5 $\mu\text{g kg}^{-1}$. O somatório destes compostos só não foi determinado na AP4, variando nas demais amostras de 844,8 $\mu\text{g kg}^{-1}$ a

2197,4 $\mu\text{g kg}^{-1}$, estando acima do estabelecido pela norma.

Das amostras de pimentas (APs) analisadas, destacam-se as maiores concentrações nas pimentas AP1 e AP3. Esses resultados podem estar relacionados como resultante de seu processo de produção antes de sua comercialização que apresenta um alto nível de defumação, onde a exposição direta às chamas, como no caso da pimenta merken (AP1) que é produzida artesanalmente e envolve exposição direta à fumaça de fogões ou braseiros para desidratação e defumação das pimentas (FASANO *et al.*, 2016; ARCE e MAR, 2019). Já a pimenta síria (AP3) possui incremento de outras especiarias (pimenta do reino, pimenta-da-Jamaica, canela, cravo e noz-moscada), previamente defumadas, o que leva a maiores índices de HPAs de maior peso molecular, explicando as maiores quantidades de HPAs nessa amostra (UNIRIO, 2020).

As demais pimentas (AP2, AP4 e AP5) analisadas apresentaram níveis mais baixos, mesmo assim, considerando o total destes compostos, os níveis são altos quando comparados com o regulamento de nº 835/2011 (EU, 2011; FASANO *et al.*, 2016; MONAGO-MARAÑA *et al.*, 2016; HWANG *et al.*, 2019).

O BaP detectado nas AP1, AP3, AP4 e AP5 também está acima do estabelecido pela União Europeia (*European Union, EU*), em uma de suas diretrizes (88/388/EC), que determina um limite para presença deste composto em alimentos defumados que é de 0,03 $\mu\text{g kg}^{-1}$.

Os resultados deste estudo estão bem acima do permitido pelas normas de controle de HPAs em alimentos, estando esses valores altos relacionados ao processo de produção ao qual as pimentas foram expostas.

Conclusão

Os resultados permitem concluir que o método de extração por ultrassom acompanhado de pré-fracionamento em colunas de sílica e análise por GC/MS foi adequado para o estudo e determinação de HPAs presentes em amostras de preparações comerciais com base em pimenta estudadas.

As determinações de HPAs em pimentas mostram níveis elevados atribuídos, principalmente ao seu processo de produção com altos níveis de temperaturas no processo de secagem e defumação. Devido a esses processos, foram quantificados nas amostras principalmente os compostos de menor peso molecular (2 a 4 anéis).

As concentrações de HPAs nas amostras de pimentas estão bem acima do que se é permitida pelas leis que estabelecem limites para HPAs em alimentos, mesmo quando comparados a outras matrizes vegetais e especiarias, explicitando a importância desse e de novos estudos acerca da presença de HPAs em alimentos condimentados.

Referências

ABNT. Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 9.898, Coleta de Amostras. **Licenciador Ambiental**. Disponível em: <https://licenciadorambiental.com.br/wp-content/uploads/2015/01/NBR-9.898-Coleta-de-Amostras.pdf>. Acesso em 27 de fev.2021.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemists. 17 ed. Gaithersburg, Maryland: AOAC, 2002, vol. 2. Cap. 30, método 981.05, p.4.

ASTA. American Spice Trade Association. Cleanliness specifications for spices, seeds, and herbs. Englewood Cliff: **ASTA**, 1999. Disponível em: <https://astaspice.org/food-safety-technical-guidance/astas-analytical-methods/>.

AZEVEDO, J. A. H; ARAÚJO, R. S; SILVA, G. M. M. Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos Atmosféricos de Fontes Automotivas: uma breve revisão. **Holos**, v.1, p.102-114, 2013. DOI: <https://doi.org/10.15628/holos.2013.1234>.

ARCE, A; MAR, F. C. Espaços ambíguos e a inovação neoliberal contemporânea: o caso do Merken. Redes Santa Cruz do Sul, **Online**, ISSN 1982-6745.

BERTINETTI, I. A; FERREIRA, C.D; MONKS, J.L .F, FILHO, P. J. S; CARDOSO, E.M. Accumulation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in rice subjected to drying with different fuels plus temperature, industrial processes and cooking. **Journal of Food Composition and Analysis**. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2017.12.009>.

BETTIN, S. M; FRANCO, D. W. Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) em aguardentes. **Food Science and Technology**, 2005, vol. 25, pp. 234-238. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612005000200008>.

BRITO, N. M; AMARANTE JUNIOR, O. P. De; POLESE, L; RIBEIRO, M.L. Validação de métodos analíticos: Estratégia e Discussão. Pesticidas: **R. Ecotoxicol. e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 13, p. 129-146, dez. DOI: <https://dx.doi.org/10.5380/pes.13i0.3173>.

BUDZINSKI, H; MAZÉAS, O; TRONCZYNSKI, J; DÉSAUNAY, Y; BOCQUENÉ, G; CLAIREAUX. Link between exposure of fish (*Solea solea*) to PAHs and metabolites: Application to the ‘Erika’ oil spill. **Aquatic Living Resources**. 17,329-334 (2004). DOI: <https://dx.doi.org/10.1051/alr:2004040>.

CARUSO, M. S. F; ALABURDA. J. Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos – benzo(a)pireno: uma revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz (Impresso)**, v.67, n. 1, p. 1 – 27, abr, 2008.

CHEN, B; HE, R; YUAN, K; CHEN, E.; LIN, L; CHEN, X; SHA, S.ZHONG, J Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) enriching antibiotic resistance genes (ARGs) in the soils. **Environmental Pollution** 220 (2017) 1005e10136. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2016.11.047>.

CHUNG, S. Y; YETELLA, R. R; KIM, J. S; KWON, K; KIM, M. C; MIN, D.B. Effects of grilling and roasting on the levels of polycyclic aromatic hydrocarbons in beef and pork. **Food Chemistry**, v.129, 1420-1426, 2011. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.05.092>.

EFSA. (2008). Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in the Food Chain on a request from the European Commission on Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Food. **The EFSA Journal**, 724, 1–114.

EMBRAPA. Pimenta (*Capsicum spp.*). Comercialização. Embrapa Hortaliças, 2020. Disponível em: <<https://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br>>. Acesso em 17 de fev. 2021.

EMBRUSCADO, M. E. (2015). Herbs and spices as antioxidants for food preservation. In F. Shahidi (Ed.), **Handbook of Antioxidants for Food Preservation** (pp. 251-283). Oxford: Wood head Publishing. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/B978-1-78242-089-7.00011-7>.

EU (European Union). Commission Regulation (EU) No 835/2011 of 19 August 2011 amending Regulation (EC) No 1881/2006 as regards maximum levels for polycyclic aromatic hydrocarbons in foodstuffs. **Official Journal of the European Union**, Bruxelas, 20 ago. 2011. L 215, p. 4-8.

EU (European Union). Commission Regulation (EU) N° 836/2011 of 19 August 2011 amending Regulation (EC) N° 333/2007 laying down the methods of sampling and analysis for the official control of the levels lead, cadmium, mercury, inorganic tin, 3-MCPD and benzo(a)pyrene in foodstuffs. **Official Journal of the European Union**, Bruxelas, 20 ago 2011. L 2015, p. 9-16.

EU (**European Union**). Council Directive 88/388/EEC of 22 June 1988 on the approximation of the laws of the Member States relating to flavorings for use in foodstuffs and to source materials for their production.

FAO, Food and Agriculture Organization. Codex Alimentarius Commission (CX/CF 08/02/09), 2008.

Joint FAO/WHO food standards programmer. Codex Committee on Contaminants in Foods, Second Session. Disponível em: https://www.slv.se/upload/livstecknet/dokument/faktaBank/livsmedelsteknik/CA_CodeOfPractice_PAH.pdf. Acesso em 21 de fev.2021.

FASANO, E; YEBRA-PIMENTEL, I; MARTINEZZ-CARBALHO, E; SIMAL-GÂANDARA, J. Profiling distribution and levels of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons in traditional smoked plant and animal foods. **Food Control**. 59, 581-590. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.06.036>.

GARCIA, L. P; GONÇALVES, B. L; PANHO, G; SCUSSEL, V. M. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em alimentos: uma revisão. **PUBVET**, Londrina, V.8, N. 19, Ed. 268, ART. 1788, Outubro de 2014.

HARTZELL, S. E.; UNGER, M. A.; VADAS, G. G.; YONKOS, L. T. Evaluating porewater polycyclic aromatic hydrocarbon– related toxicity at a contaminated sediment site using a spiked field-sediment approach. **Environmental toxicology and chemistry**, v. 37, n. 3, p. 893-902, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1002/etc.4023>.

HWANG, M-J; KANG, S-J; KIM, H-S; LEE, K. W. Reduction of the polycyclic aromatic hydrocarbon levels in dried red peppers (*Capsicum annuum L.*) using heat pump-assisted drying. **Food Chemistry**. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.124977>.

IARC. Agência Internacional de Pesquisa em Câncer. (2012). *Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans, overall evaluation of carcinogenicity. Chemical Agents and Related Occupations*. (v. 100F). Lyon: IARC.

INCA. Instituto Nacional do Câncer. Hidrocarboneto Policíclico Aromático. Causas e Prevenção, 2018. **INCA**. Disponível em: <http://www.inca.gov.br>. Acesso em 05 de Dez de 2020.

INMETRO. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. **Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos**:DOQ-CGCRE-008. Brasília, 2003.

JAHURUL, M. H. A.; JINAP, S; Z Aidul, I. S. M; SAHENA, F; FARHADIAN, A; HAJEB, P. Determination of fluoranthene, benzo[b]fluoranthene and benzo[a]pyrene in meat and fish products and their intake by Malaysian. **Food Bioscience**, Volume 1, March 2013, p.73-80. DOI: <https://doi.org/10.106/j.fbio2013.03.006>.

KUHN, A. V; COZER, N; PONT, G. D; SANDAUSKAS-HENRIQUE, H. Gerenciamento de Risco Alimentar e Conscientização Relacionado ao Consumo de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos (HPAs) em

Pescado. **Anais do Encontro Nacional de Pós –Graduação – IX ENPG** Vol.4 p. 351,2020. Disponível em: <<http://periodicos.unisantabr/index.php/ENPG/article/view/2611>>. Acesso em 10 jan.2021.

LIN, D.; TU, Y.; ZHU, L. (2005) Concentrations and health risk of polycyclic aromatic hydrocarbons in tea. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.43, p.41-48, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.08.010>.

LONDOÑO, V. A. G.; REYNOSO, C. M.; RESNIK, S. L. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) survey on tea (*Camellia sinensis*) commercialized in Argentina. **Food Control**, v.50, p.31-37, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.07.036>.

MARTENA, M. J; GUTTERS, M. M. P; De GROOT, H. N; KONINGS, E. J. M; RIETJENS, I. M. C. M. (2011). Monitoring of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH) in Food Supplements Containing Botanicals and Other Ingredients on the Dutch Market. **Food Additives & Contaminants: Part A**, 28, 925–942. DOI: <https://dx.doi.org/101080/19440049.2011.569573>.

MONAGO-MARAÑA, O. PÉREZ, R. L; ESCANDAR, G. M; PEÑA, A. M. De. La; DIAZ, T. G. Combination of Liquid Chromatography with Multivariate Curve Resolution - Alternating Least -Squares (MCR-ALS) in the Quantitation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Present in Parika Samples. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b03852>.

MORET, S; PURCARO, G; CONTE, L. S.(2010). Polycyclic Aromatic hydrocarbons (PAHs) Levels in Propolis and Propolis-based Dietary Supplements from the Italian Market. **Food Chemistry**, 122, 333-338. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.02.041>.

NETO, A. D. P; MOREIRA, J. C; DIAS, A. E. X. O; ARBILLA, G; FERREIRA, L. F. V; OLIVEIRA, A. S; BAREK, J. Avaliação da contaminação humana por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) e seus derivados nitratos (NHPAs): uma revisão metodológica. **Química Nova**. V. 23, n. 6, São Paulo, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1590/S010-40422000000600010>.

PURCARO, G; MORE, S; CONTE, L. S. Overview on polycyclic aromatic hydrocarbons: Occurrence, legislation and innovative determination in foods. **Talanta**. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/talanta.2012.10.041>.

REINHOLDS, I; PUGAJEVA, I; BAVRINS, K; KUCKOVSKA, G; BARTKEVICS, V. (2016). Mycotoxins, pesticides and toxic metals in commercial spices and herbs. **Food Additives & Contaminants: Part B**, In Press. DOI: <https://doi.org/10.1080/19393210.2016.1210244>.

REIS. R.M; FURLANI. R.P.Z; GOMES. F.M.L; MORGANO. M.A; TFOUNI. S.A.V. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em chás: avaliação da presença utilizando QueEChER e HPLC-FLD. **Anais do Encontro Nacional de Pós –Graduação** In: XXV Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos: Alimentação a árvore que sustenta a vida, 2016, FAURGS – Gramado, RS.

PIETZSCH, R. Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em sedimentos recentes da Baía de Guaratuba-PR. 2017.

ROZENTALE. I; LUN. A.Y; ZACS. D; & BARTKEVICS. V. The occurrence of polycyclic aromatic hydrocarbons in dried herbs and spices, **Food Control** (2017). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.04.018>.

SANCHES FILHO, P. J; ARDUIM, J; BETEMPS, G. R; ANDRADE, G. O; SILVA, R. C. S. Da. Evaluation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Achyrocline Satureiodes (Marcela) and its Infusion. V. 12, n.1 (2021): **Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais** – Jan 2021. DOI: <https://oi.org/10.6008/CBPC2179-6858.2021.001.0043>.

SCHAARSCHMIDT, S. (2016). Public and private standards for dried culinary herbs and species – Part I: Standards defining the physical and chemical product quality and safety. **Food Control**, 70, 339 – 349. DOI: <https://doi.org/10.1016./j.foodcont.2016.06.004>.

SILVA, S.A; ROSSI, G.Z. De; ALMEIDA, A.P; GUIZELLINI, G. M; TORRES, E.A. F.S; SAMPAIO, G.R. Benzo(a)Pireno como contaminante em produtos cárneos embutidos comerciais. 7º Simpósio de Segurança Alimentar. Inovação com Sustentabilidade. **On Line**. 27-29, out, 2020. Disponível em:<<https://www.embrapa.br/busca-de-eventos/-/evento/422821/7-simposio-de-segurancaalimentar>. Acesso em 18 jan.2021.

SUN, R; SUN. Y; LI, Q. X; ZHENG, X; MAI.BIXIAN. Polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments and marine organisms: Implications of anthropogenic effects on the coastal environment. **Science of the Total Environment**, v. 640, p. 264–272, 2018. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.05.320>.

TU, Y. T. et al. Source identification and ecological impact evaluation of PAHs in urban river sediments: A case study in Taiwan. **Chemosphere**, v. 194, p. 666-674, 2018. DOI: <https://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.12.008>.

UNEP, United Nations Environment Programmer. 1992. Determination of petroleum hydrocarbons in sediments. **References Methods for Marine Pollution Studies**. UNEP, 30:97.

UNIRIO, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro. Condimentos Setor de Alimentação e Nutrição. Pró-Reitoria de Assuntos Estudantis. **PRAE/SETAN**. Boletim n° 09. Junho, 2020. Disponível em: <https://unirio.br/prae/nutricao-prae-1/quarentena/carregamento-boletins-setan/boletim-bo-09-2020>.

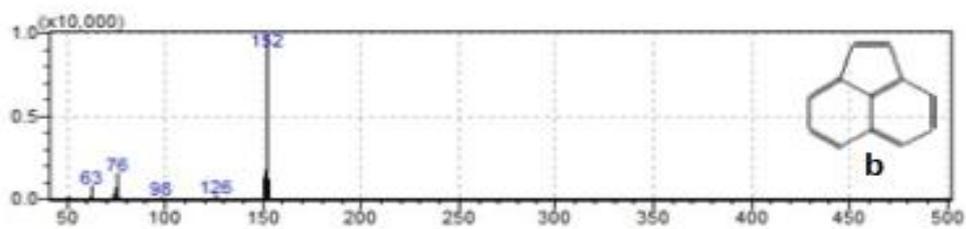
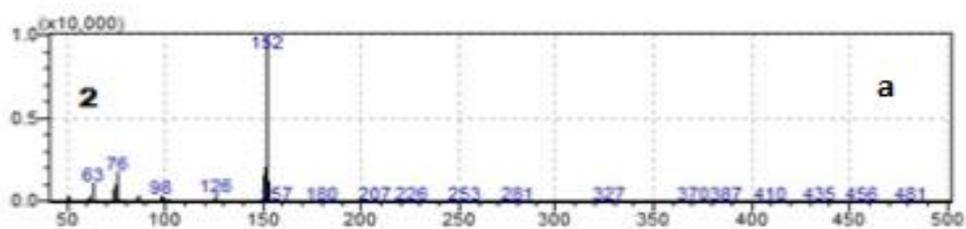
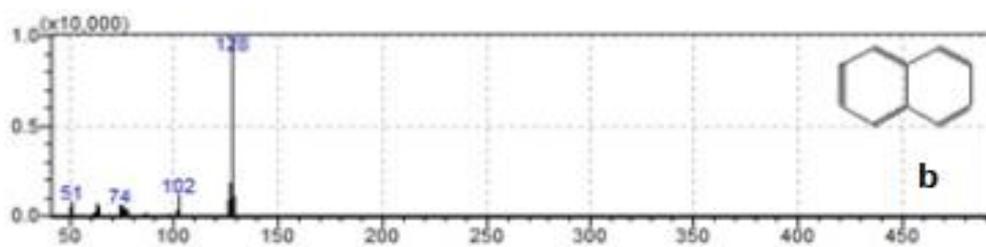
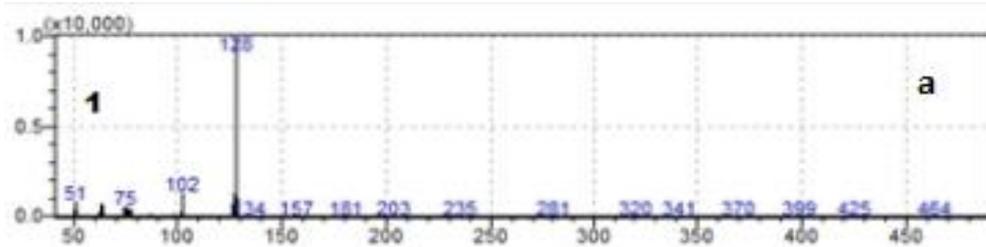
USEPA United States Environmental Protection Agency – USEPA. Method 8170c- Semivolatile Organic Compounds by Gas Chromatography/Mass Spectrometry (GC/MS), Revision 3, December 1996.

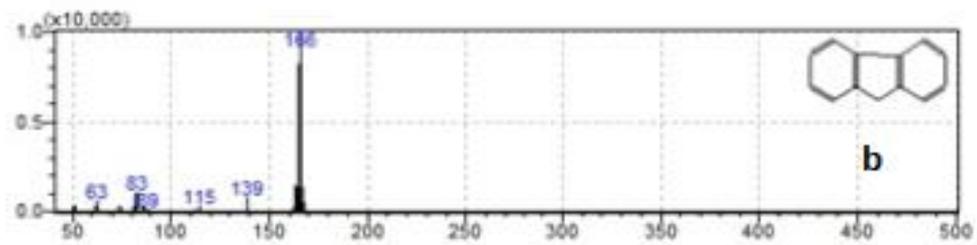
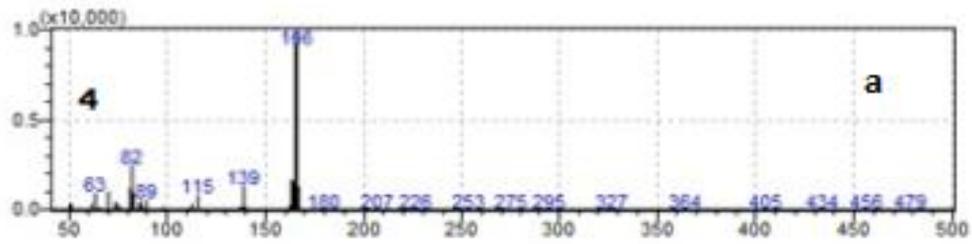
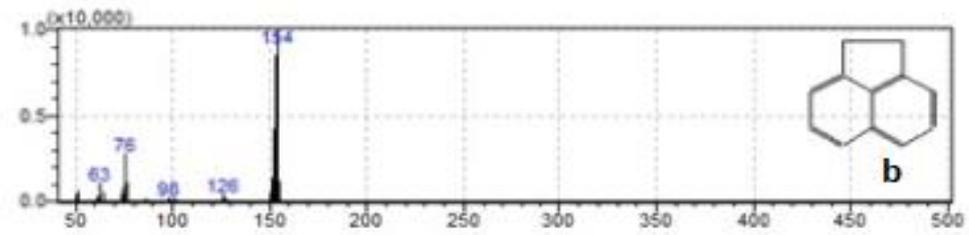
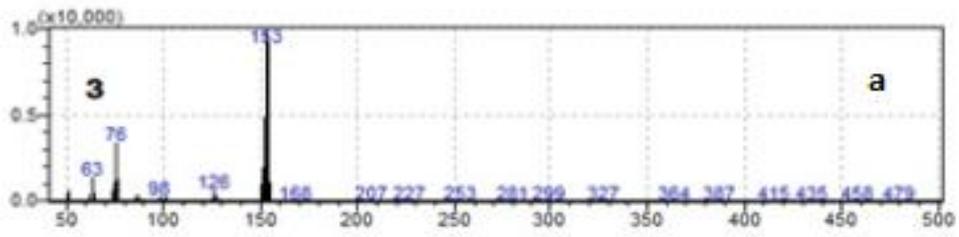
ZAKI, N; HAKMAOUI, A; OUATMANE, A; FERNANDEZ-TRUJILIO, J. P. Quality characteristic of Moroccan sweet paprika (*Capsicum annum L.*) at different sampling times. **Food Science and Technology**, v. 33, n. 3, Campinas, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612013005000072>.

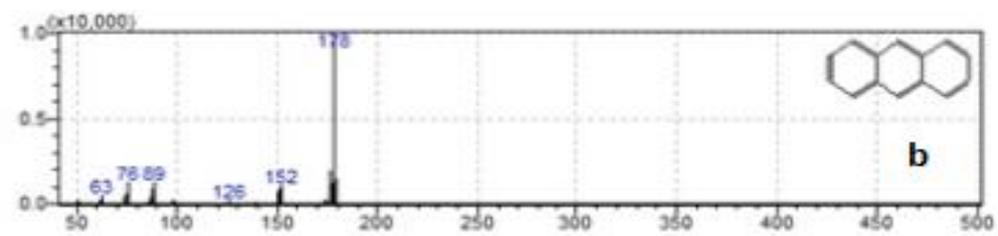
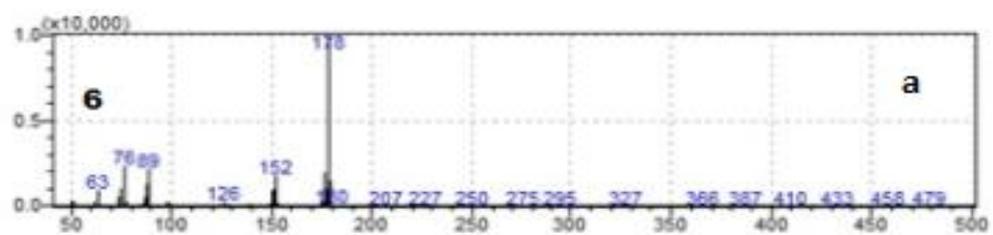
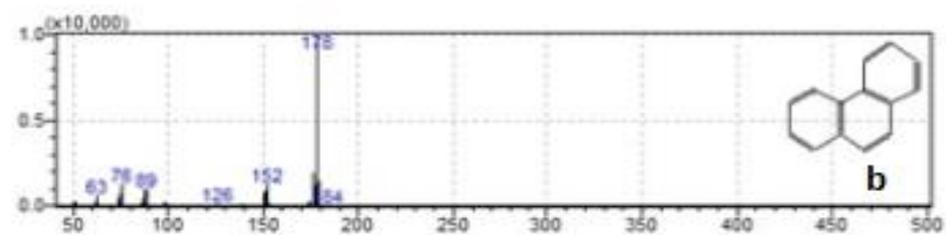
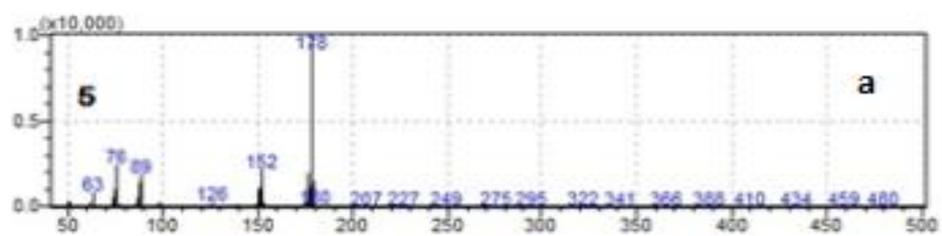
ANEXO II

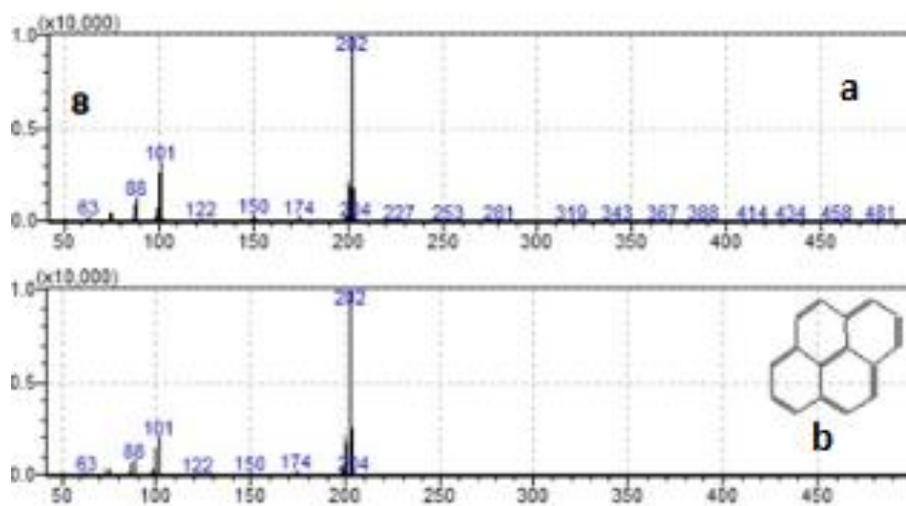
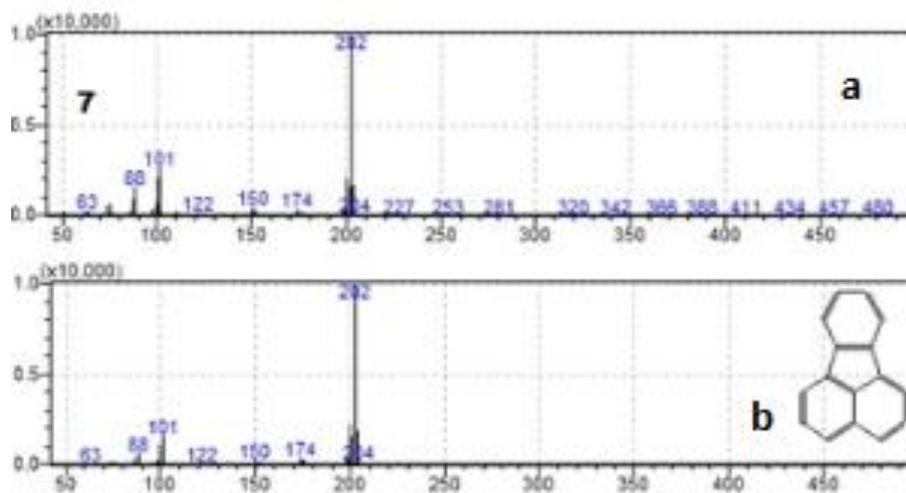
MATERIAL SUPLEMENTAR DO ARTIGO

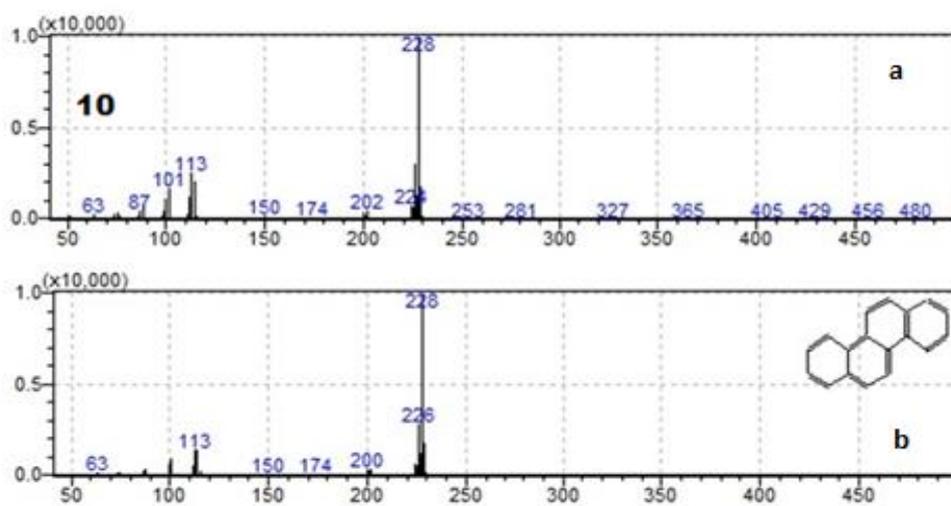
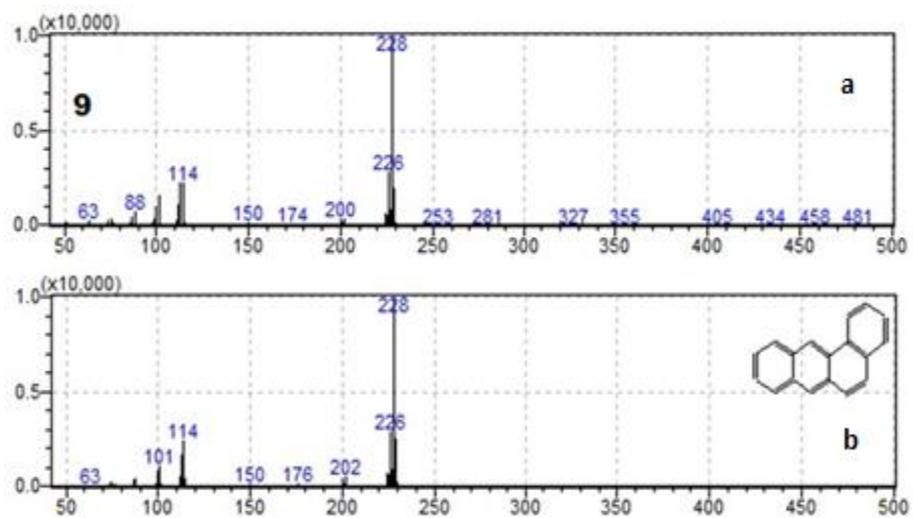
MATERIAL SUPLEMENTAR DO ARTIGO

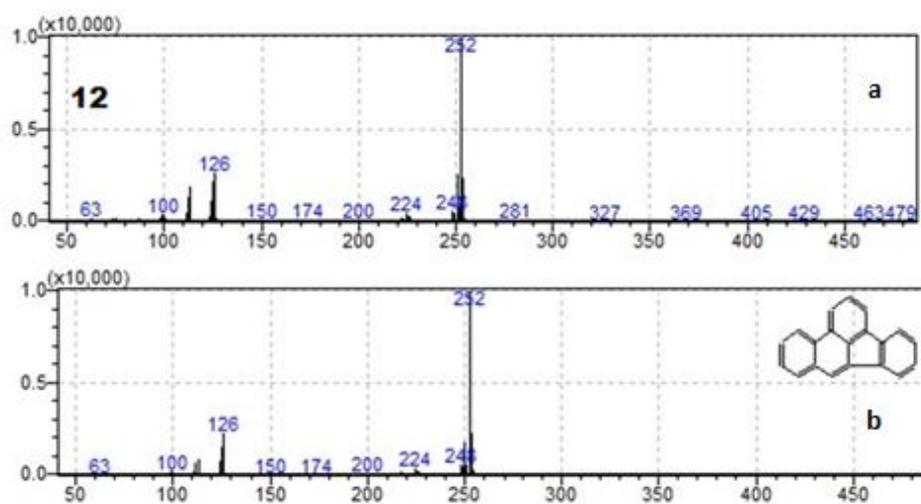
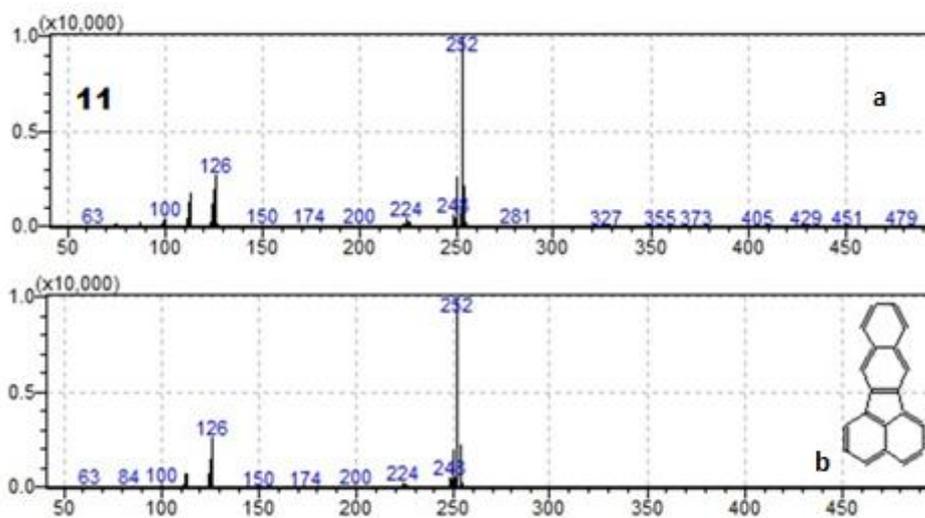


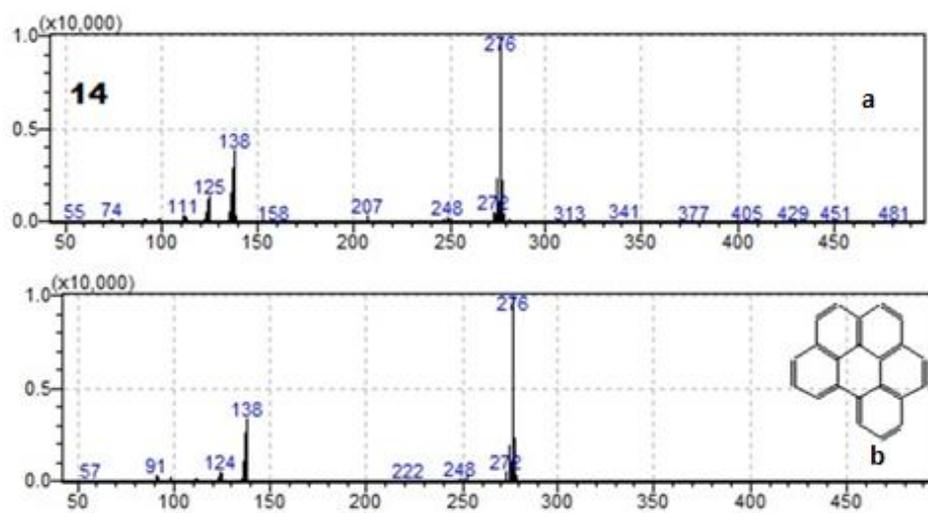
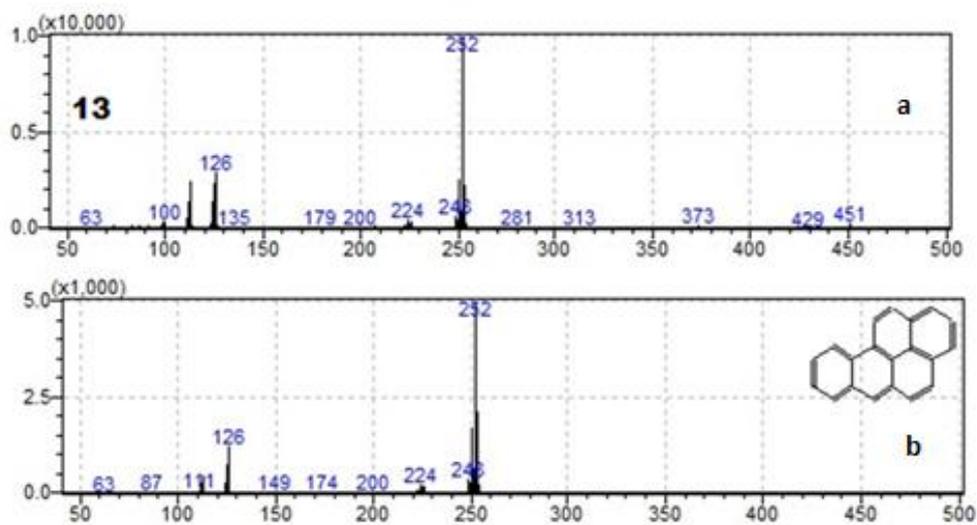












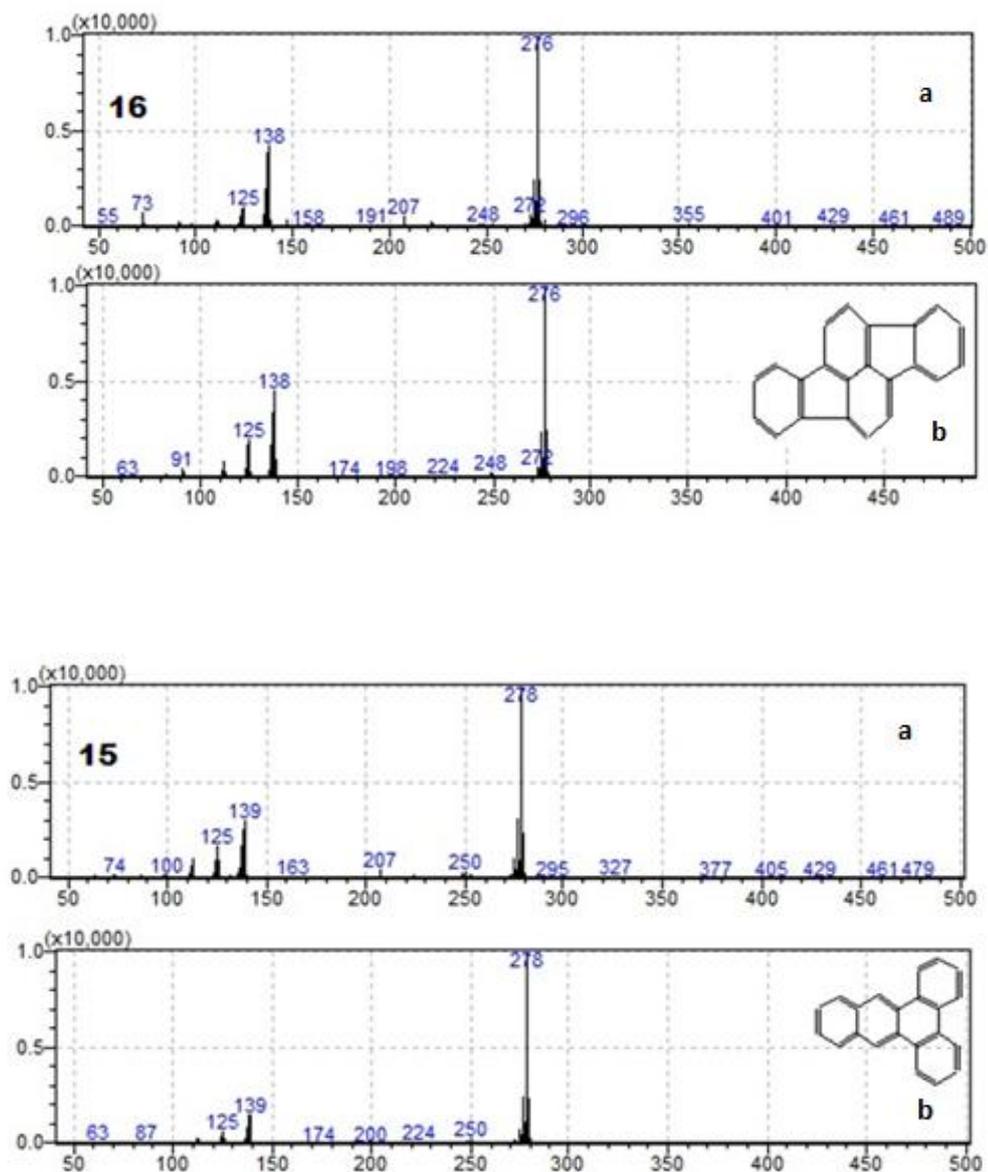
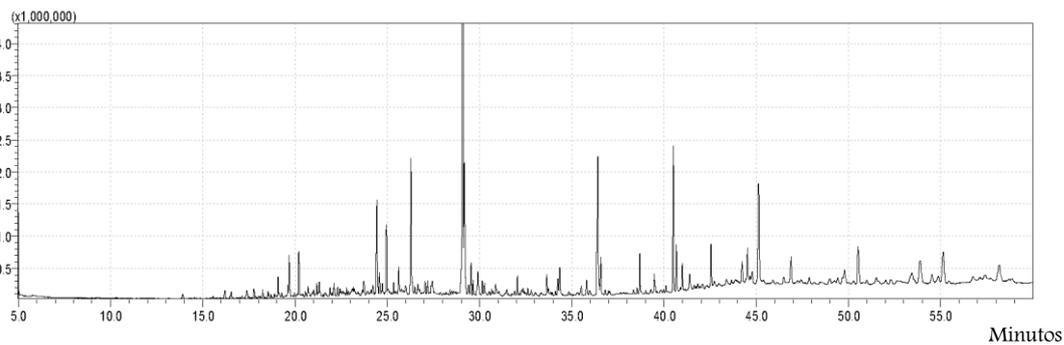


Figura 1. Comparação entre os espectros de massa a partir dos padrões dos HPAs **(a)** e o da biblioteca do equipamento **(b)**. Identificação do picos: 1 (íon 128) Naftaleno ;2 (íon 152) Acenaftileno; 3 (íon 154) Acenafteno; 4 (íon 166): Fluoreno; picos: 5 e 6 (íon 178) Fenantreno e antraceno; 7 e 8 (íon 202): Fluoranteno e Pireno; 9 e 10 (íon 228) Benzo(a)Antraceno e Criseno; picos 11, 12 e 13 (íon 252): Benzo(k)Fluoranteno, Benzo(b)Fluoranteno, e Benzo(a)Pireno; 14 e 16 (íon 276) Benzo(g,h,i)Perileno e): Indeno(1,2,3cd)Pireno; e 15 (íon 278) Dibenzo(a,h)Antraceno;

SCAN



SIM

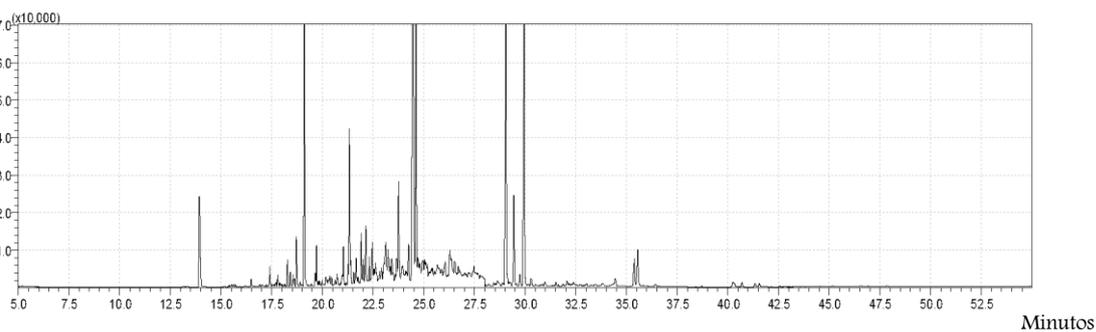
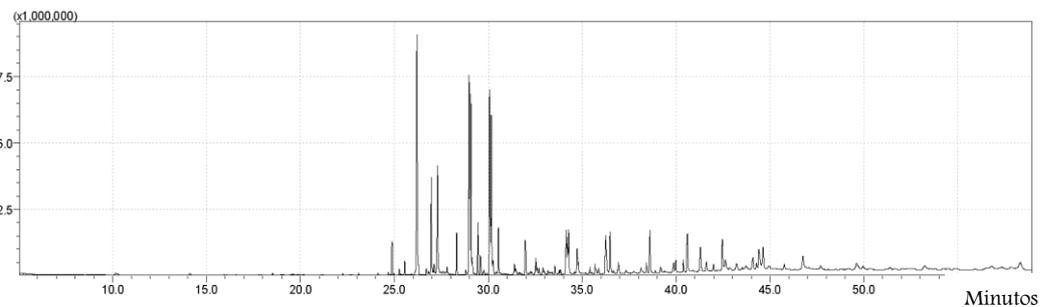


Figura 2. Cromatograma obtido em modo SCAN e em modo SIM na amostra AP1- Pimenta Merken (*Capsicum van.lungun*).

SCAN



SIM

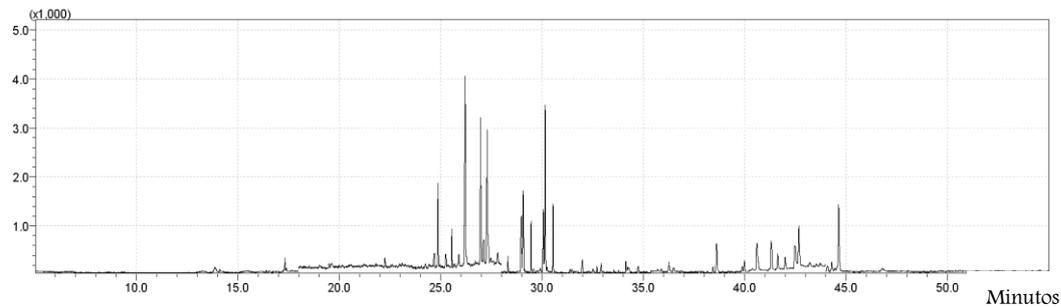
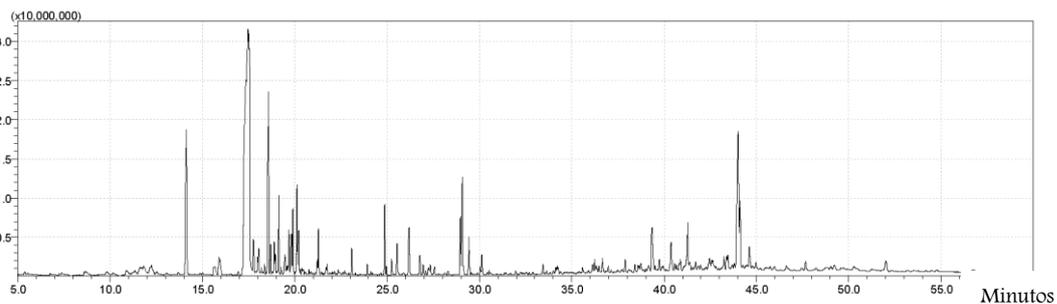


Figura 3. Cromatograma obtido em modo SCAN e em modo SIM na amostra AP2-Páprica Picante Defumada (*Capsicum annuum*);

SCAN



SIM

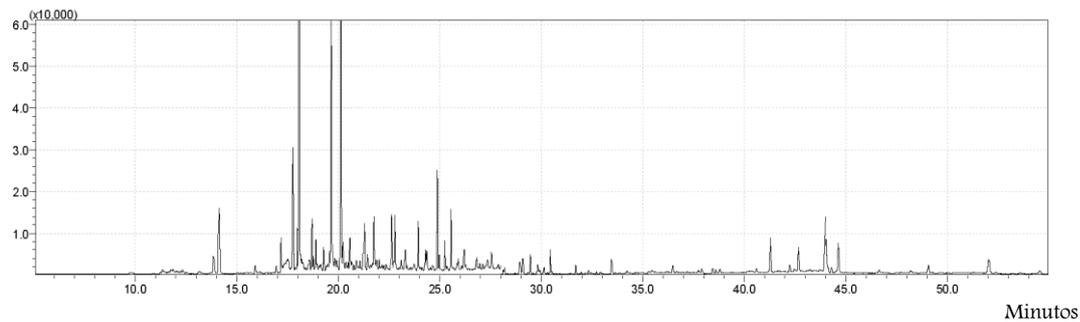
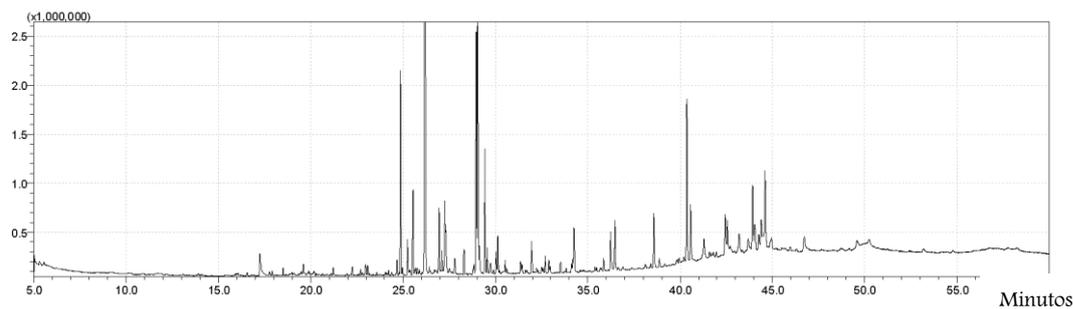


Figura 3. Cromatograma obtido em modo SCAN e em modo SIM na amostra AP3-Pimenta Síria.

SCAN



SIM

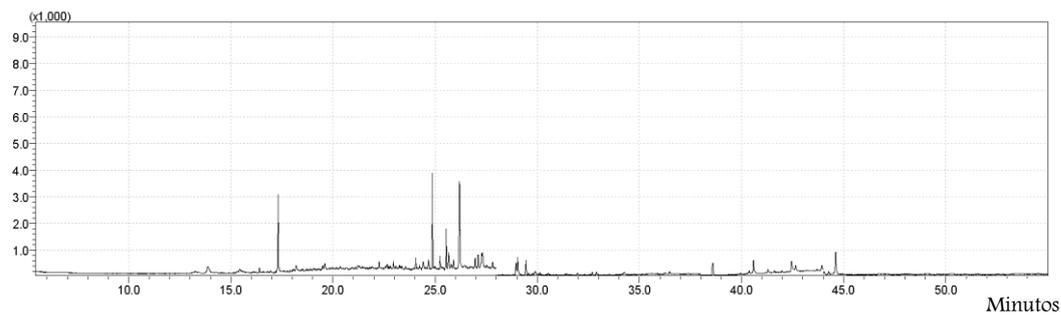
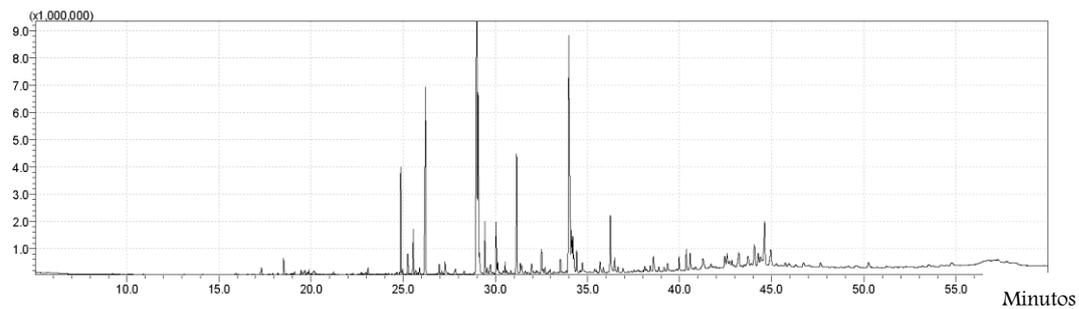


Figura 5. Cromatograma obtido em modo SCAN e em modo SIM na amostra AP4-Pimenta Calabresa (*Capsicum baccatum*).

SCAN



SIM

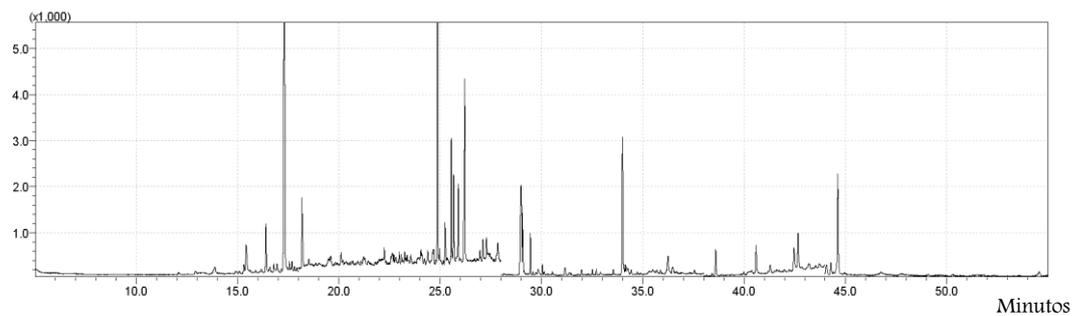


Figura 6. Cromatograma obtido em modo SCAN e em modo SIM na amostra e AP5-Pimenta Caiena em Pó (*Capsicum frutescens*),

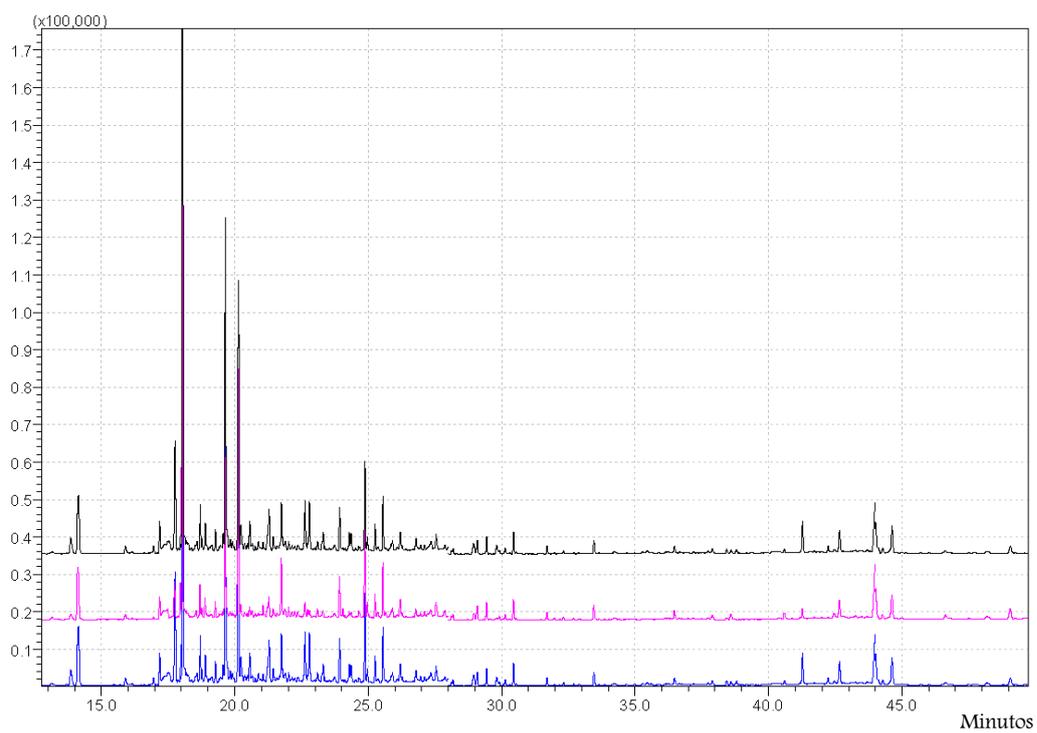


Figura 7. Comparação das triplicatas do cromatograma das frações F2 amostra AP3-Pimenta Síria demonstrando a precisão do método.

ANEXO III

REGRAS DE SUBMISSÃO DA REVISTA Revista Ibero-Americana de Ciências Ambientais

Normas da Revista RICA para o Artigo Apresentado no Anexo I

ESTRUTURA

Seção Artigos

Na seção Artigos serão publicados artigos originais ou de revisão. Artigos originais são aqueles que apresentam temas e abordagem originais, enquanto artigos de revisão são aqueles que melhoram ou atualizam significativamente as informações de trabalhos anteriormente publicados. A estrutura do artigo, entre 10 e 20 laudas¹, deve conter os elementos pré-textuais, os textuais no formato IRMRDC (Introdução, Revisão, Metodologia, Resultados, Discussão e Conclusões) para trabalhos com resultados de campo, ou IMDTC (Introdução, Metodologia, Discussão Teórica e Conclusões) para pesquisas de revisão teórica sem resultados de campo, e ainda os elementos pós-textuais, como segue:

Elementos pré-textuais: título, subtítulo (se houver), nome e biografia dos autores (apenas no sistema, pois na fase de submissão, devem ser excluídos do arquivo em Word ou Open Office), resumo, palavras-chave (3 a 5), tradução para o inglês do título, subtítulo, resumo (abstract) e palavras-chave (keywords);

Elementos textuais (IRMRDC) para pesquisas com resultado de campo:

Introdução: contextualização histórica, fundamentação e delimitação do assunto, objetivos e justificativas;

Revisão teórica: parte opcional que deverá ser concisa e clara e pode ser dividida em subseções ou capítulos;

Metodologia (ou materiais e métodos): elaborada de forma que permita a replicabilidade da pesquisa;

Resultados: preferencialmente usando figuras, gráficos, tabelas, quadros, claros e legíveis, para proporcionar posterior discussão e comparação com outras pesquisas;

Discussão: explicação ou comparação dos resultados, no mesmo trabalho ou com outras pesquisas semelhantes;

Conclusões: opinião ou reflexão pessoal sobre o assunto, bem como proposituras de cunho científico.

O manuscrito deve ser iniciado com o Título, que deve ser conciso e informativo, com no máximo 15 palavras, todo em maiúsculas, negrito e centralizado. Os subtítulos incluídos no texto devem ser em maiúsculas, não numerados e alinhados à esquerda. Não deverão ser colocados os dados dos autores para preservar o sigilo da avaliação por pares cegas.

Logo após o Título, inserir o Resumo, que deve ter caráter informativo, apresentando as ideias mais importantes do trabalho, escrito em espaçamento simples, em um único parágrafo que deverá ter entre 200 e 400 palavras. Incluir, ao final, de 03 (três) até 05 (cinco) Palavras-chave. Na continuidade, o autor deverá

traduzir para a língua inglesa o Título, o Resumo e as Palavras-chave, nomeando a tradução para o inglês de Abstract e Keywords, respectivamente.

Nas Referências, as obras/autores devem ter sido citadas no texto do trabalho e devem obedecer as dispostas no final deste documento, que foram constituídas com base nas orientações da ABNT, bem como as orientações no final deste documento. Trata-se de uma listagem dos livros, artigos e outros elementos de autores efetivamente utilizados e referenciados ao longo do artigo. Não podem existir referências sem as devidas citações, e vice-versa.

FORMATAÇÃO

O manuscrito deve ser editado em Microsoft Word ou Open Office, sendo formatado em tamanho A4 (210 x 297 mm), texto na cor preta e fonte Calibri, tamanho 11 para o texto e tamanho 10 para citações longas, legendas de figuras, tabelas e referências, com ilustrações em escala cinza. Todas as margens do manuscrito (superior, inferior, esquerda e direita) devem ter 2,0 cm.

Os resumos, em qualquer uma das seções, deverão manter espaçamento simples em um único parágrafo e alinhamento justificado. Conteúdo e legendas de tabelas, quadros e figuras devem estar em Calibri, tamanho 9.

Os manuscritos deverão ter espaçamento entre linhas de 1,5, contendo espaçamento entre parágrafos, e estes, em alinhamento justificado e com recuo especial da primeira linha de 1,25. As notas de rodapé, as legendas de ilustrações e tabelas, e as citações textuais longas devem ser formatadas em espaço simples de entrelinhas.

As ilustrações que compreendem tabelas, gráficos, desenhos, mapas e fotografias, lâminas, plantas, organogramas, fluxogramas, esquemas ou outros elementos autônomos aparecer sempre que possível na própria folha onde está inserido o texto a que se refere.

CITAÇÕES

Citações são informações extraídas de outra fonte, e podem ser classificadas em: citação direta (quando é feita a partir de uma transcrição literal, ou seja, palavra por palavra, de trecho do texto do autor da obra consultada); citação indireta (quando são inseridas de forma não-literal, ou seja, ideias pertencentes ao autor ou a diversos autores); citação de citação (é aquela citação, direta ou indireta, de uma obra original a que não se teve acesso, mas que se teve conhecimento por citação existente em outra obra, desta vez com acesso efetivo).

REFERÊNCIAS

Entende-se por referências bibliográficas o conjunto de elementos que permitem a identificação, no todo ou em parte, de documentos impressos ou registrados em diversos tipos de materiais. As referências bibliográficas são uma lista de fontes consultas e citadas ao longo do corpo do trabalho, estas devem ser listadas em ordem alfabética de autor, alinhadas a esquerda, em tamanho 10, espaço simples entre linhas, e duplo entre as referências. Em nossa plataforma, e conseqüentemente em todos os periódicos da mesma, as referências seguem as orientações da ABNT.

ATENÇÃO: as obras que tiverem registro internacional do tipo DOI da CrossRef devem ter obrigatoriamente ao final o número de registro, como segue no exemplo abaixo:

SILVA, C. E.; PINTO, J. B.; GOMES, L. J. Ecoturismo na Floresta Nacional do Ibura como potencial fomento de sociedades sustentáveis. Revista Nordestina de Ecoturismo, Aracaju, v.1, n.1, p.10-22, 2008. DOI: <https://doi.org/10.6008/ESS1983-8344.2008.001.0001>.

ATENÇÃO: O “et al.” só pode ser utilizado nas CITAÇÕES e não nas REFERÊNCIAS, onde deve constar obrigatoriamente o nome de todos os autores. De forma genérica as referências devem ter os seguintes elementos: autor (quem?); título (o que?); edição; local de publicação (onde?); editora; e data de publicação da obra (quando?). Seguem orientações específicas para listagem de referências de alguns tipos mais usuais de obras consultadas:

a) periódicos (artigos de revistas científicas)

ARAÚJO, P. C.; CRUZ, J. B.; WOLF, S. M.; RIBEIRO, T. V. A. R. Empreendedorismo e educação empreendedora: confrontação entre a teoria e a prática. Revista de Ciência da Administração, Florianópolis, v.8, n.15, p.45-67, 2006.

TAYRA, F.; RIBEIRO, H. Modelos de indicadores de sustentabilidade: síntese e avaliação crítica das principais experiências. Saúde e Sociedade, São Paulo, v.15, n.1, p.84-95, 2006.

SILVA, C. E.; PINTO, J. B.; GOMES, L. J. Ecoturismo na Floresta Nacional do Ibura como potencial fomento de sociedades sustentáveis. Revista Nordestina de Ecoturismo, Aracaju, v.1, n.1, p.10-22, 2008.

b) livros

MARCONI, M. A.; LAKATOS, E. M. Técnicas de pesquisa: planejamento e execução de pesquisas, amostragens e técnicas de pesquisas, elaboração, análise e interpretação de dados. 6 ed. São Paulo: Atlas, 2007.

KAPLAN, R. S.; NORTON, D. P. A estratégia em ação: balanced scorecard. 26 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 1997.

QUIROGA, R. Indicadores de sostenibilidad ambiental y de desarrollo sostenible: estado del arte y perspectivas. Santiago do Chile: CEPAL, 2001.

SEGNESTAM, L.; WINOGRAD, M.; FARROW, A. Desarrollo de indicadores: lecciones aprendidas de América Central. Washington: CIAT-BM-PNUMA, 2000.

c) capítulos de livro

BOO, E. O planejamento ecoturístico para áreas protegidas. In: LINDBERG, K.; HAWKINS, D. E. Ecoturismo: um guia para planejamento e gestão. São Paulo: Senac São Paulo, 1999. p.65-80.

PEDRINI, A. G. A educação ambiental no ecoturismo brasileiro: passado e futuro. In: SEABRA, G. Turismo de base local: identidade cultural e desenvolvimento regional. João Pessoa: EDUFPB, 2007. p.30-56.

d) anais de eventos

SILVA, C. E. Ecoturismo no Horto Florestal do Ibura como potencial fomento de sociedades sustentáveis. In: ENCONTRO PARANAENSE DE EDUCAÇÃO AMBIENTAL, 9. Anais. Guarapuava: Unicentro, 2006.

PAIVA JÚNIOR, F. G.; CORDEIRO, A. T. Empreendedorismo e o espírito empreendedor: uma análise da evolução dos estudos na produção acadêmica brasileira. In: ENCONTRO ANUAL DA ASSOCIAÇÃO NACIONAL DOS PROGRAMAS DE PÓSGRADUAÇÃO EM ADMINISTRAÇÃO, 27. Anais. Salvador: UFBA, 2002.

e) revistas de notícias

NILIPOUR, A. H.; BUTCHER, G. D. Manejo de broilers: las primeras 24 horas. Industria Avicola, Mount Morris, v.46, n.11, p.34-37, nov. 1999.

f) teses, dissertações e monografias

CARVALHO, F. Práticas de planejamento estratégico e sua aplicação em organizações do terceiro setor. Dissertação (Mestrado em Administração) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2004.

BETTIOL JÚNIOR, A. Formação e destinação do resultado em entidades do terceiro setor: um estudo de caso. Tese (Doutorado em Ciências Contábeis) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2005.

g) leis ou normas jurídicas

BRASIL. Lei n.11428 de 22 de dezembro de 2006. Dispõe sobre a utilização e proteção da vegetação nativa do bioma Mata Atlântica, e dá outras providências. Brasília: DOU, 2006.

SERGIPE. Decreto n.13713 de 14 de junho de 1993. Institui a criação da Área de Proteção Ambiental Morro do Urubu. Aracaju: DOE, 1993.

h) documentos governamentais ou empresariais

BRASIL. Diretrizes e prioridades do plano de ação para implementação da Política Nacional da Biodiversidade. Brasília: MMA, 2006.

PETROBRAS. Indicadores de desenvolvimento sustentável: campos de petróleo e gás 2008. Rio de Janeiro: CENPES, 2009.

MMA; MEC. Coletivos jovens de meio ambiente: manual orientador. Brasília: Dreams, 2005.