

DETERMINAÇÃO DE HPAs EM GRÃOS DE ARROZ POLIDO SUBMETIDOS À SECAGEM COM LENHA: VALIDAÇÃO DE MÉTODO QuEChERS ACETATO COM GC-MS

Rafaela Roberta Morelato
Universidade Federal da Fronteira Sul, UFFS
rafaelarobertamorelato@hotmail.com

Maurício Albertoni Scariot
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS
mauricioalbertoniscariot@gmail.com

Jonas Simon Dugatto
Universidade Federal da Fronteira Sul, UFFS
jonas.dugatto@uffs.edu.br

Lauri Lourenço Radünz
Universidade Federal do Rio Grande do Sul, UFRGS
laurilr@gmail.com

Liziara da Costa Cabrera
Universidade Federal da Fronteira Sul, UFFS
liziara.cabrera@uffs.edu.br

RESUMO

Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos são contaminantes produzidos durante a combustão de lenhas, processos de secagem, entre outros. Os processos para obtenção da variedade de grão de arroz vão desde a secagem com lenha até a utilização de gás liquefeito de petróleo, sendo necessários métodos analíticos validados para o monitoramento desses compostos em arroz. O método utilizado para determinação de 18 hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) em matrizes de arroz polido foi o método QuEChERS acetato e a análise foi por cromatografia gasosa (GC-MS). O método foi validado utilizando as figuras de mérito recomendadas por SANTE, 2017. Nas amostras de grãos de arroz branco polido avaliadas, detectaram-se 5 (cinco) HPAs, sendo eles: 2-metilnaftaleno, fenantreno, fluoreno, naftaleno, pireno e benzo[g,h,i]perileno, fluoranteno dos 18 (dezoito) compostos monitorados. Conclui-se que os compostos em estudos são contaminantes à saúde humana, sendo necessário os monitoramentos frequentes desses HPAs.

Palavras-chave: GC-MS; QuEChERS; HPAs; Arroz.

INTRODUÇÃO

A produção de arroz no Brasil foi de 11,6 milhões de toneladas na safra 2020/2021, sendo a maior produção fora do continente asiático. Entre os processos de industrialização do

arroz brasileiro ocorre a secagem de grãos, em sua maior parte, em secadores que promovem a passagem do ar aquecido, principalmente pela combustão de biomassa, diretamente através da massa de grãos. Esta técnica é denominada de secagem com “fogo direto”, sendo a lenha amplamente utilizada como fonte de aquecimento do ar (COLTRO et al, 2017). O uso da secagem com “fogo direto” promove a passagem do ar de combustão diretamente pelos grãos, assim podendo ocasionar a contaminação destes com hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs).

Existem atualmente mais de 100 (cem) HPAs identificados. Desse total, dezesseis são considerados como prioritários para estudos que envolvam HPAs, por já terem sido comprovados ou ao menos haver indicativos de seu efeito carcinogênico direto, ou como indutor de carcinogênese em cobaias de Laboratório, ou até mesmo por associação a casos de câncer por exposição direta em humanos (BERTINETTI, 2017).

O presente trabalho teve por objetivo a validação de método para determinação de 18 compostos HPAs e seis padrões deuterados utilizando GC-MS para amostras de arroz polido submetidos a diferentes temperaturas de secagem.

METODOLOGIA

O estudo foi realizado através de uma parceria entre a Universidade Federal do Rio Grande do Sul e a Universidade Federal da Fronteira Sul *Campus* Cerro Largo/RS. Os grãos de arroz foram cultivados no Instituto Rio-Grandense do Arroz, no município de Cachoeirinha/RS, na safra de 2017/2018, seguindo as normas da SOSBAI (2016).

As amostras de arroz polido foram secas utilizando lenha de *Eucalyptus* sp como fonte de aquecimento e, para validação do método, o arroz foi seco ao sol (branco) para se obter uma amostra isenta de HPAs.

A validação foi feita em matriz de arroz polido (branco) para 18 compostos HPAs, sendo eles: acenafteno, acenaftileno, antraceno, benzo[a]antraceno, benzo[b]fluoranteno, benzo[k]fluoranteno, benzo[ghi]perileno, benzo[a]pireno, criseno, dibenzo[a,h]antraceno, fluoranteno, fluoreno, indeno[1,2,3- c,d]pireno, 1-metilnaftaleno, 2-metilnaftaleno, naftaleno, fenantreno e pireno. O padrão de HPAs deuterados apresentava 6 compostos (1,4 dicloro benzeno D4, acenafteno D10, criseno D12, fenantreno D10, naftaleno D8 e perileno D12). Os HPAs foram extraídos pelo método QuEChERS, conforme descrito por Escarrone et al. (2014). Utilizou-se 10 g de arroz moído, 10mL de água ultrapura e 10mL de acetonitrila acidificada com ácido acético glacial 1% (v/v), em tubo de polipropileno (50mL). A amostra foi agitada

com vórtex por 1 min, após, 6g de sulfato de magnésio e 1,5g de acetato de sódio anidro foram adicionados. A mistura resultante foi novamente agitada com vórtex por 1 min e centrifugada a 5000 rpm por mais 5 min. Após a centrifugação, 2mL do sobrenadante foram coletados e transferidos para um tubo de polipropileno de 15mL, sendo adicionados 150mg de sulfato de magnésio anidro e 50mg de PSA. O extrato foi então agitado em vórtex por 1 min e centrifugado a 5000 rpm por 5 min. Após a centrifugação, 900 μ L do sobrenadante e 100 μ L de HPAs deuterados padrão (1000 μ g L⁻¹) foram transferidos para um frasco e um volume de 2 μ L foi injetado e analisado por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (GC-MS). A análise cromatográfica foi realizada em cromatógrafo gasoso, acoplado a espectrômetro de massas (GC-MS; QP2010 Ultra; Shimadzu, Kyoto, Japão), equipado com fonte de ionização de impacto de elétrons (70 eV) e analisador quadrupolo. Foi utilizado injetor manual em modo splitless e coluna capilar (NST-5MS; 30 m \times 0,25 mm \times 0,25 μ m).

Todos os compostos foram monitorados em modo de varredura completa no intervalo m/z 100–500 para a otimização dos parâmetros MS. Os espectros de varredura completa foram obtidos para selecionar os íons precursores apropriados, que foram selecionados na tentativa de escolher o íon com a maior razão m/z e abundância (Tabela 1). Após esta otimização, o modo SIM foi utilizado para a quantificação das amostras e dos íons identificando os 18 HPAs e 6 HPAs deuterados como padrão interno. As seguintes condições foram utilizadas: as temperaturas do injetor, interface e fonte de íons foram 280, 290 e 250°C, respectivamente. A temperatura inicial do forno foi de 60°C mantida por 1 min, seguida por aquecimento a 300°C a uma taxa de 5°C min⁻¹ mantido por 6 min. utilizando hélio puro (99,9999%) como gás carreador, com fluxo de 1,35 mL min⁻¹, e velocidade linear de 42,4 cm s⁻¹. Dois microlitros de cada amostra foram injetados. O tempo de corte do solvente foi de 7 min e o tempo total da corrida cromatográfica foi de 59 min. O tempo de retenção e outras condições de GC-MS são mostrados na Tabela 1. Para avaliar o procedimento desenvolvido para determinação de 18 HPAs em arroz polido, o método foi validado segundo SANTE (2017) para os parâmetros: seletividade, linearidade, limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ), precisão (inter e intradiária) e exatidão. A seletividade foi avaliada comparando os cromatogramas obtidos do sistema GC-MS por injeções dos extratos de arroz branco e enriquecido. As curvas de calibração foram preparadas em acetonitrila a 1, 2,5, 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500 e 1000 μ g L⁻¹.

A exatidão e a precisão (intradiária e interdiária) do método foram avaliadas em termos de ensaios de recuperação e desvio padrão relativo (RSD), aumentando os extratos em branco em 1, 2,5; 5, 10 e 100 μ g kg⁻¹ em réplica (n = 6). O LOQ foi estabelecido como o nível de pico

mais baixo, que apresentou relação sinal / ruído superior a 10, recuperações entre 70 e 120% com $RSD \leq 20\%$.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

O procedimento selecionado foi validado para estabelecer as características de desempenho do método. As curvas analíticas obtidas para cada HPAs mostraram uma resposta linear com coeficientes de correlação entre 0,9917 e 0,9995. Os LOQs variaram de 1 a 5 $\mu\text{g kg}^{-1}$ (Tabela 1). A exatidão foi avaliada em termos de recuperação, precisão e repetibilidade em cinco níveis de concentração. As recuperações variaram de 64 a 122% para todos os HPAs, com valores de desvio padrão relativo menores que 18%. Cabe salientar que mesmo utilizando um método já publicado e validado, as condições de laboratórios e equipamentos diferentes requerem a validação do método para garantir a confiabilidade dos resultados.

Tabela 1 – HPAs validados no método com seus respectivos tempos de retenção, íons monitorados e limite de quantificação.

HPAs	Tempo de retenção (min)	Íons (m/z)	LOQ ($\mu\text{g kg}^{-1}$)
1,4 Diclorobenzeno D-4	7,035	150; 152	-
Naftaleno D-8	11,650	136	-
Naftaleno	11,725	128; 127; 129	1
2 Metilnaftaleno	14,865	142	1
1 Metilnaftaleno	15,325	142	1
Acenaftileno	19,035	152; 151; 76	2,5
Acenafteno D-10	19,825	164	-
Acenafteno	19,970	153; 154; 152	2,5
Fluoreno	22,455	166; 165; 82	5,0
Fenantreno D-10	26,965	188	-
Fenantreno	27,065	178; 176; 179	2,5
Antraceno	27,295	178; 176; 89	5,0
Fluoranteno	32,955	202; 200; 101	1,0
Pireno	33,975	202; 200; 101	1,0
Benzo[a] antraceno	39,900	228; 226; 113	1,0
Criseno D-12	40,045	240	-
Criseno	40,215	228	1,0
Benzo[b] fluoranteno	45,065	252; 253; 250	1,0
Benzo[k] fluoranteno	45,175	252; 253; 250	2,5
Benzo[a] pireno	46,375	252; 253; 250	5,0
Perileno D-12	46,625	264	-
Indeno[1,2,3-c,d] pireno	50,910	276; 207; 138	5,0
Dibenzo[a,h] antraceno	51,085	278; 207; 276	5,0
Benzo[g,h,i] perileno	51,970	276; 138; 277	5,0

Fonte: Dados da pesquisa (2021)

Dos 18 composto monitorados nos grãos de arroz polido, detectou-se a presença de 5 (cinco) HPAs nas amostras sendo, eles o 2-metilnaftaleno, fenantreno, fluoreno, naftaleno,

pireno e benzo[g,h,i]perileno, fluoranteno. Para composto pireno não foi verificado efeito significativo dos fatores testados. Os compostos benzo[g,h,i]perileno e fluoreno foram detectados, porém em quantidades abaixo do limite de quantificação do método. Agência internacional de pesquisa em câncer (IARC) classifica os HPAs, benzo (g,h,i)perileno, fluoreno e fenantreno como não classificáveis quanto a sua carcinogenicidade para o ser humano.

CONCLUSÃO

Estudos sobre os compostos são de grande importância, pois os HPAs são altamente nocivos à saúde podendo causar doenças multáveis na população. O método QuEChERS se mostrou eficiente para a extração dos compostos e a determinação por cromatografia gasosa utilizando o GC-MS obteve uma resposta satisfatória para quantificar os 18 HPAs. O arroz polido apresentou contaminação por HPAs quando seco com lenha, no entanto comparado a estudos com outros tipos de arroz, esse tende a ter um menor teor de contaminação.

REFERÊNCIAS

- COLTRO, L.; MARTON, LFM.; PILECCO, FP.; PILECCO, AC.; & MATTEI, LF. Environmental profile of rice production in Southern Brazil: A comparison between irrigated and subsurface drip irrigated cropping systems. **Journal of Cleaner Production**, Oxford, v. 153, p. 491-505, 2017.
- BERTINETTI, IA. **Efeitos da secagem e do beneficiamento industrial sobre parâmetros tecnológicos de avaliação de qualidade e teores de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em grãos de arroz**. Universidade Federal de Pelotas. Dissertação de mestrado, 2017.
- ESCARRONE, ALV., CALDAS, SS., FURLONG, EB., MENEGHETTI, VL., FAGUNDES, CAA., ARIAS, JLO., & PRIMEL, EG. Polycyclic aromatic hydrocarbons in rice grain dried by different processes: Evaluation of a quick, easy, cheap, effective, rugged and safe extraction method. **Food Chemistry, Barking**, v. 146, n. 1, p. 597–602, 2014.
- IARC – **International Agency for Research on Cancer**. Lyon, França, 2021. Disponível em: <https://monographs.iarc.who.int/agents-classified-by-the-iarc/>. Acesso em: 10 agos. 2021.
- SANTE (EUROPEAN COMMISSION) **Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed**. Document SANTE/11813/2017.
- SOSBAI. Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado. **Arroz irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil**. Pelotas: Sosbai, 2016. 200p.