

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA
DOS ALIMENTOS**

**BIFENILOS POLICLORADOS (PCBs) EM MILHO E FARINHA
DE MILHO DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Thiago Guilherme Schwanz

**Santa Maria, RS, Brasil
2011**

BIFENILOS POLICLORADOS (PCBs) EM MILHO E FARINHA DE MILHO DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL

por

Thiago Guilherme Schwanz

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Área de Concentração em Ciência e Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos.

Orientadora: Prof^a. Ijoni Hilda Costabeber

**Santa Maria, RS, Brasil
2011**

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos
Alimentos**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**BIFENILOS POLICLORADOS (PCBs) EM MILHO E FARINHA
DE MILHO DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL**

elaborada por

Thiago Guilherme Schwanz

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Ciência e Tecnologia dos Alimentos

COMISSÃO EXAMINADORA:

Ijoni Hilda Costabeber
(Presidente/Orientadora)

Nilo Zanatta
(Co-orientador)

Joice Sifuentes dos Santos

Claudia Kaehler Sautter

Santa Maria, 17 de junho de 2011.

A minha amada mãe, base de tudo.

Pelo exemplo.

Dedico.

*...e apesar de tentar conviver com a ausência,
descobri que apenas poderia aceitá-la...
a necessidade de ser mais forte que a dor
ensinou-me o quanto se pode amar sem ter,
aprender, ainda que não se possa ver, ouvir, tocar...
e apesar de tudo...essa ausência me conforta,
quando vejo que mesmo invisível aos meus olhos,
mesmo sem poder ouvir o som de sua voz,
mesmo sem poder tocar suas mãos,*

meu coração jamais deixou te sentir sua presença em minha vida...

AGRADECIMENTOS

Ao meu pai, Osmar, pela dedicação e esforço, por me incentivar a sempre estudar, e fazer disso uma prioridade, abdicando muitas vezes de suas aspirações para que isso acontecesse.

À minha irmã preferida, Melissa, pela amizade e companheirismo, por mesmo longe geograficamente estar sempre presente. A toda minha família, em especial à Tia Elaine, que mais que uma tia, é uma segunda mãe, obrigado pelo apoio e pela certeza de sempre poder contar contigo.

Agradeço à minha orientadora científica, Ijoni Costabeber, acima de tudo pelas críticas e sugestões, espero ter aproveitado todos e de forma correta. Pela paciência necessária, principalmente na minha inabilidade com as palavras. Pelo conhecimento dispensado nesta caminhada, e principalmente pela confiança depositada em mim e neste trabalho. Por ter me aceito em seu grupo de pesquisa e mostrar a direção nas horas em que eu mais precisava.

Ao NAPO (Núcleo de Análises de Pesticidas Orgânicos), pelo suporte necessário para a realização desta pesquisa; obrigado pela oportunidade de realizar este trabalho num laboratório de extrema qualidade na área. Assim como pela ajuda e compreensão nas horas em que eu estive ausente para que este projeto se concretizasse. Especialmente ao Prof. Dr. Nilo Zanatta pela co-orientação, sempre atenta e repleta de valiosos esclarecimentos.

À colega Susana Mohr, pela inestimável ajuda e dedicação às minhas necessidades. Tens minha sincera admiração e gratidão, não só pela profissional, mas também pela pessoa que és.

À Maria Isabel, sempre pronta, dedicada e atenciosa. Pelo incentivo nas horas de desânimo e pelo carinho. Por encher meus dias de alegria. Obrigado por tornar esta reta final mais agradável.

EMATER/RS-ASCAR, escritório regional de Santa Maria, através do Engenheiro Agrônomo Luiz Antônio Rocha Barcellos, pela coleta das amostras para a realização desta pesquisa.

Ao PPGCTA, e seus professores, com os quais muito aprendi. Às amizades construídas com meus colegas, em especial aos colegas e agora amigos Cristiane, Héber e Simone.

Enfim, a todos os verdadeiros amigos que não foram citados, mas que de uma forma outra contribuíram dando-me força, incentivo, atenção ou simplesmente me fazendo rir.

À Deus, acima de tudo.

"O que eu espero senhores, é que depois de um razoável período de discussão, todo mundo concorde comigo."

Winston Churchill

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos
Universidade Federal de Santa Maria

BIFENILOS POLICLORADOS (PCBs) EM MILHO E FARINHA DE MILHO DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL

AUTOR: THIAGO GUILHERME SCHWANZ
ORIENTADORA: IJONI HILDA COSTABEBER
CO-ORIENTADOR: NILO ZANATTA

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 17 de Junho de 2011.

Devido a alta toxicidade, a produção e comercialização dos bifenilos policlorados (PCBs) estão proibidas em todo mundo. Esses compostos aromáticos foram utilizados industrialmente desde a década de 30. Propriedades físicas interessantes, tais como a resistência a altas temperaturas e correntes elétricas, são responsáveis pela grande utilização e produção mundial dos PCBs. Sendo que desta produção grande parcela entrou para o meio ambiente, principalmente devido ao descarte inadequado de equipamentos eletro-eletrônicos antigos, contaminando a água e o solo. São compostos não biodegradáveis, que se acumulam no meio ambiente, influenciando todos os organismos da cadeia alimentar. A partir de estudos realizados, constatou-se o seu efeito nocivo no homem, sendo a ingestão através de alimentos contaminados a principal via de exposição. Sabe-se, pela sua importância histórica na sobrevivência humana, que os cereais são parte essencial em nossa alimentação. Dentre os cereais, o milho recebe amplo destaque, sendo o grão mais consumido no mundo. Diante disso, aliado com a persistência dos PCBs e seus efeitos maléficos ao homem, o objetivo do presente trabalho foi determinar os níveis de PCBs em milho e farinha de milho de diferentes regiões do estado do Rio Grande do Sul, coletados nos anos de 2009 e 2010, correlacionando os níveis destes compostos a região de coleta, ano de produção, teor de gordura e tipo de farinha. A determinação dos resíduos de PCBs foi realizada por cromatógrafo a gás acoplado a espectrometria de massas (GC-MS), usando modos de ionização por impacto de elétrons e ionização química negativa, após a extração dos compostos através do uso de ultrassom. Foram encontrados valores médios de 0,01 ng g⁻¹ para o PCB 10, 0,04 ng g⁻¹ para o PCB 28, 0,10 ng g⁻¹ para o PCB 52, 0,14 ng g⁻¹ para o PCB 153, 0,40 ng g⁻¹ para o PCB 138 e 0,38 ng g⁻¹ para o PCB 180. O PCB 138 foi o mais freqüente, sendo detectado em 63,57% das amostras, seguido dos PCBs 180 (58,27%), 52 (41,72%), 153 (41,05%), 28 (20,52%) e 10 (7,28%). As amostras provenientes das regiões nordeste e metropolitana foram as que apresentaram as maiores contaminações. Além disso, houve uma diminuição das contaminações no ano de 2010 quando comparado com o ano de 2009. Outro fator relevante foi a maior contaminação encontrada nas farinhas de milho em relação ao grão.

Diferença que se mostrou significativa para os PCBs 52, 138, 153 e 180. No que diz respeito às análises das farinhas houve uma diferença significativa para todos os congêneres na correlação com os percentuais de gordura.

Palavras-chave: bifenilos policlorados; milho; farinha de milho; GC-MS.

ABSTRACT

Master Dissertation
Graduate Program on Food Science and Technology
Federal University of Santa Maria

POLYCHLORINATED BIPHENYLS (PCBs) IN CORN AND CORNFLOUR FROM RIO GRANDE DO SUL STATE

AUTHOR: THIAGO GUILHERME SCHWANZ

ADVISER: IJONI HILDA COSTABEBER

CO-ADVISER: NILO ZANATTA

Place and Date of Defense: Santa Maria, June 17th, 2011.

The polychlorinated biphenyls (PCBs) production and trading are prohibited in whole world, due its high toxicity. These aromatic compounds were industrially used since the 30's decade. Significant physics characters, as a high temperature and electric current tolerance, are responsible for the PCBs large employment and worldwide production. Mainly due for the old electric equipments inappropriate discard, a large part of this production came in to the environment, contaminating the soil and water. They are non-biodegradable compounds that becoming accumulated in the environment and in the food chain. They toxic human effects was evidenced from realized studies, and the contaminated food ingestion is the mainly route of exposure to PCBs. The cereals are an essential part of our nutrition, due this human survives historical significance. The corn receives a large notability among the cereals, being the most consumed grain in the world. Due to this, and to the PCBs persistent and malignant effects to human, the objective of this work was to determinate the PCBs levels in corn and cornflour from different regions of Rio Grande do Sul State, collected on 2009 and 2010 years, checking the connect of these levels with the collected region, year of harvest, lipid content and the flour type. The PCBs residues were determinate by gas chromatography coupled with mass spectrometer (GC-MS), using electron impact ionization and a negative chemical ionization, before ultrasonic extraction of the compounds. The mean values detected were 0.01 ng g⁻¹ to the PCB 10, 0.04 ng g⁻¹ to the PCB 28, 0.10 ng g⁻¹ to the PCB 52, 0.14 ng g⁻¹ to the PCB 153, 0,40 ng g⁻¹ to the PCB 138 and 0,38 ng g⁻¹ to the PCB 180. The most frequent was the PCB 138, which was detected in 63,47% of the samples, followed by the PCBs 180 (58.27%), 52 (41.72%), 153 (41.05%), 28 (20.52%) and 10 (7.28%). The samples from the northeast and metropolitan regions showed the higher concentrations. Besides it, there was a decrease in the contamination on the year of 2010 when compared with 2009. Another significant factor was the high contamination detected in the cornflours in relation to the grain, with significantly differences for the PCBs 52, 138, 153 and 180. Concerning about the flour analyses, the fact of the PCBs have a great fat attractive force was

confirmed, with all the PCBs congeners showed significant difference in the correlation with their lipid levels.

Keywords: polychlorinated biphenyls; corn, cornflour, GC-MS.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 – Bifenilos policlorados	23
FIGURA 2 – Estimativa do uso acumulado de PCBs ao redor do mundo	25
FIGURA 3 – Anatomia do grão de milho e suas partes.....	35
FIGURA 4 – Processo de moagem seca do milho	38
FIGURA 5 – Processo de moagem úmida do milho	38
FIGURA 6 – Comparação entre área plantada e produção no Rio Grande do Sul ...	41
FIGURA 7 – Evolução da produtividade do milho no Rio Grande do Sul.....	41
Artigo 1	
FIGURA 1 – Cromatograma (GC-MS no modo EI) de uma amostra de milho	69
FIGURA 2 – Cromatograma (GC-MS no modo NCI) de uma amostra de milho	69
FIGURA 1S – Sobreposição de cromatogramas de amostra testemunha e amostra fortificada com PCBs.....	74
Artigo 2	
FIGURA 1 – Representação gráfica das concentrações de PCBs em farinha de milho	93

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Nomes comerciais dos PCBs em diferentes países	24
TABELA 2 – Sistema de identificação dos congêneres de PCBs	27
TABELA 3 – Composição nutricional do grão de milho e seus componentes	36

Artigo 1

TABELA 1 – Resultados obtidos nas provas de linearidade	70
TABELA 2 – Resultados obtidos nas provas de recuperação	70
TABELA 3 – Frequência de determinação e concentrações dos PCBs	71
TABELA 1S – Parâmetros dos PCBs analisados por GC-MS no modo de aquisição SIM	72
TABELA 2S – Porcentagens de recuperação dos PCBs extraídos em testes com diferentes solventes	72
TABELA 3S – Porcentagens de recuperação dos PCBs extraídos após testes de eluição com diferentes solventes	73

Artigo 2

TABELA 1 – Frequência de determinação e concentração dos PCBs em milho e farinha de milho	94
TABELA 2 – Frequência de determinação e concentração dos PCBs em milho e farinha de milho e seu significado	94

TABELA 3 – Coeficientes de correlação de Spearman e seu significado entre % de gordura e os congêneres de PCBs em amostras de milho e farinha de milho	95
TABELA 4 – Concentrações médias de PCBs em milho e farinha de milho de diferentes regiões do estado do Rio Grande do Sul, Brasil	95
TABELA 5 – Concentrações de PCBs em amostras de milho e farinha de milho coletadas entre os anos de 2009 e 2010 no estado do Rio Grande do Sul, Brasil, e sua significância	96

LISTA DE ABREVIATURAS

µg - Micrograma

µL - Microlitro

ABIMILHO - Associação Brasileira das Indústrias do Milho

ANOVA - Análise de Variância

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ATSDR - *Agency for Toxic Substances and Diseases Registry*

CI - Ionização química (*Chemical ionization*)

CV - Coeficiente de Variação

CONAB - Companhia Nacional de Abastecimento

DP - Desvio Padrão

ECD - Detector de captura de elétrons (*Electron capture detector*)

EI - Impacto de elétrons (*Electron impact*)

EMPRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

EPC - Cromatografia por Permeação em Gel (*Gel Permeation Chromatography*)

g - Grama

GC-MS - Cromatógrafo Gasoso acoplado à Espectrometria de Massas (*Gas Chromatography-mass spectrometry*)

IBAMA - Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Renováveis

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial

IUPAC - *International Union of Pure and Applied Chemistry*

Kg - Quilograma

LD - Limite de Detecção

LQ - Limite de Quantificação

MAE - Extração Assistida por Microondas (*Microwave-Assisted Extraction*)

mL - Mililitro

ng - Nanograma

NCI - Ionização química negativa (*Negative chemical ionization*)

PCBs - Bifenilos policlorados (*polychlorinated biphenyls*)

PCDDs - Dioxinas (*polychlorinated dibenzodioxins*)

PCDFs - Furanos (*polychlorinated dibenzofurans*)

POPs – Poluentes Orgânicos Persistentes

RSD - Desvio padrão relativo

SFE - Extração por fluido supercrítico (*Supercritical Fluid Extraction*)

SPE - Extração em fase sólida (*Solid Phase Extraction*)

SIM - Monitoramento do íon selecionado (*Selected ion monitoring*)

USDA - *United States Department of Agriculture*

USEPA - *United States Environment Protection Agency*

UNEP - *United States Environment Programme*

WHO - *World Health Organization*

LISTA DE ANEXOS

ANEXO A – Produção de grãos de milho no estado do Rio Grande do Sul.....	119
ANEXO B – Locais das coletas das amostras no estado do Rio Grande do Sul.....	120
ANEXO C – Certificado de análise dos padrões de PCBs	122

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
2 OBJETIVOS	22
2.1 Objetivo Geral	22
2.2 Objetivos Específicos	22
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	23
3.1 Bifenilos Policlorados (PCBs)	23
3.1.1 Definição e histórico dos PCBs	23
3.1.2 Estrutura, nomenclatura e características físico-químicas	26
3.1.3 Fontes de Contaminação	27
3.1.4 Aspectos do metabolismo e da toxicidade dos PCBs	29
3.1.5 PCBs em alimentos	31
3.2 Milho	34
3.2.1 A cultura do milho: origem, classificação e constituição.....	34
3.2.2 Industrialização	36
3.2.3 Milho no Brasil e no Rio Grande do Sul.....	39
3.3 Método Analítico	42
3.3.1 Preparação da amostras	42
3.3.2 Cromatografia.....	42
4 ARTIGO CIENTÍFICOS	47
4.1 Artigo 1 – Determinação de bifenilos policlorados em milho através de extração em fase sólida seguida de cromatografia acoplada a espectrometria de massas	48
4.2 Artigo 2 – Declínio nos níveis de bifenilos policlorados em milho e farinha de milho do estado do Rio Grande do Sul, Brasil	75

5 DISCUSSÃO	97
6 CONCLUSÕES	105
7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	107
8 ANEXOS	119

1 INTRODUÇÃO

A revolução industrial ofereceu à sociedade incontáveis benefícios, no entanto, trouxe consigo vários inconvenientes, dentre eles a contaminação do meio ambiente e por consequência dos seres vivos. Várias são as substâncias maléficas aos seres vivos e ao ambiente, mas algumas delas têm destaque devido à alta toxicidade, são os chamados Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs). Quando estes contaminantes orgânicos e seus subprodutos atingem o meio ambiente, eles sofrem processos de volatilização, biodegradação, transferência para organismos, ligações entre as partículas do solo e percolação para o lençol freático (MESQUITA, 2004). Sabe-se que os POPs percorrem longas distâncias através da atmosfera, pois foram encontrados em lugares remotos do globo terrestre que nunca entraram em contato com tais substâncias (BREIVIK et al., 2004).

Neste contexto, encontram-se os bifenilos policlorados (PCBs). Substâncias químicas com diversas aplicações industriais devido a suas propriedades de resistência a altas temperaturas, baixa volatilidade, resistência à oxidação e redução, assim como a ação dos ácidos, álcalis e outros agentes químicos. Suas aplicações principais se deram em óleos para capacitores e transformadores elétricos, bombas de vácuo, turbinas de transmissão a gás, fluidos hidráulicos, resinas plastificantes, adesivos, plastificantes para borracha, sistemas de transferência de calor, óleos de corte, lubrificantes, conservantes para pesticidas e papel carbono (GERVEN et al., 2004). Além disso, possuem a característica de alta solubilidade em lipídios (WHO, 1993). Entretanto, as mesmas propriedades que tornaram estes compostos atrativos industrialmente levaram a sua persistência ambiental e a bioacumulação. Estima-se que 40% do total produzido entraram para o ambiente desde 1929 e que grande parte do restante ainda está em uso, principalmente em equipamentos eletro-eletrônicos antigos (PENTEADO et al., 2001). Portanto, o uso indiscriminado dos PCBs associado as suas características de estabilidade térmica e química, juntamente com a lipossolubilidade, que resulta na bioacumulação em tecidos gordurosos dos organismos vivos, levaram a sua difusão no meio ambiente, e, conseqüentemente, na cadeia alimentar.

O consumo de alimentos contaminados com PCBs é a via mais importante de exposição da população geral, chegando a contribuir com mais de 90% desta (WHO, 1993; LIEN & THEELEN, 1997; SAFE, 1998; SCHLUMMER et al., 1998). Os PCBs podem ser frequentemente detectados em diversos alimentos de origem vegetal e animal, destacando-se especialmente o pescado, a carne, os ovos e o leite (WHO 1993; PAUMGARTTEN et al., 2000). A maior concentração de PCBs, por serem compostos altamente lipofílicos e apolares, é encontrada em alimentos gordurosos. Concentrações menores podem estar presentes em verduras, cereais e frutas (AHMED, 1999; WELLS & BOER, 1999). Algumas espécies vegetais, embora possuam baixos valores de biomagnificação e não apresentem metabolização dos congêneres de PCBs, podem absorvê-los, refletindo desta forma o grau de contaminação do ambiente (CULLEN, 1996). Além disso, as plantas são o primeiro elo na cadeia alimentar e, portanto, o acúmulo desses compostos pelos vegetais é uma etapa importante para a transferência dos mesmos ao corpo humano (ZHANG, 2008). Neste contexto, encontra-se o milho, cereal mais consumido no mundo, e o segundo mais produzido em nosso País.

No Brasil, o papel do milho na alimentação humana e animal é importante. Mesmo antes da chegada dos colonizadores ao país, o milho já era cultivado e utilizado pelos indígenas. Além de ocupar uma área cultivada considerável, gerando empregos no setor agrícola, sua importância econômica é caracterizada pelas diversas formas de sua utilização, que vão desde a alimentação animal à indústria de alta tecnologia (EMBRAPA, 2008). Por ser um dos cereais de maior importância econômica no mundo, o milho é uma das espécies vegetais mais estudadas. Constantemente, programas de melhoramento estão buscando novos procedimentos para a obtenção de variedades mais produtivas e economicamente rentáveis. Além disso, muitos esforços vêm sendo realizados para entender sua origem e evolução. No entanto, o mesmo não se pode dizer em relação a estudos de contaminação. Apesar do uso intensivo de pesticidas no Brasil, há poucos trabalhos publicados na literatura sobre a ocorrência de poluentes orgânicos persistentes em plantas (FELIX et al., 2007), tais como o milho e seus produtos como a farinha.

Devido às consequências que estes resíduos tóxicos podem causar, tanto nos ecossistemas naturais como na saúde humana, o interesse pelo seu estudo nos

alimentos e no meio ambiente, é contínuo e crescente (MES et al., 1991; ZABIK et al., 1992; WHO 1993; PATANDIN et al., 1999; DIBER et al., 2000; BESTER et al., 2001; ABAD et al., 2002; COSTABEBER & EMANUELLI, 2003b; KIM et al., 2004). O aumento da preocupação e interesse sobre a segurança alimentar é um tema cada vez mais presente dentro da sociedade atual. Assim como é cada vez mais importante em metas governamentais não apenas no sentido de garantir que a população dos países tenha acesso a alimentos, mas que estes estejam dentro dos limites de resíduos químicos que causem prejuízo à população. Sendo assim, torna-se importante o monitoramento de PCBs, a fim de obter informações sobre possíveis contaminações em amostra, como o milho e a farinha de milho. Oferecendo às agências reguladoras evidências objetivas de que os métodos e sistemas são adequados para o uso proposto.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Determinar níveis de PCBs indicadores em amostras de milho e farinha de milho coletadas em diferentes regiões do estado do Rio Grande do Sul, Brasil, nos anos de 2009 e 2010.

2.2 Objetivos Específicos

* Validar os métodos de extração dos PCBs utilizando ultrassom e *clean-up* com extração em fase sólida, seguida de cromatografia a gás acoplada de espectrometria de massas;

* Identificar e quantificar resíduos de PCBs em amostras de milho e farinha de milho do estado do Rio Grande do Sul, através de espectrometria de massas nos modos impacto de elétrons (EI) e ionização química negativa (NCI);

* Associar os dados das contaminações nas amostras, relacionando os níveis detectados com a região de coleta, ano de produção, teor de gordura e tipo de farinha.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Bifenilos Policlorados (PCBs)

3.1.1 Definição e histórico dos PCBs

Os bifenilos policlorados são uma classe de compostos organoclorados formados por dois anéis de benzeno unidos por uma ligação de carbono-carbono, com 1 a 10 átomos de cloro substituindo os átomos de hidrogênio, nas posições 2-6 e 2'-6' dos anéis aromáticos. A sua fórmula geral é $C_{12}H_{(10-n)}Cl_n$, onde $1 \leq n \leq 10$ e sua massa molecular varia entre 188 e 494 $g\ mol^{-1}$ (WHO, 2003) (Figura 1).

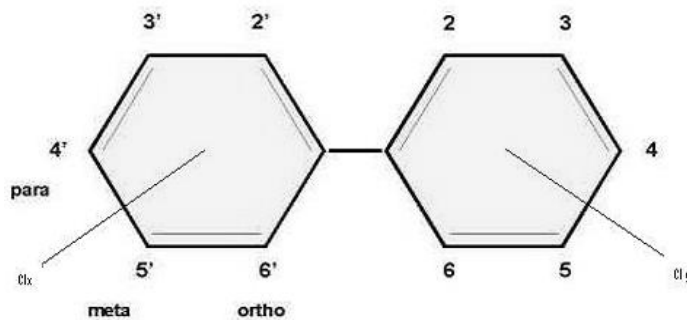


Figura 1 – Bifenilos policlorados, $x, y \leq 5$. Fonte: (ARNOLD et al., 2003).

Os PCBs foram sintetizados pela primeira vez antes da virada do século XX, por volta de 1881, por Schmidt e Schulz, mas só em 1929 começaram a ser produzidos em escala industrial (TANABE, 1988). A necessidade de encontrar um óleo de resfriamento e isolante estável e eficiente para equipamentos elétricos levou ao crescimento de sua produção. Desta forma, o pico de sua produção ocorreu em 1970, com um volume de 50.000 toneladas (PENTEADO & VAZ, 2001). Estima-se que sua produção total girou em torno de 1,3 milhões de toneladas, sendo usado em quase todos os países do mundo (Figura 2). Por várias décadas esses compostos foram utilizados como fluidos de troca térmica em trocadores de calor, lubrificantes em equipamentos hidráulicos e principalmente como óleos dielétricos em transformadores e capacitores elétricos (USEPA, 2000). Com menos intensidade estiveram presentes na formulação de adesivos, tintas, pesticidas, corantes e graxas

(BORJA et al., 2005). Para fins práticos, os PCBs foram misturados com outros fluidos (*carrier fluids*) tais como clorobenzenos ou óleo mineral (KUEPER et al., 2003). Dessa forma, dependendo do país onde foram fabricados ou comercializados, essas misturas receberam denominações distintas (Tabela 1). O produto Aroclor da Monsanto foi o mais difundido no mundo inteiro (BREIVIK, 2002). Uma consequência direta deste fato é que, em ambientes contaminados, quase sempre é possível relacionar a composição de congêneres de PCBs com algum produto desta empresa.

Tabela 1 – Nomes comerciais dos PCBs em diferentes países

Marca	Fabricante	País de origem
Aroclor	Monsanto	EUA
Piranol	General Electric	EUA
Clophen	Bayer	Alemanha
Aceclor	ACEC	Bélgica
Piroclor	Monsanto	Reino Unido
Kaneclor	Kanegafuchi/Mitsubichi	Japão
Piralene	Prodelec	França
Phenoclor	Prodelec	França

Fonte: (AMBICARE, 2005).

Em 1966, o químico suíço Sören Jensen, em pesquisa com pesticidas em solos, determinou que os PCBs eram contaminantes ambientais e desde então a utilização dos mesmos começou a ser restringida no mundo todo. No Japão, a sua produção e uso foram proibidos em 1972. No mesmo ano, a Suécia restringiu a sua utilização e produção, os Estados Unidos o fizeram em 1977, a Noruega em 1980, a Finlândia em 1985 e a Dinamarca em 1986 (WHO, 1976; WHO, 2003). Em nosso país as restrições para seu uso foram implementadas através da Portaria Interministerial 19, de 2 de janeiro de 1981. Essa portaria estabelece, entre outras coisas, a proibição da fabricação, comercialização e uso de PCBs em todo território nacional. Entretanto, permite que os equipamentos já instalados continuem em funcionamento até sua substituição integral ou a troca do fluido dielétrico por produto isento de PCBs. Esta portaria também proíbe o descarte de PCBs ou produtos

contaminados em cursos d'água, exposição de equipamentos contendo PCBs a intempéries, além de regulamentar o local de instalação dos equipamentos que contenham PCBs que ainda estejam funcionando. Além dessa Portaria, há a Instrução Normativa 001 SEMA/STC/CRC, do Ministério do Interior, de 10 de junho de 1983, que disciplina as condições a serem observadas no manuseio, armazenagem e transporte de PCBs e/ou resíduos contaminados. Há também, a norma ABNT/NBR 8371/94 que estabelece orientação para o manuseio, embalagem, rotulagem, armazenagem e transporte de PCBs para transformadores e capacitores, níveis de contaminação permitidos em equipamentos novos, equipamentos em operação, além de valores para manutenção e descarte dos fluídos e equipamentos elétricos que contenham PCBs.

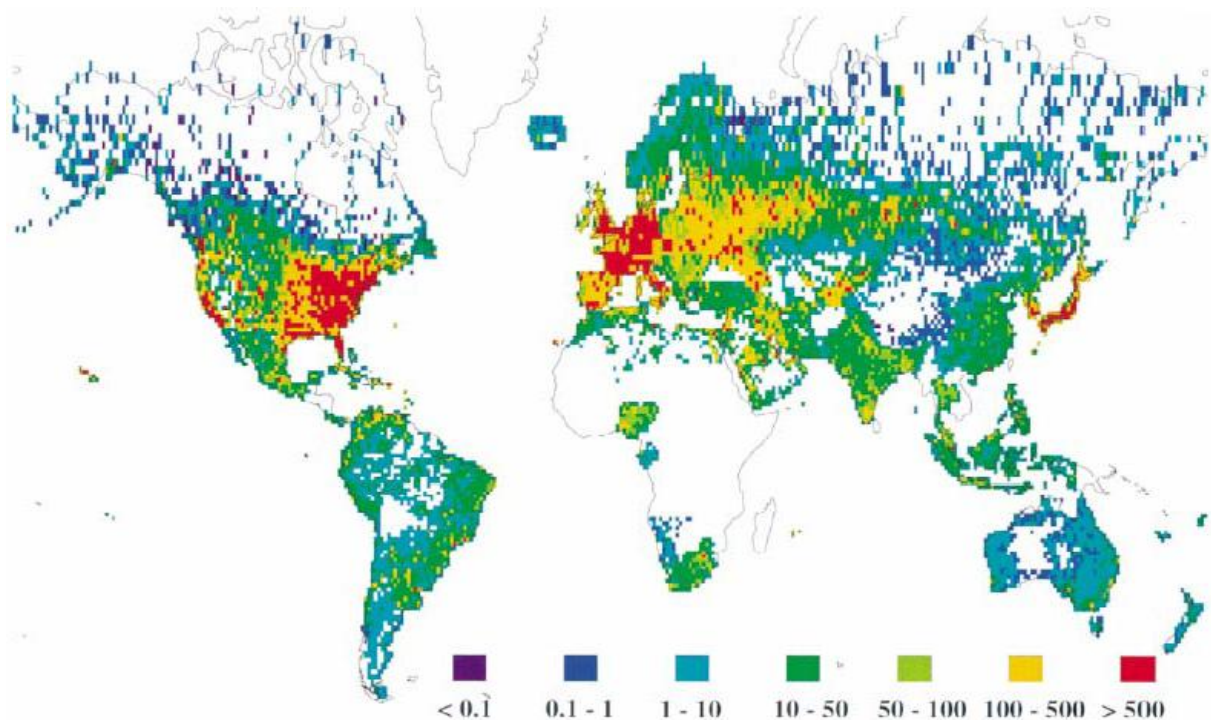


Figura 2 – Estimativa do uso acumulado de PCBs ao redor do mundo (em toneladas). Fonte: (BREIVIK, 2002).

Os PCBs foram incluídos entre os 10 poluentes com maior biotoxicidade no mundo (PELLIZARI, 1997) e compõem a lista de 12 poluentes prioritários do Programa das Nações Unidas para o Meio Ambiente (UNEP, 2003), a qual visa a redução e/ou eliminação dos poluentes orgânicos persistentes de elevada

toxicidade. Encontram-se difundidos globalmente como poluentes do ar, da água, dos solos e dos alimentos.

3.1.2 Estrutura, nomenclatura e características físico-químicas

Por apresentarem diversas substituições possíveis em relação à quantidade de átomos de cloro, estas moléculas variam de 1 a 10 átomos, podem ser obtidos até 209 estruturas diferentes denominadas de congêneres (WHO, 1993; PENTEADO & VAZ, 2001; ARNOLD et al., 2003; PEREIRA, 2004). Atualmente, 130 congêneres têm sido identificados em produtos comerciais (WHO, 1993; ARNOLD et al., 2003), porém a maioria das misturas comerciais contém somente de 50 a 90 diferentes congêneres (ARNOLD et al., 2003). Os anéis de benzeno podem girar em torno da ligação que os une existindo duas configurações extremas: a planar ou coplanar, onde os anéis estão no mesmo plano e a não planar, onde os anéis assumem uma conformação perpendicular. O grau de rotação dos anéis de benzeno é determinado pelo impedimento estérico produzido pelos átomos de cloro nas posições *orto* (2,2', 6,6') e o aumento das substituições nesta posição resulta em uma progressiva obstrução rotacional. O impedimento estérico deve-se a repulsão eletrostática dos átomos de cloro. A configuração não planar é gerada por múltiplas substituições dos átomos de hidrogênio por átomos de cloro nesta posição. Inversamente, os PCBs sem substituições na posição *orto* e alguns PCBs com uma substituição na posição *orto* são considerados planares, diferentemente designados como coplanares ou mono *orto* coplanares (ATSDR, 1998, WHO, 2003). Devido aos efeitos à saúde, os congêneres considerados mais tóxicos são os coplanares, também denominados de PCBs semelhantes às dioxinas (WHO, 2003).

A nomenclatura para os 209 congêneres de PCBs, adotada pela IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*), considera a posição relativa dos átomos de cloro na estrutura bifenil, sendo a posição 1 reservada para a ligação entre os anéis. A partir desta, no anel da esquerda, as posições são numeradas em ordem crescente no sentido anti-horário. No outro anel as posições são numeradas da mesma forma, mas em sentido horário, adicionando-se um índice para diferenciar do outro anel (PENTEADO & VAZ, 2001; PEREIRA, 2004). Entretanto, devido à

dificuldade de classificação destes compostos através do método proposto por este órgão, Ballschmiter & Zell (1980) propuseram uma nova sistemática onde os congêneres seriam numerados de 1 a 209 (PEREIRA, 2002). Na Tabela 2 apresentam-se alguns exemplos para esta nomenclatura.

Tabela 2 – Sistema de identificação dos congêneres de PCBs

Nº Cloros	Usual	IUPAC
3	PCB 28	2,4,4' - triclorobifenil
4	PCB 77	3,3',4,4' – tetraclorobifenil
5	PCB 52	3,3',4,4',5 – pentaclorobifenil
7	PCB 126	2,2', 3,4,4',5,5' – heptaclorobifenil
10	PCB 209	2,2',3,3',4,4',5,5',6,6' - decaclorobifenil

Fonte: PENTEADO & VAZ (2001).

Os PCBs são compostos pouco solúveis em água, e a solubilidade decresce com o aumento do número de átomos de cloro na molécula, assim como seu ponto de fusão e ebulição. São facilmente solúveis em carboidratos, gorduras e outros compostos orgânicos, sendo rapidamente absorvidos por tecidos gordurosos (WHO, 1993). Dentre as propriedades físico-químicas destacam-se a resistência a altas temperaturas, baixa volatilidade, baixa constante dielétrica, resistência à oxidação e redução, a ácidos e álcalis. Justamente por estas propriedades, os PCBs foram amplamente utilizados na indústria. Existem na forma de líquidos (óleos) e sólidos (resinas e graxas), com coloração variando do incolor a amarelo claro. Não possuem sabor nem cheiro. Por apresentarem todas essas características, os PCBs são compostos altamente resistentes a degradação e uma vez liberados no ambiente, tendem a se acumular nos organismos e também se biomagnificar ao longo da cadeia alimentar.

3.1.3 Fontes de contaminação

Em 1966, a presença de resíduos de PCBs na biota foi descoberta após a pesquisa realizada por Sören Jensen em um programa de investigação de acúmulo

do inseticida p,p'-DDT no ambiente (BOON, 1986). Desde então, investigações em muitas partes do mundo têm revelado ampla distribuição dos PCBs em amostras ambientais, sendo o transporte atmosférico o principal mecanismo para a dispersão global desses compostos (LANG, 1992; TANABE et al., 1987). A contaminação ambiental por PCBs ocorre principalmente a partir do descarte de equipamentos elétricos antigos em locais não apropriados para este fim, contaminando o solo e as águas. Recentemente, em vistoria de rotina realizada pelo IBAMA nas dependências do porto de Rio Grande/RS, dentro de um armazém, foram encontradas 21 toneladas do óleo Ascarel[®] (denominação comercial no Brasil) em tonéis e transformadores desativados (CORREIO DO POVO, 2010).

A contaminação também ocorre durante a incineração do lixo industrial e municipal, pois os incineradores não são efetivos em sua destruição. Os PCBs são inflamáveis a altas temperaturas, e os produtos de sua combustão podem ser muito mais perigosos do que o produto original, como os furanos (PCDFs). A combustão dos produtos de grau técnico contendo PCBs e benzenos clorados, como os fluídos dielétricos, pode também produzir as dioxinas (PCDDs) (WHO, 1993; WHO, 2003; PEREIRA, 2004). No ambiente marinho, as principais formas de entrada destes contaminantes ocorrem pela descarga dos rios, pelo escoamento continental em áreas costeiras e pela precipitação atmosférica nas áreas oceânicas (SOLÉ et al., 2001). Enquanto em ambiente dulcícola as principais formas de entrada destes contaminantes ocorrem pelo despejo direto do poluente, pelo escoamento continental e pela precipitação atmosférica (AZEVEDO e SILVA et al., 2007).

As contaminações das águas e do solo são problemas que se encontram interligados. Após entrarem no ambiente aquático, somente uma pequena quantidade dos PCBs é dissolvida, o restante permanece aderido a partículas orgânicas, sedimentos e animais aquáticos (KILE et al., 1995). Os PCBs são altamente absorvidos no solo, ligando-se à matéria orgânica, devido à sua alta hidrofobicidade (SEDLAK & ANDREN, 1994). A migração de PCBs do solo para a água do lençol freático é pouco favorecida pela grande estabilidade da ligação entre estes compostos e o solo (WHO, 2003). Inúmeros são os casos relatados em todo mundo de contaminação dos cursos de água (PENTEADO, 2000) e solos por PCBs (BACKE et al., 2004), concentrados principalmente em regiões industrializadas.

Os bifenilos policlorados, presentes no solo e em águas superficiais, entram na atmosfera pela volatilização. Uma vez na atmosfera estará presente tanto na fase vapor, quanto adsorvida no material particulado. Através de ciclos de volatilização, condensação e deposição, estes compostos podem ser transportados pela atmosfera de áreas de baixa e média latitude em direção a áreas de alta latitude, formando um gradiente translatitudinal conhecido por “efeito de destilação global” (ATSDR, 2000). Segundo Rahuman et al. (2000), os PCBs podem percorrer longas distâncias quando entram em contato com o ar, podendo permanecer por alguns dias. Este fato é comprovado pela presença desses compostos em regiões polares, como o Ártico, que nunca tiveram contato com esses produtos.

As proporções da dispersão e da transferência destes compostos para os animais, vegetais e seres humanos são difíceis de serem estimadas (WHO, 1993). O homem pode contaminar-se com os PCBs de várias formas: a partir do meio ambiente, pela ingestão de água e alimentos contaminados, por fenômenos de contaminação acidental dos alimentos, por inalação, por absorção dérmica a partir de um ambiente contaminado, por processos de combustão inadequados de resíduos industriais e urbanos e por acidentes com transformadores elétricos que contaminam a água e o solo. Todas estas exposições podem ocasionar intoxicações crônicas (COSTABEBER, 1999). As vias de entrada dos PCBs no organismo humano são através do trato gastrointestinal, dos pulmões ou da epiderme (WHO, 1993). A mais importante via de exposição humana aos PCBs é a ingestão de alimentos contaminados, principalmente de pescados (COSTABEBER & EMANUELLI, 2003a). Segundo Ross (2004), a exposição humana aos PCBs ocorre principalmente pela ingestão acidental de alimentos com baixos níveis de contaminação.

3.1.4 Aspectos do metabolismo e da toxicidade dos PCBs

Após a entrada no organismo, o mecanismo e a cinética da biotransformação dos PCBs dependem de inúmeros fatores, incluindo a capacidade metabólica do organismo e a estrutura do congênere de PCB (MAERVOET et al., 2004). A biotransformação e o grau de persistência dependem do número de átomos de cloro

presentes na molécula, assim como da posição dos mesmos. A presença de dois carbonos adjacentes não halogenados facilita o metabolismo, pois os PCBs mais clorados possuem menos sítios disponíveis para o ataque metabólico. Os compostos mais clorados são mais persistentes e se acumulam nos tecidos gordurosos, enquanto que as formas menos cloradas podem ser metabolizadas e excretadas (WHO, 1993; COSTABEBER & EMANUELLI, 2003a).

Os mecanismos biológicos excretadores são dependentes da metabolização dos PCBs com formação de compostos mais polares (WHO, 1993). Por isso, os PCBs necessitam, para sua eliminação, sistemas metabólicos que os transformem em moléculas hidrossolúveis (COSTABEBER & EMANUELLI, 2003a). Além disso, os PCBs podem ser facilmente transformados em metabólitos mais polares, com a adição de grupos hidroxil e metilsulfona, os quais não são prontamente excretados, acumulando-se em tecidos e fluídos biológicos específicos. Estes metabólitos persistentes têm sido identificados em humanos e em espécies animais selvagens. Uma quantidade de enzimas P450, especialmente as da família CYP2B, são reconhecidas por estarem envolvidas com a formação destes metabólitos (WHO, 2003).

Os compostos mais lipofílicos, como são a maioria dos PCBs de maior grau de cloração, são absorvidos principalmente no sistema intestinal. Os congêneres menos clorados entram na circulação hepático portal e são submetidos ao metabolismo primário em grandes quantidades e excretados (COSTABEBER, 1999). As principais rotas de eliminação dos PCBs são as fezes, urina e o leite materno (WHO, 2003).

Os PCBs provocam uma ampla variação de efeitos tóxicos, sendo que as respostas tóxicas são dependentes da via e duração de exposição da mistura de PCBs; da espécie, considerando a idade e sexo do indivíduo e das características da mistura, o que inclui a sua pureza, a quantidade de cloro e a distribuição relativa de congêneres (HOIVIK & SAFE, 1998). Sendo assim, o grau de cloração dos PCBs não altera somente suas propriedades químicas, mas também as biológicas e toxicológicas (MARTINEZ MAGAÑA, 1994). De uma forma resumida, pode-se dizer que os efeitos tóxicos dos PCBs dependem do número e da posição dos átomos de cloro na molécula, além da sensibilidade de cada indivíduo. Os congêneres

coplanares, chamados também de PCBs semelhantes às dioxinas, são os mais tóxicos (WHO, 1993; WHO, 2003; PEREIRA, 2004). Segundo Bures et al. (2008), as diferentes configurações químicas dos PCBs com menores e maiores clorações, especialmente pelas estruturas dos bifenilos com isômeros tri-orto e tetra-orto, podem ser uma séria razão para os diferentes efeitos à saúde humana.

Em uma revisão sobre a toxicidade dos PCBs, Safe (1984) listou os seguintes sintomas: indução de enzimas; níveis de vitamina A diminuídos; diminuição dos elementos linfóides do sangue; atrofia do timo e do baço; imunossupressão; cloracne; alopecia (perda de cabelos em áreas do couro cabeludo); edema; hiperqueratose (engrossamento da pele); blefarite (inflamações das pálpebras); hiperplasia do revestimento epitelial dos ductos biliares extra-hepáticos, da vesícula biliar e do trato urinário; hepatomegalia; danos ao rim, incluindo necrose; hemorragia; hepatotoxicidade (alteração do metabolismo das porfirinas interferindo na formação das hemáceas); promoção de tumores; alteração dos níveis de esteróides e hormônios tireoidianos; alterações do sistema reprodutivo feminino e masculino, incluindo irregularidades menstruais, concepção reduzida (dificuldade em engravidar), indução de aborto em fases iniciais da gravidez, sangramentos menstrual e puerperal excessivos, anovulação, atrofia testicular, espermatogênese diminuída, teratogênese e alterações do desenvolvimento embrionário. Outros autores sugerem que a exposição humana aos PCBs está associada com a ocorrência de câncer de mama (COSTABEBER et al., 2000; LUCENA et al., 2001; COSTABEBER, 2001) e o desenvolvimento de malformações congênitas em recém-nascidos (MOHR et al., 2011).

3.1.5 PCBs em alimentos

A utilização dos PCBs nos diversos processos industriais originou uma ampla contaminação do meio ambiente, e, conseqüentemente, de todos os alimentos que fazem parte da cadeia alimentar. A alimentação é a principal fonte de contaminação humana a estes poluentes, representa mais de 90% da mesma, se comparada a outras vias como a inalação e contato com a pele (BORDAJANDI et al., 2006). Estes compostos podem sofrer um processo de bioconcentração, no qual ocorre um

acúmulo resultante da absorção e eliminação simultâneas, ou uma biomagnificação, resultado do processo de acúmulo da concentração de PCBs nos tecidos dos organismos vivos na passagem de cada nível trófico da cadeia alimentar (PENTEADO & VAZ, 2001). Fato preocupante para exposição do homem, já que este está no topo da cadeia alimentar, e comprovado pela presença destes contaminantes em seus tecidos.

Os PCBs são frequentemente detectados em diversos alimentos de origem animal e vegetal. Alguns autores relatam que o consumo de peixes é a principal fonte de exposição humana a contaminantes ambientais como os PCBs (ALCOCK et al., 1998, EPA, 1999a, EPA, 1999b, SMITH & GANDOLLI, 2002, SIDHU, 2003, STORELLI et al., 2003). Além deste alimento, destacam-se a carne, os ovos e a gordura do leite (PAUMGARTTEN et al., 2000).

Sendo a ingestão de alimentos contaminados a principal via de exposição humana aos PCBs, muitos estudos têm sido feitos para detectar os níveis de contaminação de alimentos por estes compostos. Diversos trabalhos, em diferentes países, têm demonstrado a contaminação dos alimentos. Zucatto et al. (2008) comparou amostras de diferentes países, demonstrando que alimentos provenientes da Itália possuem maior contaminação por PCBs quando comparados aos provenientes da Bélgica, Espanha e Portugal, com concentrações totais de PCBs de 40,4 ng g⁻¹ no salmão, de 11,48 ng g⁻¹ na manteiga e de 0,41 ng g⁻¹ no repolho. No Canadá, Mes et al. (1991) analisaram amostras de carne, encontrando concentrações variadas de PCBs em carne bovina, suína e de cordeiros. Voorspoels et al. (2008) investigaram diversos alimentos a fim de determinar os níveis de ingestão de PCBs na dieta da população Belga, sendo que os peixes analisados continham a maior quantidade de PCBs, porém com uma alta variação entre as espécies investigadas. Nesta mesma pesquisa, o peixe contribuiu com 50%, produtos cárneos com 20% e produtos lácteos e ovos com menos de 20% do total da ingestão diária de PCBs. Erdogrul (2007) analisou amostras de mel provenientes de Kahramanmaras, Turquia, encontrando o PCB congênere 28 em todas as amostras analisadas.

Na Inglaterra, cenouras e batatas orgânicas analisadas apresentaram contaminações que variaram de 0,83 a 2,68 ng g⁻¹, sendo o congênere 138 o mais

abundante (ZOHAIR et al., 2006). Grassi et al. (2010) em análises de frutas e vegetais provenientes de áreas industriais do norte da Itália, encontrou maiores contaminações em amostras de alecrim, cerca de 10-100 vezes maiores que outros vegetais, como verduras, legumes e frutas, sugerindo que estas plantas sejam “sentinelas” da contaminação ambiental por PCBs. Em um estudo recente, Qin et al. (2011) analisaram amostras de supermercados de Hong Kong. As maiores contaminações de PCBs em produtos cárneos foram: fígado de ganso ($4,17 \text{ ng g}^{-1}$), pele de frango ($3,01 \text{ ng g}^{-1}$) e peito de frango ($3,06 \text{ ng g}^{-1}$). Na mesma pesquisa, dentre os óleos comestíveis, os óleos de peixe tiveram maior concentração destes compostos quando comparados com óleos vegetais. Em uma avaliação na população de Shenzhen na China, Zhang et al. (2008) constataram que os vegetais e os cereais são responsáveis por 12% da ingestão diária de dioxinas e bifenilos policlorados, enquanto o maior responsável, contribuindo com 44%, foi o peixe. No mesmo sentido Bakker et al. (2008), relataram que os grãos e vegetais foram responsáveis por 9% da ingestão de dioxinas e PCBs no ano de 2004 na Holanda. Neste estudo, foi observado que, novamente, os peixes se mostraram os grandes vilões, contribuindo com 38% da ingestão diária. Em uma estimativa na população sueca, Törnkvist et al. (2011) confirmaram o peixe com grande responsável pela ingestão diária com 64%, enquanto a carne, os produtos lácteos, ovos e a gordura contribuíram com 17%, 14%, 1% e 4%, respectivamente. Porém, neste estudo, não foram encontradas amostras positivas para produtos a base de cereais, frutas e legumes.

No Brasil, há poucos estudos relacionados à presença de PCBs em alimentos. Dentre a bibliografia consultada, nenhum estudo que envolvesse as matrizes alvos deste estudo (milho e farinha de milho) foi encontrado. Entretanto, trabalhos envolvendo outros alimentos provenientes do Rio Grande do Sul foram realizados anteriormente. Amostras de leite apresentaram uma concentração total média de PCBs de $3,5 \text{ ng g}^{-1}$ de gordura para leite cru, $15,5 \text{ ng g}^{-1}$ de gordura para leite pasteurizado e $2,4 \text{ ng g}^{-1}$ de gordura para leite UHT (HECK et al., 2007), enquanto que amostras de queijo apresentaram valores totais de PCBs entre 30,84 e $33,82 \text{ ng g}^{-1}$ de gordura (SANTOS et al., 2006). Já para carne e produtos cárneos, também provenientes do Rio Grande do Sul, apresentaram uma concentração total

média de PCBs de $2,8 \text{ ng g}^{-1}$ de gordura para carne bovina, $31,1 \text{ ng g}^{-1}$ de gordura para salsicha e $3,2 \text{ ng g}^{-1}$ de gordura para salame (COSTABEBER et al., 2006). Em outro estudo recente, realizado com amostras de soro de cordão umbilical de bebês nascidos no mesmo estado, uma elevada contaminação foi detectada (MOHR et al., 2011), confirmando que ainda existem fontes importantes de contaminação na região estudada.

3.2 Milho

3.2.1 A cultura do milho: Origem, classificação e constituição

O milho (*Zea mays* L.) é uma espécie diplóide e alógama, pertencente à família Poacea (Gramineae), originado de sete a dez mil anos atrás, no México e na América Central, sendo considerada uma das mais antigas plantas cultivadas. Sua origem tem sido bastante estudada e várias hipóteses foram propostas, porém as mais consistentes são aquelas que demonstram que o milho descende do teosinte, gramínea com várias espigas sem sabugo que pode cruzar naturalmente com o milho e produzir descendentes férteis (GALINAT, 1995).

Os primeiros registros do cultivo de milho, datados de 7.300 anos, foram encontrados em pequenas ilhas próximas ao litoral do México. Seu nome de origem caribenha significa “sustento da vida” (EMBRAPA, 2008). Estudos arqueológicos fornecem elementos que permitem afirmar que o milho já existia como cultura há cerca de quatro mil anos e que já apresentava as principais características morfológicas que o definem botanicamente na atualidade. Foi alimento básico de várias civilizações ao longo do tempo, tais como os Maias, Astecas e Incas que reverenciavam o cereal na arte e religião e grande parte de suas atividades diárias eram ligadas ao seu cultivo (GUIMARÃES, 2007).

Com a descoberta da América e as grandes navegações do século XVI, a cultura do milho se expandiu para outras partes do mundo, sendo provavelmente a mais importante planta comercial com origem americana. Logo depois do descobrimento da América, foi levado para a Europa, onde era cultivado em jardins, até que seu valor alimentício se tornou conhecido. Hoje, é cultivado e consumido em

todos os continentes e sua produção é atualmente a segunda maior do mundo perdendo apenas para o arroz (ABIMILHO, 2006).

O grão de milho é classificado botanicamente como uma cariopse, apresentando basicamente três partes: pericarpo, endosperma e embrião (Figura 3). O pericarpo é a camada mais fina e resistente, que constitui a parede externa da semente rica em fibra (CALLEGARO et al., 2005). O endosperma é a parte mais volumosa do grão, envolvida pelo pericarpo, e constituído de substância de reserva, basicamente o amido. A porção mais externa do endosperma e em contato com o pericarpo, denomina-se camada de aleurona, rica em proteínas e enzimas que desempenham papel importante no processo de germinação. O embrião encontra-se ao lado do endosperma, é parcialmente envolvido por ele, tendo sua composição formada em sua maior parte de óleo (SHUKLA & CHERYAN, 2001). Os componentes anatômicos do milho são endosperma (82,3%), embrião (11,5%) e pericarpo (5,3%) (ALESSI et al., 2003).

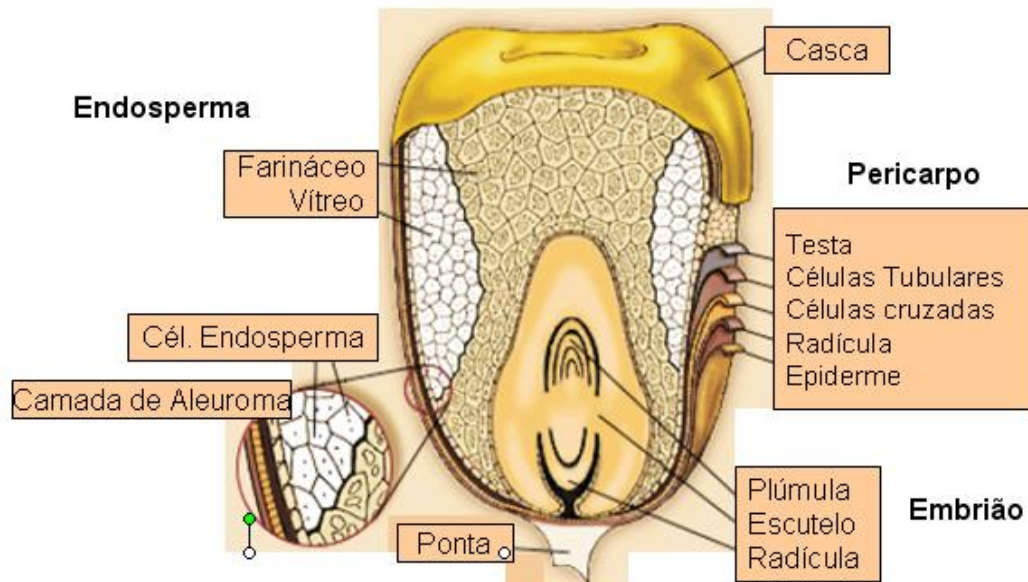


Figura 3 - Anatomia do grão de milho e suas partes. Fonte: adaptado de EMBRAPA (2006).

Considerado muito energético, o milho traz em sua composição vitaminas do complexo A e B, proteínas, gorduras, carboidratos, cálcio, ferro, fósforo, amido e suas cascas são ricas em fibras. Na Tabela 3 estão apresentadas às composições nutricionais para o grão do milho e seus componentes anatômicos. Cada 100

gramas do alimento têm cerca de 360 Kcal, sendo 70% de glicídios, 10% de proteínas e 4,5% de lipídeos. É um dos alimentos mais nutritivos que existem. Na forma pura ou como ingredientes de outros produtos é uma importante fonte energética para o ser humano (CAPOBIANGO et al., 2006). Ao contrário do trigo e do arroz, que são refinados durante seus processos de industrialização, o milho conserva sua casca, que é rica em fibras, fundamental para a eliminação das toxinas do organismo humano (ABIMILHO, 2006).

Tabela 3 – Composição nutricional do grão de milho e de seus componentes

Grãos e seus componentes	Amido	Proteína	Lipídeos %	Açúcares	Cinzas
Grão inteiro	71,5	10,3	4,8	2,0	1,4
Endosperma	86,4	9,4	0,8	0,6	0,3
Embrião	8,2	18,8	34,5	10,8	10,1
Pericarpo	7,3	3,7	1,0	0,3	0,8

Fonte: Tosello (1987).

3.2.2 Industrialização

Além de ocupar uma área cultivada considerável no território brasileiro, gerando empregos no setor agrícola, o milho, devido não só as suas qualidades nutricionais, mas também a sua versatilidade, é importante pela sua utilização direta na alimentação humana e de animais, bem como na indústria para a produção de cola, amido, óleo, álcool, flocos alimentícios, bebidas e de muitos outros produtos importantes no cotidiano (GUIMARÃES, 2007).

A múltipla utilização do milho pode ser ilustrada por exemplos interessantes e pouco conhecidos. Um deles é a água usada para amolecer o cereal, que serve como meio de fermentação para a produção de penicilina e estreptomicina, tendo ainda outras aplicações no campo farmacêutico. Outro é o xarope de glicose de milho usado na fabricação de cosméticos, xaropes medicinais, graxas e resinas. Já nas fábricas de aviões e veículos, os derivados de milho são utilizados nos moldes de areia para a fabricação de peças. Também na extração de minério e petróleo o

milho está presente, assim como em outras áreas pouco divulgadas, como as de explosivos, baterias elétricas, cabeças de fósforo, etc (ABIMILHO, 2006).

Do total produzido no Brasil, cerca de 70% são destinados à alimentação animal, utilizados principalmente para a fabricação de ração. Somente 15% da produção nacional do milho se destinam ao consumo humano e isso se deve principalmente à falta de informação sobre suas possibilidades de uso e uma maior divulgação de suas qualidades nutricionais. É comumente consumido como milho verde *in natura*, produto farináceo e constitui ingrediente básico de uma série de produtos industrializados formulados (ALESSI et al., 2003). Cinquenta gramas de farinha de milho fornecem (em proteínas) valores iguais a um pão francês de mesmo peso, mas com 33% a mais de calorias (ABIMILHO, 2006).

A industrialização pode ocorrer através de processos de moagem seca (Figura 4) e úmida (Figura 5). Este último é atividade de longa tradição no Brasil, tendo-se iniciado no passado com a moagem caseira de milho não degerminado para se obter o fubá integral, passando para o estágio de pequenos moinhos regionais, até se transformar em setor industrial de destaque com alta tecnologia (SETTI, 1992). Na moagem a seco, os produtos são: o fubá, a canjica, a quirera e os farelos para ração. Todos são obtidos do endosperma e só se diferenciam pelo tamanho da partícula. Como subproduto da canjica resta o germe, destinado às fábricas de óleo (PALOMINO, FONSECA, OETTERER, 1997). Na moagem úmida, os derivados principais são o amido e seus subprodutos. O amido é o produto mais importante, seja para uso direto ou como matéria-prima para um número muito grande de outros derivados. Os subprodutos possuem alto valor comercial: o germe é destinado à fabricação de óleo, a água de maceração é usada nas indústrias de fermentação e de ração, a proteína e o farelo na preparação de rações (PALOMINO, FONSECA, OETTERER, 1997).

A farinha de milho é muito utilizada na culinária brasileira em várias formas e o seu sabor é muito bem aceito pelos consumidores. É um produto de baixo custo e amplamente disponível no mercado (ALVIM et al., 2002). Resulta da moagem dos grãos do cereal. O objetivo da moagem é quebrar o grão, retirar o máximo de endosperma (livre de farelo e germe) e reduzi-lo a farinha. Esta separação é

possível em função das diferentes propriedades físicas do farelo, do germe e do endosperma.



Figura 4 – Processo de moagem seca do milho. Fonte: ABIMILHO (2006).

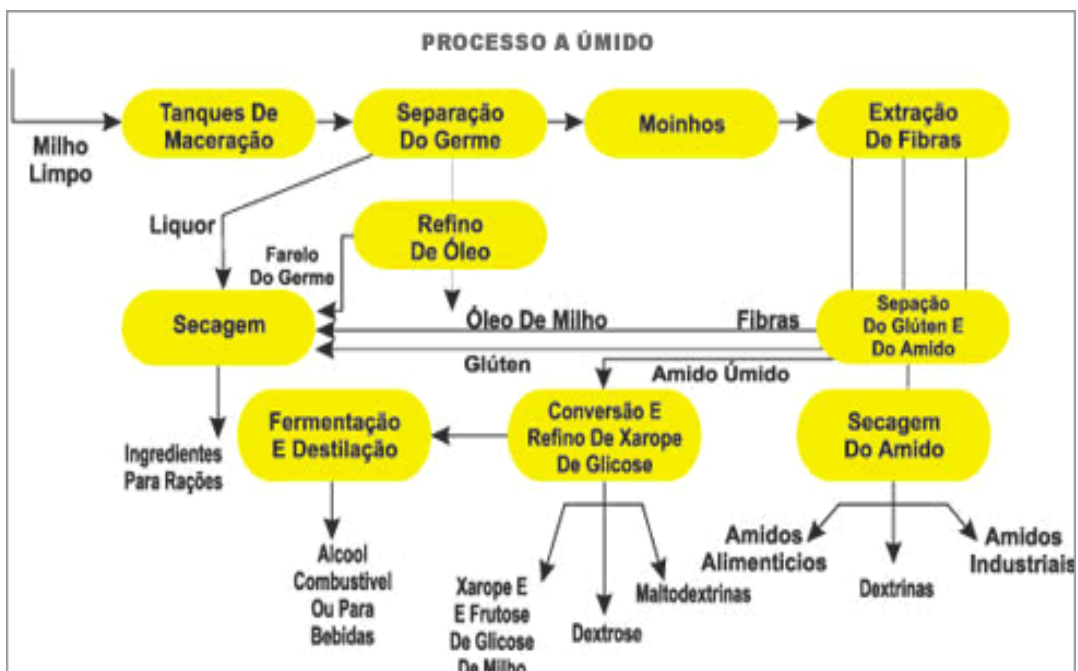


Figura 5 – Processo de moagem úmida do milho. Fonte: ABIMILHO (2006).

O farelo é resistente devido seu alto conteúdo de fibra, enquanto o endosperma é friável. O germe, em função do seu alto conteúdo de óleo, forma flocos ao passar entre os rolos de redução. Além destas diferenças físicas, as

partículas das várias partes do grão diferem em densidade. Isto torna possível sua separação pelo emprego de correntes de ar. As diferenças em friabilidade do farelo e do endosperma são acentuadas pelo condicionamento, que envolve adição de água até o nível ótimo de umidade, realizado antes da moagem. A adição de água enrijece o farelo e amacia o endosperma, facilitando ainda mais a separação das frações (POMERANZ, 1987).

A produção da farinha de milho compreende as etapas de limpeza, condicionamento, degerminação (opcional), moagem, classificação e embalagem (HOSENEY, 1991). Fatores como variedade do milho, umidade de colheita, temperatura de secagem e tempo de estocagem influenciam no resultado do processamento (KENT, 1983). A etapa de limpeza é realizada pela ação combinada de ventiladores e peneiras, enquanto a moagem pode ser efetuada em moinhos de pedras ou de rolos (EL-DASH, 1994). A degerminação, etapa que representa a retirada do germe e do pericarpo dos grãos de milho por meios abrasivos, visa garantir melhor textura e maior tempo de conservação da farinha (ALEXANDER, 1987). Quando não realizada a degerminação a farinha de milho é denominada integral, tendo também influência na quantidade de gordura da mesma.

3.2.3 Milho no Brasil e no Rio Grande do Sul

No Brasil, o cultivo de milho vem desde antes da chegada dos europeus. Os índios, principalmente os guaranis, tinham o cereal como principal ingrediente da sua dieta. Com a chegada dos portugueses, o consumo aumentou e novos produtos à base de milho foram incorporados aos hábitos alimentares dos brasileiros. No final da década de 1950, graças a uma grande campanha a favor do trigo, o cereal passou a perder espaço na mesa brasileira (ABIMILHO, 2006). Atualmente embora o nível de consumo do milho venha crescendo, ainda está longe de ser comparado a países como o México e aos da região do Caribe (WIKIPÉDIA, 2011).

Apesar de ser cultivado em todas as unidades da federação e estar entre os maiores produtores, sendo o terceiro produtor mundial após os Estados Unidos e a China, o Brasil não se destaca entre os países com maior nível de produtividade, devido ao grande número de pequenos produtores que cultivam esse cereal. A

importância desta cultura ainda está relacionada ao aspecto social, pois a maioria dos produtores não são altamente tecnificados, não possuem grandes extensões de terras, mas dependem dessa produção para viver. Neste contexto, pode-se, portanto, afirmar que há uma clara dualidade na produção de milho no Brasil. Existem uma grande parcela de pequenos produtores que não se preocupam com a produção comercial e com altos índices de produtividade, e uma pequena parcela de grandes produtores, com alto índice de produtividade, usando mais terra, mais capital e mais tecnologia na produção de milho (EMBRAPA, 2000).

A produção nacional do milho em grão obtida na safra 2010/2011 totaliza 52,7 milhões de toneladas em uma área total de 12,7 milhões de ha (CONAB, 2011). O Paraná é o principal produtor nacional de milho (24,2%). Na sequência, está o estado do Mato Grosso, com participação de 14,6% na produção do milho em grão (IBGE, 2011).

O Rio Grande do Sul, embora o milho seja considerado um dos produtos mais tradicionais de nossa agricultura, apresenta baixa produtividade, sendo cultivado praticamente em todo o Estado. O milho destaca-se nas áreas de pequena propriedade, aparecendo normalmente integrado a atividades criatórias de aves e suínos. Por isso, os maiores produtores encontram-se em municípios com estrutura fundiária assentada na pequena propriedade e a produção é bem distribuída pelo estado com muitos municípios produtores (SEPLAG-RS, 2007)

Atualmente, o estado ocupa a posição de quarto maior produtor do cereal, perdendo apenas para os estados do Paraná, Mato Grosso e Minas Gerais. Na safra 2010/2011, o Rio Grande do Sul apresentou uma área total de plantio de 1.143,3 mil ha, tendo uma produtividade de 4.380 Kg ha⁻¹ e uma produção total de 5.007,7 mil toneladas (CONAB, 2011). As figuras 6 e 7 mostram a evolução das áreas plantadas, da produção, assim como da produtividade no estado do Rio Grande do Sul desde a safra de 1976/77 até 2009/10.

As figuras 1 e 2 (ANEXO A) demonstram a produção de milho no estado do Rio Grande do Sul, segundo a Secretaria de Planejamento e Gestão (SEPLAG-RS, 2007). As regiões da Produção, com 626.372 toneladas, do Norte, com 564.970 toneladas, e do Nordeste, com 558.696 toneladas, foram as maiores produtoras e em conjunto representaram 34% da produção gaúcha. Destacam-se ainda as

regiões do Médio-Alto Uruguai, com 369.003 toneladas, da Serra, com 356.422 toneladas e do Noroeste Colonial, com 324.155 toneladas.

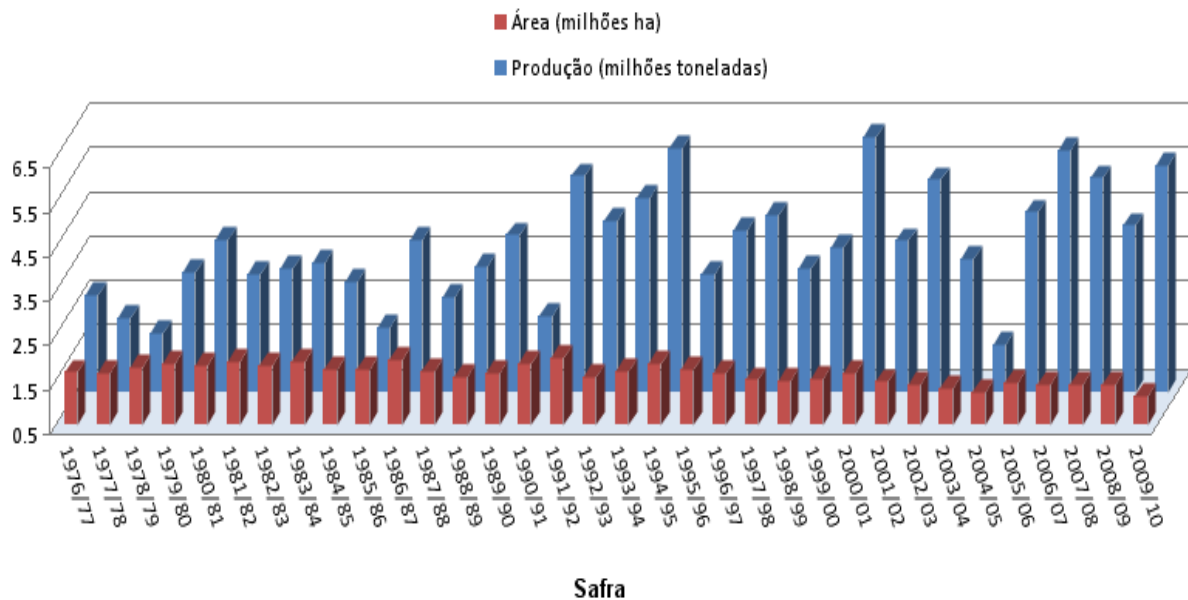


Figura 6 – Comparação entre área plantada e produção no Rio Grande do Sul.

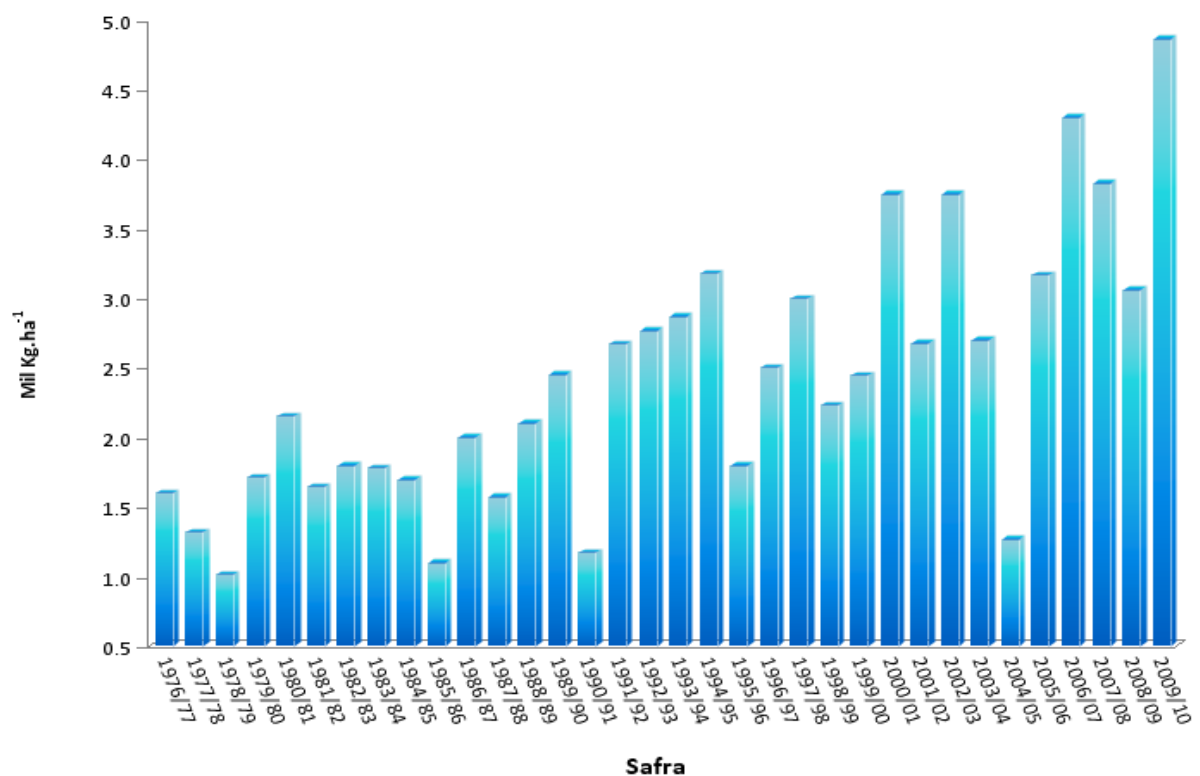


Figura 7 – Evolução da produtividade do milho no Rio Grande do Sul.

3.3 Método Analítico

3.3.1 Preparação das amostras

Previamente às análises cromatográficas, procedimentos de preparação e limpeza são necessários para isolar os PCBs da matriz. A extração por soxhlet é a técnica mais utilizada para extração de PCBs e organoclorados, principalmente em amostras contendo alto teor de lipídeos, como ovos e peixes (FALANDYSZ, 2004). Porém, conta com o inconveniente de usar uma quantidade excessiva de solvente, além de ser demorada e trabalhosa. A extração por ultrassom vem sendo muito utilizada para extração de pesticidas e PCBs em várias amostras ambientais (AHMED, 2003). Apesar de usar uma quantidade maior de solvente, se comparada a outras técnicas, como extração assistida por microondas (MAE) ou extração supercrítica (SFE), é uma técnica extremamente simples e eficaz. Barboza e Serra, (1992), com o objetivo de avaliar a utilização da técnica, estudaram a influência do uso de ondas de ultrassom sobre sistemas químicos. Observaram que esta técnica pode ser empregada tanto em sistemas homogêneos (rompimento de células vivas; dispersão de tecidos biológicos; limpezas de superfície), como em sistemas heterogêneos (líquido-líquido; sólido-líquido).

Entretanto, durante a extração em amostras de alimentos, não apenas os analitos são isolados. Existem diferentes tipos de compostos interferentes, principalmente gorduras, carboidratos, água, clorofila e outros, que são co-extraídos. Portanto, uma outra etapa de análise é necessária, ou seja, a purificação do extrato. Saponificação, cromatografia de permeação em gel (GPC), tratamento com ácido sulfúrico, cromatografia de adsorção (alumina, sílica gel, *Florisil*) são utilizados isoladamente ou em combinação com outras técnicas para remover os compostos interferentes (BEYER & BIZIUK, 2008).

3.3.2 Cromatografia

A quantidade e variedade dos contaminantes ambientais, assim como, o de produtos aplicados na agricultura e na pecuária, que aumentam verticalmente no

Brasil, tornam necessário o monitoramento de eventuais resíduos no meio ambiente e nos alimentos (SANCHES et al., 2003), bem como a avaliação de riscos pela ingestão de alimentos (CALDAS e SOUZA, 2000). A quantificação de resíduos de pesticidas, nos mais diferentes meios e matrizes, são tradicionalmente realizadas usando-se técnicas cromatográficas. Esta técnica tem sua importância na análise química em função de sua facilidade para efetuar as separações, identificar, quantificar e confirmar as espécies presentes na amostra, por meios de detectores específicos (SANCHES et al., 2003).

A grande maioria das análises de PCBs é realizada através do uso de cromatografia gasosa, empregando-se colunas capilares (DB-5, HP-5, DB-1, HP-1, SE-54) que utilizam fases estacionárias apolares (FONT, 1996). O sistema de detecção mais utilizado, devido à natureza química e das baixas concentrações dos bifenilos policlorados nas diferentes matrizes, é o detector de captura de elétrons (ECD), que apresenta especificidade para compostos halogenados (ZHANG, 2002). Todavia, apesar de apresentar uma grande sensibilidade para estes compostos, tem pouca seletividade, o que pode ocasionar resultados “falsos positivos”, além de fornecer um cromatograma pobre em informações, sendo que muitas vezes uma confirmação se torna necessária. Nos últimos anos a espectrometria de massas também tem sido muito utilizada. A técnica, uma vez bem otimizada, está menos sujeita a interferências, já que para cada pico obtido no cromatograma existe um respectivo espectro de massas que pode ser usado como uma espécie de impressão digital, confirmando a identidade do composto (OLIVEIRA et al., 2005). Nesta técnica é empregado principalmente o monitoramento seletivo das razões massa/carga de interesse (RÖHRIG & MEISCH, 2001).

Um espectrômetro de massas é um instrumento composto basicamente de três unidades fundamentais: uma fonte de íons, um analisador ou filtro de massas e um sistema de detecção. A fonte de íons tem a finalidade de gerar íons a serem analisados na fase gasosa a partir das amostras de interesse (BUSTILLOS et al., 2003). Sendo assim, as moléculas passam por um processo de ionização e fragmentação, sendo então direcionadas para o filtro de massas. Como fonte de ionização, diferentes técnicas podem ser empregadas em virtude do estado físico-químico e propriedades da amostra, tais como a polaridade, a estabilidade térmica e

o peso molecular (MARTINS, 2005). As duas formas de ionização usadas na cromatografia gasosa são: EI (Impacto de Elétrons) e CI (Ionização Química).

O modo EI é o modo mais comum de ionização, sendo utilizado na maioria dos trabalhos em GC-MS, apresentando um alto número de bibliotecas espectrais comercialmente disponíveis. Neste modo de ionização o composto proveniente da coluna do cromatógrafo, é ionizada pela interação com uma corrente de elétrons, com energia relativamente alta (usualmente 70 eV). Essas colisões inicialmente produzem íons positivos. Sob ionização, as moléculas de uma determinada substância se fragmentam com um padrão muito reprodutível. Este procedimento resulta numa fragmentação significativa da molécula, cujo espectro resultante representa a abundância das várias razões massa/carga (m/z). Motivo pelo qual o espectro obtido pelo EI talvez não mostre o íon molecular. O padrão espectral obtido é usado para a identificação do composto (PIZZUTTI, 2006).

Na ionização química, as moléculas são introduzidas na fonte com excesso de gás reagente, normalmente amônia ou metano. Devido ao fato de haver uma abundância muito maior do gás do que da amostra, a maioria dos elétrons emitidos colidem com as moléculas do gás reagente, formando íons reagentes. A formação de íons por CI envolve uma energia muito baixa, e é, portanto mais suave do que EI. Devido a este fato o modo CI resulta em menos fragmentações, obtendo um espectro com alta abundância de íons moleculares. No processo CI, tanto íons positivos quanto negativos são formados, e o espectrômetro de massas pode ser operado para medir ambos. A escolha do modo de ionização adequado pode aumentar consideravelmente a resposta do sinal (PIZZUTTI, 2006). Muitos compostos que são normalmente detectados através do detector de captura de elétrons, apresentam maior sensibilidade na CI negativa (NCI) do que em outros modos, pois os halogênios suportam bem cargas negativas (PRIMER, 2004). A dependência da resposta cromatográfica sobre a estrutura do analito é especialmente significativa sob condições de NCI. A elevada sensibilidade promovida pelo modo (variando de 1 a 10 vezes maior do que no modo EI ou PCI) é muito bem conhecida para análise de compostos com grupos que capturam elétrons. Os átomos de halogênio na molécula formam ânions muito estáveis e conseqüentemente, promovem uma boa estabilidade para detecção NCI para

alcanos halogenados, organometálicos e pesticidas polinitroalcanos, alguns carbamatos e pesticidas organofosforados e organoclorados (PIZZUTTI, 2006).

Os íons formados tanto por EI como por CI devem ser separados de acordo com suas razões m/z . Os analisadores de massa são responsáveis por esta separação ou resolução. São empregados de várias formas, dependendo da necessidade da resolução de massas, da compatibilidade com a interface e com o sistema de ionização empregado. Os analisadores de massas mais comumente empregados são: simples, quadrupolo, *íon trap*, tempo de voo e setor magnético (Martins, 2005). O quadrupolo é o analisador mais amplamente usado, devido a sua facilidade de uso, faixa de massa, faixa linear de trabalho para determinações quantitativas, resolução e qualidade do espectro de massas (PIZZUTTI, 2006). Este analisador consiste de quatro barras paralelas, dispostas em forma de um quadrado, onde os íons são direcionados para o centro. Controlando a voltagem e a rádio frequência aplicada as barras, que geram um campo eletrostático, que age como filtro de massas, pode-se determinar quais razões m/z podem passar através dos filtros, para uma determinada voltagem. Podem operar em 2 modos, sendo eles o modo *full scan* e o monitoramento do íon selecionado (SIM) (KIRCHNER, 2005). No modo scan o analisador de massas monitora uma faixa de razões m/z . Já no modo SIM, o analisador monitora somente poucos íons que são indicativos de um composto específico, sendo significativamente mais sensível. Usualmente, o modo SIM é utilizado para quantificação de um composto alvo, nas menores concentrações possíveis (níveis de traços) (TAHBOUB, 2005).

Os sistemas de detecção responsáveis pela quantificação dos íons e conversão destes em sinais eletrônicos podem ser classificados como detectores com ou sem multiplicação de elétrons. No primeiro grupo, encontram-se os multiplicadores de elétrons, diodos contínuos e fotomultiplicadores. Já no segundo grupo, estão incluídos os copos de Faraday (*Faraday cups*), que são dispositivos metálicos que geram uma corrente elétrica capturando o feixe de íons (MARTINS, 2005).

Apesar dos estudos realizados, ainda existem muitas incertezas quanto aos efeitos dos PCBs, tanto nos seres humanos quanto em outros seres vivos (AZEVEDO e SILVA, 2007). Embora proibidos há muitos anos, concentrações

preocupantes ainda continuam a ser encontradas nos alimentos. Entretanto, a grande maioria destes trabalhos reporta-se a uma pequena parcela dos alimentos, principalmente de origem animal, como carnes, leite e ovos. O estudo de outras classes de alimentos, como os cereais, torna-se importante para o entendimento do real tamanho desta exposição. Neste sentido, o milho como cereal mais consumido no mundo assume um papel importante, podendo fornecer dados fundamentais para o monitoramento e fiscalização destas contaminações em nosso País. Para que isso ocorra, metodologias confiáveis de análise são necessárias, a fim de obter resultados que expressem com a maior confiabilidade possível estas contaminações.

4 ARTIGOS CIENTÍFICOS

Os manuscritos refletem a validação do método analítico utilizado na pesquisa e os resultados obtidos na pesquisa, conforme segue abaixo:

4.1 Artigo 1

DETERMINAÇÃO DE BIFENILOS POLICLORADOS EM MILHO ATRAVÉS DE EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA SEGUIDA DE CROMATOGRAFIA A GÁS ACOPLADA A ESPECTROMETRIA DE MASSAS

Submetido para a Revista Química Nova
(configurado segundo as normas da revista)

4.2 Artigo 2

RESÍDUOS DE BIFENILOS POLICLORADOS EM MILHO E FARINHA DE MILHO DE DIFERENTES REGIÕES DO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL

Submetido para a Revista Food Chemistry
(configurado segundo as normas da revista)

4.1 Artigo 1

Determinação de bifenilos policlorados em milho através de extração em fase sólida seguida de cromatografia a gás acoplada à espectrometria de massas

Thiago Guilherme Schwanz e Susana Mohr

Departamento de Tecnologia e Ciência dos Alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Av. Roraima, 1000, Prédio 42, Sala 3135A, 97119-900 Santa Maria – RS, Brasil

Liliane Medianeira Favero Porte, Nilo Zanatta, Helio Gauze Bonacorso, Marcos Antônio Pinto Martins

Departamento de Química, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Av. Roraima, 1000, Prédio 15A, 97105-900 Santa Maria – RS, Brasil

Ijoni Hilda Costabeber*

Departamento de Morfologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria, Av. Roraima, 1000, Prédio 19, Sala 3201, 97105-900 Santa Maria – RS, Brasil

*email: ijonicostabeber@gmail.com

Determination of polychlorinated biphenyls in corn by solid phase extraction followed by gas chromatography mass spectrometry

Abstract

The present work describes the determination of polychlorinated biphenyls in 51 corn samples by solid phase extraction and analysis by GC-MS. The analytical method was evaluated with following figures of merit for all PCBs: linearity (>0.99); precision ($<19.28\%$); recoveries (74,1-110,6%); limit of detection (0.005-0.02 ng g⁻¹); limit of quantification (0.025-0.1 ng g⁻¹). The results showed contamination in the analyzed samples in the following order: PCB 138 > PCB 180 > PCB 153 > PCB 52 > PCB 28 > PCB 10.

Keywords: PCB; corn; mass spectrometry

INTRODUÇÃO

Os bifenilos policlorados (PCBs) são compostos organoclorados sintéticos, pertencentes à classe dos poluentes orgânicos persistentes (POPs). Foram amplamente utilizados na indústria a partir de 1930 devido à sua resistência a ácidos, altas temperaturas e correntes elétricas, além de serem substâncias não inflamáveis.^{1,2} Sua utilização em diversos processos industriais originou uma ampla contaminação do meio ambiente, e, conseqüentemente, de todos os alimentos que fazem parte da cadeia alimentar. Devido ao fato destes compostos possuírem grande afinidade pela matéria orgânica, os PCBs são adsorvidos facilmente pela superfície de partículas, o que faz com que sejam levados até rios, mares e oceanos, contaminando animais, vegetais e seres humanos.^{3,4} O transporte atmosférico caracteriza-se no principal mecanismo para dispersão global desses compostos, influenciando o ecossistema de uma maneira preocupante e permanente.^{5,6} As proporções da dispersão e da transferência destes compostos para os animais, vegetais e seres humanos são difíceis de serem estimadas.

Diversos estudos demonstram que os PCBs podem causar danos à saúde dos seres humanos e animais, além do grande impacto ao ambiente. Em conseqüência disso, seu uso e produção foi severamente restrito ou banido em muitos países. No Japão, a sua produção e uso foram proibidos em 1972. No mesmo ano, a Suécia restringiu a sua utilização e produção, os Estados Unidos o fizeram em 1977, a Noruega em 1980, a Finlândia em 1985 e a Dinamarca em 1986.¹ Em nosso país, sua proibição ocorreu em 1981, embora ainda seja permitido o seu uso em equipamentos eletro-eletrônicos antigos, até sua substituição por produto isento de PCBs. Seu descarte e destinação correta, porém, ainda tem sido o

maior problema nos últimos anos. Como consequência disso, casos de armazenamento incorreto têm sido noticiados pelos meios de comunicação. Recentemente, em vistoria de rotina realizada pelo IBAMA nas dependências do porto de Rio Grande/RS, foram encontradas, dentro de um armazém, 21 toneladas do óleo Ascarel[®] (denominação comercial no Brasil) em tonéis e transformadores desativados. Além dos grandes riscos à saúde, os impactos ambientais que o óleo pode causar são a contaminação do solo e da água, os quais ameaçam, em especial, os lençóis freáticos.⁷ Sendo assim, os seres vivos em geral encontram-se expostos aos PCBs tanto diretamente, através da contaminação do ar, sedimentos e água, como indiretamente, através da dieta.

A maior concentração de PCBs, por serem compostos altamente lipofílicos e apolares, é encontrada em alimentos gordurosos. Concentrações menores podem estar presentes em verduras, cereais e frutas.^{8,9} Entretanto, as plantas são o primeiro elo na cadeia alimentar e, portanto, o acúmulo desses compostos pelos vegetais é uma etapa importante para a transferência dos mesmos ao corpo humano.¹⁰ Neste contexto, encontra-se o milho, cereal mais consumido no mundo, e o segundo mais produzido no Brasil. Do total produzido, cerca de 70% são destinados à alimentação animal, utilizados principalmente para a fabricação de ração, e 15% para a alimentação humana. É comumente consumido como milho verde *in natura*, produto farináceo e constitui ingrediente básico de uma série de produtos industrializados formulados.¹¹ A farinha de milho é muito utilizada na culinária brasileira em várias formas, sendo seu sabor bem aceito pelos consumidores. É um produto de baixo custo e amplamente disponível no mercado.¹² Por ser um dos cereais de maior importância econômica no mundo, o milho é uma

das espécies vegetais mais estudadas. Constantemente, programas de melhoramento estão buscando novos procedimentos para a obtenção de variedades mais produtivas, economicamente rentáveis, além de muitos esforços vêm sendo realizados para entender sua origem e evolução. No entanto, o mesmo não se pode dizer em relação a estudos de contaminação. Apesar do uso intensivo de pesticidas no Brasil, há poucos trabalhos publicados na literatura sobre a ocorrência de poluentes orgânicos persistentes em plantas,¹³ tais como o milho. A bioacumulação dos compostos lipofílicos é outro fator de elevada relevância para a pesquisa. Por estas razões, o desenvolvimento de métodos analíticos confiáveis para análise de PCBs em milho é necessário.

A determinação dos PCBs normalmente é realizada empregando-se cromatografia a gás acoplada aos detectores de captura de elétrons, espectrometria de massas, ou ambos. A espectrometria de massas com impacto de elétrons (EI = *Electron Impact*) tem sido utilizada em estudos recentes, tanto para identificar os compostos individuais, como para sua quantificação. Já a espectrometria de massas com ionização química negativa (NCI = *Negative Chemical Ionization*) tem sua utilização justificada por apresentar elevada sensibilidade, quando comparada ao modo EI, para a análise de compostos que apresentam grupos capturadores de elétrons. Outros fatores importantes levados em consideração na escolha do método analítico são os baixos níveis de detecção exigidos e a natureza complexa das matrizes em que os compostos estão presentes, o que exige uma preparação eficiente da amostra, assim como a detecção e identificação, em nível de traços.¹⁴

A crescente preocupação sobre a segurança alimentar exige procedimentos mais rápidos, exatos, precisos e baratos. Para isso, a validação do método analítico

é de extrema importância para garantir que este gere informações confiáveis e interpretáveis sobre a amostra,¹⁵ oferecendo às agências reguladoras evidências objetivas de que os métodos e sistemas são adequados para o uso proposto.¹⁶ Os parâmetros a serem validados variam em função do tipo de procedimento, de acordo com as características a serem estudadas e o método a aplicar. Os conceitos mais importantes para validação do método analítico em geral são: linearidade, sensibilidade, precisão, exatidão, recuperação, repetibilidade, reprodutibilidade, especificidade, limite de detecção e limite de quantificação.¹⁷

O objetivo do presente estudo foi validar um método de extração, envolvendo a utilização de ultrassom e a extração em fase sólida, seguida de cromatografia a gás acoplada de espectrometria de massas nos modos EI e NCI, para determinar a concentração de PCBs indicadores de contaminação ambiental em amostras de milho coletadas no estado do Rio Grande do Sul, Brasil.

PARTE EXPERIMENTAL

Materiais

Amostras

Para a realização do presente estudo foram utilizadas 51 amostras de milho em grão, coletadas em diferentes cidades do Rio Grande do Sul entre janeiro de 2009 e setembro de 2010. Todas as amostras foram trituradas com auxílio de moinho A11 Basic IKA e ultra-turrax T15 Basic IKA e, posteriormente, peneiradas em malha 60 mesh. Logo após, foram armazenadas e mantidas em freezer à temperatura de -18 °C, até a realização das análises. Para os estudos de validação

da metodologia analítica foram adquiridas amostras de milho para consumo humano, junto ao comércio local.

Padrões

Uma solução estoque de PCBs, contendo $10 \mu\text{g mL}^{-1}$, e uma solução de trabalho, contendo $1 \mu\text{g mL}^{-1}$ dos congêneres 10 (2,6 – diclorobifenil), 28 (2,4,4' – triclorobifenil), 52 (2,2',5,5' – tetraclorobifenil), 138 (2,2',3,4,4',5' – hexaclorobifenil), 153 (2,2',4,4',5,5' – hexaclorobifenil) e 180 (2,2',3,4,4',5,5' – heptaclorobifenil), foi utilizada nas etapas de validação da metodologia e na identificação e quantificação dos compostos. Os padrões foram adquiridos de SUPELCO, Inc., Bellefonte, Pensilvania, USA, com certificado de pureza superior a 99%.

Reagentes

Os solventes e reagentes utilizados nas extrações e ensaios cromatográficos foram *n*-hexano Nanograde[®] com certificação para análises de resíduos de pesticidas (Mallinckrodt Baker, Inc., NJ, USA), acetona grau resíduo, iso-octano grau resíduo e ácido clorídrico PA (Vetec Química Fina Ltda, Duque de Caxias, RJ, Brasil), além de cartuchos SPE contendo 1 g de florisil (Agilent Technologies).

Métodos

Extração dos PCBs

As amostras foram pesadas ($20,0 \pm 0,05 \text{ g}$) utilizando um Erlenmeyer. A extração dos PCBs foi resultante da adição de 50 mL de uma mistura *n*-hexano/acetona (1:1) e aplicação de banho de ultra-som, por 20 minutos. Logo após o extrato foi filtrado a vácuo, utilizando filtro GFA e transferido para um tubo de

ensaio. Utilizando aparelho N-EVAPTM (Organomation Associate, Inc.) com auxílio de gás nitrogênio, a amostra foi reduzida até um volume de 5 mL. Este volume sofreu adição de 3 mL de uma solução de ácido clorídrico 1 molar, e agitado em vortex por 30 segundos. Da fase orgânica foram retirados 2 mL, que por sua vez, foram limpos através da eluição por cartucho SPE contendo florisil pré ativado com *n*-hexano. Após a eluição com mais 10 mL de *n*-hexano e adição de 1 mL de iso-octano, as amostras foram novamente levadas a evaporação com N₂, até atingirem aproximadamente 2 mL, transferidas para balão volumétrico de 2 mL e aferidas com iso-octano. Logo após, foram transferidas para vials e então submetidas à análise cromatográfica.

Análise cromatográfica

As análises foram efetuadas em um cromatógrafo a gás Agilent Technologies 6890N acoplado com espectrômetro de massas modelo 5975B inert XL CI/EI MSD. Um microlitro dos extratos foi injetado usando injetor automático *split/splitless* 7683 Agilent Technologies, no modo splitless. A temperatura do mesmo permaneceu constante a 280 °C. A separação dos PCBs foi realizada em uma coluna capilar de sílica fundida DB-5MS (J&W Scientific), com 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 µm de espessura de fase estacionária. O hélio foi utilizado como gás de arraste sob pressão inicial de 10,39 psi. O fluxo, mantido constante, foi de 1,2 mL min⁻¹. A programação da temperatura do forno foi: 60 °C, permanecendo por 1 min, taxa de aquecimento a 15 °C min⁻¹ até 220 °C, seguida de taxa de 20 °C min⁻¹ até 300 °C, permanecendo por 4,33 min nesta temperatura. A temperatura da linha de transferência permaneceu a 310 °C. Para os PCBs 10, 28 e 52 os espectros e cromatogramas foram obtidos através de EI, com energia de 70 eV. As

temperaturas da fonte e do quadrupolo foram de 230 °C e 150 °C, respectivamente. Para as análises dos congêneres 138, 152 e 180 utilizou-se o modo NCI. Como gás ionizante usou-se metano a um fluxo otimizado de 40%. Para a fonte de íons e o quadrupolo a temperatura foi de 150 °C. Ambos os métodos operaram em modo de monitoramento do íon selecionado (SIM = *Single Ion Monitoring*). A identificação e quantificação dos compostos foram realizadas pela comparação dos tempos de retenção dos picos encontrados nas amostras com os tempos de retenção individuais dos padrões de bifenilos policlorados em estudo, sob as mesmas condições de trabalho, bem como pela comparação da abundância dos íons majoritários de cada um dos seis congêneres, obtidos a partir dos padrões de referência, com os íons encontrados na amostra. Na Tabela 1S, material suplementar, encontram-se os parâmetros dos PCBs analisados por GC-MS no modo de aquisição SIM (massa molar, modos de ionização, tempos de retenção, íons monitorados, tempo de janela e *dwell time*).

Validação do método analítico

Com o objetivo de confirmar a validade dos métodos de extração e das análises dos PCBs nas amostras, foram avaliados os seguintes parâmetros: seletividade, linearidade, limite de detecção, limite de quantificação, precisão e exatidão.

Para o estudo de seletividade foram comparadas amostras testemunhas, que corresponderam a matriz analisada, porém sem a contaminação dos analitos em questão, e amostras fortificadas com os padrões dos PCBs. A faixa linear foi obtida através da preparação de uma série de 12 brancos das amostras com adição de

uma concentração variada dos bifenilos analisados. Avaliou-se uma curva preparada com extratos de milho e a solução de trabalho dos PCBs. As concentrações utilizadas foram 0,025; 0,05; 0,1; 0,2; 0,5; 1,0; 2,0; 5,0; 10,0; 20,0; 50,0 e 100,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ sendo injetados em triplicata a concentração de cada ponto da curva. Para obter os dados da faixa de trabalho foi preparada uma curva analítica com 9 brancos da amostra, usando a solução de trabalho contendo 1 $\mu\text{g mL}^{-1}$, dentro da faixa linear. Considerou-se como faixa linear os pontos cujos valores de $(S/Q)\%$ estão no intervalo de 100 ± 5 , ou seja, pontos cujas razões sinal/concentração não diferem mais de 5% do coeficiente angular da reta (a). Para verificar se os pontos encontravam-se dentro da região linear da curva, foi utilizado o teste da razão entre o sinal (S) e a concentração (Q), definida por $(S_i/Q_i)\% = (S_i - b/Q_i) \times 100/a$, onde b é a interseção da reta no eixo y quando x é igual a zero. Os valores de S e Q foram obtidos na construção da curva analítica, através dos parâmetros de área do pico e concentração do analito.¹⁸ Em seguida, a representação gráfica das respostas relativas (área do sinal/concentração) pelo logaritmo da concentração foi construída e examinada para a investigação de desvios da linearidade, sendo indicados como *outliers* (valores extremos) os pontos com variação acima de 20%.

O valor designado como limite de detecção (LD) para todos os PCBs foi determinado visualmente pela razão sinal/ruído ≥ 3 , a partir de ensaios com amostras brancas da matriz adicionadas em concentrações decrescentes a partir de 0,2 $\mu\text{g L}^{-1}$. Por sua vez, o limite de quantificação (LQ) foi obtido através da preparação de 7 brancos das amostras com adição de concentrações variadas dos PCBs próximas ao limite de detecção. Considerou-se o valor verdadeiro de LQ como sendo a menor concentração que, ao ser fortificado na matriz, apresentar

recuperações entre 70 e 120%, com coeficiente de variação (CV) menor ou igual a 20%. O valor encontrado para o LQ de todos os PCBs foi incluído como o menor ponto da curva de calibração.

A precisão e a exatidão foram avaliadas através das injeções em triplicata de um total de 18 amostras fortificadas em três níveis de concentrações conhecidos para cada analito (*spikes*), os pontos extremos da curva e um ponto intermediário, e 6 amostras sem adição de *spike*. Para este estudo, as extrações e análises foram realizadas em dois dias distintos, com intervalo de uma semana entre eles. A precisão foi avaliada utilizando-se a estimativa do CV para a repetibilidade (intra-dia) e precisão intermediária (inter-dia). A exatidão foi avaliada através dos estudos de recuperação, definido como:

$$\text{Recuperação (\%)} = (C_1 - C_2/C_3) \times 100$$

Sendo C_1 a concentração do analito na amostra fortificada, C_2 a concentração do analito na amostra não fortificada e C_3 a concentração do analito adicionada à amostra fortificada.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Extração

A extração dos PCBs seguiu os procedimentos convencionais utilizados para analitos orgânicos em amostras de alimentos, começando por uma etapa de homogeneização, seguida por extração líquida com uma ou várias etapas de limpeza e purificação do extrato, a fim de remover co-extratores que possam interferir na análise final.¹⁹ Durante o desenvolvimento do método, diferentes

solventes foram testados para a extração dos compostos, buscando as melhores porcentagens de recuperação. A Tabela 2S, material suplementar, mostra a média das porcentagens de recuperação dos PCBs nestes testes, onde 9 brancos da amostra foram fortificados com 3 concentrações diferentes (10, 20 e 50 $\mu\text{g L}^{-1}$) e extraídos com 3 diferentes solventes ($n=3 \times 3$) (n-hexano, n-hexano e acetona (1:1) e n-hexano e acetado de etila (1:1)). A escolha do solvente mais adequado foi baseada em três critérios: percentuais de recuperação, menor desvio padrão e menor interferência da matriz no sinal dos compostos visualizados no cromatograma. Os melhores resultados foram obtidos com a mistura n-hexano e acetona, com recuperações que variaram entre 87,26 e 95,35 %.

Após a escolha do melhor solvente para a extração, foram avaliados diferentes tempos de sonicação da amostra, que variaram de 20 minutos a 1 hora. A extração com uso de ultrassom é uma técnica que tem sido amplamente aplicada para a extração de pesticidas e PCBs em várias amostras ambientais.²⁰ A principal razão para a aplicação da energia acústica é que ela aumenta a lavagem dos alimentos. O mecanismo predominante para esta lavagem é mecânico e inclui a abrasão das partículas alimentares suspensas no solvente, levando a remoção de contaminantes superficiais, assim como a melhora na lixiviação dos contaminantes do interior das partículas.²¹ Os resultados dos testes demonstraram que a variação do tempo não interfere na extração dos analitos. Tais resultados encontram-se de acordo com os obtidos anteriormente por outros autores que utilizaram métodos semelhantes ao do presente estudo.^{22,23}

Testes para a limpeza da amostra foram realizados utilizando-se diferentes solventes, eluídos em colunas de extração em fase sólida constituídas de florissil.

Para a análise de alimentos, existem no comércio diversos tipos de sorventes. Porém, o material mais utilizado é a sílica, por ser reativo o suficiente para permitir a modificação de sua superfície por meio de reações químicas, além de ser suficientemente estável para utilização em uma vasta gama de soluções.¹⁴ Com o auxílio de SPE, várias amostras podem ser tratadas, em paralelo, com quantidades relativamente pequenas de solvente. Permite ainda a remoção simultânea de substâncias interferentes e a concentração dos analitos. Para este estudo foram utilizadas 12 amostras brancas, fortificadas com 3 diferentes concentrações (10, 20 e 50 $\mu\text{g L}^{-1}$) dos PCBs de interesse ($n=3 \times 4$). Estas amostras foram divididas em 4 grupos, e os resultados encontram-se na Tabela 3S, material suplementar. Conforme podemos observar, as eluições com *n*-hexano (Testes C e D) demonstraram-se mais eficientes, levando em consideração os critérios acima citados. A quantidade de *n*-hexano utilizado nestes testes não interferiu na porcentagem de recuperação, sendo o volume de 10 mL escolhido para o método proposto.

Validação do método

Seletividade

O método proposto apresentou boa seletividade. A Figura 1S, material suplementar, apresenta cromatogramas de amostras testemunha (amostras correspondentes à matriz analisada, isenta de contaminação pelos analitos em estudo), sobrepostas com os cromatogramas dos brancos das amostras fortificadas com os PCBs. Pode-se observar que não existem picos cromatográficos nas

amostras testemunha no mesmo tempo de retenção dos cromatogramas das amostras contendo os bifenilos policlorados.

Linearidade, limites de detecção e de quantificação

A linearidade foi determinada através de curvas analíticas, e os resultados encontram-se na Tabela 1. Primeiramente, foi determinada a faixa linear, definida como sendo a faixa de concentração na qual a sensibilidade pode ser considerada constante.²⁴ Para os estudos de linearidade propostos a curva não se comportou de forma linear por toda a sua extensão, apesar de apresentar um coeficiente de correlação maior que 0,99. Os valores de (S/Q)% apresentaram variação maior que 5% do coeficiente angular da reta. Devido a esse fato, foram escolhidas duas faixas de trabalho, uma de 0,10 a 2,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ e outra de 2,5 a 50,0 $\mu\text{g L}^{-1}$. As duas curvas analíticas separadas apresentaram valores de (S/Q)% satisfatórios. Os estudos de linearidade do método analítico também foram realizados mediante o coeficiente de correlação das retas obtidas. O coeficiente de correlação informa o grau de relação entre as variáveis, de como as trocas de uma produzem efeitos diretos sobre a outra.²⁵ Neste caso, uma das variáveis é a concentração de cada um dos compostos e a outra, a resposta instrumental, em forma de área do sinal cromatográfico. Para todos os compostos, os coeficientes de correlação foram superiores a 0,99, dentro dos padrões recomendados pela ANVISA²⁶ e INMETRO.²⁴

Os limites de detecção (LD) do método validado foram de 0,02 ng g^{-1} para o PCB 10, de 0,01 ng g^{-1} para os PCBs 28 e 52, e de 0,005 ng g^{-1} para os PCBs 138, 153 e 180. Já os limites de quantificação (LQ) foram de 0,10 ng g^{-1} para o PCB 10,

de 0,05 ng g⁻¹ para os PCBs 28 e 52, e de 0,025 ng g⁻¹ para os PCBs 138, 153 e 180.

Precisão e Exatidão

A precisão do método analítico foi medida pelo grau de concordância entre os resultados obtidos de uma mesma amostra,¹⁷ utilizando o coeficiente de variação (CV). Para o presente estudo avaliou-se a precisão em condições de repetibilidade (intra-dia) e de precisão intermediária (inter-dia). Os resultados para os valores de coeficiente de variação ficaram entre 0,51 e 17,02% para a repetibilidade, enquanto para a precisão intermediária os valores variaram de 2,14 a 19,28%. Os resultados obtidos são aceitáveis, pois para métodos de análise de traços, como é o caso da análise de resíduos de PCBs, são aceitos coeficientes de variação de até 20%, dependendo da complexidade da amostra.¹⁵ Para a exatidão do método analítico foi calculada a porcentagem de recuperação, que reflete a quantidade de determinado analito que foi recuperado no processo, em relação a quantidade real presente na amostra. Três níveis de fortificação foram usados. No método proposto, as recuperações variaram entre 74,1 e 110,6 % (Tabela 2), valores dentro dos intervalos aceitáveis de recuperação para análise de resíduos¹⁵, que estão entre 70 e 120%.

Determinação de PCBs nas amostras de milho

Após a validação do método, o mesmo foi aplicado para analisar os congêneres de PCBs em 51 amostras de milho, obtidas de diferentes cidades do estado de Rio Grande do Sul, Brasil. As Figuras 1 e 2 apresentam cromatogramas

de GC-MS nos modos EI e NCI, respectivamente, de uma amostra de milho contaminada. Na Tabela 3 apresentam-se os resultados obtidos. O PCB 180 foi o que obteve a maior frequência dentre os compostos analisados, sendo detectado acima do LQ em mais de 39 % das amostras, seguido do PCB 138, detectado em mais de 33 %. Os PCBs 153 e 52 vieram logo a seguir, presentes em mais de 31 e 21 % das amostras, respectivamente. Já os PCBs 28 e 10 foram os menos detectados, com frequências de 13,72 % (PCB 28) e de 1,96 % (PCB 10). As médias tiveram comportamento semelhantes aos das frequências, apresentando-se como segue: PCB 138 > PCB 180 > PCB 153 > PCB 52 > PCB 28 > PCB 10.

A legislação brasileira determina limites máximos de resíduos somente para alimentos de origem animal, mais especificamente para carne, leite e pescados (BRASIL, 2010).²⁷ Para alimentos de origem vegetal, como é o caso do milho, não há limites estabelecidos.

Dentre a bibliografia consultada, não foram encontrados estudos que reportassem diretamente a contaminação de milho por PCBs. Porém, estudos investigando a contaminação de alimentos de origem animal provenientes do mesmo Estado foram realizados anteriormente, constatando a presença de PCBs em leite, queijo e produtos cárneos.^{28,29,30} Embora os valores encontrados nestes estudos tenham se apresentado abaixo do limite máximo permitido pela legislação, a contaminação nos alimentos desta região é evidente. Em outro estudo recente, realizado com amostras de soro de cordão umbilical de bebês nascidos do estado do Rio Grande do Sul, uma elevada contaminação foi detectada,³¹ confirmando que ainda existem fontes importantes de contaminação na região estudada.

CONCLUSÕES

O método de extração envolvendo a utilização de ultra-som e a extração em fase sólida, seguida de cromatografia a gás acoplada de espectrometria de massas nos modos EI e NCI foi validado, demonstrando ser sensível, linear, preciso e exato, podendo ser utilizado em análises de rotina. Adicionalmente, a determinação dos PCBs em amostras reais de milho demonstrou a conformidade do método proposto. Os níveis de PCBs detectados nas 51 amostras analisadas demonstraram a presença de contaminação em alimentos de origem vegetal do estado do Rio Grande do Sul, a exemplo do que já foi demonstrado em estudos anteriores em alimentos de origem animal do mesmo estado. Como este é o primeiro estudo realizado envolvendo a contaminação de milho por PCBs, novos estudos são necessários para que se possam determinar as causas desta contaminação, bem como estabelecer parâmetros para a elaboração de uma legislação que estabeleça limites máximos de resíduos para alimentos de origem vegetal.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao NAPO (Núcleo de Análises e Pesquisas Orgânicas) pelo apoio e cedência de suas instalações para a realização das análises. S. Mohr agradece a CAPES, pela bolsa de doutorado. N. Zanatta, H. Bonacorso, M. Martins e I. Costabeber agradecem ao CNPq, pelas bolsas de produtividade em pesquisa (PQ). L. Porte agradece a CAPES, pela bolsa de pós-doutorado. Agradecemos também a EMATER/RS-ASCAR, escritório regional de Santa Maria, através do

Engenheiro Agrônomo Luiz Antônio Rocha Barcellos, pela coleta das amostras para a realização desta pesquisa.

REFERÊNCIAS

1. <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc140.htm>, acessada em Abril **2011**.
2. Omaye, S.T.; *Food and Nutritional Toxicology*, CRC Press: Boca Ranton, **2004**.
3. Colborn, T.; Meyers, J.P.; Dumanoski, D.; *Nuestro Futuro Robado*, Ecoespaña Editorial: Madrid, **1997**.
4. Costabeber, I.; Emanuelli, T.; *Bol. SBCTA*. **2003**, 37, 1.
5. Lang, V.; *Journal of Chromatography*. **1992**, 595, 1.
6. Tanabe, S.; Kannan, N.; Subramanian, A.; Watanabe, S.; Mitsuhiro, O.; Tatsukawa, R.; *Chemosphere*. **1987**, 16, 1965.
7. <http://www.ecodebate.com.br/2010/04/19>, acessada em Abril **2011**.
8. Ahmed, F. E.; *Environmental Contaminants in Food*. **1999**, 13, 500.
9. Wells D. E.; Boer J.; *Environmental Contaminants in Food*. **1999**, 9, 305.
10. Zhang H.; Chen J.; Ni Y.; Zhang Q.; Zhao L.; *Chemosphere*. **2009**, 76, 740.
11. Alessi, M. O.; Raupp, D. S.; Gardingo, J.R.; *Ciências Exatas da Terra , Ciências Agrárias e Engenharias*. **2003**, 9, 31.
12. Alvim, I. D.; Sgarbiere, V. C.; Chang Y. K.; *Ciência e Tecnologia dos Alimentos*. **2002**, 22, 170.
13. Felix, F. F.; Navickiene, S.; Dórea, H. S.; *Revista da Fapese*. **2007**, 2, 39.
14. Beyer, A.; Biaziuk, M.; *Food Chemistry*. **2008**, 108, 669.

15. Ribani, M.; Bottoli, C.B.G.; Collins, C.H.; Jardim, I.C.S.F.; Melo, L.F.C.; *Quim. Nova* **2004**, *27*, 771.
16. Freire, M. T.; Bottoli, C.B.G.; Fabris, S.; Reyes, F. G. R.; *Quim. Nova*. **2008**, *6*, 1522.
17. Lanças, F.M.; *Validação de métodos cromatográficos de análise*, Rima: São Carlos, **2004**.
18. Chasin, A. A. M.; Nascimento, E. S.; Ribeiro Neto, L. M.; Siqueira, M. E. P. B.; Andraus, M. H.; Salvatori, M. C.; Fernícua, N. A. G.; Gorni, R.; Salcedo, S.; *Rev. Brasileira de Toxicologia*. **1998**, *11*, 1.
19. Carabias, R. M.; Rodriguez, E. G.; Paniagua, P. H. M.; Hernandez, J. M.; *Journal of Chromatography A*. **2000**, *869*, 427.
20. Ahmed, F. E.; *Trends in Analytical Chemistry*. **2003**, *22*, 170.
21. Mason, T.; Collings, A.; Sumel, A.; *Ultrasonics Sonochemistry*. **2004**, *11*, 205.
22. Simonelli, A.; Basilicata, P.; Miraglia, N.; Castiglia, L.; Guadagni, R.; Acampora, A.; Sannolo, N.; *Journal of Chromatography B*. **2007**, *860*, 26.
23. Rocco, G.; Toledo, C.; Ahumada, I.; Sepúlveda, B.; Cañete, A.; Richter, P.; *Journal of Chromatography A*. **2008**, *1193*, 32.
24. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO); *Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos*, DOQ-CGCRE-008, **2003**.
25. Domenech, J. M.; Riba, M. D.; *Una síntesis de los métodos estadísticos bivariantes*, Editora Herder, Barcelona, **1989**.
26. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA); *Resolução RE nº 899*, de 29/05/2003.

27.

http://www.agricultura.gov.br/pls/portal/docs/PAGE/MAPA/LEGISLACAO/PUBLICACOES_DOU/PUBLICACOES_DOU_2010/MAIO_2010/DO1_03-05_0.PDF,
acessada em Abril **2011**.

28. Heck, M.C.; Sifuentes dos Santos, J.; Bogusz Junior, S.; Costabeber, I.; Emanuelli, T.; *Food Chem.* **2007**, *102*, 288.

29. Santos, J.S.; Xavier, A.A.O.; Ries, E.F.; Costabeber, I.; Emanuelli, T.; *Chemosphere* **2006**, *65*, 1544.

30. Costabeber, I.; Santos, J.S.; Xavier, A.A.O.; Weber, J.; Leães, F.L.; Bogusz Junior, S.; Emanuelli, T.; *Food Chem. Toxicol.* **2006**, *44*, 1.

31. Mohr, S.; Schwanz, T.G.; Wagner, R.; Soldatelli, L.; Costabeber, I.; *Quim. Nova* **2011**, *34*, 444.

Figura 1. Cromatograma (GC-MS no modo EI) de uma amostra de milho contaminada, onde: $t_R = 10,73$ min: PCB 10, $t_R = 12,61$ min: PCB 28, $t_R = 13,02$: PCB 52.

Figura 2. Cromatograma (GC-MS no modo NCI) de uma amostra de milho contaminada, onde: $t_R = 15,09$ min: PCB 153, $t_R = 15,37$ min: PCB 138, $t_R = 16,04$: PCB 180.

Figura 1

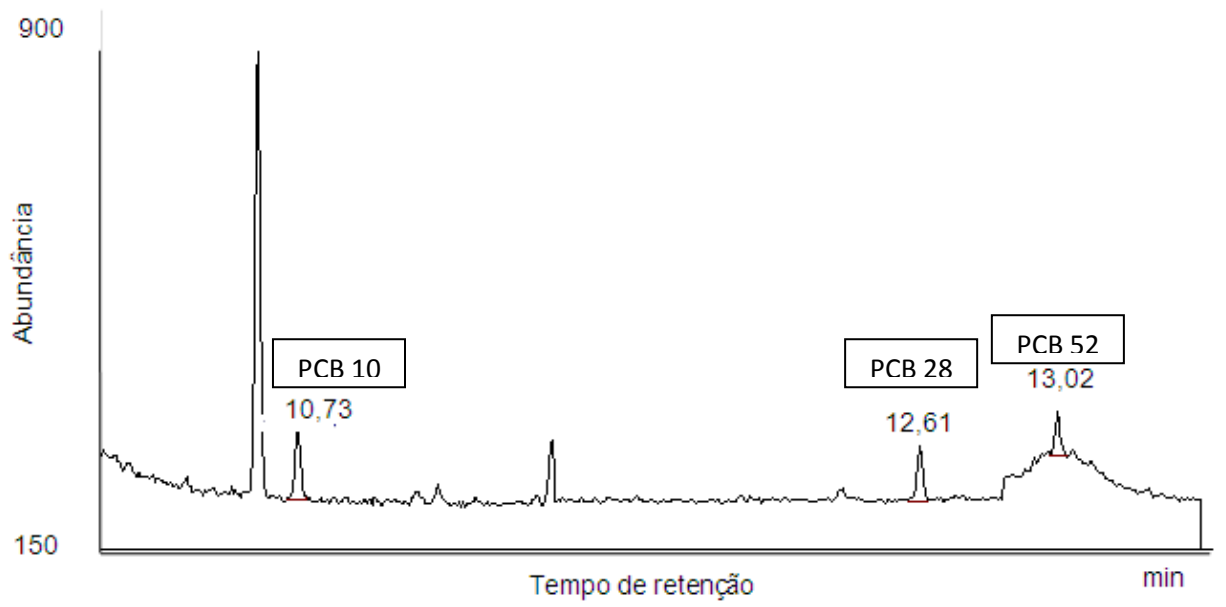


Figura 2

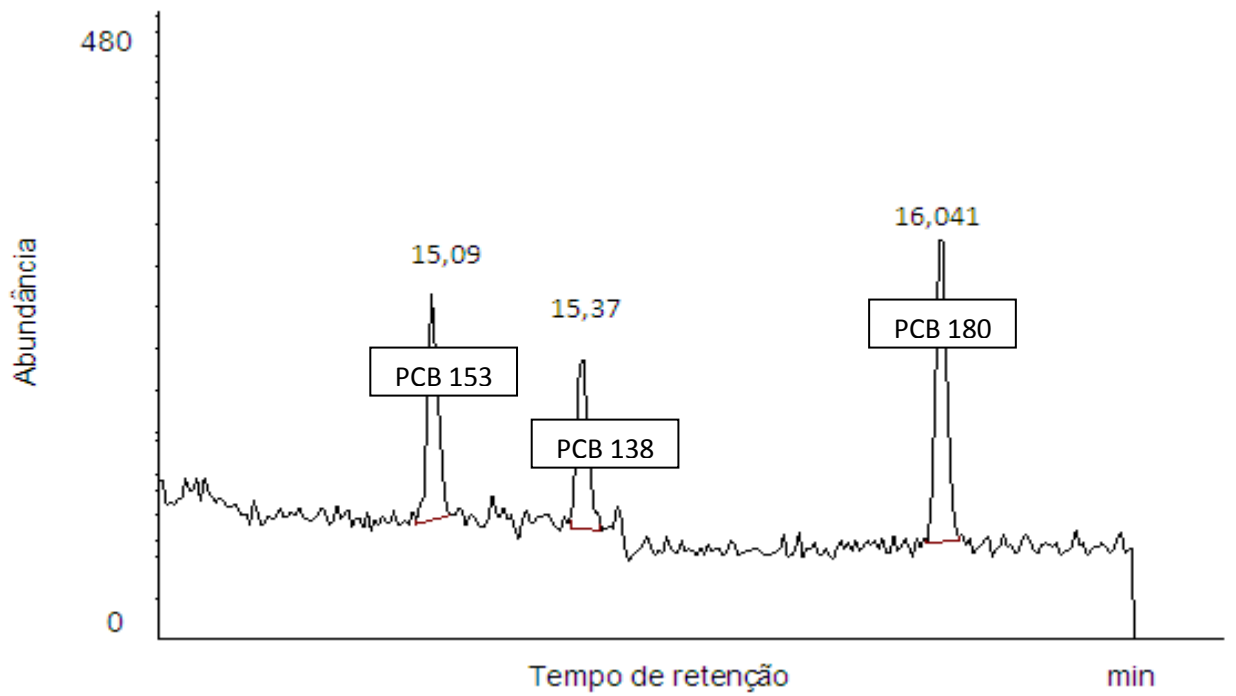


Tabela 1. Resultados obtidos nas provas de linearidade.

PCB	Faixa de trabalho ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Coefficiente de correlação (r)	Equação da curva
PCB 10	0,099 - 2,475	0,996	$y = 63388,8x - 16,959$
	2,475 - 49,50	0,999	$y = 5601,2x + 2291,1$
PCB 28	0,100 - 2,498	0,999	$y = 4504,6x + 243,27$
	2,498 - 49,95	0,999	$y = 3984,6x + 1613,2$
PCB 52	0,099 - 2,475	0,997	$y = 3153x + 300,7$
	2,475 - 49,500	0,999	$y = 3182,5x + 341,04$
PCB 153	0,100 - 2,498	0,998	$y = 62286x - 1295$
	2,498 - 49,950	0,997	$y = 54011x + 57897$
PCB 138	0,099 - 2,475	0,999	$y = 38292x + 738,16$
	2,475 - 49,500	0,999	$y = 30762x + 39308$
PCB 180	0,099 - 2,478	0,999	$y = 104091x + 3111,6$
	2,478 - 49,550	0,994	$y = 80569x + 131533$

Tabela 2. Resultados obtidos para as provas de recuperação ($n = 18$).

Composto	Níveis de fortificação ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação (%)	CV (%)
PCB 10	0,990	74,10	8,68
	9,900	81,84	2,61
	49,500	82,63	2,63
PCB 28	0,999	97,07	17,02
	9,990	78,96	2,40
	49,950	80,51	2,14
PCB 52	0,990	110,60	19,28
	9,900	109,10	2,19
	49,500	106,06	3,35
PCB 138	0,999	89,65	11,84
	9,990	81,46	3,51
	49,950	93,76	11,83
PCB 153	0,990	90,07	2,67
	9,900	84,34	1,69
	49,500	97,60	4,27
PCB 180	0,991	89,60	4,85
	9,910	81,28	4,75
	49,550	91,39	2,83

CV: Coeficiente de variação.

Tabela 3. Frequências de determinação e concentrações dos PCBs em ng mL^{-1} (média \pm desvio-padrão, mediana, mínimo e máximo) em milho ($n = 51$).

PCB	$n > \text{LQ}$ (%)	Média \pm DP	Mediana	Mínimo	Máximo
PCB 10	1 (1,96)	0,00 \pm 0,02	0,00	0,00	0,16
PCB 28	7 (13,72)	0,03 \pm 0,07	0,00	0,00	0,30
PCB 52	11 (21,56)	0,05 \pm 0,11	0,00	0,00	0,53
PCB 153	16 (31,37)	0,07 \pm 0,13	0,00	0,00	0,62
PCB 138	17 (33,33)	0,13 \pm 0,38	0,00	0,00	2,54
PCB 180	20 (39,21)	0,11 \pm 0,24	0,00	0,00	1,37

n : Número de amostras. DP: Desvio-padrão. Valores abaixo do LD foram considerados como zero e valores entre o LD e LQ foram considerados como LOQ/2 para o cálculo da média e mediana. LD: 0,02 ng g^{-1} (PCB 10), 0,01 ng g^{-1} (PCBs 28 e 52), 0,005 ng g^{-1} (PCBs 138, 153 e 180). LQ: 0,1 ng g^{-1} (PCB 10), 0,05 ng g^{-1} (PCBs 28 e 52), 0,025 ng g^{-1} (PCBs 138, 153 e 180).

MATERIAL SUPLEMENTAR

Tabela 1S. Parâmetros dos PCBs analisados por GC-MS no modo de aquisição SIM (massa molar, modos de ionização, tempos de retenção, íons monitorados, tempo de janela e *dwell time*).

Composto	Massa molar	Modo de ionização	RT (min)	Íon quantificador	Íons qualificadores	Tempo de janela (min)	<i>Dwell time</i>
PCB 10	222		10,73	222	152,1; 224	10,0 – 11,5	100
PCB 28	256	EI	12,61	256	186; 258; 260	11,5 – 12,9	100
PCB 52	290		13,02	291,9	220; 222; 289,9	12,9 – 13,5	100
PCB 153	358		15,05	359,8	357,8; 361,8; 363,8	14,5 – 15,2	100
PCB 138	358	CI	15,33	359,8	357,8; 361,8; 363,8	15,2 – 15,5	100
PCB 180	392		15,99	393,8	359,8; 361,8; 395,8	15,5 – 16,5	100

RT: Tempo de retenção.

Tabela 2S. Porcentagens de recuperação dos PCBs extraídos em testes com diferentes solventes.

PCBs	Recuperação (%) \pm DP		
	<i>n</i> -Hexano	<i>n</i> -Hexano + Acetona (1:1)	<i>n</i> -Hexano + Acetato de Etila (1:1)
PCB 10	84,69 \pm 4,19	90,03 \pm 2,66	73,75 \pm 3,99
PCB 28	81,50 \pm 3,17	90,71 \pm 1,14	74,72 \pm 4,98
PCB 52	80,48 \pm 2,90	93,43 \pm 2,92	74,92 \pm 6,40
PCB 153	78,38 \pm 1,55	87,26 \pm 7,03	66,68 \pm 2,32
PCB 138	82,47 \pm 3,20	95,35 \pm 0,91	64,92 \pm 3,46
PCB 180	83,33 \pm 2,45	90,18 \pm 0,85	63,43 \pm 2,32

Tabela 3S. Porcentagens de recuperação dos PCBs após testes de eluição com diferentes solventes.

PCBs	Recuperação (%) \pm DP			
	Teste A	Teste B	Teste C	Teste D
PCB 10	70,58 \pm 3,39	70,25 \pm 2,58	78,15 \pm 2,58	85,26 \pm 2,10
PCB 28	65,00 \pm 1,36	77,77 \pm 4,85	88,58 \pm 3,02	90,23 \pm 3,12
PCB 52	77,25 \pm 3,48	83,99 \pm 5,53	105,54 \pm 2,74	113,77 \pm 3,11
PCB 153	57,25 \pm 3,06	65,63 \pm 6,32	90,63 \pm 3,58	84,12 \pm 2,89
PCB 138	60,12 \pm 4,25	69,25 \pm 3,27	88,20 \pm 1,58	83,25 \pm 4,01
PCB 180	55,21 \pm 2,91	65,24 \pm 4,88	84,56 \pm 2,07	89,27 \pm 1,09

Teste A: 5 mL (Éter Etílico 6% em Éter de Petróleo) + 7 mL (Éter Etílico 15% em Éter de Petróleo).

Teste B: 10 mL (Éter Etílico 50% em Éter de Petróleo)

Teste C: 10 mL *n*-Hexano.

Teste D: 15 mL *n*-Hexano.

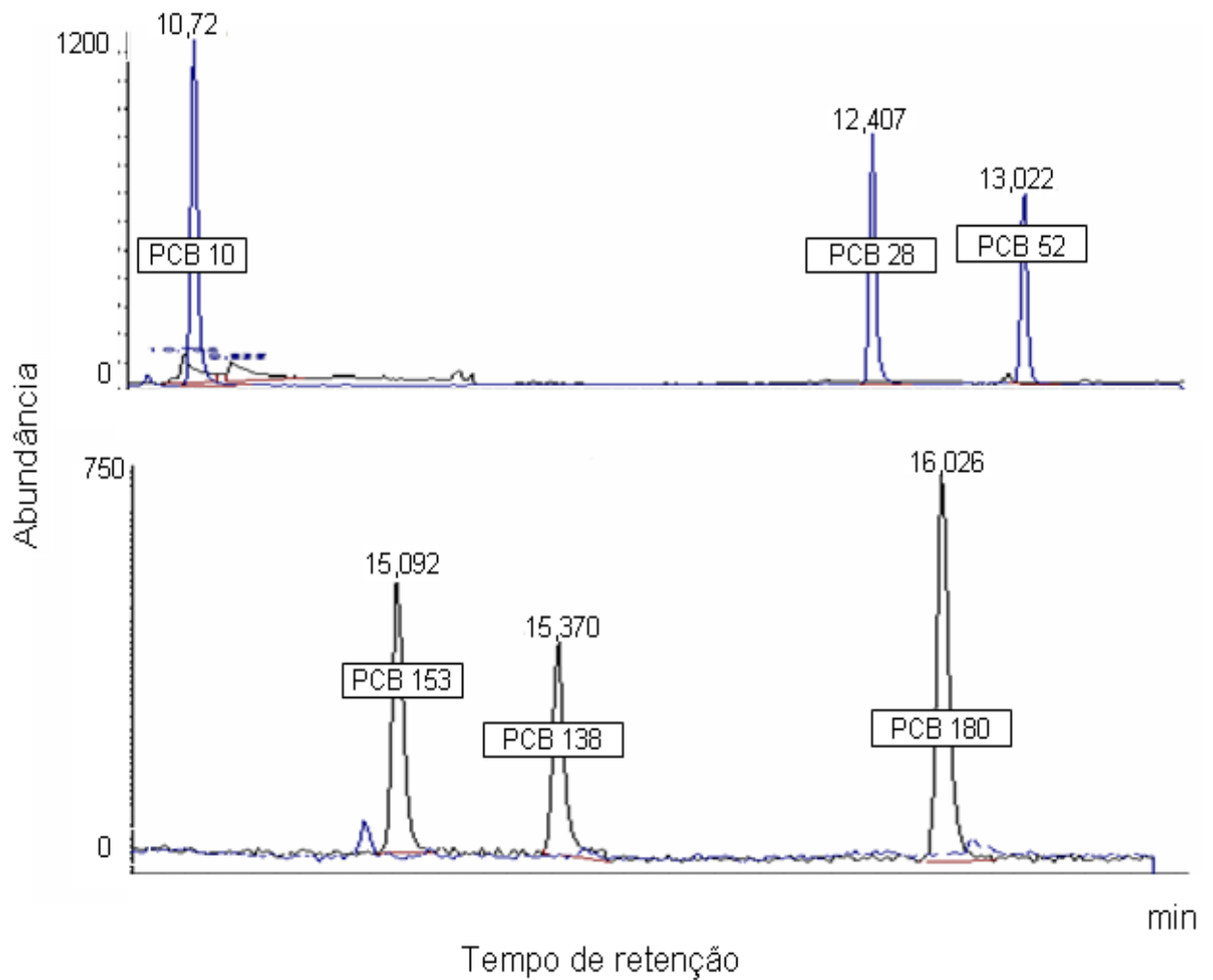


Figura 1S. Sobreposição dos cromatogramas de amostra testemunha e amostra fortificada com os PCBs.

4.2 Artigo 2

Declínio nos níveis de bifenilos policlorados em milho e farinha de milho do estado do Rio Grande do Sul, Brasil

Thiago G. Schwanz^a, Susana Mohr^a, Nilo Zanatta^b, Helio Gauze Bonacorso^b, Marcos Antônio Pinto Martins^b, Ijoni H. Costabeber^{c*}

^a Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, Av. Roraima, 1000, Prédio 42, Sala 3135, 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil

^b Departamento de Química, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Av. Roraima, 1000, Prédio 15A, 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil

^c Departamento de Morfologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria, Av. Roraima, 1000, Prédio 19, Sala 3201, 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil

* Autor para correspondência. Tel.: 55 55 3220 9375; fax: 55 55 3220 8353 (I.H.Costabeber)

Endereços de email: tgsnapo@gmail.com (T.G.Schwanz), susana@viamicro.com.br (S.Mohr), zanatta@base.ufsm.br (N.Zanatta), heliogb@base.ufsm.br (H.G.Bonacorso), mmartins@base.ufsm.br (M.A.P.Martins), ijonicostabeber@gmail.com (I.H.Costabeber).

Resumo

O presente trabalho teve como objetivo determinar PCBs em 151 amostras de milho em grão e farinha de milho do estado do Rio Grande do Sul, Brasil, relacionando-os com a região de coleta, ano de produção, % de gordura e tipo de farinha. A extração e purificação foram realizadas por SPE, seguido de GC-MS. As amostras apresentaram contaminação, com prevalência dos congêneres 138, 180, 153 e 52. A farinha de milho apresentou maiores concentrações quando relacionada ao milho em grão, porém, entre os tipos de farinha (fina, média e grossa), não houve diferença significativa. Já a % de gordura presente nas farinhas demonstrou grande influência na concentração de PCBs detectados, com significância estatística para todos os congêneres estudados ($p \leq 0,01$). A região nordeste diferiu significativamente das demais, apresentando as maiores concentrações ($p \leq 0,05$). Quanto à safra, as amostras de 2010 apresentaram concentrações menores que as de 2009. Estes resultados demonstram que o estado do Rio Grande do Sul apresenta fontes importantes de contaminação, apesar de ter sido observado uma diminuição nas concentrações de um ano para o outro. Este é o primeiro estudo realizado demonstrando a contaminação por PCBs em alimentos de origem vegetal do Brasil.

Palavras-chave: PCBs, milho em grão, farinha de milho, GC-MS

Introdução

Os bifenilos policlorados são compostos químicos sintéticos que foram intencionalmente produzidos pela indústria na forma de misturas técnicas, sendo destinados para uso como fluídos dielétricos, conservantes de pesticidas, plasticidas, adesivos, entre outros (WHO, 1993). Pertencem a um grupo de contaminantes altamente persistentes e com ampla distribuição no meio ambiente, demonstrando ser um potencial risco para a saúde humana (Storelli, Barone, Perrone & Giacomini-Stuffler, 2011). Suas propriedades tóxicas incluem, entre outros, potencial carcinogênico (Prince et al., 2006) e teratogênico (Mohr, Schwanz, Wagner, Mozzaquatro, Lorenzoni & Costabeber, 2011), motivo pela qual sua fabricação e utilização foram proibidas há três décadas na maioria dos países, entre eles, o Brasil.

A ingestão através dos alimentos é a principal forma da exposição humana à estes compostos tóxicos, a qual contribui com mais de 90% do total quando comparada às outras formas de contaminação, tais como a inalação e a absorção dérmica (Bordajandi, Martín, Abad, Rivera & Gonzáles, 2006). Dentre os alimentos que mais contribuem para esta ingestão destacam-se os alimentos de origem animal, devido ao fato de que possuem maior quantidade de gordura para absorver e armazenar os PCBs, que são altamente lipofílicos. Estes alimentos, em especial os pescados, são muito mais contaminados do que os alimentos de origem vegetal (Törnkvist, Glynn, Aune, Darnerud & Ankarberg, 2011), sendo que os peixes podem contribuir com até 50% do total da ingestão diária de PCBs (Voorspoels, Covaci & Neels, 2008). Porém, algumas dietas, como no estado do Rio Grande do Sul, Brasil, são ricas em cereais e outros vegetais, tais como o milho em grãos e a farinha de milho, os quais podem contribuir significativamente para o total da ingestão diária destes contaminantes através dos alimentos. Experimentos realizados com alimentos cultivados em áreas cujo solo apresentou

níveis consideráveis de PCBs demonstraram que os mesmos absorvem e bioconcentram estes compostos em suas raízes, caules e folhas (Kacálková & Tlustos, 2011; Chrysikou, Gemenetzi, Kouras, Manoli, Terzi & Samara, 2008), comprovando a presença de contaminação nos alimentos de origem vegetal. Outros estudos recentes também detectaram a presença de PCBs em frutas, verduras, legumes e cereais de diversas espécies (Grassi, Fattore, Generoso, Fanelli, Arvati & Zuccato, 2010; Zhang et al., 2008). Entretanto, para o milho destinado à alimentação humana, não foram encontrados estudos que reportem a análise de contaminantes persistentes.

Para um melhor entendimento destas contaminações, o presente estudo teve como objetivo determinar PCBs em amostras de milho em grão e farinha de milho coletadas em diferentes regiões do estado do Rio Grande do Sul durante os anos de 2009 e 2010, relacionando os níveis detectados com a região de coleta, ano de produção, teor de gordura e tipo de farinha. Além disso, calculou-se a Ingestão Diária Estimada (IDE) a partir das concentrações encontradas nas amostras de milho em grão e farinha de milho analisadas.

2. Material e métodos

2.1. Amostras

Para o presente estudo foi analisado um total de 151 amostras, sendo 51 de milho em grão e 100 de farinha de milho, obtidas de 49 diferentes cidades de várias regiões do estado do Rio Grande do Sul, Brasil, entre janeiro de 2009 e setembro de 2010. As amostras foram coletadas das seguintes regiões: noroeste (n=24), nordeste (n=18), centro (n=50), metropolitana (n=56) e sudeste (n=3). Todas as amostras foram trituradas utilizando-se um moinho A11 Basic IKA e ultra-turrax T15 Basic IKA e, posteriormente, passadas por uma

peneira de malha 60 mesh. Logo após, foram armazenadas e mantidas em freezer à temperatura de -18°C , até a realização das análises.

2.2. Padrões e reagentes

Uma solução estoque de PCBs, contendo $10\ \mu\text{g mL}^{-1}$, e uma solução de trabalho, contendo $1\ \mu\text{g mL}^{-1}$ dos congêneres 10 (2,6 – diclorobifenil), 28 (2,4,4' – triclorobifenil), 52 (2,2',5,5' – tetraclorobifenil), 138 (2,2',3,4,4',5' – hexaclorobifenil), 153 (2,2',4,4',5,5' – hexaclorobifenil) e 180 (2,2',3,4,4',5,5' – heptaclorobifenil), foi utilizada nas etapas de validação do método científico e na identificação e quantificação dos compostos (SUPELCO, Inc., Bellefonte, Pensilvania, USA). Como solventes e reagentes foram utilizados *n*-hexano Nanograde[®] com certificação para análises de resíduos de pesticidas (Mallinckrodt Baker, Inc., NJ, USA), acetona grau resíduo, iso-octano grau resíduo, ácido clorídrico PA, sulfato de sódio anidro PA, clorofórmio PA e metanol PA (Vetec Química Fina Ltda, Duque de Caxias, RJ, Brasil), além de cartuchos SPE contendo 1 g de florisil (Agilent Technologies) e de nitrogênio 5.0 grau analítico (White Martins, Praxair Inc., Brasil).

2.3. Extração

As amostras trituradas foram pesadas ($20,0 \pm 0,05\ \text{g}$) utilizando-se um erlenmeyer. A extração dos PCBs foi resultante da adição de 50 mL de uma mistura *n*-hexano/acetona (1:1) e aplicação de banho de ultrassom, por 20 minutos. Logo após, o extrato foi filtrado a vácuo, utilizando filtro GFA, e transferido para um tubo de ensaio. Utilizando-se o aparelho N-EVAPTM (Organomation Associate, Inc.) com auxílio de gás nitrogênio, a amostra foi reduzida até um volume de 5 mL, seguida da adição de 3 mL de solução de ácido clorídrico 1 molar e agitação em vortex por 30 segundos.

2.4. Clean-up

Do volume extraído foram retirados 2 mL, os quais foram limpos através cartucho SPE contendo florisil pré-ativado com *n*-hexano. Após a eluição com 10 mL de *n*-hexano e 1 mL de iso-octano, as amostras foram novamente levadas a evaporação com N₂ até atingirem aproximadamente 2 mL, transferidas para balão volumétrico de 2 mL e aferidas com iso-octano, sendo em seguida transferidas para vials e submetidas à análise cromatográfica.

2.5. Análises cromatográficas

As análises foram efetuadas em um cromatógrafo a gás Agilent Technologies 6890N acoplado com espectrômetro de massas modelo 5975B inert XL CI/EI MSD. Um microlitro dos extratos foi injetado usando injetor automático *split/splitless* 7683 Agilent Technologies, no modo *splitless*. A temperatura do mesmo permaneceu constante a 280 °C. A separação dos PCBs foi realizada em uma coluna capilar de sílica fundida DB-5MS (J&W Scientific), com 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25 µm de espessura de fase estacionária. O hélio foi utilizado como gás de arraste sob pressão inicial de 10,39 psi. O fluxo, mantido constante, foi de 1,2 mL min⁻¹. A programação da temperatura do forno foi: 60°C (1 min), 15 °C min⁻¹ até 220 °C, 20 °C min⁻¹ até 300 °C (4,33 min). A temperatura da linha de transferência permaneceu a 310 °C. Para os PCBs 10, 28 e 52 os espectros e cromatogramas foram obtidos através do modo EI (impacto de elétrons), com energia de 70eV. As temperaturas da fonte e do quadrupolo foram de 230 °C e 150 °C, respectivamente. Para as análises dos congêneres 138, 152 e 180 utilizou-se o modo NCI (ionização química negativa). Como gás ionizante usou-se metano a um fluxo otimizado de 40%. Para a fonte de íons e o quadrupolo a temperatura foi de 150 °C. Ambos os métodos operaram em modo de monitoramento do íon selecionado (SIM = *Single Ion Monitoring*). A identificação e

quantificação dos compostos foram realizadas pela comparação dos tempos de retenção dos picos encontrados nas amostras com os tempos de retenção individuais dos padrões de bifenilos policlorados em estudo, sob as mesmas condições de trabalho, bem como pela comparação da abundância dos íons majoritários de cada um dos seis congêneres, obtidos a partir dos padrões de referência, com os íons encontrados na amostra. Os íons selecionados foram m/z 152.1, 222 e 224 (PCB 10); m/z 186, 256, 258 e 260 (PCB 28); m/z 220, 222, 289 e 291 (PCB 52); m/z 357.8, 359.8, 361.8 e 363.8 (PCB 153); m/z 357.8, 359.8, 361.8 e 363.8 (PCB 138); m/z 359.8, 361.8, 393.8 e 3995.8 (PCB 180).

2.6. Determinação do teor de gordura

A determinação da gordura nas amostras de milho em grão e farinha de milho seguiu o método descrito por Bligh and Dyer (1959). Em um erlenmeyer pesou-se $3,0 \pm 0,01\text{g}$ da amostra triturada e adicionou-se 10 mL de clorofórmio, 20 mL de metanol e 8 mL de água destilada. O erlenmeyer hermeticamente tampado foi então colocado em um agitador rotatório por 30 min. Em seguida, adicionou-se 10 mL de clorofórmio e 10 mL de solução de sulfato de sódio 1,5% e levou-se a agitação por mais 2 min. Colocou-se o conteúdo em um balão de separação e esperou-se a total separação das fases. Retirou-se a fase inferior do balão e filtrou-se com 1g de sulfato de sódio anidro e papel filtro. O filtrado foi levado à estufa com temperatura de $45\text{ }^\circ\text{C}$, até evaporação do solvente.

2.7. Controle de Qualidade

O método proposto foi previamente validado, obtendo-se resultados satisfatórios para todos os parâmetros testados, incluindo seletividade e linearidade. O coeficiente de variação (CV) da precisão intra-dia variou entre 0,5 e 17%, enquanto que o CV da precisão inter-dia

ficou entre 2,1 e 19,2%. A porcentagem de recuperação média ficou entre 74,1 e 110,6%. O limite de detecção (LOD) foi de 0,02 ng mL⁻¹ para o PCB 10, de 0,01 ng mL⁻¹ para os PCBs 28 e 52, e de 0,005 ng mL⁻¹ para os PCBs 138, 153 e 180, enquanto que o limite de quantificação (LOQ) foi de 0,1 ng mL⁻¹ para o PCB 10, de 0,05 ng mL⁻¹ para os PCBs 28 e 52, e de 0,025 ng mL⁻¹ para os PCBs 138, 153 e 180. Brancos foram feitos para cada lote de amostras extraídas, com o objetivo de identificar possíveis interferentes.

2.8. Análises estatísticas

Os dados foram analisados pelo software Statistica[®] 6.0. O teste *t* de Student foi utilizado para relacionar as concentrações de PCBs entre as amostras de milho em grão e farinha de milho e entre as amostras coletadas nos anos de 2009 e 2010. A análise de variância (ANOVA) foi aplicada para relacionar as médias das contaminações entre as diferentes regiões de origem, enquanto que os teores de gordura e os níveis de contaminação dos PCBs foram avaliados por testes de correlação linear simples, utilizando-se o coeficiente de Spearman. As diferenças foram consideradas com no mínimo 5% de significância ($p \leq 0,05$).

3. Resultados e discussão

Pesquisas realizadas com alimentos de origem animal e amostras biológicas provenientes do mesmo estado comprovaram a presença de contaminação na região estudada (Santos, Xavier, Ries, Costabeber & Emanuelli, 2006; Heck, Santos, Bogusz Junior, Costabeber & Emanuelli, 2007; Mohr, Schwanz, Wagner, Soldatelli & Costabeber, 2011). O mesmo se repetiu com o presente estudo, conforme podemos observar na Tabela 1, onde estão expressos os resultados das análises das amostras de milho em grão e farinha de milho. Os

PCBs com maior número de átomos de cloro em sua composição foram os que apresentaram maior frequência e as maiores médias (PCBs 138, 180 e 153), comprovando o fato de que os congêneres mais clorados são também os mais persistentes e os mais detectados em amostras de alimentos (Shen et al., 2009; Malisch & Dilara, 2007). Estes PCBs, juntamente com os congêneres 28, 52, 101 e 118, são denominados os “7 indicadores”, responsáveis pela maior parte da contaminação ambiental existente no mundo (WHO, 1993). Estudos realizados na Itália com produtos vegetais também mostraram resultados semelhantes para frutas e legumes, com uma maior concentração dos congêneres mais clorados (Grassi et al., 2010; Fattore, Fanelli, Dellatte, Turrini & di Domenico, 2008). Porém, para cereais e produtos derivados, Fattore et al. (2008) detectaram maiores concentrações dos PCBs 28 e 52, a exemplo do que foi constatado por Erdogrul (2007) em amostras de mel da Turquia. Dentre a literatura consultada, não foram encontrados estudos que reportassem diretamente as concentrações de PCBs em grãos de milho e farinha de milho. Também não há limites estabelecidos para PCBs em alimentos de origem vegetal na legislação brasileira, existindo somente limites para produtos de origem animal, os quais se reportam aos valores máximos permitidos dos congêneres 101, 118, 138, 153 e 180 (16 ng g⁻¹ de gordura para cada um dos congêneres em carne bovina; 2 ng mL⁻¹ para o somatório destes congêneres para leite bovino; e 50 ng g⁻¹ para o somatório destes congêneres para peixe de cultivo) (Brasil, 2010).

Analisando a diferença entre os dois tipos de amostras, podemos observar que a farinha de milho apresentou uma contaminação superior para todos os PCBs analisados (Tabela 2), com diferença significativa para os congêneres 52, 153, 138 e 180. Tal fato pode ser atribuído ao processamento dos grãos de milho para obtenção da farinha, que necessita de moagem, torra, entre outros processos industriais, aumentando as chances de contaminação quando comparada ao milho em grão. Em um estudo realizado por Perelló, Martí-Cid, Castell,

Llobet & Domingo (2010), a contaminação por PCBs em diversos alimentos foi analisada antes e após serem fritos, assados ou cozidos, encontrando divergências de acordo com o tipo de alimento. Portanto, em termos gerais, o processamento sofrido pelo alimento não pode ser levado em consideração como um fato isolado para determinar as causas da contaminação de alimentos por PCBs. Outrossim, em um estudo anterior realizado na Sérvia com farinha de trigo integral, uma contaminação significativa foi detectada para os mesmos PCBs do presente estudo, com níveis variando de 0,02 ng g⁻¹ para o PCB 180, e 0,24 ng g⁻¹ para o PCB 28 (Biljana, 2008), comprovando a presença destes compostos em farinhas. Outro fato que pode ser levado em consideração na busca de justificativas para a diferença nos níveis de PCBs em milho em grão e farinha de milho é o teor de umidade destes alimentos. A farinha de milho, que apresentou níveis superiores de contaminação, possui uma umidade média de 11,8% (UNICAMP, 2006), enquanto que o milho em grão contém em média 14% de umidade (EMBRAPA, 2011). Desta forma, os níveis de PCBs na farinha de milho estariam mais concentrados do que no milho em grão, devido ao teor de umidade menor.

A representação gráfica da contaminação nos diferentes tipos de farinha de milho analisadas (grossa, média e fina) pode ser observada na Figura 1. Embora os níveis detectados não tenham apresentado diferença estatística significativa, uma concentração superior foi apresentada pelas farinhas médias ($\sum\text{PCBs} = 1,54 \text{ ng g}^{-1}$) e grossas ($\sum\text{PCBs} = 1,51 \text{ ng g}^{-1}$), quando comparadas às farinhas finas ($\sum\text{PCBs} = 0,60 \text{ ng g}^{-1}$). Este fato pode ser devido à porcentagem de gordura das farinhas, que apresentaram valores médios de 1,92% nas farinhas grossas, de 1,59% nas farinhas médias, e de 1,47% nas farinhas finas. Os milhos em grão, porém, apresentaram uma porcentagem de gordura bem superior às farinhas (4,53%), embora os níveis de PCBs tenham sido inferiores, conforme já reportado anteriormente. Correlacionando-se os níveis de PCBs com a % de gordura das amostras (Tabela 3), pode-se

observar que os diferentes tipos de farinhas de milho apresentaram coeficientes significativos para todos os congêneres ($p \leq 0,01$), enquanto que os milhos em grão apresentaram diferença significativa apenas para o PCB 52 ($p \leq 0,05$). Ao observar as concentrações detectadas na farinha de milho, portanto, comprova-se o fato de que os PCBs são lipofílicos, acumulando-se também na fração de gordura dos vegetais.

Alimentos coletados de diferentes regiões apresentaram diferenças significativas nas concentrações de PCBs em estudos realizados anteriormente (Costabeber et al., 2006; Zuccato et al., 2008). Em nosso estudo, foram analisadas amostras coletadas de cinco diferentes regiões do estado do Rio Grande do Sul, Brasil. A Tabela 4 apresenta a análise de variância entre as regiões estudadas, onde observamos que a região nordeste apresentou as maiores concentrações de PCBs para todos os congêneres ($\sum \text{PCBs} = 2,957 \text{ ng g}^{-1}$), diferindo significativamente da maioria das outras regiões. A maior parte das amostras coletadas desta região é proveniente da cidade de Caxias do Sul, cidade esta que é altamente industrializada, o que pode explicar a elevada contaminação detectada, a exemplo do que ocorreu com a região metropolitana ($\sum \text{PCBs} = 1,299 \text{ ng g}^{-1}$), região esta que foi a segunda a apresentar a maior contaminação. Já a região noroeste foi a que apresentou a menor contaminação ($\sum \text{PCBs} = 0,371 \text{ ng g}^{-1}$), uma vez que é uma região essencialmente agrícola dentro do estado do Rio Grande do Sul, a exemplo das regiões centro e sudoeste. Estes resultados concordam com um estudo recente realizado por You et al. (2011), os quais detectaram maiores concentrações de PCBs em peixes coletados próximo à regiões industrialmente desenvolvidas na China.

Diversos estudos relatam que os níveis de PCBs nos alimentos tendem a diminuir com o passar dos anos, devido à proibição de sua fabricação e utilização (Törnqvist et al., 2011; Glynn et al., 2008). Neste estudo esta tendência se confirma, conforme demonstrado na

Tabela 5. As amostras coletadas no ano de 2010 apresentaram menores concentrações para todos os PCBs analisados quando comparadas com as amostras de 2009, com diferença significativa para os congêneres 10, 138, 153 e 180. Resultados semelhantes também foram reportados para diversos alimentos por De Mul et al. (2008) e para a maioria das espécies de peixes analisados por Mezzetta et al. (2011).

O consumo *per capita* diário de milho e produtos a base de milho no Brasil é de 21,38 g (IBGE, 2008). Levando-se em consideração um peso corporal médio de 60 kg (Storelli et al., 2011) e os níveis de bifenilos policlorados obtidos nas amostras, do presente estudo ($\sum\text{PCBs}=1,07 \text{ ng g}^{-1}$), a ingestão diária estimada de PCBs pode ser calculada. Desta forma, os consumidores de milho em grão e farinha de milho do estado do Rio Grande do Sul estão tendo uma ingestão diária estimada de PCBs de $0,38 \text{ ng kg}^{-1}$ de peso corporal por dia. Estes valores bem estão abaixo dos limites máximos estabelecidos pela legislação brasileira, embora estes se refiram a produtos de origem animal. Portanto, o consumo destes alimentos não apresenta riscos à saúde humana. No entanto, cabe salientar que a ingestão de PCBs não é apenas devido ao consumo de milho em grão e farinha de milho, mas também ao consumo de outros alimentos como leite e produtos lácteos, carne e derivados (Törnkvist et al., 2011) e, principalmente, de peixes (Miklavcic et al., 2011). Este é o primeiro estudo realizado demonstrando os níveis de contaminação por PCBs em milho em grão e farinha de milho do estado do Rio Grande do Sul, Brasil.

4. Conclusões

Os resultados encontrados no presente estudo demonstraram que o milho em grão e a farinha de milho produzidos no estado do Rio Grande do Sul, Brasil, apresentaram uma considerável contaminação por PCBs, sendo as amostras provenientes das regiões noroeste e

metropolitana as mais contaminadas. Outrossim, houve uma diminuição nos níveis de PCBs do ano de 2009 para o ano de 2010, o que nos indica que há uma tendência ao declínio de contaminação com o passar dos anos. Como este é o primeiro estudo realizado, demonstrando diretamente a presença de PCBs em milho e farinha de milho, novos estudos são necessários para que seja possível determinar as causas desta contaminação. Os dados do presente estudo também poderão servir de subsídio para a elaboração de uma legislação brasileira que estabeleça limites máximos de resíduos de PCBs em alimentos de origem vegetal, a exemplo do que já existe para alimentos de origem animal.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao NAPO (Núcleo de Análises e Pesquisas Orgânicas), pela cedência de suas instalações e equipamentos para a realização desta pesquisa. S. Mohr agradece a CAPES, pela bolsa de doutorado. I. Costabeber e N. Zanata agradecem ao CNPq, pela bolsa de produtividade em pesquisa (PQ). Agradecemos também a EMATER/RS-ASCAR, escritório regional de Santa Maria, através do engenheiro agrônomo Luiz Antônio Rocha Barcellos, pela coleta das amostras para a realização deste estudo.

Referências

- Biljana, S. (2008). Assessment of the Serbian population exposure to polychlorinated biphenyls by crops. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 25, 171-175.
- Bligh, E.G., & Dyer, W.J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 37, 911-917.

- Bordajandi, L. R., Martín, I., Abad, E., Rivera, J., & Gonzáles, M. J. (2006). Organochlorine compounds (PCBs, PCDDs and PCDFs) in seafish and seafood from the Spanish Atlantic Southwest Coast. *Chemosphere*, *64*, 1450-1457.
- Brasil (2010). Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Instrução Normativa N° 8 de 29 de abril de 2010. Programas de Controle de Resíduos e Contaminantes em Carnes, Leite, Mel, Ovos e Pescado.
- Chrysikou, L., Gemenetzi, P., Kouras, A., Manoli, E., Terzi, E., & Samara, C. (2008). Distribution of persistent organic pollutants, polycyclic aromatic hydrocarbons and trace elements in soil and vegetation following a large scale landfill fire in northern Greece. *Environment International*, *34*, 210-225.
- Costabeber, I., Santos, J.S., Xavier, A.A.O., Weber, J., Leães, F.L., Bogusz Junior, S., & Emanuelli, T. (2006). Levels of polychlorinated biphenyls (PCBs) in meat and meat products from the state of Rio Grande do Sul, Brazil. *Food and Chemical Toxicology*, *44*, 1-7.
- De Mul, A., Bakker, M.I., Zeilmaker, M.J., Traag, W.A., van Leeuwen, S.P.J., Hoogenboom, R.L.A.P., Boon, P.E., & van Klaveren, J.D. (2008). Dietary exposure to dioxins and dioxins-like PCBs in The Netherlands anno 2004. *Regulatory Toxicology and Phamacology*, *51*, 278-287.
- EMBRAPA (2011). Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (internet). Disponível em: <<http://www.cnpms.embrapa.br/perguntas/colheita2.html>>. Acessado em 06 de junho de 2011.
- Erdogrul, Ö. (2007). Levels of selected pesticides in honey samples from Kahramanmaras, Turkey. *Food Control*, *18*, 866-871.

- Fattore, E., Fanelli, R., Dellatte, E., Turrini, A., & di Domenico, A. (2008). Assessment of the dietary exposure to non-dioxin-like PCBs of the Italian general population. *Chemosphere*, 73, S278-S283.
- Glynn, A., Aune, M., Nilsson, I., Darnerud, P.O., Ankarberg, E.H., Bignert, A., & Nordlander, I. (2009). Declining levels of PCB, HCB and *p,p'*-DDE in adipose tissue from food producing bovines and swine in Sweden 1991-2004. *Chemosphere*, 74, 1457-1462.
- Grassi, P., Fattore, E., Generoso, C., Fanelli, R., Arvati, M., & Zuccato, E. (2010). Polychlorobiphenyls (PCBs), polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins (PCDDs) and dibenzofurans (PCDFs) in fruit and vegetables from an industrial area in northern Italy. *Chemosphere*, 79, 292-298.
- Heck, M.C., Santos, J.S., Bogusz Junior, S., Costabeber, I. & Emanuelli, T. (2007). Estimation of children exposure to organochlorine compounds through milk in Rio Grande do Sul, Brazil. *Food Chemistry*, 102, 288-294.
- IBGE (2008). Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Pesquisa de Orçamentos Familiares – POF 2002-2003 (internet). Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/estatística/população/condicaodevida/pof/2002/aquisicao/default.shtm>>. Acessado em 30 de março de 2011.
- Kacálková, L. & Tlustos, P. (2011). The uptake of persistent organic pollutants by plants. *Central European Journal of Biology*, 6, 223-235.
- Malisch, R., & Dilara, P. (2007). PCDD/Fs and PCBs in butter samples from new European Union members states and a candidate country: Analytical quality control, results and certain PCB- specific aspects. *Chemosphere*, 67, S79-S89.

- Mezzetta, S., Cirilini, M., Ceron, P., Tecleanu, A., Caligiani, A., Palla, G., & Sansebastiano, G.E. (2011). Concentration of DL-PCBs in fish from market of Parma city (North Italy): Estimated human intake. *Chemosphere*, 82, 1293-1300.
- Miklavcic, A., Stibilj, V., Heath, E., Polak, T., Tratnik J.S., Klavz, J., Mazej, D., & Horvat, M. (2011). Mercury, selenium, PCBs and fatty acids in fresh and canned fish available on the Slovenian market. *Food Chemistry*, 124, 711-720.
- Mohr, S., Schwanz, T. G., Wagner, R., Mozzaquatro, J. O., Lorenzoni, A. S., & Costabeber, I. H. (2011). Polychlorinated biphenyls in umbilical cord serum of newborns with congenital malformation. *Chemosphere*, in press.
- Mohr, S., Schwanz, T.G., Wagner, R., Soldatelli, L., & Costabeber, I.H. (2011). Determinação de bifenilos policlorados em soro de cordão umbilical através de extração por hidrólise ácida seguida de cromatografia a gás acoplada a um microdetector de captura de elétrons. *Química Nova*, 34, 444-449.
- UNICAMP (2006). Universidade Estadual de Campinas. Núcleo de Estudos e Pesquisas em Alimentação. Tabela brasileira de composição de alimentos, Versão II, 2.ed., Campinas, SP: NEPA-UNICAMP. 113p.
- Perelló, G., Martí-Cid, R., Castell, V., Llobet, J.M., & Domingo, J.L. (2010). Influence of various cooking processes on the concentrations of PCDD/PCDFs, PCBs and PCDEs in foods. *Food Control*, 21, 178-185.
- Prince, M.M., Ruder, A.M., Hein, M.J., Waters, M.A., Whelan, E.A., Nilsen, N., Ward, E.M., Schnorr, T.M., Laber, P.A., & Davis-King, K.E. (2006). Mortality and exposure response among 14,458 electrical capacitor manufacturing workers exposed to polychlorinated biphenyls (PCBs). *Environmental Health Perspectives*, 114, 1508-1514.

- Santos, J.S., Xavier, A.A.O., Ries, E.F., Costabeber, I., & Emanuelli, T. (2006). Assessment of polychlorinated biphenyls (PCBs) in cheese from Rio Grande do Sul, Brazil. *Chemosphere*, 65, 1544-1550.
- Shen, H., Yu, C., Ying, Y., Zhao, Y., Wu, Y., Han, J., & Xu, Q. (2009). Levels and congener profiles of PCDD/Fs, PCBs and PBDEs in seafood from China. *Chemosphere*, 77, 1206-1211.
- Storelli, M. M., Barone, G., Perrone, V. G., & Giacomini-Stuffler, R. (2011). Polychlorinated biphenyls (PCBs), dioxins and furans (PCDD/Fs): Occurrence in fishery products and dietary intake. *Food Chemistry*, 127, 1648-1652.
- Törnkvist, A., Glynn, A., Aune, M., Darnerud, P. O., & Ankarberg, E. H. (2011). PCDD/F, PCB, PBDE, HBCD and chlorinated pesticides in a Swedish market basket from 2005 – Levels and dietary intake estimation. *Chemosphere*, 83, 193-199.
- Voorspoels, S., Covaci, A., & Neels, H. (2008). Dietary PCB intake in Belgium. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 25, 179-182.
- WHO, World Health Organization (1993). Polychlorinated biphenyls and terphenyls; Environment Health Criteria: 140, 2nd ed., Geneva: World Health Organization, 682p.
- You, H., Ding, J., Zhao, X.S., Li, Y.F., Liu, L.Y., Ma, W.L., Qi, H., & Shen, J.M. (2011). Spatial and seasonal variation of polychlorinated biphenyls in Songhua River, China. *Environmental Geochemistry and Health*, in press.
- Zhang, J., Jiang, Y., Zhou, J., Fang, D., Jiang, J., Liu, G., Zhang, H., Xie, J., Huang, W., Zhang, J., Li, H., Wang, Z., & Pan, L. (2008). Concentrations of PCDD/PCDFs and PCBs in retail foods and an assessment of dietary intake for local population of Shenzhen in China. *Environment International*, 34, 799-803.

Zuccato, E., Grassi, P., Davoli, E., Valdicelli, L., Wood, D., Reitano, G., & Fanelli, R. (2008). PCB concentrations in some foods from four European countries. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 1062-1067.

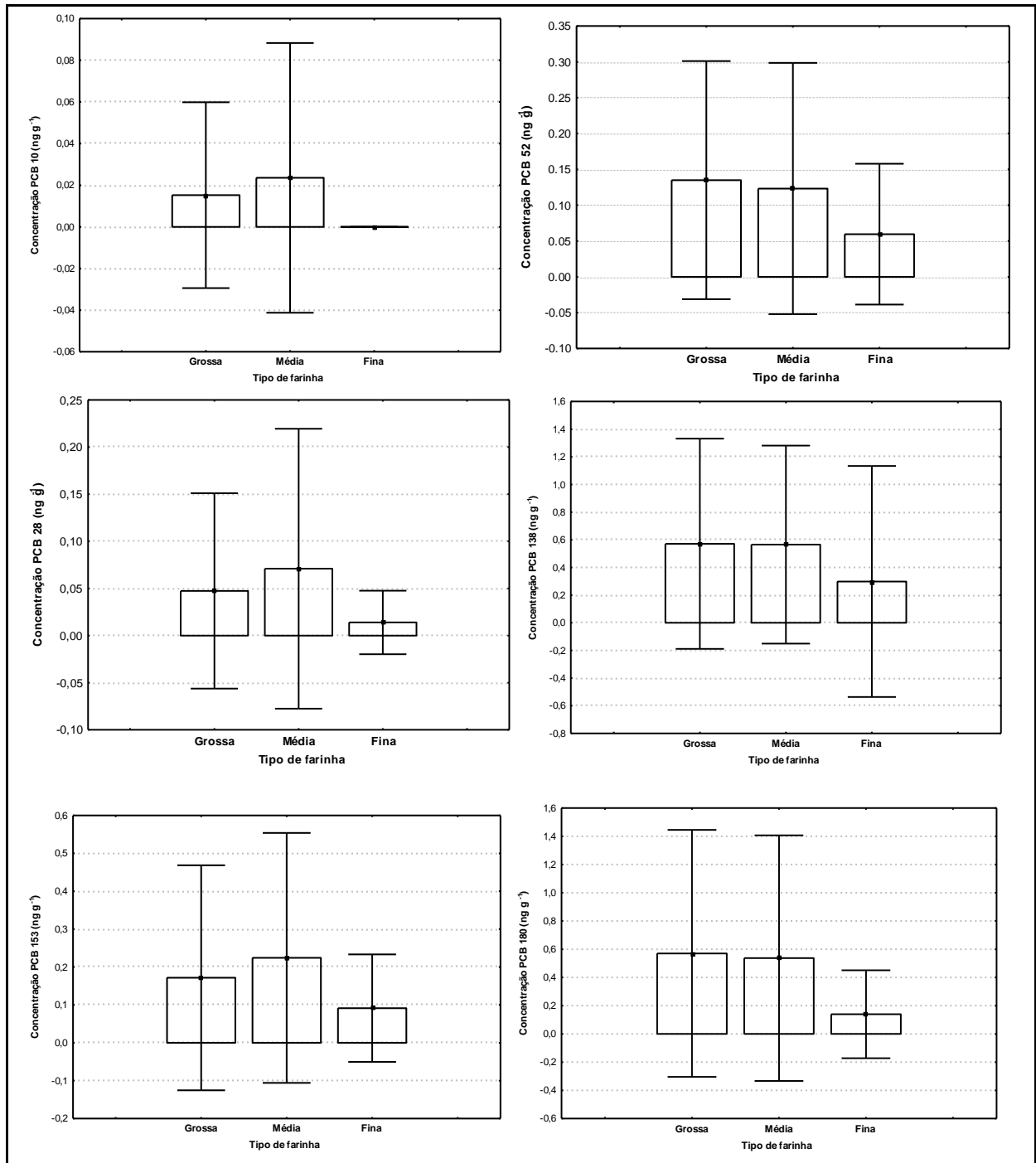


Figura 1

Representação gráfica das concentrações de PCBs em farinha de milho (ng g^{-1}) dos tipos grossa ($n=60$), média ($n=28$) e fina ($n=12$). Valores apresentados como média (\square) e desvio padrão (—).

Tabela 1

Frequência de determinação e concentrações dos PCBs (ng g^{-1}) em milho em grão e farinha de milho.

Composto	Frequência de Determinação (%)	Amostras Positivas ^a		Total Amostras ^b	
		Media \pm DP	Intervalo	Media \pm DP	Intervalo
PCB 10 (CI=2)	7,28 (n=11)	0,15 \pm 0,05	0,10-0,28	0,01 \pm 0,04	0,00-0,28
PCB 28 (CI=3)	20,52 (n=31)	0,20 \pm 0,14	0,06-0,66	0,04 \pm 0,10	0,00-0,66
PCB 52 (CI=4)	41,72 (n=63)	0,23 \pm 0,15	0,06-0,66	0,10 \pm 0,15	0,00-0,66
PCB 153 (CI=6)	41,05 (n=62)	0,34 \pm 0,32	0,03-1,34	0,14 \pm 0,27	0,00-1,34
PCB 138 (CI=6)	63,57 (n=92)	0,63 \pm 0,80	0,05-4,55	0,40 \pm 0,71	0,00-4,55
PCB 180 (CI=7)	58,27 (n=88)	0,64 \pm 0,89	0,03-4,51	0,38 \pm 0,75	0,00-4,51
Σ PCBs		2,19 \pm 2,35		1,07 \pm 2,02	

^a Calculado usando valores \geq LOQ.

^b Calculado usando valores encontrados em todas as amostras (n=151). Valores entre LOD e LOQ foram assumidos como LOQ/2.

Tabela 2

Frequência de determinação e concentrações dos PCBs (ng g^{-1}) em amostras de milho em grão (n=51) e farinha de milho (n=100), e seu significado.

Congêneres	Milho em grão		Farinha de milho		p
	n>LOQ (%)	Média \pm DP	n>LOQ (%)	Média \pm DP	
PCB 10	1 (1,96)	0,00 \pm 0,02	10 (10,0)	0,02 \pm 0,05	0,08
PCB 28	7 (13,7)	0,03 \pm 0,07	24 (24,0)	0,05 \pm 0,11	0,18
PCB 52	11 (21,6)	0,05 \pm 0,11	52 (52,0)	0,12 \pm 0,16	0,00
PCB 153	16 (31,4)	0,07 \pm 0,13	46 (46,0)	0,18 \pm 0,31	0,02
PCB 138	17 (33,3)	0,13 \pm 0,38	79 (79,0)	0,54 \pm 0,79	0,00
PCB 180	20 (39,2)	0,11 \pm 0,24	68 (68,0)	0,51 \pm 0,87	0,00
Σ PCBs		0,39 \pm 0,95		1,42 \pm 2,29	

DP: Desvio padrão.

p: Teste t de Student.

Tabela 3

Coefficientes de correlação de Spearman e seu significado entre a % de gordura e os congêneres de PCBs em amostras de milho em grão e farinha de milho.

Congêneres	% gordura em milho em grão (n=51)	% gordura em farinha de milho (n=100)
PCB 10	0,08	0,30**
PCB 28	0,18	0,51**
PCB 52	0,28*	0,45**
PCB 153	0,92	0,57**
PCB 138	0,17	0,50**
PCB 180	0,13	0,53**

* $p \leq 0,05$

** $p \leq 0,01$

Tabela 4

Concentrações médias de PCBs (ng g^{-1}) em milho em grão e farinha de milho de diferentes regiões do estado do Rio Grande do Sul, Brasil.

Região	n	PCB 10	PCB 28	PCB 52	PCB 153	PCB 138	PCB 180	Σ PCBs
Noroeste	24	0,004 ^{ab}	0,011 ^a	0,030 ^a	0,043 ^a	0,135 ^a	0,148 ^{ac}	0,371
Nordeste	18	0,039 ^a	0,116 ^b	0,206 ^b	0,471 ^b	1,110 ^b	1,015 ^{bc}	2,957
Centro	50	0,003 ^b	0,027 ^a	0,073 ^a	0,077 ^a	0,188 ^a	0,117 ^{ac}	0,485
Metropolitana	56	0,014 ^{ab}	0,042 ^a	0,111 ^{ab}	0,132 ^a	0,484 ^a	0,516 ^{ab}	1,299
Sudoeste	3	0,000 ^{ab}	0,099 ^{ab}	0,140 ^{ab}	0,206 ^{ab}	0,208 ^{ab}	0,080 ^{abc}	0,733

Valores que na mesma coluna apresentam letras diferentes, diferem estatisticamente ($p \leq 0,05$).

Tabela 5

Concentrações de PCBs (ng g^{-1}) em amostras de milho em grão e farinha de milho coletadas nos anos de 2009 e 2010 no estado do Rio Grande do Sul, Brasil, e sua significância. Valores apresentados como média \pm desvio padrão.

Congêneres	Ano de 2009 ($n=66$)	Ano de 2010 ($n=85$)	p
PCB 10	$0,02 \pm 0,06$	$0,00 \pm 0,02$	0,014
PCB 28	$0,05 \pm 0,13$	$0,03 \pm 0,08$	0,197
PCB 52	$0,12 \pm 0,18$	$0,08 \pm 0,12$	0,081
PCB 153	$0,22 \pm 0,37$	$0,08 \pm 0,12$	0,001
PCB 138	$0,68 \pm 0,94$	$0,18 \pm 0,33$	0,000
PCB 180	$0,63 \pm 1,04$	$0,18 \pm 0,27$	0,000
Σ PCBs	$1,72 \pm 2,72$	$0,55 \pm 0,94$	

p : Teste t de Student

5 DISCUSSÃO

A crescente preocupação, não só no que diz respeito aos aspectos ambientais como também a possibilidade de contaminação dos alimentos, em relação aos poluentes orgânicos persistentes, assim como do uso de agroquímicos em larga escala, tem levado as entidades de pesquisa a cada vez mais monitorarem tais substâncias, a fim de se conhecer o real tamanho desta contaminação e suas consequências para a saúde humana. Além disso, os consumidores exigem cada vez mais produtos de maior qualidade. Dentre estas exigências estão alimentos isentos de substâncias tóxicas e contaminantes. Os PCBs estão entre os resíduos que podem estar presentes nos alimentos e destacam-se em função de suas propriedades físico-químicas, efeitos tóxicos, e em especial, pelo fato da exposição humana aos PCBs ser resultado do amplo consumo de alimentos contaminados, constituindo a principal forma de exposição a estes compostos.

Assim, o monitoramento dos níveis residuais de PCBs nos alimentos é de grande importância para informar quais os produtos alimentícios que não representam riscos à saúde (OVIEDO et al., 2002). Nos procedimentos analíticos para determinação de resíduos tóxicos em matrizes complexas, como os alimentos, o desenvolvimento de métodos e consequente validação dos mesmos constituem uma etapa fundamental e extremamente relevante. Ribani et al. (2004) apresentam de maneira clara e objetiva, a validação de métodos como sendo um processo contínuo de avaliação dos métodos, desde a etapa de planejamento, passando pelo desenvolvimento e coleta de dados, até o monitoramento constante da aplicação e transferência deste. Sendo o objetivo, desse incessante cuidado, garantir que os dados gerados possuam qualidade necessária, em termos de confiabilidade e rastreabilidade, entre outros, para o fim que se propõem (PIZZUTTI, 2006). No presente estudo, foi validado um método analítico para determinação dos PCBs 10, 28, 52, 153, 138 e 180, extraídos de amostras de milho e farinha de milho, identificados e quantificados através do uso de cromatografia gasosa e espectrometria de massas, nos modos de ionização química negativa e de impacto de elétrons.

A extração dos bifenilos policlorados das amostras de milho e farinha de milho foi realizada com o uso de uma mistura 1:1 de *n*-hexano e acetona, que após testes de fortificações em 3 níveis diferentes, se mostrou mais adequada em relação aos outros solventes testados, não apresentando interferentes nos cromatogramas que prejudicassem as análises, bem como a recuperação e o desvio padrão que variaram de 87,26 a 95,35 % e 0,91 a 7,03, respectivamente. A extração dos compostos se deu com o uso de ultrassom por 20 minutos. Assim como no presente trabalho, Simonelli et al. (2007) demonstraram em seu estudo de avaliação da exposição ocupacional a diferentes classes de pesticidas, que a variação do tempo de sonicação não interfere significativamente na quantidade extraída dos analitos. Finalmente, com o objetivo de remover co-extratores, que possam interferir na análise final (CARABIAS et al., 2000), foram utilizadas, neste estudo, colunas de extração em fase sólida constituídas de florisil. Para validação do método analítico, foram estudados os parâmetros de seletividade, linearidade, precisão, exatidão (recuperação), limite de detecção (sensibilidade) e limite de quantificação.

Cromatogramas de amostras correspondentes à matriz analisada, isenta de contaminação pelos analitos em estudo, foram sobrepostos com os cromatogramas dos brancos das amostras fortificadas com os PCBs de interesse. Nesta análise, demonstrou-se que o método analítico proposto apresenta boa seletividade, em relação aos métodos de extração, de purificação, de derivatização, do sistema de separação e, especialmente, do sistema de detecção para realizar a discriminação entre o analito de interesse e outros compostos. Nenhum interferente proveniente da matriz pode ser visto no mesmo tempo de retenção dos sinais cromatográficos das amostras contendo os bifenilos policlorados.

A linearidade do método foi obtida através da padronização por adição de padrão. Curvas analíticas de calibração que relacionam a resposta do equipamento em função das diferentes concentrações dos analitos (LANÇAS, 2004) foram construídas usando 9 concentrações diferentes para a determinação da faixa de trabalho. A ANVISA (BRASIL, 2003) recomenda que a linearidade seja obtida através de, no mínimo 5 diferentes concentrações de padrões, enquanto o INMETRO (2010) recomenda o uso de no mínimo 7 concentrações distintas. Duas faixas de trabalho foram usadas, na intenção de encontrar valores de (S/Q)%

satisfatórios, ou seja, pontos cujas razões sinais/concentração não diferem mais que 5% do coeficiente angular da reta (a). Além disso, a regressão linear das retas de calibração e a determinação dos coeficientes de correlação (r) foram usadas a fim de comprovar a linearidade do método analítico. Nenhum dos compostos apresentou coeficientes de correlação inferior a 0,99, valor este que está dentro do valor recomendado pelo INMETRO (2008) e ANVISA (BRASIL, 2003). Assim, as provas de linearidade confirmaram a boa resposta dos detectores frente às concentrações dos PCBs utilizados.

A partir dos limites de detecção e quantificação para os congêneres em estudo foi determinada a sensibilidade do método. Os limites de quantificação (LQ) do método foram de $0,10 \text{ ng g}^{-1}$ para o PCB 10, de $0,05 \text{ ng g}^{-1}$ para os PCBs 28 e 52, e de $0,025 \text{ ng g}^{-1}$ para os PCBs 138, 153 e 180. Embora não existam limites máximos de resíduos estabelecidos pela legislação brasileira para alimentos de origem vegetal, como o milho, estes valores se mostraram abaixo dos limites estabelecidos para alimentos como carne, leite e pescados (BRASIL, 2010), evidenciando a aplicabilidade do método para o monitoramento de resíduos de PCBs em milho e seus produtos. Visto que o limite de quantificação corresponde a menor quantidade de um analito que pode ser quantificado com exatidão e com uma fidelidade determinada (LANÇAS, 2004).

A precisão do método foi realizada através de avaliações de repetibilidade (intra-dia) e de precisão intermediária (inter-dia). Para a expressão numérica dos resultados obtidos, foi usado coeficiente de variação (CV%). Ribani et al. (2004) definem como 20% o limite aceito para o coeficiente de variação, dependendo da complexidade da amostra. Por outro lado, segundo a Comissão Europeia (LEITE, 2002) os limites de precisão são aceitáveis onde existe uma correlação entre a concentração de pesticida a ser determinada e o coeficiente de variação (CV%) das recuperações. Sendo assim, concentrações próximas a 1 ng g^{-1} e 10 ng g^{-1} , aceitariam variações de 45 e 32%, respectivamente. Os resultados obtidos para a repetibilidade ficaram entre 0,51 e 17,02% enquanto para precisão intermediária os valores variaram de 2,14 a 19,28%, todos dentro dos valores aceitáveis.

Estudos de recuperação foram utilizados para determinar a exatidão do método. Em geral, são aceitos intervalos de recuperação entre 70 e 120%, com

precisão de até 20%, para a maioria dos métodos analíticos (PRIMEL, 2003), inclusive para análise de resíduos de pesticidas (GARP, 1999). Todavia, os valores de recuperação considerados adequados (exatidão) são estabelecidos em função da concentração dos pesticidas analisados e de acordo com a área de pesquisa. Para análise multirresíduos de pesticidas em diferentes matrizes, diversas fontes estabelecem intervalos de recuperação variáveis, dependendo da concentração ensaiada (THIER e ZEUMER, 1987; AOAC, 1993; DE AMARANTE et al., 2001; BRITO et al., 2002). Outras fontes internacionais que realizam estudos com resíduos de pesticidas em alimentos como o United States Department of Agriculture (USDA, 2002) e European Union (EU, 2003) sugerem aceitabilidade da *performance* analítica entre 50% a 150% e 40% a 160%, respectivamente, quando os níveis de concentração analisados estão em torno do limite de quantificação do método (LQ) e no mais baixo nível de calibração da curva analítica. Para o método proposto neste trabalho, as recuperações encontradas tiveram variações de 74,1 a 110,6%.

Após a validação do método, foi analisado um total de 151 amostras de milho (n=51) e farinha de milho (n=100), provenientes de diferentes cidades do Rio Grande do Sul, Brasil. Embora, dentre a bibliografia consultada, não foram encontrados trabalhos que remetessem diretamente a contaminação de milho por PCBs, Zhang et al. (2008) constataram que os vegetais e os cereais são responsáveis por 12% da ingestão diária de dioxinas e bifenilos policlorados. Assim como Bakker et al. (2008), que relatam em seu estudo que os grãos e vegetais foram responsáveis por 9% da ingestão dos mesmos, no ano de 2004, na Holanda. O milho, além de suas inúmeras utilidades na indústria e importância sócio-econômica para este estado, é o cereal mais consumido em todo o mundo.

As análises do total de amostras revelaram a presença de pelo menos um dos congêneres de bifenilos policlorados em 70,2% das amostras. O valor máximo detectado nas amostras foi de 10,42 ng g⁻¹. O PCB 138, com frequência de 63,57% e valor médio de 0,63 ng g⁻¹ entre as amostras positivas (\geq LQ) foi o congênere que apresentou a maior frequência, seguido pelo PCB 180 (58,27%), com valor médio de 0,64 ng g⁻¹, e o PCB 52 (41,72%), com uma média de 0,23 ng g⁻¹. O congênere 153 apresentou valores de frequência muito semelhante ao PCB 52, 41,05%. Porém sua média entre as amostras positivas foi superior, 0,34 ng g⁻¹. Valores menores

foram encontrados para o PCB 28 (20,52%, 0,20 ng g⁻¹) assim como para o PCB 10 (7,28%, 0,15 ng g⁻¹). Tais resultados demonstraram que os compostos que continham maior número de cloros em sua constituição, foram também os que apresentaram maior frequência e maiores médias dentre as amostras analisadas. Fato este que já havia sido mostrado por Costabeber et al. (2006) em análises de carnes e produtos cárneos provenientes do mesmo Estado. Os autores analisaram os mesmos PCBs do presente estudo, encontrando o PCB 180 com maior frequência, seguido pelos congêneres 153 e 138. Em outro estudo recente, Mohr et al (2011) encontraram maiores frequências para os PCBs 138 e 180 na determinação de bifenilos policlorados em amostras de soro de cordão umbilical de bebês nascidos no estado do Rio Grande do Sul. Estes resultados confirmam o fato de que os congêneres mais clorados são também os mais persistentes, e conseqüentemente, os mais detectados nas amostras em questão (SHEN et al., 2009; MALISCH & DILARA, 2007). Contudo, em contrapartida a estas afirmações, Fattore et al. (2008), reportando-se a cereais e produtos derivados, detectaram maiores concentrações dos PCBs 28 e 52, a exemplo do que foi constatado por Erdogru (2007) em amostras de mel da Turquia.

Outro fator relevante, em relação à contaminação por PCBs, é a região de coleta das amostras. Alimentos coletados de diferentes regiões apresentaram diferenças significativas nas concentrações de PCBs em estudos realizados anteriormente (Zuccato et al., 2008). Neste estudo, as amostras foram provenientes de 49 diferentes cidades, oriundas de cinco diferentes regiões do estado do Rio Grande do Sul: Noroeste, Nordeste, Centro, Metropolitana e Sudoeste (Tabela 1 e Figura 3, Anexo B). A região nordeste apresentou as maiores concentrações de PCBs para todos os congêneres (\sum PCBs=2,96 ng g⁻¹). A análise de variância, envolvendo as diferentes regiões, mostrou que esta região difere significativamente da maioria das outras regiões. A região metropolitana (\sum PCBs=1,30 ng g⁻¹), foi a segunda a apresentar a maior contaminação. Enquanto que a região noroeste foi a que apresentou a menor contaminação (\sum PCBs=0,37 ng g⁻¹). Tais resultados podem ser explicados pelo fato da região nordeste ter como principal representante a cidade de Caxias do Sul. Cidade esta, que apresenta elevados índices de industrialização, assim como a região Metropolitana, quando comparada as outras

idades, onde, amostras foram coletadas. A atividade industrial é uma fonte importante para a exposição ocupacional e ambiental a PCBs (ZABIK et al., 1992; VALTERS et al., 1999; BAYARRI et al., 2001). Comparando os resultados em relação a exposição da população sérvia a PCBs, com outros países da Europa, Biljana (2008) constatou no estudo com produtos derivados de cereais feitos com farinhas refinadas e óleos comestíveis, que as menores concentrações encontradas estão de acordo com o fato de que este país não é altamente industrializado e nunca produziu PCBs. Igualmente, de acordo com os resultados mostrados neste estudo, Costabeber et al. (2006) encontraram maiores contaminações em carnes e seus produtos que provinham da região Metropolitana deste mesmo estado, quando comparados a região Sul e Norte. Donato et al. (2006) associaram a presença de altos níveis de PCB em soro sanguíneo de moradores residentes perto de uma indústria química na Itália com o consumo de alimentos produzidos em áreas contaminadas. Bennet (1983) relata que os níveis dos PCBs no ar das áreas rurais é dez vezes menor quando comparados a áreas industriais. Estas evidências justificariam as baixas concentrações encontradas nas regiões Noroeste, Centro e Sudeste, regiões predominantemente agrícolas.

Comparando as amostras de milho e farinha de milho, pode-se observar que a farinha apresentou valores superiores em relação ao milho em grão. Enquanto a farinha apresentou uma média de $1,42 \text{ ng g}^{-1}$ para o somatório dos PCBs, o milho em grão obteve um resultado aproximadamente quatro vezes menor ($0,39 \text{ ng g}^{-1}$). Aplicando o teste *t* de Student nos resultados das médias obtidos para as diferentes matrizes analisadas pode-se atentar para uma diferença significativa para os congêneres 52, 153, 138 e 180. Mesmo apresentado um teor de gordura inferior ao grão do milho, foram encontradas contaminações superiores nas amostras de farinhas para todos os congêneres de PCBs. Fatores que envolvem o processamento dos grãos e várias etapas de industrialização podem ser preponderantes para explicar tal fato. Biljana (2008) em estudo da exposição da população sérvia aos congêneres 28, 52, 101, 138, 153 e 180, encontrou um total de PCBs de $0,69 \text{ ng g}^{-1}$ para farinha integral do trigo, enquanto para o farelo, um subproduto da indústria de alimentos, foram encontradas contaminações superiores, chegando a $0,85 \text{ ng g}^{-1}$. Na comparação entre carnes e produtos cárneos também

foram encontrados dados na literatura que sugerem a influência do processamento nos níveis de PCBs (MES et al., 1991; SCHECTER et al., 1997; COSTABEBER et al., 2006). Matérias primas e outros ingredientes usados no processamento podem ser a fonte dos PCBs (COSTABEBER et al., 2006).

Nas análises das contaminações das farinhas de milho (tipos grossa, média e fina), destaca-se que a concentração superior foi apresentada pelas farinhas média ($\Sigma\text{PCBs} = 1,54 \text{ ng g}^{-1}$) e grossa ($\Sigma\text{PCBs} = 1,51 \text{ ng g}^{-1}$), quando comparadas à fina ($\Sigma\text{PCBs} = 0,60 \text{ ng g}^{-1}$). Neste caso pode-se atribuir este resultado ao fato de que os diferentes tipos de farinha apresentam diferenças em relação à porcentagem de gordura. Os valores médios encontrados para este percentual são de 1,92% nas farinhas grossas, de 1,59% nas farinhas médias, e de 1,47% nas farinhas finas. Embora, os níveis detectados dos compostos não apresentaram diferença estatística significativa. Sabe-se que a maior concentração de PCBs, por serem compostos altamente lipofílicos e apolares, é encontrada em alimentos gordurosos. Entretanto, as análises das amostras de milho, mesmo apresentando uma porcentagem de gordura bem superior às farinhas (4,53%), mostraram níveis de PCBs bem inferiores quando comparados as farinhas. Contudo, vários trabalhos demonstram, principalmente em análise de carnes (QIN et al., 2011) e peixes (KONG et al., 2005) que altos níveis de PCBs estão usualmente relacionados a altos teores de lipídeos nos alimentos. Correlacionando os níveis de PCBs com a % de gordura das amostras pode-se observar que as farinhas de milho apresentaram correlação significativa para todos os congêneres ($p \leq 0,01$), enquanto que os milhos apresentaram diferença significativa apenas para o PCB 52 ($p \leq 0,05$). Na farinha de milho, portanto, confirma-se mais uma vez o fato de que os PCBs são lipofílicos, acumulando-se também na fração da gordura dos vegetais. Acrescenta-se o fato de que com o passar dos anos, os alimentos apresentam níveis cada vez menores de PCBs, o que foi demonstrado neste trabalho através da comparação dos níveis detectados nas amostras coletadas nos anos de 2009 e 2010, sendo que as amostras coletadas neste último ano apresentaram menores níveis de PCBs, com diferença significativa para os congêneres 10, 138, 153 e 180. Todo este contexto salienta a importância deste trabalho pioneiro no Rio Grande do Sul, assim como abre um espaço para a continuidade deste monitoramento, a fim de levantar dados

importantes e confiáveis em relação a estes contaminantes no milho em grão e na farinha de milho, tendo como propósito final a obtenção de alimentos de qualidade e menores riscos a saúde humana.

6 CONCLUSÕES

Dos resultados obtidos no presente trabalho pode-se concluir que:

- O método de extração dos PCBs através do uso de ultrassom, seguida por *clean-up* das amostras usando extração em fase sólida com florisil, mostrou ser rápido e eficiente. Assim como o método cromatográfico de análise, através do uso de espectrometria de massas aliada ao modo de ionização por impacto de elétrons mostrou ser eficaz para os compostos menos clorados, por sua vez a ionização química negativa teve melhores resultados pra os congêneres mais clorados.
- Na etapa da validação do método avaliaram-se os parâmetros de linearidade, precisão, sensibilidade, precisão, limites de detecção e quantificação. Todos estes parâmetros foram considerados satisfatórios de acordo com os valores sugeridos na literatura, para a análise de resíduos, empregando-se métodos cromatográficos. Os valores encontrados para linearidade, tiveram valores de r acima de 0,99 para todos os compostos, repetibilidade com CV% entre 0,51 e 17,02%; precisão intermediária com CV% entre 2,14 e 19,28%; recuperação entre 74,1 e 110,06%; os limites de quantificação do método variaram de 0,025 a 0,1 ng g⁻¹.
- Os resultados das análises das amostras revelaram a presença de pelo menos um dos congêneres de bifenilos policlorados em 70,2% das amostras. Os resíduos de PCBs foram detectados nas amostras de milho e farinha de milho numa frequência de 63,57% e valor médio de 0,63 ng g⁻¹ entre as amostras positivas (\geq LQ) para o PCB 138; 58,27% e valor médio de 0,64 ng g⁻¹ para o PCB 180; 41,72% e 0,23 ng g⁻¹ para o PCB 52; 41,05% e 0,34 ng g⁻¹ para o PCB 153; 20,52% e 0,20 ng g⁻¹ para o PCB 28 e finalmente para o PCB 10 valores de 7,28% e 0,15 ng g⁻¹.
- Os resultados das contaminações das amostras de diferentes cidades revelam que as regiões mais industrializadas também apresentam os maiores valores de PCBs. Assim como em comparação com as amostras de grãos, a farinha de milho

apresentou maiores índices de contaminação, o que sugere uma possível influência do processamento dos alimentos no teor de resíduos destes contaminantes.

- Na comparação entre os três tipos de farinhas, a farinha média e grossa, embora não tenha apresentado diferença estatística significativa, apresentaram uma concentração superior de PCBs em relação as farinhas finas. Pode-se atribuir este resultado pelo fato das farinhas média e grossa apresentarem um teor de gordura superior às farinhas finas.
- As amostras coletadas durante o ano de 2010 apresentaram níveis de contaminação inferiores às amostras coletas no ano anterior, com diferença significativa para os congêneres 10, 138, 153 e 180. Comprovando a tendência de diminuição das contaminações com o passar dos anos, visto que são compostos banidos a vários anos, embora ainda causem preocupação devido a sua persistência e efeitos nocivos ao ambiente e aos seres vivos.
- Embora os PCBs tenham sido banidos há vários anos, estes compostos ainda são detectados em alimentos e causam preocupação devido a sua persistência e efeitos nocivos ao ambiente e aos seres vivos.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABAD, E.; LLERENA, J.J.; SAULÓ, J.; RIVERA, J. Study on PCDDs/PCDFs and co-PCBs content in food samples from Catalonia (Spain). **Chemosphere**, v. 46, n.9-10, p. 1435-1441, 2002.

ABIMILHO – Associação Brasileira das Indústrias do Milho. O cereal que enriquece a alimentação humana. 2006. Disponível em:<<http://www.abimilho.com.br/ocereal.htm>> Acessado em: janeiro de 2011.

AHMED, F. E. Polychlorinated biphenyls in Spanish adults: Determinants of serum concentrations. **Environmental Contaminants in Food**, v.9, p.500, 1999.

AHMED, F. E. Analysis of polychlorinated biphenyls in food products. **Trends in Analytical Chemistry**, v.23, p.170-185, 2003.

ALCOCK, R.E.; BEHNISCH, P.A.; JONES, K.C.; HAGENMAIER, H. Dioxin-like PCBs in the environment-human exposure and the significance of sources. **Chemosphere**, v.37, p.1457-1472, 1998.

ALESSI, M. O.; RAUPP, D. S.; GARDINGO, J. R. Caracterização do processamento da farinha de milho biju para o aproveitamento dos subprodutos. **UEPG Ciências Exatas e da Terra**, v.9, p.31-39, 2003.

ALEXANDER, R. J. Corn dry milling: processes, products and applications. **Corn Chemistry and technology**, American Association of a Cereal Chemists, cap.11, p.351-371, 1987.

ALVIM, I. D.; SGARBIERI, V. C.; CHANG, Y. K. Desenvolvimento de farinhas mistas extrusadas à base de farinha de milho, derivados de levedura e caseína. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, v.22, p.170-176, 2002.

AMBICARE – Documento técnico “PCB o que são?”. Disponível em: <<http://www.ambicare.com>> 2005. Acesso em março de 2011.

AOAC - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. **Peer verified method program: manual on polices and procedures**. Arlington, VA, 1993.

ARNOLD, D.L.; D'MELLO, J.P.F.; FREELEY, M. **Food Safety: Contaminants and Toxins**. Chapter 6, p.125-152. New York: CAB International, 2003.

ATSDR - Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological profile for polychlorinated biphenyls (Update). Atlanta, US, 1998.

ATSDR - Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological profile for polychlorinated biphenyls (PCBs). Atlanta, US, 2000.

AZEVEDO e SILVA, C. E.; TORRES, J. P. M.; MALM, O.. Toxicologia das bifenilas policlradadas. **Oecologia Brasiliensis – Ecologia de micro-poluentes e metais pesados**, v.11, n.2, p.179-187, 2007.

BACKE, C.; COUSINS, I. T.; LARSSON, PI. PCB in soils and estimated soil-air exchange fluxes of selected PCB congeners in the south of Sweden. **Environmental Pollution**, v.128, p. 59-72, 2004.

BALLSCHMITER, K.; ZELL, M. Analysis of polychlorinated biphenyls (PCB) by glass capillary gas chromatography. **Fresenius Z. Anal. Chem.** 302, 20–31, 1980.

BAKKER, M. I. et al. Dietary intake and risk evaluation of polybrominated diphenylethers in The Netherlands. **Mol. Nutr. Food Res**, v.52, p.204-216, 2008.

BAYARRI, S.; BALDASSARI, L. T. R.; IACOVELHA, N.; FERRARA, F.; DI DOMENICO, A.. PCDDs, PCDFs, PCBs and DDE in edible marine species from Adriatic Sea. **Chemosphere**, v.43, p.601-610, 2001.

BARBOZA, J. C.; SERRA, A. A. Ultra-som(l): Influência do ultra-som na química. **Química Nova**, v.5, p.302-316, 1992.

BENETT, B. G. Exposure of man to environmental PCBs an exposure commitment assessment. **Science of the Total Environment**, v.29, p.101-111, 1983.

BESTER K.; DE VOLS P.; LE GUERN L.; HARBECK S.; HENDRICKX F.; KRAMER G.N.; LISINGER T.; MERTENS I.; SCHIMMEL H.; SEJEROE-OLSEN B.; PAUWELS J.; DE POORTER G.; RIMKUS G.G.; SCHLABACH M. Preparation and certification of a reference material on PCBs in pig fat and its application in quality control in monitoring laboratories during de Belgian "PCB-crisis". **Chemosphere**, v.44, n.4, p. 529-537, 2001.

BEYER, A.; BIZIUK, M. Applications of sample preparation techniques in the analysis of pesticides and PCBs in food. **Food Chemistry**, v.108, p.669-680, 2008.

BILJANA, S. Assessment of the Serbian population exposure to polychlorinated biphenyls by crops. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v.25, p.171-175, 2008.

BOON, J. P. The kinetics of individual polychlorinated biphenyl (PCB) congeners in marine organisms: a comparative approach. **Tese de Doutorado**, Universidade Real Groningen, Alemanha, 1986.

BORDAJANDI, L. R.; MARTÍN, I.; ABAD, E.; RIVERA, J.; GONZÁLES, M. J. Organoclorine compounds (PCBs, PCDDs and PCDFs) in seafish and seafood from Spanish Atlantic Southwest Coast. **Chemosphere**, v.64, p.1450-1457, 2006.

BORJA, J.; TALEON, D. M.; AURESENIA, J.; GALLARDO, S. Polychlorinated biphenyls and their biodegradation. **Process Biochemistry**, v.40, p.1999-2013, 2005.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução - RE N° 899, de 29 de maio de 2003. Disponível em: <<http://www.anvisa.gov.br/e-legis/>>. Acesso em: 30 jan. 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Programa de Controle de Resíduos de Pesticidas em Carnes PNCRC/2010. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/pls/portal/docs/PAGE/MAPA/LEGISLACAO/PUBLICACOES_DOU/PUBLICACOES_DOU_2010/MAIO_2010/DO1_03-05_0.PDF>. Acesso em Abril 2011.

BREIVIK, K.; SWEETMAN, A.; PACYNA, J. M.; JONES, K. C. Towards a global historical emission inventory for selected PCB congener – a mass balance approach. 1. Global production and consumption. **Science of the Total Environment**, v.290, p. 191-198, 2002.

BREIVIK, K.; ALCOCK, R.; BAILEY, R. E.; FIEDLER, H.; PACYNA, J. M. Primary sources of selected POPs: regional and global scale emission inventories. **Environmental Pollution**, v.128, p.3-6, 2004.

BRITO, N. M.; DE AMARANTE JR, O. P.; POLESE, L.; SANTOS, T. C. R.; RIBEIRO, M. L. Avaliação da exatidão e da precisão de métodos de análise de resíduos de pesticidas mediante ensaios de recuperação. **Pesticidas: R. Ecotoxicol. E Meio Ambiente**, v.12, p.155-166, 2002.

BURES, M.; PEKÁREK, V.; OCELKA, T. Thermochemical properties and relative stability of polychlorinated biphenyls. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v.25, p.148-155, 2008.

BUSTILLO, O. V.; SASSINE, A.; MARCH, R. **A espectrometria de massas quadrupolar**. Editora Scortecci, 1ª edição, 162p, 2003.

CALDAS, E.; SOUZA, L.C. K. Avaliação do risco crônico da ingestão de resíduos de pesticidas na dieta brasileira. **Revista de Saúde Pública**, v.34, p.529-537, 2000.

CALLEGARO, M. G. K.; DUTRA, C. B.; HUBER, L. S.; BECKER, L. V.; ROSA, C. S.; KUBOTA, E. H.; HECTHEUR, L. H. Determinação de fibra alimentar insolúvel, solúvel e total de produtos derivados do milho. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.25, p.271-274, 2005.

CAPOBIANGO, M.; VIEIRA, C. R.; SILVA, A. L. S.; COELHO, J. V.; SEGALL, S. D.; SILVESTRE, M. A. P. Extração química e enzimática das proteínas do fubá de milho. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, p.884-890, 2006.

CARABIAS, R. M.; RODRIGUEZ, E. G.; PANANIAGUA, P. H. M.; HERNANDEZ, J. M. **Journal of Chromatography A**.v.869, p.427, 2000.

CONAB – Companhia Nacional de Abastecimento. Acompanhamento da Safra Brasileira de grãos, 4º levantamento, janeiro de 2011. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/11_01_06_08_41_56_boletim_graos_4o_lev_safra_2010_2011>. Acessado em: janeiro de 2011.

COSTABEBER, I. **Resíduos organoclorados persistentes em grama mamaria y su relación com los hábitos alimentarios**: repercusiones sanitárias. 1999. 315f. Tese de Doutorado em Ciencia y Tecnologia de los Alimentos) - Departamento de Bromatología y Tecnologia de los Alimentos, Facultad de Veterinária, Universidad de Córdoba, España, 1999.

COSTABEBER, I.; ANGULO, R.; JODRAL, M. Residuos organoclorados em tejido adiposo mamario y su relación con el cáncer de mama. **Medicina**, Ribeirão Preto, v.33, p.506-514, 2000.

COSTABEBER, I. Resíduos de insecticidas organoclorados. Factor de riesgo para cáncer mamario. **Rev. Med. IMSS**, v.39 (2), p.127-132, 2001.

COSTABEBER, I.; EMANUELLI, T. Aspectos toxicologicos de los bifenilos policlorados: una recopilación. **Bol. BCTA**, Campinas, v.37(Supl.), p.1-10, dez., 2003a.

COSTABEBER, I.; EMANUELLI, T. Influence of alimentary habits, age and occupation on polychlorinated biphenyl levels in adipose tissue. **Food and Chemical Toxicology**, v.41, p.73-80, 2003b.

COSTABEBER, I. et al. Levels of polychlorinated biphenyls (PCBs) in meat and meat products from the state of Rio Grande do Sul, Brazil. **Food and Chemical Toxicology**, v.44, p.1-7, 2006.

CULLEN, A. C.; VORHEES, D. J.; ALTSHUL, L. M. Distribution of PCBs and organochlorine pesticides in umbilical cord and maternal serum. **Environment Science Technologies**, v.30, p.1581, 1996.

DE AMARANTE Jr.; O. P.; CALDAS, E. P. A.; BRITO, N.M.; SANTOS, T. C. R. dos; VALE, M.L.B.F. Validação de métodos analíticos: uma breve revisão. **Caderno de Pesquisa**, São Luís, v. 12, p.116-131, 2001.

DIBER, F. & KOFER, J. Dioxin and PCB content of Styrian pork and chicken fat. **Deutsche Lebensmittel-Rundschau**, v.96, n.7, p.247-250, 2000.

DONATO, F.; MAGONI, M.; BERGONZI, R.; SCARCELLA, C.; INDELICATO, A.; CARASI, S.; APOSTOLI, P. Exposure to polychlorinated biphenyls in residents near a chemical factory in Italy: The food chain as main source of contamination. **Chemosphere**, v.64, p.1562-1572, 2006.

EL-DASH, A.; GERMANI, R. **Tecnologia das farinhas mistas**. Brasília, EMBRAPA, v.2, 1994.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Cultivo do milho**, Introdução e Importância Econômica do Milho. 2000. Disponível em <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Milho/CultivodoMilho/importancia.htm>>. Acessado em: março de 2011.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Aspectos Físicos, Químicos e Tecnológicos do Grão de Milho. Circular Técnica, 2006.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Jornal Eletrônico da Embrapa Milho e Sorgo, Ano 02 - Edição 07 - Maio de 2008. Disponível em: <http://www.cnpms.embrapa.br/grao/7_edicao/grao_em_grao_materia_03.htm> Acessado em: janeiro de 2011.

EPA - ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Polychlorinated Biphenyls (PCBs) Update: Impact on Fish Advisories, 1999a.

EPA - ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY. Public Health implications of exposure to Polychlorinated Biphenyls (PCBs), 1999b.

EU - EUROPEAN UNION. **Quality Control Procedures for Pesticide Residues Analysis, Guidelines for the Residue Monitoring in the European Union**, third Edition, 2003.

ERDOGRUL, Ö. Levels of selected pesticides in honey samples from Kahramanmaras, Turkey. **Food Control**, v.18, p.866-871, 2007.

FALANDYSZ, J. et al. Organochlorine pesticides and PCBs in perch *Perca fluviatilis* from the Odra/Oder river estuary, Baltic Sea. **Food Chemistry**, v.87, p.17-23, 2004.

FATTORE, E. et al. Assessment of the dietary exposure to non-dioxin-like PCBs of the Italian general population. **Chemosphere**, v.73, p.S278-S283, 2008.

FELIX, F. F.; NAVICKIENE, S.; DÓREA, H. S. Poluentes Orgânicos Persistentes (POPs) como indicadores da qualidade dos solos. **Revista da Fapese**, v.3, p.39-62, 2007.

FONT, G.; MAÑES, J.; MOLTÓ, J. C.; PICÓ, Y. Current developments in the analysis of water pollution by polychlorinated biphenyls. **Journal of Chromatography A**, v.733, p.449, 1996.

GALINAT, W.C. The origin of maize: grain of humanity. **New York Botanical Garden Journal**, v. 44, p.3-12, 1995.

GARP – Associação Grupo de Analistas de Resíduos de Pesticidas. **Manual de Resíduos de Pesticidas em Alimentos**, 1999.

GERVEN, T. V.; GEYSEN, D.; VANDECASTEELE, C. Estimation of the contribution of a municipal waste incinerator to the overall emission and human intake of PCBs in Wirlrijk, Flanders. **Chemosphere**, v.54, p.1303-1308, 2004.

GRASSI, P; FATTORE, E.; GENEROSO, C.; FANELLI, R.; ARVATI, M.; ZUCCATO, E. Polychlorophenyls (PCBs), polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins (PCDDs) and dibenzofurans (PCDFs) in fruit and vegetables from an industrial area in northern Italy. **Chemosphere**, v.79, p.292-298, 2010.

GUIMARÃES, P. S. Desempenho de híbridos simples de milho (*Zea mays* L.) e correlação entre heterose e divergência genética entre as linhagens parentais. **Tese de Doutorado**, Instituto Agrônomo de Pós-graduação, Campinas, 2007.

HECK, M.C. et al. Estimation of children exposure to organochlorine compounds through milk in Rio Grande do Sul, Brazil. **Food Chemistry**, v.102, p.288-294, 2007.

HOIVIK, D. J.; SAFE, S. H. Polychlorinated biphenyls. **Environmental and Occupational Medicine**, Third Edition. Lippincott-Raven Publishers. Philadelphia, p.1205-1214, 1998.

HOSENEY, R. C. **Princípios de ciência e tecnologia de los cereals**. Zaragoza: Acribia, p.321, 1991.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Levantamento sistemático de produção agrícola. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/default.shtm>. Acessado em: janeiro de 2011.

INMETRO. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. **Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos**. DOQ-CGCRE-008, 2008.

INMETRO. Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. **Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos**. DOQ-CGCRE-008, 2010.

KENT, N. L. **Technology of cereal**. 2ed. Oxford: Pergamon Press, p.221, 1983.

KILE, D. E.; CHIOU, C.T.; ZHOU, H.; LI, H.; XU, O. Partition of nopolar organic pollutants from water to soil and sediment organic matters. **Environment Science Technologies**, v.29, p. 1401-1406, 1995.

KIRCHNER, M. et al. Fast gas chromatography with solid phase extraction clean-up for ultratrace analysis of pesticide residues in baby food. **Journal of chromatography A**, v.1084, p.46-53, 2005.

KIM, M., KIM, S.; YUN, S.; LEE, M.; CHO, B.; PARK, J.; SON, S.; KIM, O.; Comparison of seven indicator PCBs and three coplanar PCBs in beef, pork and chicken fat. **Chemosphere**, v.54, n.10, p. 1533-1538, 2004.

KONG, X. Q., SHEAI, D. Novel hydrophobicity ruler approach for determining the octanol/water partition coefficients of very hydrophobic compounds via their polymer/solvent solution distribution coefficients. **Anal. Chem.**, v.77, p.1275-1281, 2005.

KUERPER, B. H.; WEALTHALL, G. P.; SMITH, J. W. N.; LEHARNE, S. A.; LERNER, D. N. An illustrated handbook of DNAPL transport and fate in the subsurface. **Environment Agency R&D Publication133**, UK, 2003.

LANG, V. Polychlorinated biphenyls in the environment – Review. **Journal of Chromatography**, v.595, p.1-43, 1992.

LANÇAS, F.M. **Validação de métodos cromatográficos de análise**. São Carlos: RiMa, 62p, 2004

LEITE, F. **Validação em Análise Química**. Campinas, SP: Editora Átomo, 4ª ed., 2002.

LIEN, A.K.D. & THEELEN, R.M.C. Dioxins: Chemical Analysis, Exposure and Risk Assessment. **National institute of Public Health and the Environment**, Bilthoven, The Netherlands. 1997.

LUCENA, R.A et al. Breast cancer risk factors: PCB congeners. **European Journal of Cancer Prevention**, v.10, p.117-119, 2001.

MAERVOET, J. et al. A reassessment of the nomenclature of polychlorinated biphenyl (PCB) metabolites. **Environmental Health Perspectives**, v.112, n.3, p.291-294, 2004.

MALISCH, R.; DILARA, P. PCDD/Fs and PCBs in butter samples from new European Union members states and a candidate country: Analytical quality control, results and certain PCB- specific aspects. **Chemosphere**, v.67, p.S79-S89, 2007

MARTINEZ MAGAÑA, M.P. Niveles de pesticidas organoclorados y bifenilos policlorados em leches naturales y pasteurizadas. Estudio experimental del efecto de la temperatura sobre estos compuestos. Córdoba, 1994. 485p. **Tesis Doctoral** – Facultad de Veterinaria, Universidad de Córdoba, España, 1994.

MARTINS Jr., H. Estudo de determinação de resíduos de glifosato e ácido aminometilfosfônico (AMPA) em amostras de soja e água usando cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas em tandem com ionização por electrospray (LC-ESI/MS/MS). **Dissertação de Mestrado**, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, São Paulo, 2005.

MES, J., NEWSOME, W.H., CONACHER, H.B.S. Levels of specific polychlorinated biphenyls congeners in fatty foods from five Canadian cities between 1986 and 1988. **Food Additives and Contaminants**, v.8, p.351-361, 1991.

MESQUITA, A. C. Uso das técnicas de oxidação química e biodegradação na remoção de alguns compostos orgânicos recalcitrantes. 2004. 158p. **Tese de Doutorado**, COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, 2004.

MOHR, S.; SCHWANZ, T.G.; WAGNER, R.; SOLDATELLI, L.; COSTABEBER, I.H. Determinação de bifenilos policlorados em soro de cordão umbilical através de extração por hidrólise ácida seguida de cromatografia a gás acoplada a um microdetector de captura de elétrons. **Química Nova**, v.34, p.444-449, 2011.

OLIVEIRA, F. M.; TAVARES, T. M.; BERRETA, M. Otimização de método analítico para determinação de PCBs por GC-MS-MS em amostras de biota. **Revista Analytica**, v.14, p.45-53, 2005.

OVIEDO, M, T. P.; TOLEDO, M.C.F.; VICENTE, E. Determinação de resíduos de agrotóxicos organoclorados em hortaliças. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v.12, p.111-130, 2002.

PALOMINO, M. E. T.; FONSECA, H.; OETTERER, M. Contaminação e distribuição de aflotoxinas nos produtos e subprodutos do processamento via seca e via úmida do milho. **Boletim SBCTA**, v.31, p.77-86, 1997.

PATANDIN, S.; DAGNELIE, P.C.; MULDER, P.G.H.; de COUL, E.O.; van der VEEN, J. E.; WEISGLAS-KUPERUS,. Dietary exposure to polychlorinated biphenyls and dioxins from infancy until adulthood: A comparison between breast-feeding, toddler, and logterm exposure. **Environmental Health Perspectives**, v.107, n.10, p.496-497, 1999.

PAUMGARTTEN, F.J.R.; CRUZ, C.M.; CHAHOUD, I.; PALAVINSKAS, R.; MATHAR, W. PCDDs, PCDFs. PCBs and other organochlorine compounds in human milk from Rio de Janeiro. **Environmental Research**, v.83, n.3, p. 293-297, 2000.

PENTEADO, J.C.P.. Metodologia analítica para análise de PCBs em fígado de peixe do rio Paraíba do Sul. 109p. **Dissertação de Mestrado**, IQ/USP, São Paulo, 2000.

PENTEADO, J.C.P.; VAZ, J.M. O legado das bifenilas policloradas (PCBs). **Química Nova**, v.24, n.3, p.390-398, 2001.

PELIZARI, V. H. Aspectos moleculares e fenotípicos de bactérias isoladas do ambiente e envolvidas na biodegradação de bifenilos policlorados – PCBS. **Tese de Doutorado**, Instituto de de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1995.

PEREIRA, M.S. Caracterização de produtos e contaminantes no reaproveitamento térmico de resíduos sólidos orgânicos. Estudo de caso: o processo de conversão à baixa temperatura. **Tese de Doutorado**, UFF/IQ, Niterói, 2002.

PEREIRA, M.S. Polychlorinated dibenzeno-p-dioxins (PCDD), dibenzofurans (PCDF) and polychlorinated biphenyls (PCB): main sources, environmental behaviour and risk to man and biota. **Química Nova**, v.27, n.6, p.934-943, 2004.

PIZZUTTI, I. R. Validação de métodos multirresíduos de extração e desenvolvimento de método de purificação por GPC para análise de resíduos de pesticidas em soja utilizando GC-MS, GC-MS/MS e LC-MS/MS. **Tese de Doutorado em Química**, UFSM, Santa Maria, 2006.

POMERANZ, Y. **Modern cereal science and technology**. New York, VHC, p.486, 1987.

PRIMEL, E. G. Aplicação de extratos em fase sólida e técnicas cromatográficas para a determinação de herbicidas em águas de superfície e acompanhamento de

degradação a campo e no laboratório. **Tese de Doutorado em Química**, UFSm, Santa Maria, 2003.

PRIMER, A. Food Safety – Applications in Mass Spectrometry, Agilent Technologies, USA, 2004.

QIN, Y. Y. et al. Persistent organic pollutants in food items collected in Hong Kong. **Chemosphere**, v.82, p.1329-1336, 2011

RAHUMAN, M. S. M. M.; PISTONE, L.; TRIFIRÒ, F.; MIERTUS, S. Destruction technologies for polychlorinated biphenyl (PCBs). **ICS-Unido Publications**, 2000.

RIBANI, M. et al. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v.27, n.5, p.771-780, 2004.

ROHRIG, L.; MEISCH, H.U. Application of SPME for the rapid analysis of chlorinated organics in breast milk. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, v.366, n.1, p.106-111, 2000.

ROSS, G. The public health implications of polychlorinated biphenyls (PCBs) in the environment. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.59, p.275-291, 2004.

SAFE, S. Polychlorinated biphenyls (PCBs) and polybrominated biphenyls (PBBs): Biochemistry toxicology and mechanism of action. **CRC Critical Reviews of Toxicology**, v. 13, n. 4, p. 319-395, 1984.

SAFE, S.H. Development validation and problems whit the toxic equivalency fator. Approach of risk assessment of dioxins and related compounds. **Journal Animal Science**, v. 76, n. 1, p. 134-141, 1998.

SANCHES, S. M.; DA SILVA, C. H. T. P.; CAMPOS, S. X.; VIEIRA, E. M. Pesticidas e seus respectivos riscos associados à contaminação da água. **Pesticidas: Revista Ecotoxicologica e Meio Ambiente**, v.13, p.161-169, 2003.

SANTOS, J.S. et al. Assessment of polychlorinated biphenyls (PCBs) in cheese from Rio Grande do Sul, Brazil. **Chemosphere**, v.65, p.1544-1550, 2006.

SCHLUMMER, M.; MOSER, G.A.; MCLACHLAN, M. Digestive tract absorption of PCDD/Fs, PCBs and HCB in humans: mass balance and mechanistic considerations. **Toxicology Applicant Pharmacology**, v. 152, n. 1, p. 128-137, 1998.

SEDLAK, D. L.; ANDREN, A. W. The effect of sorption on the oxidation of polychlorinated (PCBs) by hydroxyl radical. **Wat. Res.**, v.28, p.1207-1215, 1994.

SEPLAG – Secretaria de Planejamento, Gestão e Participação Cidadã. Agricultura, Milho. Disponível em: < <http://www.seplag.rs.gov.br/atlas/atlas.asp?menu=265,2007>>. Acessado em: Fevereiro de 2011.

SETTI, T. Industrialização do milho no Brasil. **Congresso Nacional do Milho e Sorgo**. Porto Alegre, SAA, p.176-185, 1992.

SHEN, H., YU, C., YING, Y., ZHAO, Y., WU, Y., HAN, J., & XU, Q. Levels and congener profiles of PCDD/Fs, PCBs and PBDEs in seafood from China. **Chemosphere**, v.77, p.1206-1211, 2009.

SHUKLA, R. & CHERYAN, M. Zein: the industrial protein from corn. **Industrial Crops and Products**, v.13, p.171-192, 2001.

SIMONELLI, A.; BASILICATA, P.; MIRAGLIA, N. et al. Analytical method validation for the evaluation of cutaneous occupational exposure to different chemical classes of pesticides. **Journal of Chromatography B**, v.860, p.23-33, 2007.

SIDHU, K.S. Health benefits and potential risks related to consumption of fish or fish oil. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, v.38(3), p. 336-344, 2003.

SMITH, A. G.; GANGOLLI, S. D. Organochlorine chemicals in seafood: occurrence and health concerns. **Food and Chemical Toxicology**, v.40(6), p. 767-779, 2002

SOLÉ, M.; PORTE, C.; ALBAIGES, J. Hydrocarbons, PCBs and DDT in the Mediterranean deep-sea fish *Mora moro*. **Deep-sea Research I**, v.48, p. 495-513, 2001.

STORELLI, M. M.; GIACOMINELLI-STUFFLER, R.; D'ADDABBO, R.; MARCOTRIGIANO, G. O. Health risk of coplanar polychlorinated biphenyl congeners in edible fish from the Mediterranean Sea. **Journal of Food Protection**, v.66(11), p.2176-2179, 2003

TAHBOUB, Y. R. et al. Determination of the limits of identification and quantitation of selected organochlorine and organophosphorous pesticide residues in surface water by full-scan gas chromatography/mass spectrometry. **Journal of chromatography A**, v.1098, p.150-155, 2005.

TANABE, S.; KANNAN, N.; SUBRAMANIAN, A.; WATANABE, S.; MITSUHIRO, O.; TATSUKAWA, R. Occurrence and distribution of toxic coplanar PCBs in the biota. **Chemosphere**, v.16, p.1965-1970, 1987.

TANABE, S. PCB problems in the future: foresight from current knowledge. **Environmental Pollution**, v.50, p.5-28, 1988.

THIER, H. P.; ZEUMER, H. **Manual of pesticide analysis**, v.1 Pesticides Commission, DEG, VCH, Fed. Rep. Germany, 432 p., 1987.

TÖRNKVIST, A.; GLYNN, A.; AUNE, M.; DARNERUD, P. O.; ANKARBERG, E. H. PCDD/F, PCB, PBDE, HBCD and chlorinated pesticides in Swedish market basket from 2005 – Levels and dietary estimations. **Chemosphere**, v.83, p.193-199, 2011.

TOSELO, G.A. **Milhos especiais e seu valor nutritivo. Melhoramento e produção de milho**. Ed. Viegas, G. P.; Paterniane, E. Campinas: Fundação Cargill, 2ed., v.1, p.375-409, 1987.

UNEP - United Nations Environment Programme. Master list of actions: on the reduction and/or elimination of the releases of persistent organic pollutants. Geneva, 2003.

USDA - UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. PDC-QC-04. Pesticide Data Program. **Acceptability Criteria for Process Control and Fortification Recoveries**. Washington, DC, 8 p., 2002.

USEPA - United States Environment Protection Agency. Method 8082A – Polychlorinated Biphenyls (PCBs) by gas Chromatography. USA, 2000.

VALTERS, K.; OLSSON, A.; ASPLUND, L.; BERGMAN, A. Polychlorinated biphenyls and some pesticides in perch (*Perca Fluviatilis*) from inland waters of Latvia. **Chemosphere**, v.38, p.2053-2064, 1999.

VOORSPOELS, S.; COVACI, A.; NEELS, H. Dietary PCB intake in Belgium. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v.25, p.179-182, 2008.

WELLS, D. S.; BOER, J. Predictors of organochlorines in New York City pregnant women, 1998-2001. **Environmental Contaminants in Food**, v.9, p.305, 1999.

WIKIPÉDIA. Enciclopédia livre. Milho. Disponível em: <<http://pt.wikipedia.org/wiki/Milho>>. Acesso em: fevereiro de 2011.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Polychlorinated Biphenyls and Terphenyls** (Environmental health criteria; 140), Geneva, 1976

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Polychlorinated Biphenyls and Terphenyls** (Environmental health criteria; 140), 2nd.ed. Geneva: World Health Organization, 682p, 1993.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Polychlorinated Biphenyls: Human Health Aspects**. (Concise International Chemical Assessment Document 55). Geneva: World Health Organization, 2003.

ZABIK, M. E.; HARTE, J.B.; DICKMANN, G. Effect of preparation and cooking on contaminant distributions in crustaceans: PCBs in blue crab. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.40, n. 7, p.1197-1203, 1992.

ZHANG, Q.; LIANG, X., CHEN, J.; YEDILER, A.; KETTRUO, A. Reduction of polychlorinated difenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans levels in chloranil from China. **Journal of Analytical Chemistry**, v.374, p.93, 2002

ZHANG, J.; CHEN, J., NI, Y.; ZHANG, Q.; ZHAO, L. Concentrations of PCDD/PCDFs and PCBs in retail foods and an assessment of dietary intake for local population of Shenzhen in China. **Environmental International**, v.34, p.799-803, 2008.

ZOHAIR, A.; SALIM, A.; SOYIBO, A. A.; BECK, A. J. Residues of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs), polychlorinated biphenyls (PCBs) and organochlorine pesticides in organically-farmed vegetables. **Chemosphere**, v.63, p.541-553, 2006.

ZUCCATO, E. et al. PCB concentrations in some foods from four European countries. **Food and Chemical Toxicology**, v.46, p.1062-1067, 2008.

ANEXO A – Produção de grãos de milho no Rio Grande do Sul, nas regiões e principais cidades, em toneladas

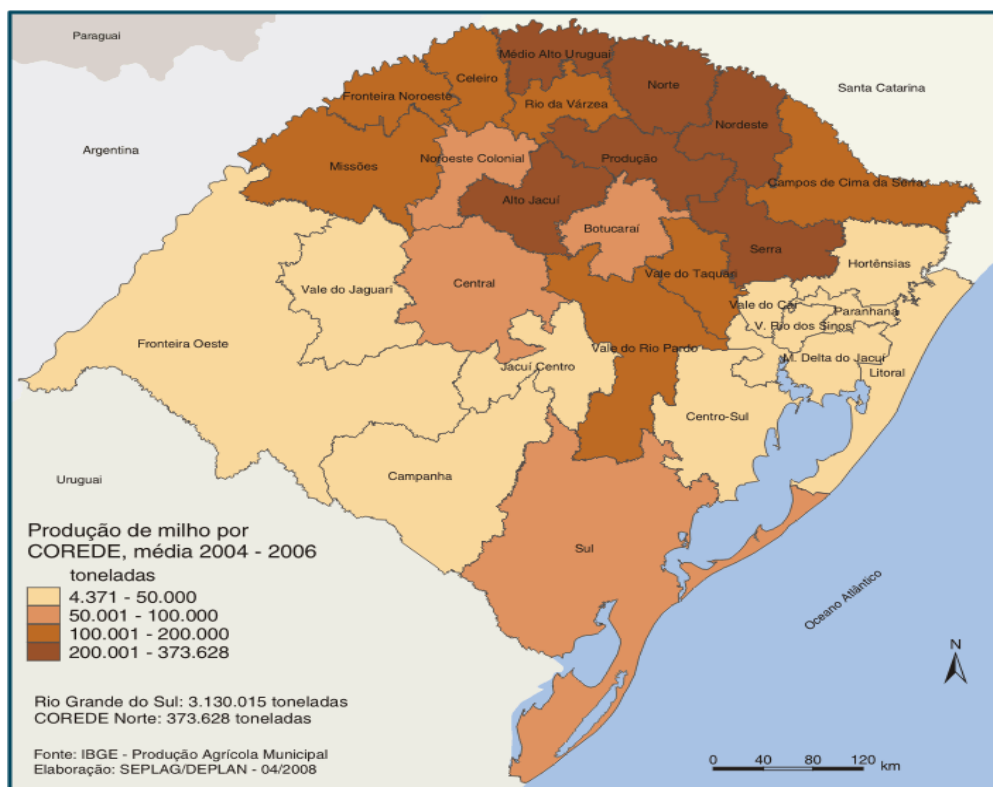


Figura 1: Regiões do Estado e suas produções em toneladas.

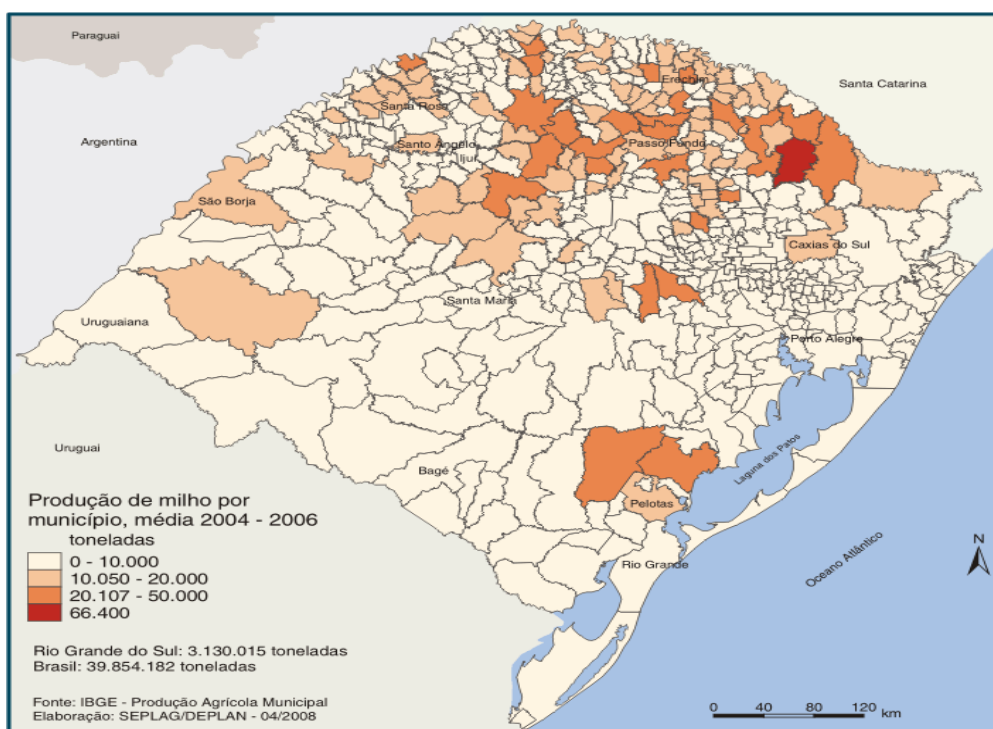


Figura 2: Principais cidades proutoras de milho no Estado e suas produções em toneladas

ANEXO B – Locais das coletas das amostras no estado do Rio Grande do Sul

Tabela 1 – Regiões e cidades das coletas das amostras

Regiões	Cidades
Noroeste	Charrua Erechim Espumoso Estação Frederico Westphalen Getúlio Vargas Gaurama Lagoão Marau Sananduva São Domingos do Sul Soledade Tapejara
Nordeste	Caxias do Sul Estrela Velha Farroupilha Guaporé
Centro	Agudo Cacequi Cachoeira do Sul Cerro Branco Dona Francisca Dona Francisca Ibarama Itaara Ivorá Jaguari Jari Júlio de Castilhos Logoa Bonita do Sul Nova Esperança do Sul Novo Cabrais Pinhal Grande Restinga Seca Rio Pardo Santa Maria Santiago São Martinho São Sepé São Vicente do Sul Silveira Martins Toropi Tupanciretã
Metropolitana de POA	Camaquã Canoas Porto Alegre
Sudoeste	Maçambará São Borja São Francisco de Assis

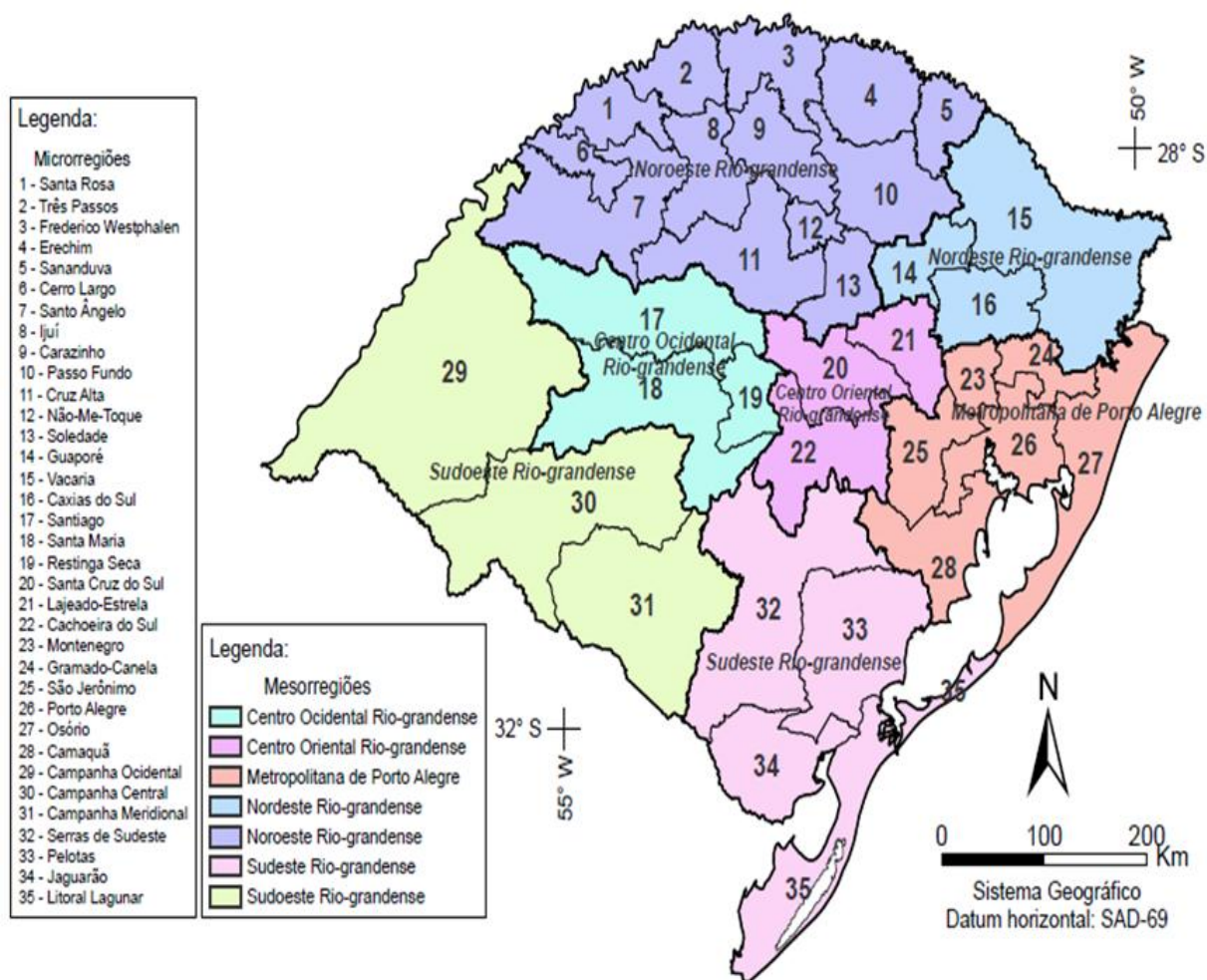


Figura 3 – Mesoregiões e microregiões geográficas do Rio Grande do Sul, 2009. Fonte: IBGE (2009)

