



Ciência e Tecnologia de Alimentos

ISSN: 0101-2061

revista@sbcta.org.br

Sociedade Brasileira de Ciência e

Tecnologia de Alimentos

Brasil

BETTIN, S. M.; Wagner FRANCO, D.
HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS (HPAs) EM AGUARDENTES
Ciência e Tecnologia de Alimentos, vol. 25, núm. 2, abril-junio, 2005, pp. 234-238
Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos
Campinas, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=395940074008>

- Como citar este artigo
- Número completo
- Mais artigos
- Home da revista no Redalyc

redalyc.org

Sistema de Informação Científica

Rede de Revistas Científicas da América Latina, Caribe , Espanha e Portugal
Projeto acadêmico sem fins lucrativos desenvolvido no âmbito da iniciativa Acesso Aberto

HIDROCARBONETOS POLICÍCLICOS AROMÁTICOS (HPAs) EM AGUARDENTES¹

S. M. BETTIN²; D. Wagner FRANCO²

RESUMO

A presença de hidrocarbonetos aromáticos polinucleares (HPAs) em aguardentes foi investigada por cromatografia líquida (CLAE) após sua prévia extração em fase sólida (SPE). A separação foi realizada em uma coluna *Supelco*, LCPAH-octadecil silano (25cm x 4,6mm x 5µm) com gradiente acetonitrila/água e a quantificação utilizando detector de fluorescência. Os HPAs (naftaleno; acenafataleno; fluoreno; fenantreno; antraceno; fluoranteno; pireno; 1,2-benzo(e)pireno; criseno; benzo(e)pireno; 2,3-benzo(a)antraceno; 1,2-benzo(b)fluoranteno; benzo(k)fluoranteno; dibenzo(a,h)antraceno; benzo(a)pireno; benzo(ghi)pirileno) foram identificados e quantificados em vinte e oito amostras de aguardentes de cana. Os resultados experimentais para as amostras de aguardentes (cachaças) são analisados em termos de análises de componentes principais (PCA) objetivando a diferenciação entre o perfil das aguardentes produzidas a partir de cana-de-açúcar queimada e não-queimada.

Palavras-chave: aguardente de cana; hidrocarboneto aromático polinucleares; cana queimada.

SUMMARY

PHAs IN SPIRITS. The presence of PHAs (polycyclic aromatic hydrocarbons) in spirits has been investigated using high performance liquid chromatography (HPLC) after solid phase extraction (SPE). The separation was achieved with a *Supelco* LCPAH-octadecil silane column [25cm x 4,6mm x 5µm] and acetonitrile/water elution gradient and the quantification using a fluorescence detector. The PHAs (naphthalene; acenaphthene; fluorene; phenanthrene; anthracene; phluorantene; pyrene; 1,2-benzo(e)pyrene; chrysene; benzo(e)pyrene; 2,3-benzo(a)anthracene; 1,2-benzo(b)phluoranthene; benzo(k)fluoranthene; dibenzo(a,h)anthracene; benzo(a)pyreno; benzo(ghi)pirilene) were quantified in twenty eight samples of sugar cane spirits. All the experimental data for sugar cane spirit have been analyzed through principal components analysis (PCA) aiming to compare the chemical profile of beverages produced from burned and not burned sugar cane.

Keywords: sugar cane spirit; burned sugar cane; polycyclic aromatic hydrocarbons.

1 - INTRODUÇÃO

Os hidrocarbonetos aromáticos polinucleares (HPAs) são originados por fontes antropogênicas (queima de florestas, atividades industriais e atividades residenciais) ou por atividades naturais (atividades vulcânicas e biosíntese por algas) [4, 12, 13]. Estima-se que, de 12 a 14 toneladas de benzo(a)pireno são lançados anualmente na atmosfera pelos vulcões [4, 12].

Até o começo do século XX havia um equilíbrio entre a produção e a degradação natural de HPAs sendo a sua concentração baixa e constante. Com o aumento do desenvolvimento industrial, esse balanço natural foi perturbado e a razão entre a produção e a degradação de HPAs tem aumentado constantemente [4, 12]. O mecanismo de formação de HPAs durante a combustão incompleta de material orgânico é conhecido há muito tempo [12]. Acredita-se que estejam envolvidos dois processos distintos: a pirólise e a pirossíntese. Em altas temperaturas, compostos orgânicos são convertidos em moléculas pequenas não estáveis (pirólise). Estas e outros ra-

diciais se recombinam para produzir moléculas maiores e mais estáveis de HPAs (pirossíntese). Uma vez formados os HPAs podem sofrer reações pirossintéticas, originando estruturas mais complexas com anéis altamente condensados [12]. Os HPAs não são obrigatoriamente fracionados em fragmentos menores antes da pirossíntese, podendo resistir à fragmentação parcial seguida pela hidrogenação dos seus radicais primários. Em geral, todos os compostos orgânicos contendo carbono e hidrogênio, podem servir como precursores de HPAs [4, 12].

Estudos na Holanda demonstraram que a ingestão de açúcar puro e produtos açucarados são fontes importantes de HPAs na dieta da população. As análises destes produtos apresentaram teores de criseno de até 36µg/kg [13]. As análises de amostras de açúcares comerciais brasileiros indicaram a presença de HPAs em concentrações que variam de 0,25 a 0,83µg/kg [11].

Na Alemanha "The German Society for Fat Science" fixou para o teor total de HPAs em alimentos o limite de 25µg/L e de 5µg/L para o teor de HPAs de alta massa molecular (1,2-benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno, benzo(ghi)pirileno e benzo(a)antraceno) [9, 10].

A existência de HPAs em bebidas não é novidade. Foi constatada a presença de benzopireno, benzofluoranteno e criseno em uísques (atribuída a queima da turfa) em teores de 0,03 a 0,08µg/L [11]. Segundo a legislação escocesa as concentrações máximas toleradas de HPAs em alimentos são de 1µg/L para o naftaleno; acenafateno; fluoreno; fenantreno; antraceno e de 2µg/L para o fluorante-

¹ Recebido para publicação em 21/08/2002. Aceito para publicação em 02/03/2005 (000957).

² Departamento de Química e Física Molecular, Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo (USP). End.: Av. Trabalhador São Carlense, n. 400. CEP: 13560-970, São Carlos, SP. E-mail: douglas@iqsc.sc.usp.br

A quem a correspondência deve ser enviada.

no; pireno e criseno [5].

Além da queima da cana, a presença de HPAs em bebidas pode ser proveniente de contaminações nas etapas do processo de produção, tais como: o emprego de lubrificantes nos equipamentos; a utilização de recipientes não-adequados para o armazenamento da bebida; tanques revestidos com resinas asfálticas ricas em HPAs; pelo açúcar adicionado na bebida e durante a maturação da bebida em tonéis de madeira tratada termicamente [1, 7, 14].

A colheita da cana-de-açúcar no Brasil (que ocorre todo o ano entre maio e novembro) e em outros países é conduzida geralmente após a queima dos canaviais [14]. Este procedimento primitivo resulta primeiramente em contaminação ambiental, pois partículas de palha queimada (fuligem), bem como inúmeros compostos tóxicos dentre os quais destacamos os HPAs são introduzidos na atmosfera. Estudos realizados em amostras de fuligem da cana-de-açúcar queimada indicam a presença dos seguintes HPAs: naftaleno, acenaftaleno, acenaftileno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, 1,2-benzo(e)pireno, benzo(a)antraceno, criseno, benzo(e)pireno, 1,2-benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, benzo(a)pireno e benzo(ghi)pirileno [14].

Apesar de bebidas contaminadas por hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) serem potencialmente prejudiciais à saúde, pois benzo(a)pireno e criseno são compostos considerados carcinogênicos [2, 5, 6], no Brasil até o momento não existe legislação específica sobre o assunto.

O objetivo deste trabalho é contribuir para o conhecimento do perfil químico das aguardentes brasileiras com relação ao seu conteúdo de HPAs. Para tanto é apresentada uma adaptação da metodologia existente [14] para a análise de HPAs e uma tentativa de diferenciar aguardentes provenientes de cana queimada e não-queimada pela aplicação do método de análise de componentes principais (PCA) aos resultados obtidos.

2 - MATERIAL E MÉTODOS

2.1 - Amostras

As aguardentes analisadas foram: A.A.A (SP), Armazém Vieira (SP), Azuladinha (AL), Beija Flor (SP) 1996, Beija Flor (SP) 1998 Beija Flor (SP) 1999, Bosco(SP), Catedral (SP), 51 (SP), Colosso (SP), Havana (MG), Izé (SP), Jamel (SP), Lua Cheia (SP), Lua Nova (SP), Mangueira (PI), Paraty (RJ), Pirassununga (SP), Pitú Gold (CE), Santa Ângela (1998), Santa Ângela (1999), São Francisco (RJ), Terra Brasilis (SP), Tiquara (SP), Trinca 3 (CE), Velho Barreiro (SP), Vila Velha (SP), Ypioca prata (CE).

Esta classificação é arbitrária, não estando relacionada com as propriedades organolépticas das bebidas nem com sua aceitação comercial. Foram coletadas

amostras de aguardentes de várias regiões do país, considerando-se a tradição de cada região na produção de cachaça.

Por meio de contato com produtores foi possível classificar as bebidas como provenientes de cana queimada e não-queimada.

2.2 - Reagentes

Os padrões utilizados para as análises dos compostos fenólicos foram todos de grau analítico (Merck e Aldrich) e estão listados a seguir: naftaleno, acenaftaleno, fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, 1,2-benzo(e)pireno, criseno, benzo(e)pireno, 2,3-benzo(a)antraceno, 1,2-benzo(b)fluoranteno, benzo(k)fluoranteno, 9,10-dimetil benzo(a) antraceno, benzo(a)pireno e benzo(ghi)pirileno. A escolha dos padrões foi efetuada considerando os compostos previamente identificados [14] em amostras de outros destilados. Os solventes utilizados foram metanol, isopropanol, acetona-nitrila e acetato de etila sempre de grau HPLC (Merck, Carlo Erba e Aldrich).

2.3 - Extração

A extração dos HPAs das amostras foi realizada pela técnica SPE (extração em fase sólida), utilizando os cartuchos ENVI-LC₁ (octadecil silano) Supelco, 6,0mL. Foram testadas diversas fases de eluição para os HPAs previamente extraídos nos cartuchos ENVI-LC₁ (octadecil silano) Supelco. O acetato de etila foi o solvente que apresentou os melhores resultados para a eluição dos HPAs de massa molecular maior, o isopropanol para os HPAs de massa molecular menor (naftaleno, acenaftaleno, fluoreno, fenantreno) (Tabela 2). Cada cartucho foi ativado com 10,0mL metanol. Alíquotas de 12,0mL de amostra foram aplicadas nos cartuchos e eluídas com 2,0mL de isopropanol e 2,0mL de acetato de etila (1:1 v/v). O extrato obtido foi concentrado por evaporação com ar sintético e o volume final acertado para 1,00mL, utilizando para tanto acetato de etila.

2.4 - Análise cromatográfica

As análises dos HPAs foram realizadas utilizando os seguintes equipamentos e condições experimentais: Cromatógrafo Líquido: Shimadzu modelo LC-10AD; detector: fluorescência, modelo RF-551; coluna: LC-PAH (octadecil silano) 25cm x 2,1mm x 5µm; fluxo: 0,40mL/min. Gradiente de eluição: A:água/B:acetona-nitrila;

Programação de comprimento de onda:

Tempo (min)	$\lambda_{\text{ex}}, \text{nm}$:	$\lambda_{\text{em}}, \text{nm}$:
0	275	320
15	265	380
24	290	395
39	290	406

2.5 - Quantificação

A curva de calibração foi construída, a partir da adição de volumes conhecidos de solução estoque contendo 1000mg/L dos HPAs em solução de isopropanol e acetato de etila (1:1 v/v) em aguardente isenta de HPAs (teores abaixo dos limites de detecção). Estas soluções foram preparadas de forma a obter padrões nas seguintes concentrações: 0,50mg/L, 0,25mg/L, 0,10mg/L, 0,05mg/L e 0,02mg/L. O padrão de criseno devido à baixa solubilidade foi preparado da seguinte forma: pesou-se uma solução super-saturada do padrão. O resíduo foi filtrado, seco, pesado e a concentração final da solução foi calculada subtraindo da massa inicialmente pesada a massa não solubilizada.

2.6. Limite de detecção (LD) e quantificação (LQ) e reproduzibilidade do método.

O limite de detecção foi calculado na prática como sendo correspondente à concentração que produzira um valor do sinal medido três vezes maior que o nível do ruído. O nível ruído (linha de base) foi calculado a partir de uma corrida do branco [3, 8].

Considerou-se o limite de quantificação como sendo o menor valor determinado, com confiabilidade aceitável de precisão e exatidão, para uma dada condição analítica. Em geral, um valor bastante aceitável para LQ é o de 3,3 x LD, ou seja, menor quantidade calculada é considerada como sendo três vezes maior que o mínimo detectável em um dado sistema e dez vezes maior que o nível do ruído. A reproduzibilidade do método para os compostos estudados foi determinada realizando-se cinco medidas da mesma amostra durante dois dias, sempre em duplo-cata [3, 8].

3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises dos HPAs foram realizadas em uma coluna *Supelco-LC-PAH* (25cm x 2,1mm x 5µm) (octadecil silano), a qual apresentou uma boa separação para uma solução contendo os padrões de HPAs e para uma amostra de aguardente de cana (*Figuras 1 e 2*).

As *Tabelas 1 e 2* reúnem as características da metodologia empregada. A *Tabela 1* apresenta os valores de reproduzibilidade para o método utilizado cujo desvio padrão relativo varia entre 0,0002 % a 0,44 % para o fenantreno e o criseno, respectivamente. O limite de detecção varia entre $5,0 \times 10^{-3}$ µg/L (antraceno) a 0,10µg/L para 9,10-dimetil-1,2-benzoantraceno. O limite de quantificação está entre 0,01µg/L (antraceno, benzo(a)pireno, di-benzo(a,h)antraceno) e 1,0µg/L para o naftaleno.

Os valores de reproduzibilidade (*Tabela 1*) para o método utilizado em termos do desvio padrão relativo variam entre 0,0002% (fenantreno) a 0,44% (criseno), o limite de detecção varia entre $5,0 \times 10^{-3}$ µg/L (antraceno) a 0,10µg/L (naftaleno).

A *Tabela 2* apresenta os resultados de recuperação

TABELA 1 - Testes de reproduzibilidade para a metodologia utilizada para a análise de HPAs

HPAs	Média (µg/L)	DPR (%)*	Limite de detecção (µg/L)	Limite de quantificação (µg/L)
Naftaleno	0,17	0,02	0,10	1,00
Acenaftaleno	0,26	6×10^{-3}	0,010	0,20
Fluoreno	0,02	0,40	0,01	0,10
Fenantreno	0,29	2×10^{-4}	0,01	0,10
Antraceno	0,08	0,06	5×10^{-3}	0,01
Fluoranteno	0,07	0,06	0,010	0,20
Pireno	0,70	1×10^{-3}	0,010	0,04
Benzo(a)antraceno	0,08	0,06	0,010	0,10
Criseno	0,02	0,44	0,001	0,10
Benzo(e)pireno	0,18	0,01	0,010	0,30
9,10-dibenzopireno	0,80	6×10^{-3}	0,010	0,25
Benzo(b)fluoranteno	0,07	0,07	0,020	0,20
Benzo(k)fluoranteno	0,05	0,08	0,010	0,10
Dibenzo(a,h)antraceno	0,19	0,01	0,001	0,01
Benzo(a)pireno	0,08	0,05	0,001	0,01
Benzo(ghi)pirileno	0,09	0,01	0,001	0,10

TABELA 2 - Testes de recuperação da extração dos HPAs com mistura de isopropanol: acetato de etila (1:1 v:v)

HPAs	Recuperação (%)
Acenaftaleno	99,3 ± 1,50
Fluoreno	100,4 ± 8,0
Fenantreno	98,5 ± 5,60
Antraceno	97,5 ± 4,60
Fluoranteno	98,5 ± 4,20
Pireno	88,1 ± 3,70
Benzo(a)antraceno	100,9 ± 4,50
Criseno	87,2 ± 3,30
Benzo(e)pireno	101,5 ± 4,80
9,10-dibenzopireno	82,0 ± 2,20
Benzo(b)fluoranteno	99,3 ± 4,60
Benzo(k)fluoranteno	99,4 ± 1,50
Dibenzo(a,h)antraceno	98,1 ± 6,90
Benzo(a)pireno	99,4 ± 4,20
Benzo(ghi)pirileno	89,6 ± 5,60

da extração para os HPAs com a mistura da solução de isopropanol e acetato de etila (1:1 v/v). Estes valores variam de 89,6% (benzo(ghi)pirelano) a 101,5% (benzo(e)pireno).

A *Tabela 3* reúne os resultados experimentais para os teores de HPAs em aguardentes produzidas com cana queimada e não-queimada. Os teores médios de HPAs, isolados e totais, para aguardentes produzidas com cana queimada são sempre bem superiores em relação às aguardentes produzidas com cana não-queimada. Os HPAs: fluoreno, fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, benzo(a)antraceno, criseno e benzo(e)pireno, não foram detectados em aguardentes produzidas com cana não-queimada.

As aguardentes tipo "b" e "c" produzidas com cana queimada, apresentam teores (10,60µg/L e 11,80µg/L) médios acima do recomendado (1,0µg/L) na legislação esco-

TABELA 3 - Teores médios de HPAs em bebidas** ($\mu\text{g/L}$)

HAPs	Teor Limite*	Aguardente (cana não-quemada)	Aguardente (cana quemada)
naftaleno	1,00	6,00	9,70
cenaftaleno	1,00	2,00	9,30
luorenó	1,00	0,50	3,45
enantreno	1,00	0,28	2,75
ntrancreno	1,00	ND	3,40
luoranteno	2,00	0,70	2,91
ireno	2,00	ND	3,47
enzo(a)antraceno	2,00	ND	1,07
riseno	2,00	ND	1,10
enzo(c)pireno	2,00	ND	1,86
enzo(b)fluoranteno	2,00	0,25	2,50
enzo(k)fluoranteno	2,00	0,40	3,70
ibenzo(a,h)antraceno	2,00	0,05	1,45
enzo(a)pireno	2,00	ND	1,55
enzo(ghi)pirileno	2,00	0,86	4,50

* limite recomendado na legislação escocesa; ND: valores abaixo dos limites de detecção da *Tabela 1*

** valor médio calculado com base no resultado de 28 amostras.

cesa para o naftaleno. As aguardentes tipo "b" e "c" apresentam também, teores (8,52 $\mu\text{g/L}$, 3,10 μL e 4,42 e 3,94 μL , respectivamente) acima do recomendado (1,0 $\mu\text{g/L}$) para o acenaftaleno e o fluoreno. Os teores médios em aguardentes tipo "a" apresentam teores (5,45 $\mu\text{g/L}$, 4,88 $\mu\text{g/L}$ e 10,03 $\mu\text{g/L}$) acima que o recomendado (2,0 $\mu\text{g/L}$) para o fluoranteno, benzo(k)fluoranteno e benzo(a)pireno. As aguardentes tipo "b" apresentam teores (3,47 $\mu\text{g/L}$ e 3,43 $\mu\text{g/L}$) acima do recomendado (2,0 $\mu\text{g/L}$) para o pireno e o benzo(a)antraceno.

A avaliação dos resultados, segundo as análises das componentes principais (PCA), foi utilizada no intuito de verificar a existência ou não de diferenças entre os perfis

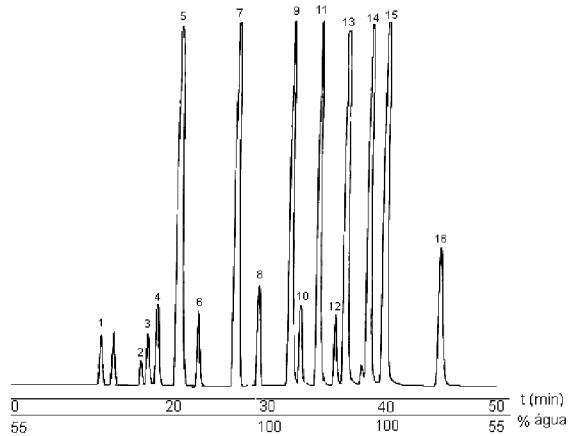


FIGURA 1 - Cromatograma dos padrões de HPAs em coluna Supelco-LC-PAH (25cm x 4,6mm x 5 μm) (1,0 $\mu\text{g/L}$), (octadecil silano) (HPLC; detector de fluorescência; volume de injeção; 1-naftaleno; 2-acenaftaleno; 3-fluoreno; 4-fenanreno; 5-antraceno; 6-fluoranteno; 7-pireno; 8-(1,2-benzo(e)pireno); 9-criseno; 10-benzo(e)pireno; 11-(2,3-benzo(a)antraceno); 12-(1,2-benzo(b)fluoranteno); 13-benzo(k)fluoranteno; 14-(9,10-dimetil benzo(a) antraceno); 15-benzo(a)pireno; 16-benzo(ghi)pirileno

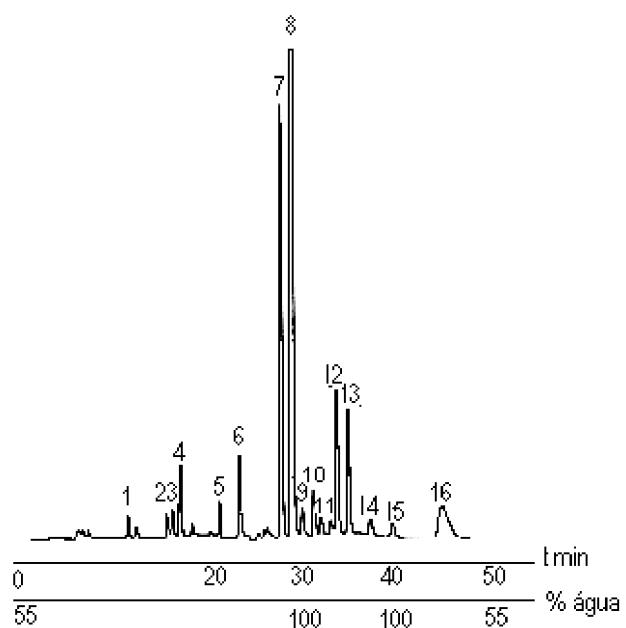


FIGURA 2 - Cromatograma típico da aguardente de cana (HPLC;; detector de fluorescência; coluna LC-PAH (octadecil silano); volume de injeção de 25 μL . 1-naftaleno; 2-acenaftaleno; 3-fluoreno; 4-fenanreno; 5-antraceno; 6-fluoranteno; 7-pireno; 8-(1,2-benzo(e)pireno); 9-criseno; 10-benzo(e)pireno; 11-(2,3-benzo(a)antraceno); 12-(1,2-benzo(b)fluoranteno); 13-benzo(k)fluoranteno; 14-dibenzo(a, h)antraceno; 15-benzo(a)pireno; 16-benzo(ghi)pirileno

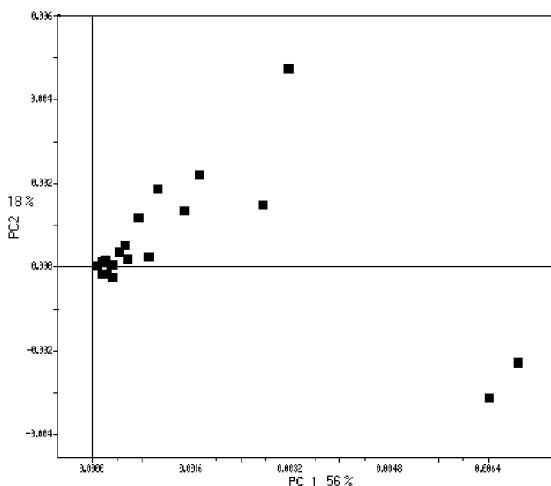


FIGURA 3 - PC1 x PC2 para aguardentes produzidas com cana quemada (azul; n: 16) e aguardentes produzidas com cana não quemada (vermelho; n: 9)

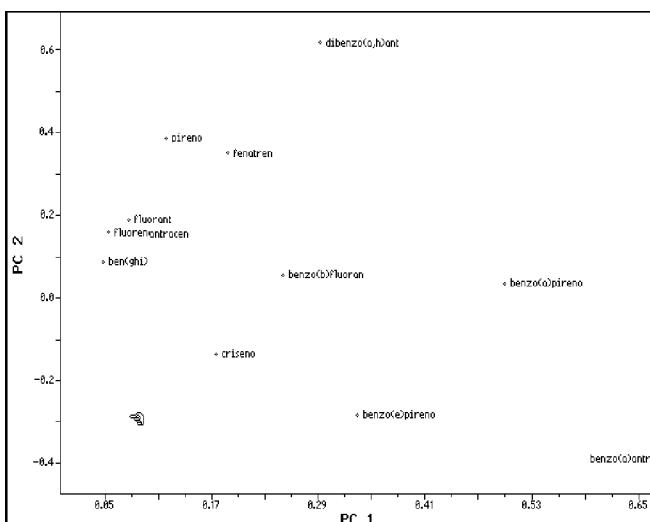


FIGURA 4 - PC1 (56%) x PC2 (18%) para aguardentes produzidas com cana queimada e aguardentes produzidas com cana não-queimada

de aguardentes produzidas com cana queimada e não-queimada. A Figura 3 sugere ser possível discriminar as aguardentes produzidas com cana queimada e não-queimada, com base nos teores de HPAs. O benzo(a)pireno, benzo(b)pireno, o benzo(a)antraceno e o benzo(e)pireno são os HPAs que mais contribuem para as aguardentes produzidas com cana queimada (Figura 4).

Estes resultados indicam o efeito da queima da cana-de-açúcar sobre os teores de HPAs das aguardentes e sugerem a possibilidade de discriminar o produto de acordo com a procedência da cana.

4 - CONCLUSÕES

A metodologia adaptada apresenta boa reprodutibilidade, exatidão e sensibilidade permitindo a análise de 16HPAs em aguardente de cana. É de simples aplicação reunindo características que a recomendam para o controle de rotina. A análise dos resultados indicou a presença de HPAs, em concentrações variáveis nas amostras. Nas aguardentes provenientes de cana não-queimada não foi detectada a presença de antraceno, píreno, benzo(a)antraceno, criseno, benzo(e)pireno e benzo(a)pireno. É promissor o tratamento de dados analíticos de teores de HPAs por métodos quimiométricos (PCA) para verificar a qualidade da cana utilizada na produção da aguardente.

5 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] AKHLAQ, M. S. Detailed Analysis of crude oil group types using reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography*, v. 677, p.265-272, 1994.
- [2] CAMARGO M. S.; TOLEDO, M. C., Hidrocarbonetos Aromáticos Policíclicos em Margarina, Creme Vegetal e Maionese, *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, n. 20, p. 51-55, 2000.
- [3] CAUSON, R. Validation of Chromatographic Methods in Biomedical Analysis. Viewpoint and Discussion. *Journal of Chromatography B*, v.689, p.175-180, 1997.
- [4] CRESSER, M.; KILLHAM, K.; EDWARDS T. **Soil Chemistry and its Applications**, Cambridge, New York, 1993, 322p.
- [5] DENNIS, M.J.; MASSEY, R.C. Analysis of polycyclic hydrocarbons in UK total diets. *Food Chemistry Toxicology*, v. 21, p. 569-574, 1983.
- [6] FÁLCON, M. S. G. Enchainment of Benzo(a)pyrene in smoke food products and determination by high-performance liquid-chromatography-fluorescence detection. *Journal of Chromatography A*, vol. 753, p.107-121, 1994.
- [7] HAWTHORNE, S.B.; TREMBLEY, S.; MONIOT, C.B. Static subcritical water extraction with simultaneous solid-phase extraction for determining polycyclic aromatic hydrocarbons on environmental solids. *Journal of Chromatography A*, v. 886, p. 237-244, 2000.
- [8] JENKE, D.R. Chromatography method validation: a review of current practices and procedures II. Guidelines for primary validation parameters. *Journal of Liquid Chromatography*, v. 19, n.5, p.719-736, 1996.
- [9] MORET, S., Determination of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Water and Water-based alcoholic Beverages. *Zeitschrift für Lebensmittel*, v. 201, n.4, p.322-326, 1995.
- [10] MORET, S.; CONTE, L. Polycyclic aromatic hydrocarbons in edible fats and oils: occurrence and analytical methods. *Journal of Chromatography A*, v. 882, p.245-253, 2000.
- [11] NOVAES, V. F. Hidrocarbonetos em Aguardente de Cana, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial-Universidade de São Paulo (artigo não publicado).
- [12] TREVELIN, W. R. **Otimização da Análise de Hidrocarbonetos Policíclicos Aromáticos em sistemas aquosos**. São Carlos, 1992, p.83, Dissertação (Mestrado)-Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo.
- [13] VOS, R. H.; DOKKUM, W. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in total diet samples. *Food Chemical Toxicology*, v. 28, p. 263-268, 1990.
- [14] ZAMPERLINNI, C.M.G., Silva-Santiago, M., Vilegas, W. Solid-phase extraction of sugar cane soot extract for analysis by gas chromatography with flame ionization and mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A*, v. 889, p. 281-289, 2000.

6 - AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro.