

# DETERMINAÇÃO DA MIGRAÇÃO DO PENTACLOROFENOL (PCF) A PARTIR DE MADEIRA PARA ALIMENTOS POR ELETROFORESE CAPILAR E AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DE TOXICIDADE

## RESUMO

Os preservantes de madeira são todas as substâncias usadas para evitar o apodrecimento das madeiras por microrganismos, tornando-a resistente ao ataque e desenvolvimento de microrganismos xilófagos. Neste trabalho desenvolvemos uma metodologia analítica em eletroforese capilar capaz de determinar a migração desses preservantes de madeira a partir da madeira para os alimentos e estimar o seu potencial toxicológico. A metodologia de eletroforese capilar mostrou ser bastante eficiente de acordo com trabalhos descritos na literatura. O objetivo deste estudo é avaliar a situação dos materiais de madeira em contato com os alimentos em relação a seus preservantes, além de estudar a genotoxicidade dos preservantes de madeira. O estudo pretende colaborar com uma legislação nacional que atualmente é inexistente no que trata dos preservantes de madeira em contato com os alimentos.

**Palavras-chave:** preservantes de madeira, eletroforese capilar e ensaio cometa

## SUMMARY

The wood preservatives are all substances used to avoid the rottenness of wood by microorganisms, turn it resistant to attack and development xylophages microorganisms. In this work we develop an analytical methodology in capillary electrophoresis to determine the migration these wood preservatives from wood to food and to estimate its potential toxic. The methodology of capillary electrophoresis to determine the pentachlorophenol demonstrated to be enough efficient according to works described in the literature. The aim this study is to evaluate the situation of the wood materials in contact with foods in relation yours preservatives beyond to study the genotoxicity of the wood preservatives. The study intends to collaborate with national legislation that actually there is not regarding wood preservatives in contact with foods.

**Keywords:** wood preservatives, capillary electrophoresis and comet essay

## INTRODUÇÃO

O Pentaclorofenol (PCF) é um composto muito tóxico e, dentre os clorofenóis, foi usado amplamente como fungicida na preservação de madeira durante décadas. Sua análise tem recebido especial atenção a fim de medir os níveis de controle desta substância que pode ser transferida aos alimentos pelo contato direto com madeiras tratadas com PCF.

A toxicidade e a persistência do PCF em locais contaminados já é bem conhecida, o PCF é considerado como um poluente toxicologicamente relevante por causa da sua alta toxicidade, segundo a Agência de Proteção Ambiental (EPA-EUA), na Europa, as agências regulatórias estabeleceram compromisso sobre valores limite de 5 mg PCF/kg de madeira seca reciclada (Becker *et al.*, 2002).

*Marco Antonio Mota<sup>1</sup>,  
Vinicius Nery<sup>2</sup>,  
Helena Zamith<sup>2</sup> e  
Shirley Abrantes<sup>2\*</sup>*

<sup>1</sup>Doutorando em Vigilância Sanitária pelo programa de pós-graduação em Vigilância Sanitária do INCQS-FIOCRUZ;  
<sup>2</sup>Instituto Nacional de Controle e Qualidade em Saúde (INCQS-FIOCRUZ)

\*Autora para correspondência:  
Av. Brasil, 4365  
Manguinhos  
CEP: 21040-900. Rio de Janeiro. RJ  
E-mail:  
shirley.abrantes@incqs.fiocruz.br

Para sua análise, várias metodologias já têm sido extensivamente utilizadas tais como cromatografia líquida (CL), cromatografia gasosa (CG) (Domeño *et al.*, 2005), entretanto o desenvolvimento da eletroforese capilar (EC) aparece como uma metodologia promissora, apresentando alta eficiência nas separações, alta resolução e baixo custo (Jáuregui *et al.*, 2000).

## MATERIAIS E MÉTODOS

### Amostras

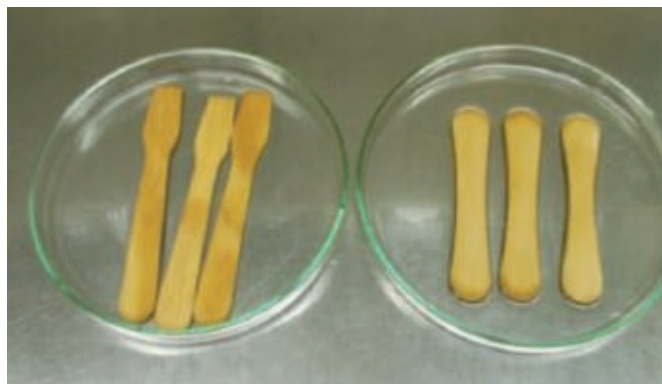
Foram analisados materiais de madeiras que entram em contato direto com os alimentos, tais como palitos de picolé, palitos de dentes, e caixas usadas no transporte e armazenagem dos alimentos. Algumas amostras foram gentilmente doadas por fábricas de sorvetes e outras obtidas no comércio local.

### Reagentes

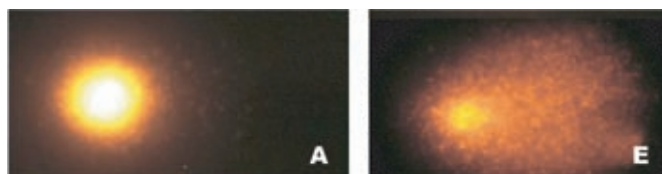
Pentaclorofenol (98%) Aldrich (Madri, Espanha); Metanol para cromatografia líquida (Darmstadt-Alemanha); Água ultrapura e tampão Tetraborato de Sódio ( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ ) e Hidróxido de Sódio (NaOH 0.1 N) da Agilent Reagentes.

### Equipamentos

Todos os experimentos de análise foram realizados em um equipamento de eletroforese capilar HP 3D-CE (Hewlett-Packard-CA, EUA) instalado com uma coluna de sílica fundida com 50 $\mu\text{m}$  de diâmetro interno e 40 cm de comprimento efetivo adquirido da Agilent, e acoplado a detector de arranjo de diodo.



**Figura 1.** Ensaio de migração usando palitos de picolé (300cm<sup>2</sup>) e solvente simulante (Etanol/H<sub>2</sub>O 95%) tempo de contato 10 dias e temperatura 5°C.



**Figura 2:** Fotomicrografia das células no ensaio cometa.  
**A:** Célula Controle **E:** Célula com dano

O capilar e os frascos das amostras foram mantidos a temperatura de 20°C e a voltagem durante a separação foi de 30 kv. As amostras foram injetadas a pressão de (50 mBar). E a corrida foi realizada em tampão  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$  20mM e pH 9,3.

### Condicionamento do capilar

Antes de cada corrida é realizado o condicionamento do capilar, através da passagem de NaOH 0,1 M por dois minutos, seguido da passagem de água desionizada (Pure Water®-Agilent) por cinco minutos antes da corrida com o tampão. E no final do dia a coluna é lavada com água desionizada durante trinta minutos.

### Ensaio de migração

A metodologia usada para determinação dos preservantes de madeira foi através do ensaio de migração. As substâncias que são transferidas ao alimento como resultado do contato direto ou da interação entre alimento e materiais de embalagem são freqüentemente chamados de “migrantes” (Abrantes *et al.*, 1998). O teste de migração seguiu a Comissão da Comunidade Européia (1994) usando como solvente simulante (Etanol/H<sub>2</sub>O-95% e 50%) conforme o apresentado na Figura 1, e analisado no eletroforese capilar.

### Ensaio cometa

O PCF tem sido descrito como provável carcinógeno ao homem pelas principais agências de estudos toxicológicos. O ensaio cometa trata-se de um importante ensaio no que diz respeito, ao dano que uma determinada substância pode causar ao DNA das células, sendo assim podemos avaliar a atividade carcinogênica e mutagênica em células animais e humanas porque se detecta o dano ao genoma (Ozaki, *et al.*, 2004). A substância padrão (PCF) em várias concentrações de DMSO, e uma alíquota de 475  $\mu\text{L}$  de suspensão celular (células sanguíneas) serão colocadas em contato com o PCF, que serão incubadas por duas horas e rapidamente espalhadas sobre lâminas microscópicas. As lâminas serão transferidas para observação em microscópicos, onde serão observados os danos causados no DNA das células caracterizados pela formação da cauda. De acordo com o apresentado na Figura 2.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O PCF pode ser analisado de forma linear na faixa de concentração de 5 a 200 ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ) e esta faixa apresentou resultados homoscedásticos.

Os tempos de migração nos eletroferogramas dos solventes simulantes injetados na eletroforese capilar foram comparados aos das soluções padrões que apresentaram uma substância com o mesmo tempo de migração da substância padrão. De acordo com o eletroferograma apresentado na Figura 3. A identificação

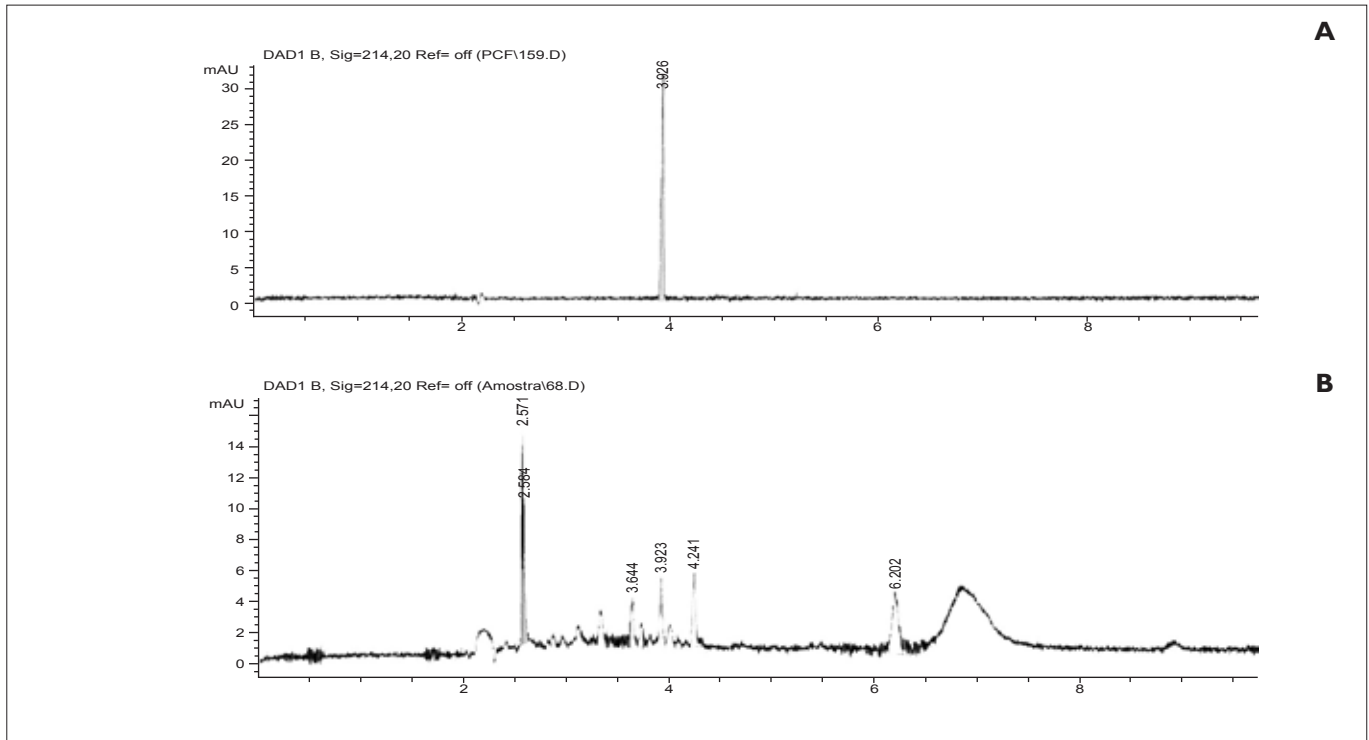


Figura 3. Eletroferogramas da solução padrão de PCF (A) e da Amostra (B)

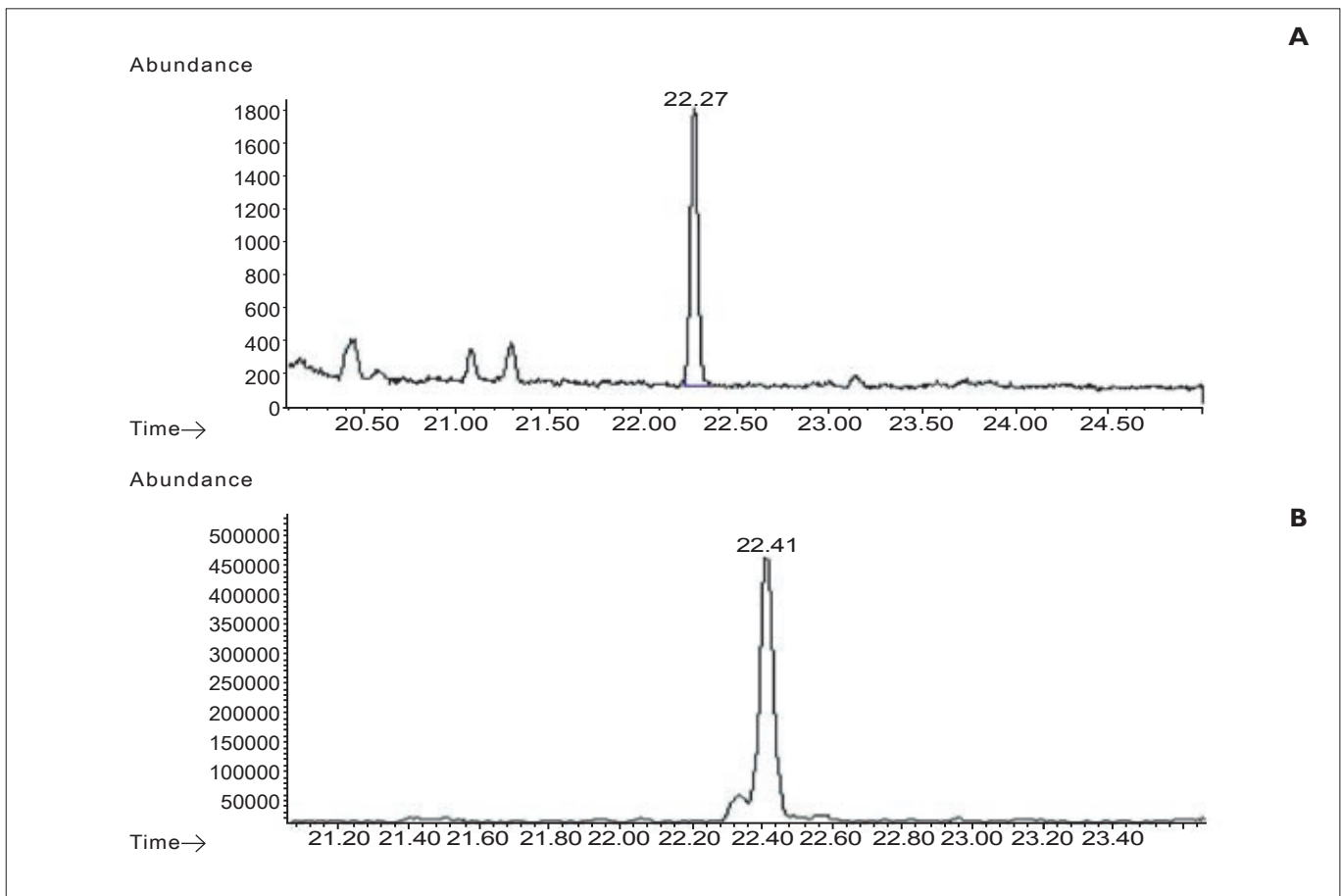


Figura 4. Espectro do padrão de PCF derivatizado – I ppm (modo SCAN) (A) & espectro da amostra derivatizada de PCF (modo SIM) (B)

ainda necessitava de outras análises, que foram realizadas para confirmar a presença do PCF tais como a utilização da cromatografia acoplada a espectro de massas, usando a metodologia de Becker *et al.* (2002), apresentados na Figura 4 na qual obtivemos bons resultados para a presença do PCF nas amostras.

Em nossas análises foi feita a opção pelo modo (SIM) no espectrômetro de massa ao modo (SCAN) pelo fato do modo (SIM) ser mais seletivo ao PCF.

## CONCLUSÃO

Este projeto é de extrema importância no que se refere ao uso dos preservantes de madeira, devido o fato da insuficiência de informações relacionados a metodologia analítica e estudos envolvendo a parte toxicológica. O estudo trata de duas metodologias relativamente novas, a eletroforese capilar e o ensaio cometa, sendo os seus resultados considerados válidos e cada vez mais aceitos pelas agências regulatórias e pela comunidade científica.

Além do fato do Brasil não possuir informações detalhadas sobre a utilização desta substância é desconhecido os níveis de exposição a que estão sujeitos os trabalhadores de determinados setores específicos de produção.

## Referências

1. ABRANTES, S.; PHILLO, M.; DAMANT, A.P.; CASTLE, L. *Determination of Extractable in paper Food Packaging Materials Using Micellar Electrokinetic Chromatography*. **J. Microcolumn Separations**. 10(5):387-391 (1998).
2. BECKER, R.; BUGE, H.-G.; WIN, T. *Determination of pentachlorophenol (PCP) in waste wood-method comparison by a collaborative trial*. **Chemosphere** 47:1001-1006 (2002).
3. COMMUNITIES OF EUROPEAN, *Commission Synoptic Document n°7 Draft of provisional list of monomer and additives used in the manufacture of plastics materials and coating intended to come into contact with foodstuffs*, Brussels 301p. (document CS/PM/2356), (1994).
5. DOMEÑO, C.; MUNIZZA, G.; NERIN, C. *Development of a solid-phase microextraction method for direct determination of pentachlorophenol in paper and board samples: Comparison with conventional extraction method*. **J. Chromatography A** 1095:8-15 (2005).
6. JAÚREGUI, O.; MOYANO, E.; GALCERAN, M.T. *Capillary Electrophoresis ion-trap mass spectrometry for the separation of chlorophenols*. **J. of Chromatography A**, 896:125-133 (2000).
7. OZAKI, A.; YAMAGUCHI, Y.; FUJITA, T.; KURODA, K.; ENDO, G. *Chemical analysis and genotoxicological safety assessment of paper and paperboard used for food packaging*. **Food and Chemical Toxicology**, 42: 1323-1337 (2004).