UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia e Toxicologia

Avaliação da presença do 3-monocloro-1,2-propanediol e glicidol em óleos vegetais comestíveis utilizando GC/MS/MS e seu risco toxicológico

Renata Aparecida Cerqueira Tonelotto

Dissertação para obtenção do Título de
MESTRE

Orientadora: Prof[a]. Dr[a]. Elizabeth de Souza Nascimento

SÃO PAULO
2019

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

Programa de Pós-Graduação em Fisiopatologia e Toxicologia

Avaliação da presença do 3-monocloro-1,2-propanediol e glicidol em óleos vegetais comestíveis utilizando GC/MS/MS e seu risco toxicológico

Renata Aparecida Cerqueira Tonelotto

Versão corrigida da Dissertação conforme resolução CoPGr 6018
Original encontra-se disponível no Serviço de Pós-Graduação da FCF/USP

Dissertação para obtenção do grau de
MESTRE

Orientadora: Prof[a]. Dr[a]. Elizabeth de Souza Nascimento

SÃO PAULO

2019

RENATA APARECIDA CERQUEIRA TONELOTTO

Avaliação da presença do 3-monocloro-1,2-propanediol e Glicidol em óleos vegetais comestíveis utilizando GC/MS/MS e seu risco toxicológico

Comissão Julgadora

Da

Dissertação para obtenção do Título de Mestre

Professora Dra. Elizabeth de Souza Nascimento

Orientadora/Presidente

_____

Professora Dra. Silvia Berlanga de Moraes Barros

_____

Dra. Cristiana Leslie Corrêa

_____

Professor Dr. Igor Renato Bertoni Olivares

São Paulo, 06 de fevereiro de 2019.

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Ficha Catalográfica
Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

Bibliotecária responsável pela orientação de catalogação da publicação:
Marlene Aparecida Vieira - CRB - 8/5562

Tonelotto, Renata Aparecida Cerqueira
T664a Avaliação da presença do 3-monocloro-1,2-propanediol e glicidol em óleos vegetais comestíveis utilizando GC/MS/MS e seu risco toxicológico / Renata Aparecida Cerqueira Tonelotto -- São Paulo, 2018.
214p.

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo. Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas.
Orientador: Nascimento, Elizabeth de Souza

1. Contaminação de alimento : Toxicologia 2. Análise toxicológica 3. Espectrometria de massa : Análise : Toxicologia I. T. II. Nascimento, Elizabeth de Souza, orientador

615.954 CDD

RESUMO

TONELOTTO, R.A.C. Avaliação da presença do 3-monocloro-1,2-propanediol e glicidol em óleos vegetais comestíveis utilizando GC/MS/MS e seu risco toxicológico.2019.214f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo. 2019.

Cloropropanóis são um grupo conhecido de contaminantes relacionados ao processamento de alimentos. Eles são formados na reação entre lipídeos e cloretos quando submetidos ao tratamento térmico, e podem ser encontrados na forma livre ou ligada. O 3-monocloro-1,2-propanediol (3-MCPD), é classificado pela IARC como possível carcinógeno humano (grupo 2B). O glicidol (e seus ésteres), é classificado também pela IARC como uma substância provavelmente carcinogênica para seres humanos (grupo 2A), e, recentemente, vem sendo encontrado em alimentos. O objetivo deste trabalho foi avaliar a presença do 3-MCPD e do glicidol em óleos vegetais comestíveis utilizando a cromatografia gasosa com detector de massa triplo quadrupolo MS/MS. A técnica utilizada foi a preconizada pela AOCS Cd 29c-13, sendo uma análise indireta, e foi possível adaptá-la visando as determinações do 3-MCPD e glicidol através da construção de curvas de calibração e análises de amostras de referência. O método foi validado e os resultados indicaram o limite de detecção do composto 3-MCPD, de 42,4 µg/kg e o limite de quantificação de 50 µg/kg, e para o Glicidol indicaram o limite de detecção de 43,5 µg/kg e limite de quantificação de 50 µg/kg. Os resultados para 3-MCPD obtidos nos ensaios da curva de calibração e linearidade demonstraram que o método foi capaz de expressar resultados com boa linearidade (0 - 10 mg/kg , r^2, = 0.9991). Os resultados obtidos nos ensaios de exatidão obedeceram aos critérios de 70 a 120% de recuperação, e ±20% de variação entre os resultados de acordo com SANTE (2017). O método em questão demonstrou ser seletivo, uma vez que não foram observados picos interferentes nos tempos de retenção dos compostos estudados. Os ensaios de precisão nos níveis baixos, médio e alto e robustez demonstraram que o método é robusto e preciso, portanto a validação foi considerada adequada ao uso pretendido. Foram analisadas 368 amostras de óleos vegetais (76 amostras de óleo de canola, 48 amostras de óleo de milho, 69 amostras de óleo de algodão, 33 amostras de óleo de palma, 10 amostras de óleo de palmiste, 50 amostras de oleína de palma, 30 amostras de óleo de soja e 51 amostras de óleo de girassol). As concentrações das amostras analisadas apresentaram resultados para 3-MCPD com valores médios entre 203 a 1205 µg/kg. Para o Glicidol os valores foram de 2 a 1198 µg/kg, com elevado o desvio padrão entre os resultados analíticos, onde o óleo de palma apresentou a maior variação de 1600 a 5260 µg/kg. Através da avaliação do risco realizada para o composto 3-MCPD foi possível detectar, utilizando o critério do pior cenário de exposição e resultados analíticos, os valores diários de consumo de óleo de algodão de 0,044 µg/kg p.c., de óleo de girassol 0,045 µg/kg p.c., óleo de canola 0,18 µg/kg p.c., óleo de palma de 0,28 µg/p.c, óleo de milho de 0,0462 µg/kg p.c., e o óleo de soja, de maior consumo no Brasil (72%) apresentou o valor de 0,27 µg/kg p.c. O consumo de todos estes óleos, pela a população brasileira, pode ser considerado seguro ao comparar com o valor de TDI – Ingestão Diária Tolerável - de 2µg/kg p.c.. Através da avaliação do risco realizada também utilizando o critério de pior cenário de exposição e e resultados analíticos para o composto glicidol foi possível verificar que os valores diários de consumo de óleo de algodão de 0,061 µg/kg p.c., de óleo de girassol 0,03 µg/kg p.c., óleo de canola 0,13 µg/kg p.c. e de óleo de palma de 0,57 µg/p.c, de óleo de milho de 0,11 µg/kg p.c, e o óleo de soja de maior consumo no Brasil (72%) não ultrapassam o valor de 0,288 µg/kg p.c indicando consumo seguro destes óleos para a população brasileira baseado na TDI de 1000µg/kg p.c.

Palavras-chave: Contaminantes em óleo, 3-MCPD, Glicidol, GC/MS/MS, Espectrometria de Massas, Avaliação do Risco

ABSTRACT

TONELOTTO, R.A.C. **Evaluation of the presence of 3-monochloro-1,2-propanediol and glycidol in edible vegetable oils using GC/MS/MS and its toxicological risk**.2018.214f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo. 2018.

Chloropropanols are a known group of contaminants related to food processing. They are formed during the reaction process between lipids and chlorides when submitted to heat treatment and can be found in free or bound form. The 3-monochloro-1,2-propanediol (3-MCPD), is classified by IARC as a possible human carcinogen (group 2B). Glycidol (and its esters), also classified by IARC as a substance likely to be carcinogenic to humans (group 2A), has recently been found in food. The present study aims to evaluate the presence of 3-MCPD and glycidol in edible vegetable oils using gas chromatography with triple quadrupole MS/MS mass detector. The technique applied is recommended by AOCS, guide Cd 29c-13, an indirect analysis, and allows quantification of 3-MCPD and glycidol by building the calibration curves and analysis of reference samples. The method was validated and the detection limit of the contaminant 3-MCPD of 42,4 µg/kg and the quantification limit of 50 µg/kg was established. For Glycidol the detection limit of was 43,5 µg/kg and quantification limit was 50 µg/kg. The results obtained in the calibration and linearity curves demonstrated that the method could express results with good linearity (0 – 10 mg/kg, r^2, = 0.9991). The results obtained in the trueness trials agreed to the criteria of 70 to 120% of recovery, and ± 20% of variation between the results according to what is preconized by SANTE (2017). The method showed to be selective, since no interfering peaks were observed in the retention times of the studied compounds. The tests performed on low, medium and high values demonstrated the robustness and precision of the method, so the validation was considered completed and suitable for the purpose. A total of 368 vegetable oil samples were analyzed (76 samples of canola oil, 48 samples of corn oil, 69 samples of cottonseed oil, 33 samples of palm oil, 10 samples of kern palm oil, 50 samples of palm olein, 30 samples of soybean oil and 51 samples of sunflower oil). The results found in samples for 3-MCPD were within mean values between 203 and 1205 µg/kg. The results found in samples for glycidol were within mean values between 2 to 1198 µg/kg where palm oil presented the highest variation for glycidol from 1600 to 5260 µg/kg. Through the risk assessment for the contaminant 3-MCPD it was possible to detect the values based on exposed worst case scenario and analytical results. The results for cottom oil were 0,044 µg/kg bw, sunflower 0,045 µg/kg bw, canola 0,18 µg/kg bw and palm oil 0,28 µg/kg bw, corn oil 0,0462 µg/kg bw, and for soybean, which is the most consumed oil in Brazil (72%) the value of 0,27 µg/kg bw. These results indicates safe consumption for these oils based in the Theoretical Daily Ingestion - TDI of 2µg/kg bw. The risk assessment for the glycidol based on exposure worst case scenario and analytical results presented for cottom oil the value of 0,061 µg/kg bw, sunflower 0,03 µg/kg bw, canola oil 0,13 µg/kg bw , palm oil 0,57 µg/kg bw, corn oil 0,11 µg/kg bw and for soybean, which is the most consumed in Brazil - 72% the value of 0,27 µg/kg bw. These results indicates safe consumption for these oils based in the TDI of 1000µg/kg bw.

Key Words: Contaminants in oil, 3-MCPD, Glycidol, GC / MS / MS, Mass Spectrometry, Risk Assessment

A persistência é o menor caminho do êxito”.

Charles Chaplin

À Deus,

pela minha vida e pela oportunidade de alcançar a conquista.

Ao meu marido,

Eduardo

pelo nosso amor, sua compreensão e por estar sempre me apoiando, um grande parceiro.

Aos meus filhos,

Carol e Miguel

por serem minhas inspirações e grandes paixões.

Aos meus pais,

Odete e Sérgio

pela minha vida

AGRADECIMENTOS

À Deus por ter tido a oportunidade de concluir esta etapa importante da minha vida. Sempre quis muito estudar e ter a oportunidade de estudar em uma das melhores universidades do país é para mim um grande privilégio.

Ao meu marido, Eduardo, que é o meu grande amor, minha fortaleza para continuar nas dificuldades e o meu grande parceiro nesta jornada. A minha fonte de força para que eu não desistisse nas dificuldades. A quem eu entrego todo o meu amor e confiança.

Aos meus filhos, Carolina e Miguel, pela paciência e compreensão por todas as ausências e os momentos em que foram a minha inspiração para entender que é preciso buscar sempre um futuro melhor.

Aos meus pais, Odete e Sérgio, pelo dom da vida, por sempre mostrar o valor do trabalho e dedicação.

À Profa. Dra. Elizabeth de Souza Nascimento, minha orientadora, por ter acreditado em mim nos momentos mais difíceis, me estimulou a não desistir e confiar em mim mesma. Obrigada pelo conhecimento, paciência e ter me ensinado que há pessoas com o dom de ensinar e verdadeiro amor a profissão. Tornou-se para mim um exemplo não só profissional mas também exemplo de humanidade, sou eternamente grata por ter me aceitado como orientada.

Obrigada a empresa e minha diretora pela oportunidade a mim cedida de cursar um mestrado e ter dado o suporte necessário. Também agradeço a todos os colegas de trabalho pelas contribuições.

Obrigada a Laura Brisighelo Valério pela oportunidade de dividir o seu conhecimento e parceria durante momentos difíceis.

A todos os professores com quem tive o privilégio de aprender durante o mestrado, assim como todos os funcionários e alunos da Universidade de São Paulo que proporcionaram que eu concluísse as etapas do programa.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURAS **PÁG.**

1 Ilustração da interconversão entre 3-MCPD e 2-MCPD..... 4

2 Resumo dos mecanismos propostos para a formação de ésteres de 3-MCPD..... 5

3 Estruturas químicas de cloropropanóis e de seus ésteres..... 7

4 Ilustração do processo esquemático do refino químico do óleo vegetal comestível..... 8

5 Formação dos Ésteres de 3-MCPD e ésteres de Glicidil em óleo de palma no processo de desodorização em diferentes tempos e temperaturas, nas concentrações em mg/kg..... 9

6 Métodos alternativos de derivatização do dioxolano utilizando acetona, PBA e HFBI..... 11

7 Esquema Analítico do Método Indireto para análise simultânea de 3-MCPD e GE..... 13

8 Cromatograma dos isomêros MBPD (detectados como derivativo do PBA) resultando da transformação de 1 mg/mL glicidol..... 15

9 Ilustração das Etapas da Análises de Risco…….. 18

10 Biotransformação do 3-MCPD..... 29

11 Marcha Analítica para análise do composto 3-MCPD e Glicidol..... 46

12 Ilustração Gráfica do Teste F..... 52

13 Curva de calibração relativa aos teores com variação de 0 – 10 mg kg^{-1} do padrão 1,2-bis-palmitoester-3-MCPD..... 56

14 Análise de resíduos obtidos através da curva de calibração..... 57

15 Ilustração cromatográfica do óleo de girassol bruto nos tempos de retenção 11.2 min. ± 0,3 min..... 63

16 Ilustração da distribuição do percentual de resultados analíticos do 3-MCPD e Glicidol..... 67

17 Ilustração dos Resultados Médios (µg/kg) de 3-MCPD obtidos das 368 amostras analisadas..... 68

18 Ilustração dos Resultados Médios de Glicidol (µg/kg) obtidos das 368 amostras analisadas..... 69

19 Ilustração de Valores Mínimos e Máximos do 3-MCPD..... 69

20 Ilustração de Valores Mínimos e Máximos do Glicidol..... 70

21 Percentual da TDI para avaliação de risco do 3-MCPD..... 75

22 Percentual da TDI para avaliação de risco do Glicidol..... 77

LISTA DE TABELAS

TABELAS		PÁG.
1	Íons carateristicos do dioxolano/dioxano derivatizados 3-MCPD e 3-MCPD$_{d5}$.....	12
2	Regulamentação Europeia 2018/290 para alimentos.....	16
3	Diretrizes para uso dos fatores de incerteza utilizados na avaliação de risco.....	21
4	Aquisição alimentar domiciliar para óleos *per capita* anual, por Grandes Regiões.....	39
5	Consumo alimentar médio per capita e percentual de consumo fora do domicílio em relação ao total consumido, por sexo, segundo os alimentos período 2008-2009.....	39
6	Quadro Típico para Plano de Ensaio.....	51
7	Valores obtidos durante a avaliação do Limite de Detecção e Quantificação para 3-MCPD e Glicidol.....	52
8	Resultados analíticos da concentração de padrão 1,2-bis-palmitoester-3-MCPD na concentração de 50 µg/kg.	54
9	Resultados analíticos da concentração de padrão glicidil estearato na concentração de 50 µg kg.	54
10	Curva de calibração dos níveis 0,05, 0,1, 0,3, 0,5, 1,0 e 2,0, 4,0, 5,0 e 10 mg/kg do padrão 1,2-bis-palmitoester-3-MCPD.....	56
11	Ensaio de Precisão nas concentrações 0.05, 1.0 e 5.0 mg/kg para 3-MCPD.....	57
12	Ensaio da Repetibilidade e Reprodutividade Intermediária para 3-MCPD.....	58
13	Taxa de Recuperação da fortificação com 0.05 e 5.0 mg/kg de Glicidol.....	59
14	Ensaio de Precisão do composto Glicidol.....	59
15	Resultado da Exatidão do método utilizado, para as concentrações 0.05 mg/kg, 1.0 mg/kg e 5.0 mg/kg para 3-MCPD.....	60
16	Resultados obtidos da Exatidão do Composto Glicidol.....	61
17	Análise do Padrão de Referência FAPAS, com valor conhecido de 3-MCPD na faixa de 1,13 – 2,09 mg/kg, realizado em 2 dias consecutivos em 6 replicatas.....	61
18	Resultados das análises do Padrão de Referência FAPAS para glicidol, realizadas em 2 dias consecutivos, em 6 replicatas.....	62

19 Ensaios de Recuperação das matrizes óleo de algodão, óleo de canola, óleo de girassol, óleo de milho, óleo de palma, óleo de soja e solvente fortificado com padrão 1,2-dipalmitato-3-MCPD-d5..... 63

20 Resultados analíticos da robustez, para o composto 3-MCPD..... 64

21 Teste ANOVA utilizado nos ensaios de robustez para o composto 3-MCPD..... 65

22 Limites Analíticos do 3-MCPD e Glicidol nas amostras de óleos vegetais analisados em(µg/kg)..... 66

23 Percentual de Distribuição dos Resultados Analíticos do 3-MCPD e Glicidol nas amostras de óleos vegetais analisados em(µg/kg)..... 67

24 Média de consumo dos alimentos considerando a avaliação de exposição baseadas na Pesquisa de Orçamento Familiar..... 73

25 Valores Estimados de Ingestão obtidos através de resultados Analíticos para 3-MCPD..... 74

26 Valores Estimados de Ingestão obtidos através de resultados Analíticos para Glicidol..... 76

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

3-MCPD	3-monocloropropanodiol
2-MCPD	2-monocloropropano-1,3-diol
2,3-DCP	2,3-dicloropropan-1-ol
1,3DCP	1,3-dicloropropan-2-ol
ABNT	Associação Brasileira de Normas Técnicas
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
AOCS	American Oil Chemists Society
AOEL	Acceptable Operator Exposure Levels
AE	Afinidade eletrônica
AP	Afinidade protônica
ATSDR	Agência de Substância Tóxicas e Registro de Doenças
AUC	Area under the curve
Bw	Body weight
BMD	Benchmark Dose
BMDL10	Benchmark Dose 10
BMR	Benchmark response
BSTFA	N,O-bis(trimetilsilil) trifluoroacetamida
CAS	Chemistry Abstract Service
CG	Cromatografia Gasosa
GC-ECD	Cromatrografia Gasosaa acoplada à detecção de captura de elétrons
CG-EM ou GC-MS	Cromatografia Gasosa acoplada à espectrometria de massas
CG-EM-EM ou GC-MS/MS	Cromatografia Gasosa com detecção por espectrometria de massas acoplada à espectrometria de massas
DAGs	Diacilgliceróis
DCPs	Dicloropropanóis
dc	Corrente contínua

DPR	Desvio Padrão Relativo
EI	Ionização por elétrons
EINECS	Inventário Europeu das Substâncias Químicas Existentes
EM	Espectrometria de Massas
EM1	Primeiro estágio de espectrometria de massas na espectrometria de massas acoplada à espectrometria de massas
EM2	Segundo estágio de espectrometria de massas na espectrometria de massas acoplada à espectrometria de massas EM-EM espectrometria de massas acoplada à espectrometria de massas
EPA	Agência Proteção Ambiental
EURACHEM	Rede europeia de organizações engajadas na rastreabilidade em química analítica
FAO	Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura
FAMEs	Ésteres metílicos de ácidos graxos
FAPAS	Provedor Mundial de Materiais de Referência e Testes de Proficiência
FFA	Ácido Graxo Livre
GE	Glicidol ou Éster de Glicidil
Gl	Grau de liberdade
HFB	Heptafluorobutíricos
HFBA	Heptafluorobutirico anidro
HFBI	Heptafluorobutirilimidazol
IDA	Ingestão Diária Aceitável
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia
IPCS	International Programme on Chemical Safety
IQ	ionização química
IARC	Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer
IS	Padrão Interno
JTR	Janela de tempo de retenção
JRC	Joint Research Centre

JECFA	Joint FAO/WHO Expert Commitee on Food Additives
JMPR	Joint FAO/WHO Meeting on Pesticide Residue
LD	Limite de detecção
LD50	Dose Letal Média
LMR	Limite Máximo de Resíduo
LQ	Limite de quantificação
LOAEL	Menor dose para a qual se observou este efeito
m/z	Razão entre a massa e a carga de um íon
MAGs	Monoacilgliceróis
MCPD	Monocloropropanodiol
MIS	Monitoramento dos íons selecionados
MOE	Margin of Exposure
MQ	Média Quadrática
MRM	Monitoramento de reações múltiplas
MRL	Maximum Residue Limit
MRLs	Minimal Risk Levels
MSR	Monitoramento seletivo de reações
NCI	Negative Chemical Ionization
NIOSH	Instituto Nacional de Segurança e Saúde Ocupacional dos Estados Unidos
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
NOAEL	Dose onde não se observa efeito adverso
PAH	Hidrocarboneto Policíclico aromático
PBA	Ácido fenilborônico
PCB	Bifenila policlorada
PEL	limites permissíveis de exposição
PI	Potencial de ionização
PMTDI	Valor da ingestão diária máxima tolerável provisória

POF	Pesquisa de Orçamento Familiar
PVH	Proteína vegetal hidrolisada
QuEchERS	Método utilizado do inglês Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged, Safe.
SANTE	Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed
SIM	Seleção de íon monitorada
STD	Padrão
SPE	Extração fase sólida
SQ	Soma dos quadrados
Q-ATV	Instrumento em que o último estágio de um triplo quadrupolo é substituído por um analisador de tempo de voo
Rf	Radiofrequência
TDI	Ingestão diária tolerável
TAGs	Triacilgliceróis
TLV	Threshold Limit Value
TOF	Tempo de voo
Valor P =	Valor conclusivo se a recuperação diferente significativamente do 100% (p <0,05), com um nível de confiança de 95%
WHO	World Health Organization

SUMÁRIO

	Descrição	Pág.
1.	INTRODUÇÃO	1
2.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1	Cloropropanóis e seus ésteres	3
2.2	Cloropropanóis e seus ésteres em óleos	7
2.3	Análise Indireta do 3-MCPD e glicidol	9
2.4	Regulamentação Alimentar	15
2.5	Avaliação de Risco de compostos em alimentos	16
2.5.1	Identificação do Perigo	19
2.5.2	Avaliação da relação Dose Resposta	19
2.5.3	Avaliação da Exposição	22
2.5.4	Caracterização do Risco	24
2.5.5	Comunicação e Gerenciamento do Risco	24
2.6	Identificação e Dados Toxicológicos do 3-MCPD e Glicidol	24
2.6.1	Propriedades Físicas	24
2.6.2	Propriedades Químicas	25
2.6.3	Toxicocinética do 3-MCPD e seus ésteres	26
2.6.4	Biotransformação	26
2.6.5	Dados Toxicológicos do composto 3-MCPD	30
2.6.6	Toxicocinética do Glicidol e ésteres	32
2.6.7	Dados Toxicológicos do composto Glicidol	34
2.6.8	Cenário Internacional da exposição ao 3-MCPD e glicidol	34
2.6.9	Cenário Brasileiro da exposição ao 3-MCPD e Glicidol	37
2.6.10	Consumo de Óleos no Brasil baseado na Pesquisa de Orçamento Familiar	38
2.6.11	Avaliação da Exposição	40

3. OBJETIVOS..... 42
3.1 Geral..... 42
3.2 Específicos..... 42
4. MATERIAIS E MÉTODOS..... 43
4.1 Amostras..... 43
4.2 Reagentes e Padrões..... 43
4.3 Preparo de Amostras..... 45
4.4 Análise das Amostras..... 47
4.5 Validação do Método..... 47
4.5.1 Limite de Detecção (LD)..... 48
4.5.2 Limite de Quantificação (LQ)..... 48
4.5.3 Linearidade..... 48
4.5.4 Curva de Calibração..... 49
4.5.5 Precisão do Método Analítico..... 49
4.5.6 Exatidão..... 50
4.5.7 Seletividade..... 50
4.5.8 Robustez..... 51
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES..... 53
5.1 Validação do Método..... 53
5.1.1 Limite de Detecção e Quantificação..... 53
5.1.2 Linearidade e Curva de Calibração..... 55
5.1.3 Precisão..... 57
5.1.4 Exatidão..... 60
5.1.5 Seletividade..... 62
5.1.6 Robustez..... 64

5.2 Resultados Analíticos para 3-MCPD e Glicidol..... 65

5.3 Avaliação de Risco para 3-MCPD e Glicidol..... 72

6 CONCLUSÕES..... 79

7 RECOMENDAÇÕES..... 80

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... 81

9 ANEXOS..... 100

9.1 Resultados analíticos de 3-MCPD e Glicidol das amostras analisados contendo data de produção, rastreabilidade, ordem carregamento e tipo de matriz …… 100

9.2 Configuração do Método de Aquisição …….. 136

9.3 Cromatogramas da Validação do Método……..……. 137

1. INTRODUÇÃO

A formação de compostos tóxicos durante o processamento de alimentos é considerada uma importante questão em relação à segurança de alimentos. Estes compostos, que não são detectados na matéria-prima, podem ser formados por reações químicas, entre substâncias naturalmente presentes e/ou adicionadas aos alimentos, durante o processamento envolvendo a utilização de altas temperaturas, fermentação, hidrólise e defumação, entre outros. A grande preocupação associada à ocorrência de tais contaminantes na dieta se justifica pelos riscos que eles podem causar à saúde do consumidor, uma vez que muitos deles são considerados possíveis ou prováveis agentes carcinógenos em seres humanos (Lineback, 2009).

Embora a exposição humana a estas substâncias venha ocorrendo há várias gerações, a detecção em alimentos foi identificada somente em meados de 1960. Alguns exemplos incluem a identificação de n-nitrosaminas em peixes e carnes curadas, de aminas heterocíclicas em carnes e peixes grelhados e de cloropropanóis, entre eles o 3-monocloropropano-1,2-diol (3-MCPD), em proteína vegetal hidrolisada (Davídek, et. al., 1980). A partir do início do segundo milênio, esta classe de contaminantes recebeu uma atenção ainda maior, devido à descoberta da formação de acrilamida e furano durante o tratamento térmico de uma grande variedade de alimentos que são regularmente consumidos (Tarake, et. al., 2002). Além disso, o interesse por este tipo de substância eventualmente tóxica passou a ser ainda maior após a detecção de altos níveis de 3-MCPD ligado a ácidos graxos (ésteres de 3-MCPD) em diversos alimentos processados (Svejkovská, et. al., 2004).

Assim, a presença de ésteres de 3-MCPD em alimentos levantou uma preocupação imediata na comunidade científica mundial devido à possibilidade destes compostos representarem uma fonte adicional de exposição, até então desconhecida, caso fossem hidrolisados pelas enzimas do sistema digestório humano. Esta preocupação justifica-se pelo fato de que o 3-MCPD ter mostrado propriedades nefrotóxicas, bem como, capacidade de afetar a fertilidade e induzir câncer em animais de experimentação (IARC, 2012). Em um estudo preliminar realizado na Alemanha, considerando-se os níveis de ésteres de 3-MCPD encontrados em alimentos e assumindo que 100% destes ésteres são hidrolisados durante a digestão, foi possível verificar que a exposição da população adulta aos ésteres de ácidos graxos de 3-monocloropropano-1,2-diol através do consumo de gorduras comestíveis e alimentos gordurosos, e assumindo o valor de TDI de 2 µg/kg peso corpóreo (p.c.) de 3-MCPD, é excedido em adultos com alto consumo de óleos vegetais refinados. No caso de fórmulas infantis, isto se aplica em particular para população infantil que ingere alimentos formulados, uma vez que o conceito TDI também é aplicado a crianças, embora não aos primeiros meses de vida infantil (BfR, 2007).

O 3-MCPD foi classificado pela Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC) como possível carcinógeno humano (grupo 2B) (IARC, 2012).

Em relação ao composto 2-MCPD há ainda poucos dados toxicológicos disponíveis e tampouco limites regulatórios estabelecidos vigentes. Não foram evidenciados dados de avaliação de exposição para o composto 2-MCPD, e por esta razão este composto não foi considerado como objeto de estudo no presente trabalho.

O glicidol foi classificado também pela IARC como uma substância provavelmente carcinogênica para seres humanos (grupo 2A), (IARC, 2000). Além disso, o glicidol pode se ligar covalentemente às macromoléculas celulares (exemplo DNA e hemoglobina) em virtude da natureza eletrofílica do anel epóxido. A ligação da molécula de glicidol com DNA pode resultar em genotoxicidade e mutações.

Desta forma o propósito deste trabalho foi realizar o estudo da presença dos contaminantes 3-monocloropropano-1,2-diol e Glicidol nos óleos vegetais comestíveis bem como a avaliação do risco químico nestas comodities, uma vez que há um aumento significativo de consumo de alimentos gordurosos, devido às mudanças nos hábitos alimentares da população brasileira.

No Brasil ainda há poucos estudos que abordem a avaliação do risco dos contaminantes 3-monocloropropano-1,2-diol e Glicidol.

2.REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Cloropropanóis e seus ésteres

O termo cloropropanóis é utilizado para definir um grupo de contaminantes químicos derivados do glicerol, caracterizados estruturalmente por álcoois e dióis de três carbonos ligados a um ou dois átomos de cloro. Em meados de 1980 30 diferentes compostos, entre eles monocloropropanodióis (MCPDs) e dicloropropanóis (DCPs), foram identificados como contaminantes de proteína vegetal hidrolisada por ácido clorídrico (PVH ácida) (Velisek, et. al, 1980).

Nestes estudos, observou-se que o 3-MCPD era o cloropropanol encontrado em maior abundância, seguido pelo 2-monocloropropano-1,3-diol (2-MCPD), 2,3-dicloropropan-1-ol (2,3-DCP) e 1,3-dicloropropan-2-ol (1,3 DCP), em concentrações relativas de 10, 1 e 0,1%, respectivamente. Posteriormente, foi observado que o 2,3-DCP e o 3-MCPD são encontrados como misturas racêmicas de seus (R)- e (S)-enantiômeros (Velisek, et. al, 2002).

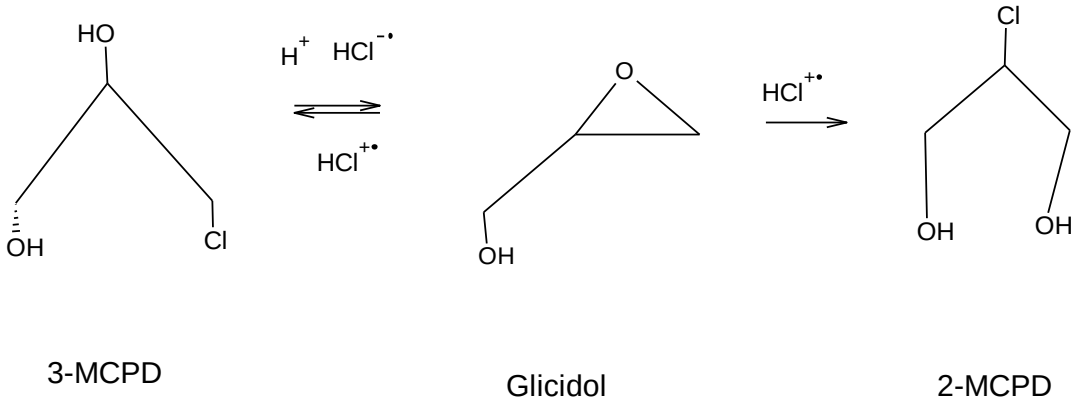
Os ésteres de cloropropanóis correspondem a estruturas de cloropropanóis nas quais grupos hidroxilas estão esterificados com ácidos graxos. Similarmente aos cloropropanóis, seus ésteres podem ser classificados em ésteres de MCPD e ésteres de DCP, dependendo do número de átomos de cloro da molécula. Ésteres de MCPD podem ser divididos em ésteres de 3-MCPD e ésteres de 2-MCPD, enquanto que ésteres de DCP podem ser divididos em ésteres de 2,3-DCP e ésteres de 1,3-DCP, de acordo com a posição do cloro na molécula. Ésteres de 3-MCPD e de 2-MCPD podem ainda ser subdivididos em monoésteres e diésteres, dependendo do grau de esterificação dos grupos hidroxilas da molécula (parcial ou total). No caso dos monoésteres de 3-MCPD, estes ainda podem ser separados em 1- e 2-monoésteres de 3-MCPD, conforme a posição da cadeia de ácido graxo (Seefelder, et. al, 2011).

Desta forma, a formação de ésteres de ácidos graxos ocorre normalmente em óleos vegetais comestíveis. A maioria dos ácidos esterificaveis depende do tipo de óleo, porém, os mais comuns são: ácido laurico (ácido dodecanóico C12:0), ácido mirístico (ácido tetradecanóico C14:0), ácido palmítico (ácido hexadecanóico C16:0), ácido esteárico (ácido octadecanóico C18:0), ácido oleico (ácido octadecenóico C18:1), ácido linoleico (ácido octadecadienóico C18:2) e ácido linolênico (ácido octadecatrienóico C18:3). 3-MCPD e 2-MCPD podem formar monoésteres e diésteres, e isômeros diésteres posicionais podem estar presentes em cada grupo hidroxila esterificado com ácidos diferentes. Estes ésteres são formados em proporção similar aos de ácidos do óleo, embora alguns fatores como as condições de volatilitade e desodorização podem causar pequenas diferenças.

Na produção de alimentos, os cloropropanóis são formados pela reação endógena ou adição de cloreto com glicerol ou acilgliceróis, embora o mecanismo preciso ainda não tenha sido completamente elucidado. O mecanismo para formação do 3-MCPD e 2-MCPD envolve a formação do íon intermediário do aciloxônio cíclico (Collier et. al., 1991; Hamlet et. al., 2003, 2004b). O ataque nucleofílico direto pode ocorrer nas posições sn-1 e sn-3, a depender do impedimento estérico dos átomos de carbono na molécula, deslocando um grupo éster ou um grupo hidroxila e formando ésteres de 1- ou 3-MCPD. Em meio aquoso, a reação deve proceder mais rapidamente a partir de diacilgliceróis (DAGs) e monoacilgliceróis (MAGs) na presença de ácido, deslocando preferencialmente um grupo hidroxila. Estudos conduzidos por Svejkovská e et. al. (2006), observaram a substituição nucleofílica direta de 1-monopalmitina no grupo hidroxila (100 °C, 30 minutos), sendo que as maiores concentrações de ésteres de 3-MCPD foram obtidas a partir deste MAGs, seguido por 1,3-dipalmitina e tripalmitina.

Evidências do envolvimento de um íon aciloxônio na reação foram inicialmente levantadas por Collier e et. al., em 1991. Em meio aquoso, na presença de ácido, foi demonstrado que íons aciloxônios eram formados a partir de diacilgliceróis originados após a hidrólise de triacilgliceróis (TAGs). Entretanto, Rahn e Yaylayan, em 2011 mostraram, por espectroscopia em infravermelho por transformada de Fourier, que íons aciloxônios podem ser formados em meio não aquoso diretamente a partir de MAGs, DAGs e TAGs, através de ataque nucleofílico interno da carbonila do grupo éster. O deslocamento do grupo éster (no caso de DAGs e TAGs) levaria à formação de um íon aciloxônio que posteriormente poderia ser convertido em diésteres de 2- e 3-MCPD, enquanto que o deslocamento do grupo hidroxila (no caso de DAGs e MAGs) levaria à formação de um íon aciloxônio que posteriormente poderia gerar monoésteres de 2- e 3-MCPD. A figura 1 ilustra a interconversão entre 3-MCPD e 2-MCPD.

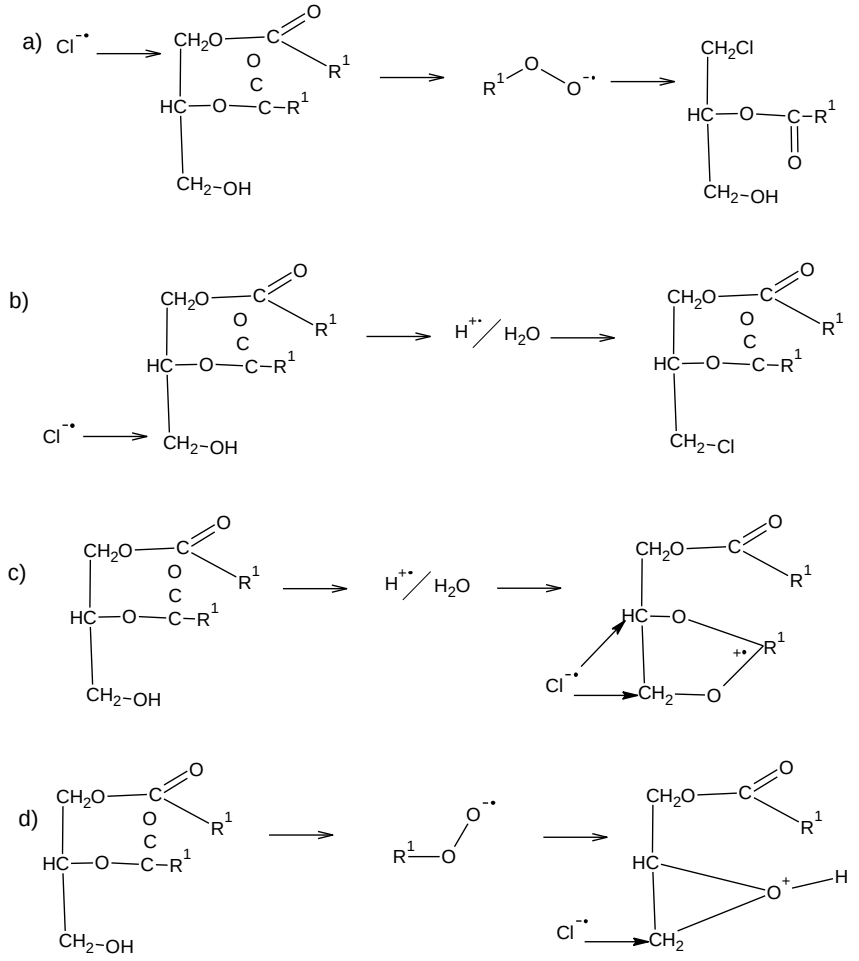
Figura 1: Ilustração da interconversão entre 3-MCPD e 2-MCPD



Fonte: Rahn e Yaylayan, 2011

O 3-MCPD é formado pela substituição direta do grupo hidroxila do glicerol pelo íon cloreto. Sob condições altas de temperatura na presença de água, o triacilglicerol é hidrolisado para resultar na mistura de isômeros de DAG (1,2-diacil- and 1,3-acilglicerol). A hidrólise adicional resulta em mistura de isômeros monoacilglicerol (1-acilglicerol e 2-acilglicerol). Os acilgliceróis reagem através de mecanismos que induzem a formação, via cátion, do intermediário aciloxônio envolvendo uma substituição do anel aberto nucleofílico por um ânion cloreto, ou substituição direta nucleofílica de um ester ou grupo hidroxila pelo ânion cloreto. Alternativamente, um radical aciloxônio cíclico formado da eliminação da água à alta temperatura pode reagir com o radical cloreto. A formação do estér de MCPD é acelerada por altas temperaturas, mas a proporção de decomposição também aumenta (Svejkovska et. al., 2006; Seefelder et. al., 2008). De acordo com Rahn e Yaylayan, 2011 quatro mecanismos podem ser propostos para explicar a formação destes compostos. Dois deles envolvem o ataque nucleofílico direto dos átomos de carbono da estrutura do glicerol na molécula dos acilgliceróis pelo íon cloreto, enquanto os outros dois envolvem a formação de compostos reativos intermediários a partir dos acilgliceróis, como um íon aciloxônio ou um epóxido, antes do ataque nucleofílico pelo íon cloreto. A figura 2 ilustra um esquema resumido dos mecanismos propostos para formação dos ésteres de 3-MCPD.

Figura 2: Resumo dos mecanismos propostos para a formação de ésteres de 3-MCPD



a: ataque nucleofílico direto na posição sn-1;

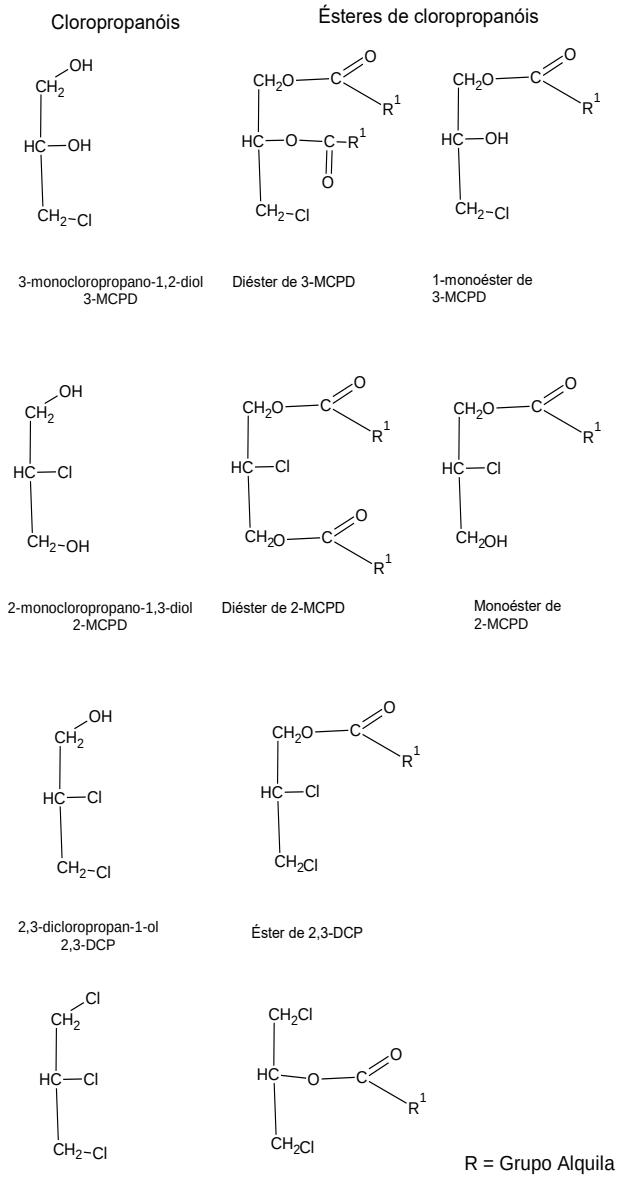
b: ataque nucleofílico direto na posição sn-3;

c: ataque nucleofílico do íon aciloxônio; d: ataque nucleofílico do epóxido.

Fonte: Rahn & Yaylayan, 2011

A formação de ésteres de 3-MCPD por meio de epóxidos foi demonstrada a partir de ésteres de glicidol. Nesse caso, a substituição nucleofílica pelo íon cloreto pode ocorrer no carbono estericamente menos impedido provocando a abertura do anel do epóxido para formar exclusivamente 1-monoésteres de 3-MCPD. MAGs e DAGs são considerados os principais precursores dos ésteres de glicidol, sendo estes últimos originados por ataque nucleofílico interno de DAGs ou a partir do íon aciloxônio gerado pelo deslocamento do grupo hidroxila (Rahn & Yaylayan, 2011). As estruturas químicas de cloropropanóis e de seus ésteres são apresentadas na figura 3.

Figura 3: Estruturas químicas de cloropropanóis e de seus ésteres.



Fonte: Seefelder, W. et. al 2011

2.2. Cloropropanóis e seus ésteres em óleos

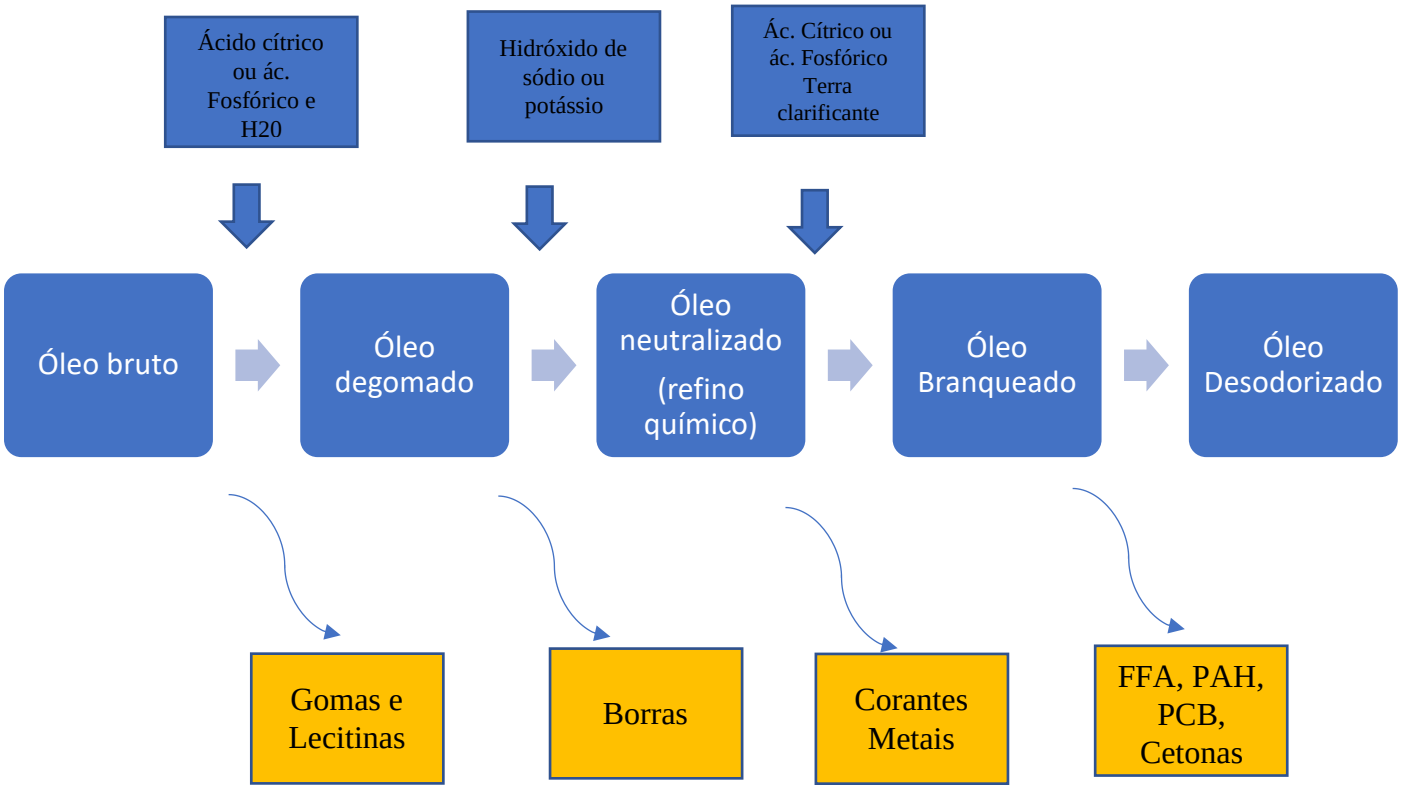
Em alimentos processados, a formação de ésteres de 3-MCPD deve ocorrer pela reação entre lipídeos e cloreto de sódio, assim como observado para a forma livre do composto (Crews et. al., 2003). Estudos realizados por Svejkovská, 2006 utilizando sistemas modelos aquecidos a 100 °C durante 30 minutos mostraram que a formação de ésteres de 3-MCPD foi diretamente proporcional à concentração de lipídeos e de sal, sendo que as maiores concentrações foram verificadas nos experimentos contendo 20% de água. Os autores observaram também que o aumento da temperatura de 100 a 230 °C provocou, simultaneamente, a formação e a decomposição dos compostos, e que altas temperaturas associadas a longos tempos de aquecimento resultaram nas maiores concentrações de ésteres. Em óleos, a formação de ésteres

de 3-MCPD tem sido associada à etapa de refino (Pudel et.al, 2011) que tem como objetivo a remoção de impurezas como ácidos graxos livres, fosfolipídeos, produtos de oxidação e pigmentos, entre outros, as quais poderiam afetar a qualidade do produto final. Esse processo pode ser feito:

- fisicamente, no qual os compostos indesejáveis são removidos por destilação através de um processo baseado na grande diferença de volatilidade entre os ácidos graxos livres e o óleo neutro (Sampaio et. al.2011);
- quimicamente, em que os ácidos graxos livres são neutralizados por uma base (soda cáustica) dando origem a um sabão que é removido por separação de fase. (Pudel et. al, 2011).

Na figura 4 é ilustrado o processo esquemático do refino químico do óleo vegetal comestível

Figura 4: Ilustração do processo esquemático do refino químico do óleo vegetal comestível



Fonte: Adaptado de Pudel, et. al. 2011

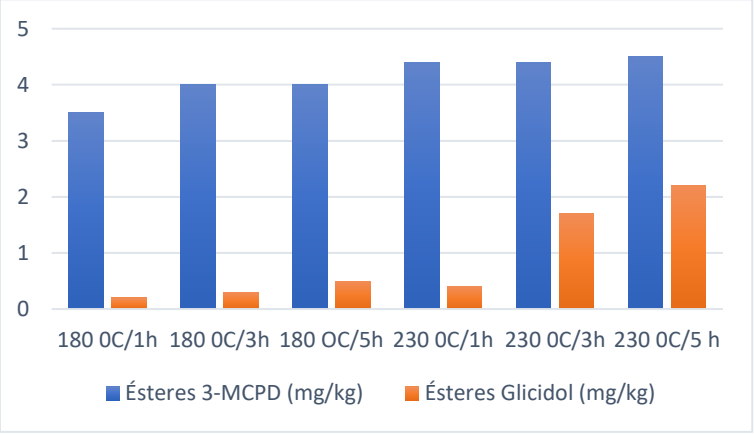
O refino físico é geralmente aplicado a óleos com elevada acidez, como o óleo de palma, nos quais o refino químico poderia ocasionar grandes perdas de óleo neutro (Shahidi, 2005). Em algumas regiões brasileiras, como na Bahia, o óleo de palma (ou óleo de dendê, como é conhecido no país), também é consumido na sua forma bruta, ou seja, sem passar pelo processo de refino.

O óleo bruto contém elevadas concentrações de vitamina A, a qual desempenha um papel de extrema importância durante o desenvolvimento fetal (Sampaio et. al. 2013).

A formação dos ésteres de 3-MCPD durante o refino ocorre na etapa de desodorização, onde temperaturas acima de 200 °C são utilizadas. Há demonstração que o tipo de refino (químico ou físico) e as condições utilizadas (tempo e temperatura) parecem não exercer influência significativa nos níveis finais dos compostos (Hrncirik, K. et.al.2011).

Em alimentos fritos ou ricos em gordura, a presença de ésteres de 3-MCPD tem sido atribuída ao uso do óleo contaminado no processo de fritura ou na formulação dos produtos (Weißhaar, et.al. 2008), embora, a formação intrínseca também pode ser significativa em alimentos que contêm precursores potenciais de ésteres de 3-MCPD e que são submetidos a altas temperaturas durante seu processamento (Hamlet, et.al.2011). Na figura 5 é ilustrado a formação dos ésteres de 3-MCPD e ésteres de glicidil em óleo de palma no processo de desodorização em diferentes tempos e temperaturas, nas concentrações em mg/kg.

Figura 5: Formação dos ésteres de 3-MCPD e ésteres de Glicidil em óleo de palma no processo de desodorização em diferentes tempos e temperaturas, nas concentrações em mg/kg



Fonte: Adaptado Hrncirik, 2011

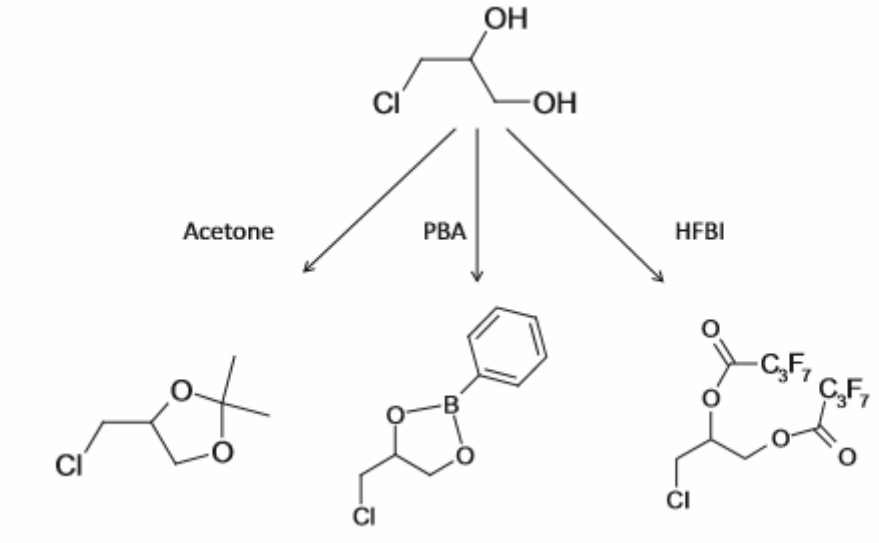
2.3 Análise Indireta do 3-MCPD e glicidol

O método para análise do 3- e 2-MCPD livre foi inicialmente identificado na PVH ácida e posteriormente em alimentos contaminados (exemplos: molho de soja, carne e peixe processados e cereais assados). Mais recentemente, foram incluídos os métodos indiretos para éster ligado de 3-MCPD. As descrições dos métodos foram incluidas em várias publicações, tais como as

elaboradas por Wenzl et. al. (2007), Hamlet e Sadd (2009) e Teng e Wang (2015). Os métodos se baseiam no uso da cromatografia gasosa com detecção e quantificação por espectrometria de massa (GC-MS). A derivatização é necessária antes da determinação do 3- e 2-MCPD livre para melhorar a volatilidade e a resposta da espectrometria de massa. O primeiro método usado na análise de rotina do 3-MCPD em PVH ácida foi aplicado por Van Bergen et. al. (1992). A PVH ácida, a qual foi originalmente produzida como líquido com alto teor de sal, foi extraída utilizando coluna de extração fase sólida (SPE). Cloropropanóis voláteis e menos polares como 1,3-dicloropropanol (1,3-DCP) foram eluidos com uma mistura de hexano e dietil éter, e o 3-MCPD foi eluido separadamente com dietil éter. Os extratos foram combinados e derivatizados com heptafluorobutirilimidazol (HFBI) e resultaram em éter heptafluorobutirato (HFB) determinados por cromatografia gasosa com detecção de captura de elétrons (GC-ECD). Os métodos mais sensíveis foram desenvolvidos através do procedimento de Van Bergen et. al. (1992). Após do uso de PVH (o qual substituiu anteriormente produtos líquidos) foram dissolvidos em uma solução de cloreto de sódio para replicar o líquido PVH. O extrato de dietil éter foi concentrado para reduzir o volume e derivatizado com di-(HFB) antes da injeção no GC-MS. Neste processo adicionou-se o padrão interno deuterado. As amostras de alimentos também foram analisadas desta forma, após a remoção da gordura. Hamlet (1998) foi quem utilizou o cromatógrafo gasoso com determinação espectrométrica massa/massa (GC-MS/MS), e Brereton et. al. (2001) foi quem utilizou o GC-MS com seleção de íons monitorados (SIM). O método foi validado através de estudo colaborativo e foi aceito como método oficial da *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC) e do Comitê Europeu (CEN, 2004), passando a ser amplamente utilizado (Nyman et. al., 2003; Leon et. al., 2008). O acetato de etila é frequentemente usado como uma alternativa ao dietil éter, como solvente (Wittmann, 1991; Spyres, 1993; Hamlet, 1998; Chung et. al., 2002), tendo apresentado recuperações maiores de 3-MCPD em produtos cereais como farinhas e pães (Hamlet, 1998; Retho e Blanchard, 2005). Podem ser aplicados reagentes alternativos da derivatização tais como o N,O-bis(trimetilsilil) trifluoroacetamida (BSTFA) (Kissa, 1992; Cao et. al., 2009; Racamonde et. al., 2011), e o heptafluorobutirico anidro (HFBA) (Chung et. al., 2002; Abu-El-Haj et. al., 2007). O método mais popularmente usado na determinação de 3-MCPD utiliza a extração seguida do procedimento de derivatização pela adição de solução orgânica do ácido fenilborônico (PBA), o qual se liga com grupos de hidroxila para formar dioxaborolanos (Rodman and Ross, 1986; Pesselman and Feit, 1988). No procedimento preconizado o extrato aquoso do alimento é misturado com solução de PBA em acetona alcalina com piridina, o cloreto de sódio é adicionado para promover partição, o que permite a formação de um derivativo, sendo este extraido com hexano. A reação de quantificação requer alta concentração de PBA, e o reagente causa alguns

danos à coluna cromatográfica, o que pode ser minimizado com a injeção em temperatura baixa (< 180°C), reduzindo a transferência do reagente para coluna (Breitling-Utzmann et. al., 2005). O método foi amplamente aplicado com pequenas variações, por diversos pesquisadores (Ushijima et. al., 1995; Breitling-Utzmann et. al., 2003; Divinova et. al., 2004). O método utilizando o PBA como descrito pelo Plantinga et. al. (1991) foi validado e aceito pelo Método Oficial Alemão (*Do alemão Lebensmittel- und Bedarfständegesetz method*) para 3-MCPD em alimentos (LMBG, 1995). Divinova et. al. (2004), preconizou a extração com solvente visando a remoção de gordura de alguns alimentos antes da implementação do método PBA. Há métodos alternativos de derivatização baseados na ligação com grupos hidroxila baseados na formação do derivativo dioxolano pela reação com acetona ou ciclohexanona (Meierhans et. al., 1998; Diarit and Ninonuevo, 2004; Retho and Blanchard, 2005; Becalski et. al., 2013) conforme ilustrado na figura 6.

Figura 6. Métodos alternativos de derivatização do dioxolano utilizando acetona, PBA e HFBI.



Fonte: Meierhans et. al., 1998; Diarit and Ninonuevo, 2004; Retho and Blanchard, 2005; Becalski et. al., 2013

Estes métodos apresentam vantagens e desvantagens. O HFBI derivatiza muitos compostos de co-extração, gera cromatogramas mais limpos e possibilita maior vida útil para a coluna. Os espectros de massa dos derivados do HFB (Heptafluorobutíricos) possuem baixa intensidade no impacto de elétrons porém a identidade do pico pode ser confirmada pela razão particular da massa. Os isômeros de MCPD possuem baixo peso molecular, e na adição de grupos HFB reduz o efeito de ruido. Porém, este reagente é muito sensível a umidade e relativamente instável,

dificultado o manuseio. HFBA é mais acessível financeiramente que o HFBI, é de fácil manuseio, porém em função de eficiência questionavel, recomenda-se uma catalise com trietilamina (Xu et. al., 2006). Os derivativos do trimetilsilil do 3- e 2-MCPD apresentam íons de baixa intensidade no modo EI (ionização por elétrons) que limita a detecção (Wenzl et. al., 2007).

O espectro de massa dos derivativos do HFB do 3- e 2-MCPD não indica o íon molecular da massa/razão (m/z) 502. Os íons normalmente são usados para determinação quantitativa do 3-MCPD di-HFB são massa/razão (m/z) 453 [M-CH2Cl]+, 289 [M-C3F7CO2]+, 275 [M-C3F7CO2CH2]+ e 253 [M-C3F7CO2HCl]+. O espectro de massa, gerado quando do uso do derivativo de di-HFB, do 2-MCPD não evidencia os íons 453 e 275. Os íons característicos do modo NCI (Modo Negativo) são 502 (íon molecular), 482 [M-HF] e 446 [M-HF-HCl]. 2-MCPD pode ser determinado usando os reagentes HFBI, HFBA, BSTFA e derivatiza com grupos –OH individualmente. Embora os reagentes boronatos possam agir com os pares dos grupos –OH, não são adjacentes dos átomos de carbono, desta forma sua reação quantitativa com 2-MCPD não é garantida. A quantificação do 3-MCPD é sempre efetuada por meio de curva de calibração e diluição do isótopo com 3-MCPD d5-rotulado. A tabela 1 indica quais são os íons caraterísticos do dioxolano derivatizados do 3-MCPD e 3-MCPD$_{d5}$.

Tabela 1 – Íons carateristicos do dioxolano/dioxano derivatizados 3-MCPD e 3-MCPD$_{d5}$

Agente derivatizante	**Analitos**	**Peso Molecular**	**[M-C_nH_{2n+1}]**	**Outras íons estruturalmente significativos**
Acetona	3-MCPD	150	135/137[a]	43[C_2H_3O]$^+$
	3-MCPD$_{d5}$	155	140/142[a]	43[C_2H_3O]$^+$
3-Pentanona	3-MCPD	178	149/151[a]	57[C_3H_5O]$^+$
	3-MCPD$_{d5}$	183	154/156[a]	57[C_3H_5O]$^+$
4-heptanona	3-MCPD	206	163/165[a]	71[C_4H_7O]$^+$
	3-MCPD$_{d5}$	211	168/170[a]	71[C_4H_7O]$^+$
ciclohexanona	3-MCPD	262	191/193[a]	99[$C_6H_{11}O$]$^+$
	3-MCPD$_{d5}$	267	196/198[a]	99[$C_6H_{11}O$]$^+$
PBA	3-MCPD	196	196/198[a]	103/104[b] [Ph-BO]$^{+-}$ 91[C_7H_7]$^+$
	3-MCPD$_{d5}$	201	201/201[a]	103/104[b] [Ph-BO]$^{+-}$93 [$C_7H_5D_2$]$^+$

a- íon cluster cloro isotópico

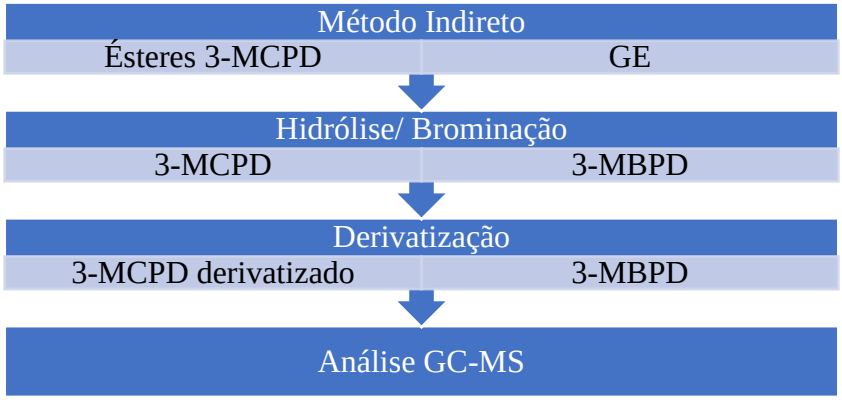
b- íon cluster boro isotópico

Fonte: Hamlet and Sadd, 2009

A coluna Extrelut (coluna pronta para extração de substâncias lipófilas) pode ser utilizada com extração de éter, derivatização com acetona, e a técnica GC-MS para a determinação de 2-MCPD e 3-MCPD (Meierhans et. al., 1998; Chung et. al., 2002). O GC-MS/MS também é usado rotineiramente na detecção do 3-MCPD, Hamlet (1998) usou a captura de elétrons pelo modo de monitoramento de reação múltipla (MRM), e Kuballa and Ruge (2004) mostrou que a sensibilidade foi otimizada usando o espectro de massas triplo quadrupolo operando no modo de MRM. Reece, 2005, descreve a separação dos isômeros (R)- e (S)- do 3-MCPD, sendo obtido pela cromatografia gasosa com ionização de chama e cromatografia gasosa com espectrometria de massas utilizando como derivatizante o PBA em uma fase estacionária de c-ciclodextrina após pentilação com grupos de 2,6-hidroxila e trifluoroacetilação do grupo hidroxila na posição 3.

A determinação indireta do éster ligado do 3-MCPD e 2-MCPD em amostras de óleo pode ser feita pela transmetilação após dissolução em solvente. As amostras de óleos e gorduras são tratadas com o solvente de extração e o resíduo é descartado. Os analitos, monoésteres e diésteres presentes nos extratos são separados dos diésteres usando-se sílica, cartuchos SPE (extração em fase sólida), ou fases amino (Dubois et. al. 2011; Hamlet et. al., 2014). A determinação indireta do éster ligado do 3- e 2-MCPD em óleos envolve clivagem das ligações ésteres pela transmetilação (metanólise) e medida do 3- e 2-MCPD liberado por um dos métodos descritos para MCPD livre. O MCPD pode ser liberado por enzimas lipases (Hamlet and Sadd, 2004; Chung and Chan, 2012; Chung et. al., 2013), porém o uso de ácidos (Divinova et. al., 2004; Zelinkova et. al. 2006) ou alcali (Weißhaar, 2008, Kusters et. al., 2010) são mais comuns. Os ésteres de ácido graxo glicidílico (GE) são clivados na mesma reação. Em um procedimento alternativo o glicidol estereficado é brominado antes da clivagem do bromopropanediol (3-MBPD) produzido. A figura 7 ilustra o método indireto para análise simultânea de 3-MCPD e GE.

Figura 7. Esquema Analítico do Método Indireto para análise simultânea de 3-MCPD e GE



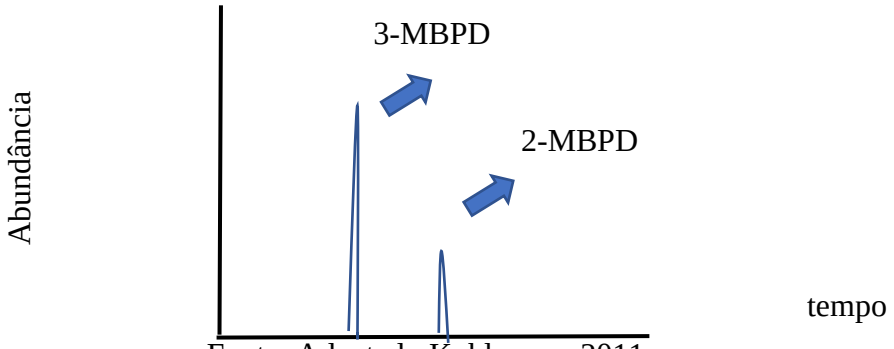
Fonte: Adaptado AOCS, 2012

Os métodos da Sociedade Americana de Óleos - American Oil Chemists' Society (AOCS) são baseados na metanólise alcalina preconizada pela Sociedade Alemã DGF, sendo que estes são frequentente revisados e comparados com outros procedimentos (Fiebig, 2011).

Os procedimentos bem caracterizados para determinação dos ésteres ácido graxo MCPD e GE em óleos comestíveis estão agora representados (Karasek et. al., 2010) pela EU Joint Research Centre (JRC) e foram adotados pela AOCS para determinação especifica dos ésteres ácidos graxo do 3- e 2-MCPD e glicidol. Os métodos foram validados em ensaios envolvendo 20 participantes de 8 países (AOCS 2013). Há três métodos (AOCS Cd 29a-13, Cd 29b-13 and Cd 29c-13), os quais são considerados como mais confiáveis. O método AOCS Cd 29a-13 determina ésteres ácidos graxos do 3- e 2-MCPD e glicidol baseado no procedimento do Ermacora & Hrncirik (2012). A amostra é incubada com brometo de sódio em solução ácida para converter o GE em monoésteres 3-MBPD. A reação é finalizada pela adição de um álcali e a fase oleosa, contendo os ésteres, é extraída com n-heptano. O resíduo, contendo ésteres 3-MBPD, e ésteres de ácido graxo 3- e 2-MCPD, é submetido a metanólise com ácido graxo à 40°C por 16 horas. Assim, após a liberação do 3-MBPD, 2-MCPD e 3-MCPD estes são determinados pelo método que utiliza PBA. Visando a quantificação dos analitos, são adicionados padrões internos deuterados (dipalmitato d5-3-MCPD e d5-glicidil palmitato) nas amostras de óleo.

O método AOCS Cd 29b-13 determina glicidol juntamente com 2-MCPD e 3-MCPD presente na amostra e forma livre. O método para conversão do glicidol liberado foi descrito por Kuhlmann (2011), e utiliza análises paralelas de duas alíquotas da mesma amostra. A primeira alíquota (A) é a fortificada com GE isotópico e a segunda alíquota (B) é fortificada com padrões isotópicos de ésteres de ácido graxo 3- and 2-MCPD. MCPD livre e glicidol livre são liberados pela hidrólise com hidróxido de sódio em metanol em baixa temperatura. A reação é finalizada pela adição de brometo de sódio em ácido fosfórico diluído onde o glicidol livre é convertido em 3-MBPD com traços de 2-MBPD o qual pode ser determinado após a derivatização com PBA (cromatograma ilustrado na figura 8). O GE é quantificado com isótopo rotulado na alíquota (A) e os ésteres de 3- e 2-MCPD na alíquota (B).

Figura 8 Cromatograma (Método SIM íons 240 e 242) dos isomêros MBPD (detectados como derivativo do PBA) resultando da transformação de 1 mg/mL glicidol.



Fonte: Adaptado Kuhlmann, 2011

O método AOCS Cd 29c-13 permite determinar a soma dos compostos 3-MCPD e glicidol. No primeiro ensaio, o 3-MCPD livre e glicidol livre são liberados pelo hidróxido de sódio diluído ou metóxido de sódio em metanol. A reação é finalizada pela adição da solução ácida de cloreto. O glicidol reage com cloreto para formar 3-MCPD e pequena quantidade de 2-MCPD. O 3- e 2-MCPD são determinados como derivados do PBA.

No segundo ensaio, a transesterificação catalisada por base não é terminada pela adição de ácido sob condições de cloreto livre no qual o glicidol livre não gera 3-MCPD adicional. Os dois ensaios são usados para calcular a soma do MCPD ligado e GE e segunda determinação do glicidol, assumindo que o glicidol é o único precursor do 3-MCPD presente.

2.4 Regulamentação Alimentar

A legislação europeia, Artigo 2 do Conselho de Regulamentação (EEC) nº 315/935 estabelece que devem ser indicadas tolerâncias máximas de contaminantes específicos. O anexo deste documento, seção 4, indica os níveis máximos do 3-MCPD no PVH e molho de soja como sendo 1g/kg. Ou seja, o teor deve ser ajustado proporcionalmente de acordo com a massa seca. Ainda não foram estabelecidos limites máximos para 2-MCPD, e ésteres de ácidos graxos de 2-MCPD. Visando obter mais dados relacionados à ocorrência dos ésteres de ácidos graxos de MCPD e glicidol em alimentos e possibilitar avaliação da exposição efetiva por parte da população, a Comissão Europeia publicou o documento 2014/661/EU7 recomendando o monitoramento em alimentos da presença de 2-MCPD, ésteres de ácidos graxos de 2-MCPD, ésteres de 3-MCPD, glicidol e seus ésteres (EFSA, 2016).

A European Food Safety Authority (EFSA) - Autoridade de Segurança de Alimentos na Europa (EFSA, 2017), estabeleceu a dose diária máxima tolerável (TDI) de 2 µg/kg p.c. para o contaminante 3-MCPD. De acordo com o Comitê Científico de Alimentos da Comunidade

Europeia (SCF) e o Comitê Conjunto FAO/OMS de Especialistas em Aditivos Alimentares (JECFA), o efeito mais sensível provocado pelo 3-MCPD é o de hiperplasia tubular renal e a menor dose na qual se observou este efeito (LOAEL) foi de 1,1 mg/kg p.c./dia. Com base nestas informações e considerando um fator de segurança de 500, o SCF estabeleceu uma ingestão diária tolerável (TDI) para 3-MCPD de 2 µg/kg p.c., sendo o mesmo valor definido pelo JECFA como PMTDI.

Em um estudo mais recente, Hwang et. al. 2009 estabeleceram uma BMDL10 (Benchmark Dose) para hiperplasia tubular renal de 0,87 mg/kg.

A Legislação Europeia (2018/290) estabeleceu os níveis dos contaminantes para as matrizes alimentícias (tabela 2) (Jornal União Europeia, 2018):

Tabela 2: Regulamentação Europeia 2018/290 para alimentos, que inclui os teores máximos de 3-monocloropropanodiol (3-MCPD) em produtos alimentícios

Produto Alimentício	Teores Máximos (µg/kg)
3-monocloropropanodiol (3-MCPD)	
Proteínas vegetais hidrolisadas	20
Molho de soja	20
Ésteres Glicidílicos expressos como Glicidol	
Óleos e gorduras vegetais colocados no mercado para o consumidor final ou para utilização como ingrediente em gêneros alimentícios, com exceção dos géneros alimentícios	1000
Óleos e gorduras vegetais destinados à produção de alimentos para bebês e alimentos transformados à base de cereais destinados a lactentes e crianças jovens (3)	500
Fórmulas para lactentes, fórmulas de transição e alimentos para fins medicinais específicos destinados a lactentes e crianças jovens (em pó	75 até 30.6.2019 50 a partir de 1.7.2019
Fórmulas para lactentes, fórmulas de transição e alimentos para fins medicinais específicos destinados a lactentes e crianças jovens (em forma líquida)	10,0 até 30.6.2019 6,0 a partir de 1.7.2019»

No Brasil não há legislação aplicável aos contaminantes 3-monocloropropanodiol e Glicidol.

2.5 Avaliação do Risco de contaminantes em alimentos

O termo risco é definido como a probabilidade de ocorrência de efeito adverso a um organismo, sistema ou população, causado sob circunstâncias específicas, devido à exposição a um agente químico, físico ou biológico (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2004). A

avaliação do risco químico é um processo que visa estabelecer o uso seguro de substância químicas, em exposição ambientais e laborais. Segundo Guivant (2000), os estudos quantitativos sobre os riscos foram desenvolvidos baseados em ciências como toxicologia, epidemiologia a partir dos anos 1960. A avaliação de risco é definida como o processo que permite a caracterização quantitativa ou qualitativa e previsão/estimativa de efeitos adversos potenciais à saúde de determinada população, sistema ou organismo decorrentes da exposição a perigos de distintas naturezas (UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 1990; HAAS; ROSE; GERBA, 1999; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1999; 2004). A EPA, *United States Environmental Protection Agency* (USEPA), define a Avaliação de Risco como processo de caracterização da natureza e magnitude dos riscos à saúde humana (residentes, trabalhadores, visitantes de recreação) e receptores ecológicos (pássaros, peixes, animais silvestres) advindos de contaminantes químicos e outros agentes nocivos que podem estar presentes no ambiente. As informações obtidas são então utilizadas na prevenção dos riscos humanos e ao ambiente.

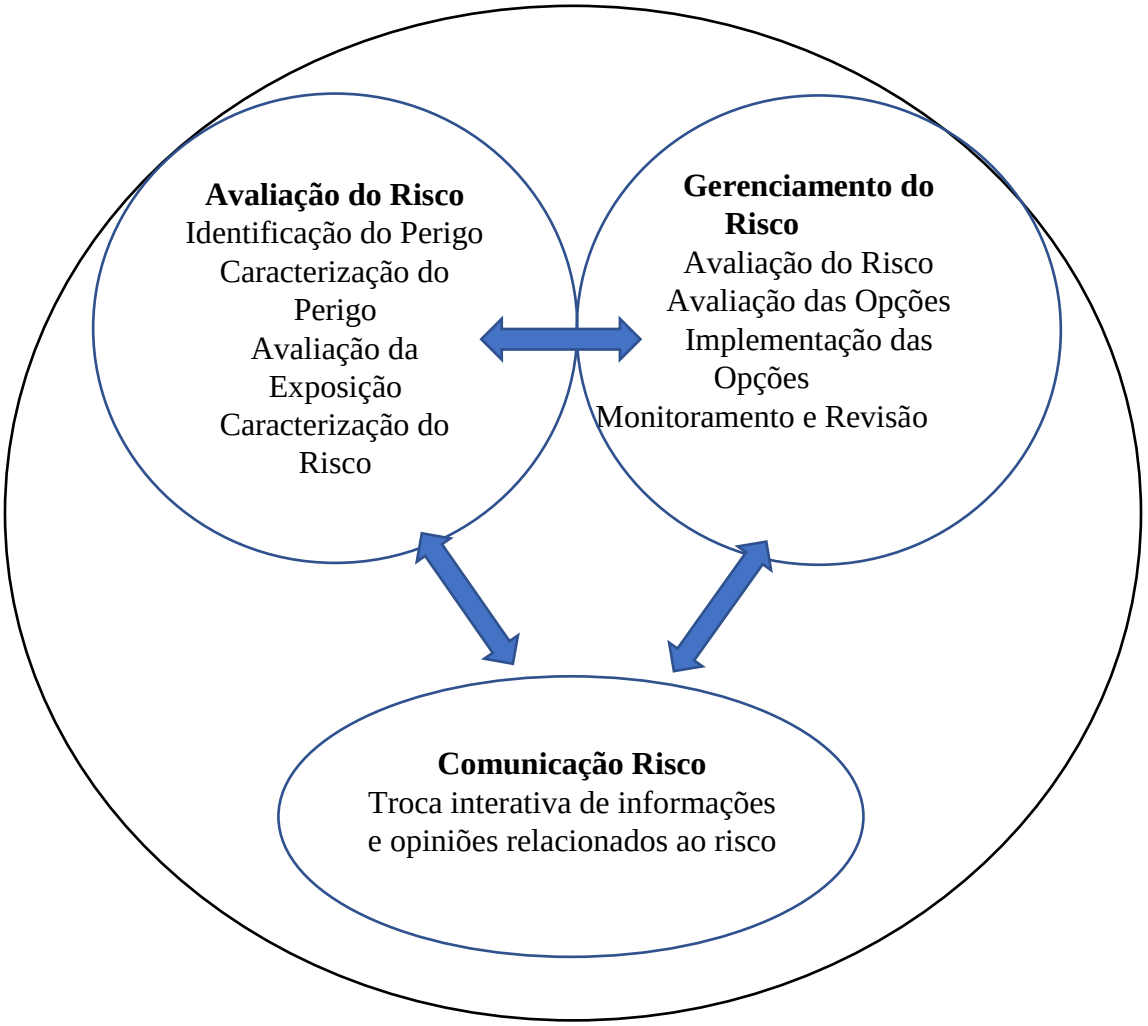
De acordo com a EPA, (2012) a Avaliação do Risco é dividida em duas áreas: a Avaliação do Risco à Saúde Humana, e a Avaliação do Risco Ecológico. A avaliação de risco à Saúde Humana é o processo que obtém a estimativa da natureza e da probabilidade de efeitos adversos à saúde em indivíduos que podem estar expostos em função de um ambiente contaminado (EPA, 2012).

A análise do risco consiste em três componentes: avaliação do risco, gerenciamento do risco e comunicação do risco. A avaliação do risco é o componente central da análise do risco e fornece uma base científica para as decisões do gerenciamento do risco sobre as medidas que poderão ser necessárias para proteger a saúde humana. Essa avaliação leva em consideração todos os dados científicos relevantes e identifica qualquer incerteza na base de conhecimento. É composta de quatro etapas: identificação do perigo, caracterização do perigo (incluindo avaliação dose-resposta), avaliação da exposição e caracterização do risco. É uma estrutura conceitual que, no contexto da segurança química de alimentos, provê um mecanismo para uma revisão estruturada das informações relevantes para a avaliação de possíveis resultados à saúde em relação a exposições a substâncias químicas presentes nos alimentos. A avaliação do risco de substâncias químicas presentes nos alimentos ou sobre os alimentos forma o trabalho central do JECFA e do JMPR. Com base nas recomendações desses dois comitês, são tomadas medidas de segurança alimentar na gestão do risco conduzida por países em âmbito nacional, e pela Comissão do Codex Alimentarius – CCA (Codex Alimentarius Commission – CAC) em âmbito internacional. Se por um lado o JECFA e o JMPR baseiam suas avaliações em princípios científicos e garantem a consistência

necessária nos processos de avaliação do risco, a CAC e seus respectivos comitês que lidam com substâncias químicas nos alimentos são responsáveis, como gestores de risco, pelas decisões finais sobre o estabelecimento de limites para resíduos de praguicidas, resíduos de medicamentos veterinários, contaminantes e aditivos nos alimentos, e sobre a adoção de outras medidas relacionadas. Embora seja aconselhável separar as atividades funcionais da avaliação do risco daquelas do gerenciamento do risco a fim de assegurar a independência científica, é reconhecido que os gestores do risco deverão se comunicar e interagir com os avaliadores do risco durante o processo, a fim de estabelecer o escopo da análise, particularmente durante a formulação do problema. Assim, a relação entre a avaliação do risco e o gerenciamento do risco é um processo interativo e, frequentemente, iterativo (FAO/WHO, 2009)

A figura 9 ilustra o paradigma da avaliação de Risco.

Figura 9: Ilustração das Etapas da Análises de Risco



Fonte: Adaptado de FAO/WHO, 2009

2.5.1 Identificação do Perigo

No processo de Avaliação do Risco de agente químico, a primeira etapa consiste na Identificação do Perigo, onde se verifica a capacidade do composto em provocar um efeito adverso e a natureza dos efeitos presentes numa população ou num ecossistema (OGA et. al, 2008).

Nesta etapa são utilizados os dados provenientes dos estudos em animais de experimentação, estudos clínicos ou estudos epidemiológicos em populações expostas.

Outros ensaios também são realizados, como por exemplo os para verificar se certos efeitos adversos são específicos, outros para entender melhor os mecanismos de ação, ou ainda novos ensaios relacionados com as substâncias químicas que interferem no sistema endócrino.

Estes ensaios visam determinar o limiar de toxicidade do composto considerado, estabelecendo o nível de dose onde não são observados efeitos adversos, o NOAEL (No-observed-adverse-Effect Level) e da menor dose na qual são observados efeitos adversos, o LOAEL (Lowest-Observed-Adverse-Effect Level).

Os dados exigidos para a caracterização de um contaminante deverão incluir suas concentrações em alimentos e a dieta total no maior número possível de países. Os dados deverão ser formatados usando-se o Sistema de Monitoramento Ambiental Global/Programa de Avaliação e Monitoramento de Contaminação de Alimentos (GEMS/Food), a fim de facilitar a conferência e o controle de qualidade dos dados. Os dados deverão ser acompanhados de detalhes adicionais sobre os planos de amostragem e os métodos analíticos usados para gerar os dados (FAO/WHO 2009).

2.5.2 Avaliação da relação Dose Resposta

A base fundamental da relação quantitativa entre a exposição a um agente e a incidência de uma resposta adversa é chamada de Avaliação da Relação Dose-Resposta. Seu objetivo é quantificar o perigo/toxicidade, e embasar a escolha da relevância e dos níveis de dose, os NOAEL’s que, por sua vez, deverão ser utilizados no processo de caracterização do risco à saúde da população alvo (OGA et. al, 2008).

Para caracterizar o perigo é necessário a extrapolação quantitativa, que emprega as altas doses utilizadas nos experimentos para substância presentes na exposição ambiental, que acontecem geralmente em baixas concentrações, e a extrapolação qualitativa, que envolve o emprego dos resultados em animais extrapoladas para o homem (FAO/WHO, 2009)

Através da determinação dos valores de NOAEL e LOAEL, pode-se então traçar o perfil de segurança do contato humano com determinada substância, a partir do estabelecimento de parâmetros como a Ingestão Diária Tolerável – TDI incluindo o uso de fatores de incerteza ou de segurança.

Uma alternativa ao uso de NOEL e LOEL é a chamada Benchmark Dose (BMD), que envolve a aplicação de um modelo matemático nos dados de dose-resposta para um determinado *endpoint*, permitindo ao modelo prever um limiar de dose correspondente à Benchmark Response (BMR), e posteriormente estabelecer uma dose efetiva (ED – Effective Dose). Esta abordagem tende a ser mais abrangente pois utiliza a inclinação da reta dos resultados de toxicidade, e não apenas o valor de NOAEL, pois por definição, é uma das doses testadas, e uma vez identificada, o resto da curva dose-resposta é ignorado (KLAASSEN; WATKINS III, 2010)

O uso de *Benchmark Dose* (BMD) tem sido aplicado de acordo com a US-EPA visando resolver os desafios da extrapolação para efeitos adversos em baixos níveis de risco e também tratar o fato de que o NOAEL é suscetível ao número de animais testados e a limitação de doses testadas, além de não considerar o restante da curva de dose-resposta para análise dos dados. A BMD é o menor limite de confiança determinado estatisticamente para uma dose que produz uma mudança predeterminada na taxa de resposta (BMR – Benchmark Response Rate) de um efeito adverso comparado aos níveis basais (SOLOMON; STEFENSON, 2007).

As caracterizações das relações dose-resposta limítrofes incluem a identificação do NOAEL e do LOAEL, onde o NOAEL para determinado composto é dividido por fatores de incerteza ou segurança apropriados, dependendo da natureza e da severidade do efeito (SOLOMON; STEFENSON, 2007). O NOAEL não deve ser interpretado como ausência de risco (KLAASSEN; WATKINS III, 2010)

As abordagens para caracterizar as relações dose-resposta incluem a identificação dos níveis de efeito como a DL_{50}, a CL_{50}, a DE_{10} (dose que induz 10% da resposta), bem como os NOAEL´s (KLAASSEN; WATKINS III, 2010).

Os valores de NOAEL são utilizados para calcular valores de Dose de Referência (RfDs), que correspondem a estimativas de uma exposição diária a um agente que é considerado como não indutor de efeitos adversos à saúde na população (KLAASSEN; WATKINS III, 2010), ou da Ingestão Diária Aceitável (IDA).

Ambos os valores de IDA e RfDs – Dose de Referência são calculados através da divisão do NOAEL por fatores de incerteza (UF), que podem variar de 10 a 1000, conforme Equação (1).

$$\text{IDA ou Rfd} = \frac{\text{NOAEL}}{\text{UF}}$$

Equação (1)

Os fatores de incerteza são usados para compensar várias incertezas não quantificadas na extrapolação das diferenças entre os animais de experimentação e o homem, diferenças individuais entre seres humanos e diferenças entre crianças, pessoas idosas, mulheres grávidas, entre outros (SOLOMON; STEFENSON, 2007). Os fatores modificadores podem ser usados para ajustar o fator de incerteza se os dados de mecanismos de ação de cinética, de farmacocinética ou de relevância da resposta animal para o risco humano justificarem tal modificação (KLAASSEN; WATKINS III, 2010). A tabela 3 apresenta as diretrizes para a inclusão dos fatores de incerteza nos cálculos de IDA e RfD (SOLOMON & STEFENSON, 2007)

Tabela 3. Diretrizes para uso dos fatores de incerteza utilizados na avaliação de risco

Extrapolação De	Para	Fator de Incerteza Utilizado
Média da População	População mais sensível	10
Animal	Homem	10
Resultado de LOAEL	Resultado de NOAEL	10
Resultado Subcrônico	Resultado Crônico	10
Banco de Dados Inadequado	-	10
Fatores Modificadores	-	0

Fonte: Modificado de SOLOMON & STEFENSON, 2007

Além dos valores de IDA e RfD, outros níveis de exposição são estabelecidos de maneira semelhante, tais como o valor de Ingestões Diárias Toleráveis (TDI – *Tolerable Daily Intake),*que pode ser usado para descrever as ingestões de um composto que não são aceitáveis, mas sim toleráveis, pois estão abaixo dos níveis conhecidos de causar efeitos adversos à saúde, e é calculado a partir da exposição alimentar, ambiental, ou ocupacional ao composto de

interesse (KLAASSEN; WATKINS III, 2010).A avaliação do perigo de contaminantes em alimentos é feita através dos resultados dos estudos toxicológicos que fornecem os valores de LOAEL e NOAEL para posterior cálculo da Ingestão Diária Aceitável (IDA) através do uso dos fatores de incerteza e modificadores apropriados, para posterior determinação dos níveis de resíduos permitidos nos alimentos. Inicialmente determina-se o valor da ingestão máxima permitida por dia MPI (*Maximal Permissible Intake per Dia)*, baseada na IDA, e que considera o peso corpóreo humano, que por convenção foi definido em 60 kg (SOLOMON & STEFENSON, 2007), conforme Equação (2)

MPI = IDA (mg/ kg/ dia) x 60 kg

Equação (2)

Após a determinação do MPI, os valores de Fator Alimentar, que representam a quantidade de determinado alimento consumido por um ser humano e diferem dependendo da idade da população, das preferências alimentares e étnicas,são utilizados para calcular o nível máximo admissível (tolerância) nos gêneros alimentícios (MPL – *Maximal Permissible Level in Foodstuff) (*(SOLOMON & STEFENSON, 2007)

$$MPL = \frac{MPI\ (mg/kg - ppm)}{Fator\ Alimentar}$$ Equação (3)

A partir dos valores encontrados, as agências regulatórias tomam a responsabilidade através da aplicação dos Limites Máximos dos Resíduos de garantir que a exposição aos contaminantes em alimentos não ultrapassem os valores de IDA.

2.5.3 Avaliação da Exposição

Os objetivos da avaliação de exposição são determinar a fonte e o tipo de contato com o agente químico e mensurar a intensidade, a frequência e a duração da exposição humana ao toxicante. De uma forma mais elaborada, a avaliação da exposição descreve a magnitude, a duração e a via de exposição, o tamanho, a natureza e a classe da população exposta, e as incertezas deste processo (KLAASSEN; WATKINS III, 2010).

O perigo inexiste na ausência de exposição, sendo que estes dados são, frequentemente, a principal incerteza na determinação do risco. O conceito de exposição é estudado em dois aspectos: o contato com a substância através da pele, o trato digestivo e respiratório, e a estimativa qualitativa e quantitativa deste contato. Um passo importante na avaliação da

exposição é determinar quais vias de exposição são relevantes para a investigação e quais proporções da substância química atravessam as barreiras de exposição para identificar a dose interna da mesma.

A avaliação da exposição é dividida em três fases: (A) Caracterização da fonte de exposição; (B) Identificação dos meios de exposição (alimentos, ar) e das vias de exposição (dérmica, inalatória ou oral), e (C) Quantificação da exposição. Algumas variáveis devem ser levadas em conta neste processo, tais como: população expostas, tipos de substâncias, substâncias únicas ou misturas, tempo de exposição, meios e vias de exposição (OGA, et. al.,2008)

O MRLs (*Minimal Risk Levels)* que de acordo com a ATSDR – Agência de Substância Tóxicas e Registro de Doenças, indica a estimativa de uma exposição humana diária a uma substância perigosa que não cause efeitos adversos não carcinogênicos durante um determinado período de exposição, sendo derivados de exposições agudas (1-14 dias), intermediárias (15-364 dias) e crônicas (acima de 365 dias) (ATSDR, 2013); o Limite Máximo de Resíduo (LMR, ou do inglês MRL – *Maximum Residue Limit*), que é definido pela IPCS – *International Programme on Chemical Safety* – como a concentração máxima de resíduo resultante do uso de praguicidas, medicamentos veterinários e contaminantes (expresso em mg/kg) que é aceitável em alimentos; os valores limites TLV´s (*Threshold Limit Values*); limites permissíveis de exposição (PEL´s – *Permissible Exposure Levels*), utilizados pelo Instituto Nacional de Segurança e Saúde Ocupacional dos Estados Unidos (NIOSH), para representar a dose que não causará efeitos adversos à saúde do trabalhador; a margem de exposição (MOE – *Margin of Exposure*) e o nível de exposição aceitável do trabalhador (AOEL – Acceptable Operator Exposure Levels)

Para estimar a exposição humana às substâncias químicas presentes nos alimentos são necessários três dados essenciais: a concentração da substância nos alimentos (mg/kg), o consumo do alimento (kg), e o peso corpóreo (kg), sendo a exposição definida pela Equação (4) abaixo (EPA, 2012);

$$\text{Exposição} = \frac{\text{Concentração da substância x Consumo do Alimento}}{\text{Peso Corpóreo}} \qquad \text{Equação (4)}$$

A forma de obtenção dos dados adicionados no cálculo de exposição depende inicialmente dos propósitos da avaliação do risco, se a exposição é crônica e aguda e de quão detalhada e precisa a estimativa deve ser, além de verificar qual tipo de população a avaliação quer abranger, e as características da substância envolvida, como presença em diversos tipos de alimentos ou somatória com moléculas da mesma classe que causam o mesmo efeito biológico.

2.5.4 Caracterização do Risco

A caracterização do risco é a etapa final da avaliação e envolve a predição da frequência e da severidade dos efeitos adversos em uma população exposta, integra os dados obtidos com a identificação do perigo, caracterização do perigo e da exposição e gera evidências sobre o risco da exposição a um agente químico para minimizá-lo (EPA, 2012; FAO/WHO 2009)

As metodologias utilizadas para caracterizar o risco variam de acordo com as características toxicológicas da substância, isto é, se a substância necessita de um limiar de dose no organismo para exercer a ação tóxica (substâncias não genotóxicas) ou não (substâncias carcinogênicas e genotóxicas) (KLAASSEN; WATKINS III, 2010).

2.5.5 Comunicação e Gerenciamento do Risco

Um desafio determinante para a avaliação de risco consiste na interpretação e relacionamento com as observações dos ensaios *in vitro* baseados no genoma, altamente sensíveis, com todo o processo de toxicidade. Biomarcadores de efeitos precoces, como patologia clínica, surgem em função da exposição, da resposta e do tempo (KLAASSEN; WATKINS III, 2010).

Os dados científicos obtidos através do processo de avaliação do risco são sempre entrelaçados com as decisões políticas e governamentais, surgindo muitas vezes dilemas sobre as ações a serem tomadas quanto à regulamentação, ao gerenciamento e à comunicação do risco. Dependendo da severidade dos efeitos tóxicos observados, verifica-se que o risco pode ser negligenciável, tolerável ou intolerável, questão que muitas vezes é vinculada à percepção pessoal.

Os indivíduos respondem de maneira variável às informações sobre as situações e produtos perigosos, assim como o fazem comunidades e a sociedade como um todo sendo que o entendimento das respostas comportamentais é crucial para a comunicação do risco e avaliação das opções de gerenciamento de risco (KLAASSEN; WATKINS III, 2010).

2.6 IDENTIFICAÇÃO E DADOS TOXICOLÓGICOS DO 3-MCPD E GLICIDOL

2.6.1 Propriedades Físicas

O 3-MCPD é um líquido entre incolor e amarelo claro a temperatura ambiente com densidade 1.32 g/cm^3, ponto de fusão de 40°C e ponto de ebulição de 213°C á 760 mmHg. 3-

MCPD é higroscópico, e altamente solúvel em água e solventes orgânicos e polaridade moderada para alta em metanol, etanol, clorofórmio e acetato de etila.

- Peso Molecular: 110.54 g/mol
- Fórmula Molecular: $C_3H_7ClO_2$
- No. EINECS (European Inventory of Existing Chemical Substances - Inventário Europeu das Substâncias Químicas Existentes): 202-492-4

O 2-MCPD é também um líquido oleoso, de incolor a amarelo claro a temperatura ambiente com natureza higroscópica. Possui densidade de 1.3 ± 0.1 g/cm^3 e ponto de ebulição de 213°C á 760 mmHg. No. CAS (Chemistry Abstract Service): 497-04-1

O Glicidol é um líquido incolor a temperatura ambiente, solúvel em água e polar em solventes. Ésteres de ácidos graxos do 3-MCPD e 2-MCPD e o glicidol apresentam propriedades similares (exemplo polaridade e solubilidade) e ácidos graxos, com pontos de fusão ligeiramente mais baixos (Hamlet et. al., 2011).

O glicidol possui o nome IUPAC de oxiranilmetanol. Também chamado de 2,3-epoxi-1-propanol, óxido de 3-hidropropileno, álcool epoxipropil, óxido hidroximetil etileno e 2-hidroximetil oxirano. Há também isômeros óticos ativos (R-(+)-glicidol (No. CAS 57044-25-4) e (S-(-)-glicidol (No. CAS 60456-23-7). (EFSA Journal, 2016).

- Peso Molecular: 74.079 g/mol
- Fórmula Molecular: $C_3H_6O_2$
- No. CAS:556-52-5
- No. EINECS: 209-128-3

2.6.2 Propriedades Químicas

O 3-MCPD é uma molécula quiral e existe como uma mistura dos enantiômeros (R)- and (S) que são derivados do proquiral L-glicerol. Estão presentes na proporção de 1:1 na proteína vegetal hidrolisada - PVH ácido. É importante ressaltar que a maioria das investigações da toxicidade descritas são de misturas racêmicas. 3-MCPD reage rapidamente com ácidos, álcoois, aldeídos, amônia, compostos amino, cetonas e tióis (Velısek et. al., 1991). As reações do 2-MCPD com estas classes são similares. 3-MCPD, 2-MCPD e glicidol podem formar ésteres com ácidos graxos. Esta reação usualmente ocorre sob condições de alta temperatura do refino do óleo vegetal comestível, além destes ácidos graxos serem ésteres comumente encontrados em óleos vegetais comestíveis. A maioria dos ácidos esterificantes depende do tipo de óleo, mas os mais comuns são ácido láurico (ácido dodecanóico C12:0), ácido mirístico (ácido tetradecanoico C14:0), ácido palmítico (ácido hexadecanoico C16:0), ácido esteárico (ácido octadecanoico

C18:0), ácido oleico (ácido octadecenoico C18:1), ácido linoleico (ácido octadecadienoico C18:2) e ácido linolênico (ácido octadecatrienóico C18:3). Os ésteres são formados em proporção similar aos ácidos do óleo, embora alguns fatores como a volatilidade e condições de desodorização permitam acarretar pequenas diferenças.

Ésteres de ácido graxo do 3- e 2-MCPD, e Glicidol, são solúveis em solventes não polares e possuem baixa solubilidade em água. Todas as caraterísticas de solubilidade individuais dos ésteres de ácido graxo do MCPD e glicidol ainda não foram estudados; entretanto supõe-se que os monoésteres MCPD possuem solubilidade maior que os diésteres em solventes polares e há um aumento do tamanho da cadeia dos ácidos graxos em ambos monos- e diésteres reduzindo a solubilidade em solventes polares e aumentando a solubilidade em solventes não polares (EFSA Journal, 2016).

2.6.3 Toxicocinética do 3-MCPD e seus ésteres

Absorção, distribuição e excreção

O 3-Cloro-1,2-propanediol atravessa a barreira sanguínea dos testículos e barreira cerebral e é distribuída amplamente para os fluidos corpóreos (Edwards et. al., 1975). O composto é acumulado no canal epidídimo dos ratos e com menor intensidade no camundongo, sendo que estes achados foram evidenciados por autorradiografia (Crabo & Appelgren, 1972). Esta informação foi contestada por Jones et. al. (1978), que não observou a retenção tecidual específica em ratos tratados com a substancia [^{36}Cl]3-cloro-1,2-propanediol intraperitoneal na dose de 100 mg/kg p.c. Tampouco não observou acumulo em tecidos do 3-cloro-1,2-propanediol como seu metabólito beta-clorolactato.

Outro experimento, realizado por Jones et. al., 1978, em ratos machos Wistar que receberam uma injeção única intraperitoneal do [^{14}C]3-cloro-1,2-propanodiol na dose de 100 mg/kg p.c. expeliram 30% da dose como CO_2 e excretaram 8.5% não modificado na urina após 24 horas. Em outro estudo, do mesmo autor, cujo os ratos receberam injeção única intraperitoneal do [^{36}Cl]3-cloro-1,2-propanediol na dose de 100 mg/kg p.c., 23% do carbono marcado foram recuperados como beta-clorolactato.

2.6.4 Biotransformação

O 3-Cloro-1,2-propanediol é metabolizado pela conjugação com glutationa, produzindo *S*-(2,3-dihidroxipropil) cisteína e ácido mercaptúrico correspondente, *N*-acetil-*S*-(2,3-dihidroxipropil) cisteína (Jones, 1975). O composto sofre oxidação para ácido beta-cloroláctico

e mais ácido oxálico (Jones & Murcott, 1976). Um metabólito intermediário, beta-clorolactaldeído, pode ser formado, como traços e pode ser encontrado na urina de ratos (Jones et. al., 1978). Jones, 1975, postulou a formação intermediária do epóxido.

Na revisão do metabolismo do 3-cloro-1,2-propanediol, Lynch et. al. (1998) identificaram na via metabólica principal em mamíferos para a formação do *beta*-clorolactato e ácido oxálico, que muitas bactérias metabolizam 3-cloro-1,2-propanediol primariamente via glicidol (JECFA, 2002).

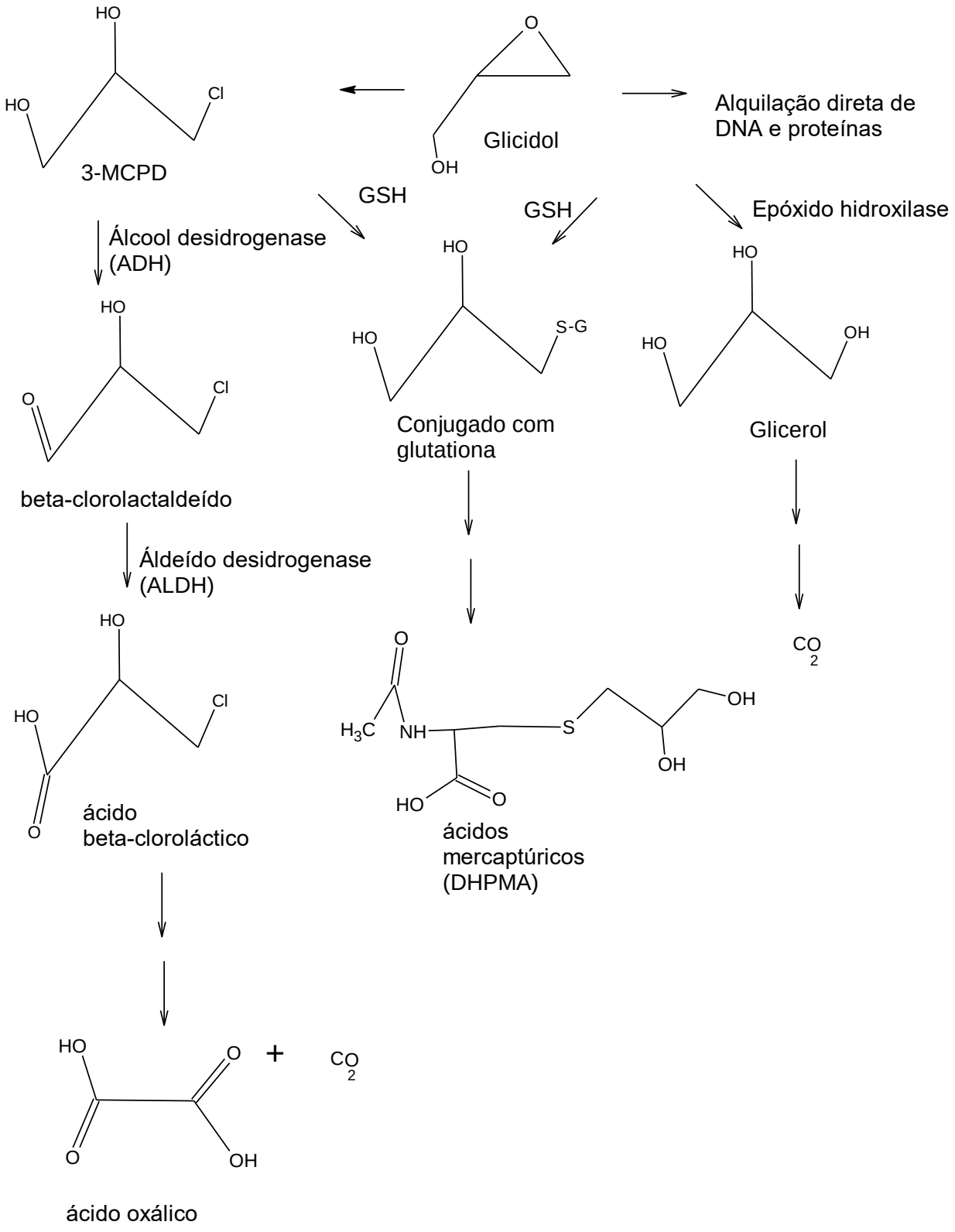
Abraham et. al. (2013) avaliou a toxicocinética do 3-MCPD (10 mg/kg p.c.) em comparação com a dose equimolar do di-palmitato de 3-MCPD (53 mg/kg peso corpóreo) usando análises no GC-MS do MCPD livre e seu éster, no plasma de ratos machos Wistar (8–9 semanas de idade) após administração por gavagem. A absorção do 3-MCPD foi rápida na concentração máxima (4,850 ng/mL) observada próxima do primeiro tempo de coleta da amostra (0.37 hora). A frequência de absorção se adequa as informações da literatura do modelo único de compartimento que foi reportado como 7.0 e 0.36 L/hora para 3-MCPD e seu diéster, respectivamente com meia vida de 0.10 e 1.9 horas, respectivamente. As taxas de eliminação foram similares, e foram reportadas como 0.31 e 0.69 L/h para 3-MCPD. A meia vida plasmática foi de 1 a 2.2 horas, sendo a eliminação de 9.03 and 7.76 micrograma/mL para o composto principal e seus diésteres, respectivamente. O diéster foi quantificado pelo conteúdo luminal do trânsito no intestino liso e grosso de 1.5 a 24 horas; entretanto, após 24 h, somente 0.015–0.05% do diéster permaneceu nos dois segmentos intestinais. As concentrações de 3-MCPD foram medidas no fígado, rins e tecido adiposo e foram similares aos níveis plasmáticos no fígado e rins, porém menores no tecido adiposo. Após administração do diéster, o composto principal não foi observado no plasma, fígado, rins ou tecido adiposo (LQ < 50 ng/g). A excreção na urina foi de aproximadamente 2% da dose administrada e nas fezes de 0.5–1.4%. A administração por gavagem em ratos do 3-MCPD ou três dos ésteres de ácido graxos não produziu glicidol detectável em conteúdos séricos, gástricos, duodenal e cecal de ratos machos F344 (Onami et. al., 2015). Em conclusão, 3-MCPD e seus ésteres ácido graxo dipalmitato aparentemente são rápida e eficientemente absorvidos por via oral, com deesterificação pré-sistêmica extensivamente ocorrendo no trato gastrointestinal. A presença no soro do 3-MCPD e seus ésteres foi rapidamente observada após a administração do composto em teste.

A excreção urinária e seus metabólitos parecem ser predominantes, sendo a fecal relativamente limitada, porém não completamente caracterizada (Jones et. al., 1978). A

conversão do 3-MCPD, administrado na forma livre e formas esterificadas, e glicidol não foram observados in vivo.

A biotransformaçao do 3-MCPD (bem como o glicidol) encontra-se ilustrada na figura 10. Duas vias de biotransformação são postuladas para o 3-MCPD. Uma leva a conjugação com glutationa e a formação de ácidos mercaptúricos (DHPMA), e a outra forma o ácido oxálico.

Figura 10: Biotransformação do 3-MCPD



GSH: Glutationa

Fonte: EFSA Journal, 2016

2.6.5 Dados Toxicológicos do composto 3-MCPD

O 3-MCPD-1-monopalmitato apresenta DL50 de 2676,8 mg/kg p.c., o que pode ser considerado baixa toxicidade aguda de acordo com a classificação GHS (Liu et. al., 2012).

Em experimentos realizados em animais após a administração de altas doses de 3-MCPD (400 mg/g) por um período de dois anos, observou-se a incidência de câncer (Cho, 2008), ao se investigar a carcinogenicidade do 3-MCPD em ratos Sprague-Dawley. Grupos de 50 ratos machos e 50 fêmeas foram expostos durante dois anos a água potável contendo 0, 25, 100 ou 400 mg/g de 3-MCPD. Os pesos corporais e os consumos de água dos ratos machos e fêmeas que receberam 400 mg de 3-MCPD foram significativamente inferiores aos dos controles. A incidência de adenomas ou carcinomas dos túbulos renais e tumores de células de Leydig ocorreu com tendências positivas relacionadas à dose em ratos machos. A incidência de carcinomas dos túbulos renais e tumores de células de Leydig foi significativamente superior em ratos machos que receberam 400 mg de 3-MCPD. A incidência de adenomas de túbulos renais indicou uma tendência positiva em ratos fêmeas, que foi significativa no grupo de 400 mg de 3-MCPD. Em conclusão, houve evidências claras da atividade carcinogênica da 3-MCPD em ratos machos Sprague-Dawley, com base no aumento da incidência de carcinomas tubulares renais e tumores de células de Leydig. Houve alguma evidência da atividade carcinogênica da 3-MCPD em ratos Sprague-Dawley fêmeas, com base no aumento da incidência de adenomas dos túbulos renais.

O 3-MCPD-1-dipalmitato apresenta DL50 acima de 5000 mg/kg p.c. Substâncias com valores de LD50 acima de 5000 mg/kg p.c. não possuem classificação toxicológica pelo GHS (Liu et. al., 2012).

Em 2008, foi descoberto que monoésteres de 3-MCPD liberavam 3-MCPD em uma velocidade maior que os diésteres no modelo in vitro usando lípase pancreática e extrato de bile porcina que simula o duodeno humano (Seefelder et. al, 2008). Buhrke et. al. (2011) investigaram a absorção e metabolismo do 3-MCPD e seus ácidos graxos cultivados nas células intestinais humanas Caco-2. As células Caco-2 liberaram 3-MCPD livre a partir do monolaurato e monooleato MCPD em 24 horas de incubação, porém não a partir 3-MCPD dipalmitato em 72 horas nas mesmas condições. Considerando a toxicidade oral aguda maior do 3-MCPD 1-monopalmitato pode explicar parcialmente sua liberação maior de 3-MCPD livre, o que é altamente solúvel e excretado através do rim. A possível diferença entre 3-MCPD mono e diésteres na sua absorção e distribuição pode contribuir para a diferença significativa em sua toxicidade oral aguda (Liu et. al., 2012).

Hwang et. al 2009 estabeleceu uma BMDL10 (Benchmark Dose) para hiperplasia tubular renal de 0,87 mg/kg p.c./dia. O NOEL do 3-MCPD é de 1 mg/kg p.c./dia (Hoyt et. al., 1994).

Todos estes estudos toxicológicos foram realizados utilizando o composto 3-MCPD racêmico. Vários cenários de exposição foram testados, com o maior efeito sensível observado na motilidade reduzida dos espermatozoides. As exposições continuadas e maiores afetaram o epidídimo e testículo e uma faixa de parâmetros de fertilidade relacionados. Os efeitos da motilidade dos espermatozóides foram reversíveis em algumas semanas após o término do tratamento. Os ésteres de ácido graxo do 3-MCPD foram testados em dois estudos e revelaram efeitos histopatológicos nos testículos e epidídimo em doses corrigidas para o teor de 3-MCPD livre acima do NOAEL. O rim e o testículo foram os principais órgãos alvos para a toxicidade induzida de 3-MCPD em estudos em animais. Os efeitos tóxicos do 3-MCPD em ambos tecidos foram associados com o metabolismo oxidativo do b-clorolactaldeído e ácido b-cloroláctico, os quais inibem enzimas glicolíticas e causa estresse oxidativo, liderando as manifestações toxicológicas observadas no rim e sistema reprodutivo masculino. A modelagem BMD (BenchMark Dose) para hiperplasia celular tubular renal aplicando os guias EFSA para a utilização do modelo BMD médio, baseado nos modelos recomendados do guia e excluindo parâmetros adicionais, foram considerados como abordagem preferencial da seleção do Ponto de Referência (RP). A hiperplasia tubular foi reconfirmada como efeito principal em rins de ratos por uso do metodo de BMDL10–BMDU10 intervalo de 3-MCPD of 0.20–1.95 mg/kg pc por dia foi obtido usando modelo médio. O BMDL10 usando o modelo médio se mostrou duas vezes maior que a primeira derivada usado no estudo anterior da EFSA (0.08 mg/kg pc/dia). A diferença nos resultados das análises de BMD entre o JECFA e a Autoridade Europeia de Segurança de Alimentos (EFSA) usando os mesmos conjunto de dados de hiperplasia renal em ratos machos se deveu a seleção inicial dos modelos e parâmetros de linhagens aplicados.

O 3-MCPD sugere efeitos menores na contagem de espermatozóides seguido de exposição aguda (2 semanas ou menos) em doses maiores de 10–30 mg/kg pc/dia. Entretanto, a exposição de ratos por 13 semanas resultou na diminuição dose-dependente na tendência da contagem dos espermatozoides do epidídimo, atingindo significância estatística de ≥ 4 mg/kg pc por dia. Em função da alta variação dos dados (desvio padrão relativo na faixa de 20% à 50%) a fertilidade foi insensível a perda da contagem de espermatozoides em ratos, desta forma foi decidido aplicar um desvio padrão do grupo de controle (equivalente ao tamanho de efeito de 23%). O BMDL23 foi de 1.34 mg 3-MCPD/kg pc/dia foi determinado pela redução da contagem dos espermatozoides dos ratos.

A perda dos espermatozóides no epidídimo foi geralmente associada com mudanças histopatológicas. As análises de BMD de dois conjuntos de dados foram realizados aplicando o modelo médio e resultando na BMDL10–BMDU10 com intervalos de confiança de 1.55–14.4

mg 3-MCPD/kg pc/dia de incidência crônica aumentada no seminífero tubular atrofiado, e 1.34–8.50 mg 3-MCPD/kg pc/dia de vaculalização. (EFSA, 2018)

2.6.6 Toxicocinética do Glicidol e ésteres

A biotransformação do glicidol usando 14C foi avaliado em ratos machos F344 de aproximadamente 11 semanas de idade (Nomeir et. al., 1995). As doses individuais de 37.5 e 50 mg/kg peso corpóreo foram administradas por via oral (gavagem) e por via intravenosa. A excreção urinária dos compostos radioativos foi de 40–48%, seguido do CO_2 exalado (27–32%), e fezes (5–12%). Os metabolitos observados na urina não foram identificados. Observou-se nos tecidos a deposição de 9–12% em 24 horas e 7–8% em 72 horas, particularmente no músculo esquelético, pele, e fígado. Wakabayashi et. al. (2012) avaliaram a farmacocinética do glicidol usando GC-MS após administração oral e intravenosa em ratos Sprague-Dawley (n = 189) e macacos cinomolgos (n = 3) na dose de 75 mg/kg peso corpóreo. A absorção do glicidol após gavagem foi rápida com Tmax de 0.25 horas em ratos e 0.83 horas em macacos. A biodisponibilidade sistêmica do glicidol e ésteres glicidílicos e MCPD em alimentos foi 69% em ratos e 34% em macacos, baseados na proporção do glicidol administrados por via oral e via intravenosa. A eliminação foi rápida com meias vidas de 0.37 e 0.41 hora em ratos e macacos, respectivamente, meia vida oral de 1.3 e 1.5 horas, respectivamente. A concentração máxima e AUC (area under the curve) encontradas foram de 1.64 e 4.92 mg/kg peso corpóreo em ratos e em macacos de 4.92 mg/kg peso corpóreo. Wakabayashi et. al. (2012) também avaliou a toxicocinética no plasma na dose única do glicidil di-linoleato (341 mg/kg peso corpóreo), o qual foi equimolar para dose do glicidol, usando administração por gavagem) em ratos Sprague-Dawley e macacos cinomolgus. Enquanto o éster principal foi observado no plasma dos ratos dosados, não foi detectado em macacos; entretanto, a farmacocinética do glicidol derivada da hidrólise do éster foi medida no plasma de ambas as espécies. O tempo máximo da concentração do glicidol no plasma foi menor após ingestãdo do glicidil di-linoleato por gavagem quando avaliado o glicidol (0.5 versus 0.25 hora em ratos e 1.8 versus 0.83 hora em macacos) e atingiu concentrações menores de glicidol (Valores Cmax de 26 versus 34 lg/mL em ratos e 1.5 versus 8.6 lg/mL em macacos). Entretanto, enquanto o AUC do glicidol, após gavagem de glicidil di-linoleato em ratos excedeu o do glicidol em 28% (41.6 versus 32.4 lg/mL 9 horas), este parâmetro em macacos foi 45% menor do que o observado para glicidil linoleato (9.1 vs 16.4 lg/mL 9 horas). Estas observações foram interpretadas como importantes diferenças entre espécies na hidrólise do éster e biodisponibilidade baseada na fisiologia (exemplos lipase lingual versus lipase gástrica, efeitos do pH no estômago) ou metabolismo do epóxido (epóxido hidrolase ou glutation S-transferase), embora nenhum mecanismo específico tenha sido proposto.

Appel et. al. (2013) reportou biodisponibilidade relativa do glicidol após administração equimolar de doses deste composto (50 mg/kg peso corpóreo) ou glicidil di-palmitato (209 mg/kg peso corpóreo) para ratos machos Wistar por gavagem. Neste experimento, a quantidade relativa dos adutos de dihidroxipropil-valina derivaram da reação do glicidol com resíduo n-terminal da hemoglobina medidos usando-se GC-MS. Níveis máximos similares dos adutos dihidroxipropil-valina foram observados no sangue coletados 24–48 horas após administração do composto, embora o nível máximo do aduto encontrado ter sido atingido antes que o éster (aproximamente 4 versus 24 horas). A excreção do metabólito do glicidol derivado da conjugação inicial do glutation, dihidroxipropil-mercapturato (DHPMA), foi também medido em ratos usando-se LC/MS/MS. A excreção total similar do mercapturato foi observada acima do período de 48 horas em ratos (14% do glicidol administrado versus 13.7% da dose glicidil di-palmitato).

No segundo experimento, a disposição do di-palmitato [14C]glicidil-[3H] foi avaliada no período de 7-dias. A excreção 14C ocorreu primariamente através da urina (41%) e as de 3H occoreu primariamente através das fezes (51%). Isto também foi reportado em 9% de 14C e 23% em 3H associados aos tecidos, embora não tenha sido determinado a relevância da incorporação da ligação covalente do metabólito. A administração por gavagem do glicidol ou ésteres de ácidos graxos produzidos para 3-MCPD no soro de ratos machos F344 excedeu o glicidol em 30 min após sua administração (Onami et. al., 2015). A formação do 3-MCPD após administração por gavagem dos dois mono-ésteres de glicidil foi observada no conteúdo duodenal e cecal dos animais, mas em níveis próximos do limite de quantificação e inconsistentes entre os animais analisados. Em conclusão, glicidol e seus ésteres de ácido graxos são efetivamente absorvidos após ingestão. Ocorre hidrólise substancial pré-sistêmica do glicidol, embora o processo de esterificação possa ser mais extensivo em ratos do que em macacos baseados em diversas medidas da exposição interna do glicidol. O metabolismo da molécula ocorre por diversas vias enzimáticas, incluindo conjugação do glutation e formação do mercapturato. A molécula do glicidol é predominantemente excretada na urina, porém seus metabólitos ainda demandem elucidação, com pequenas quantidades exaladas através da respiração do CO_2, e fezes. Além disso, o glicidol pode se ligar covalentemente às macromoléculas celulares (exemplo DNA e hemoglobina) em virtude da natureza eletrofílica do anel epóxido. A ligação da molécula de glicidol com DNA pode resultar em genotoxicidade e mutações. Além disso, os átomos de carbono na molécula de glicidol podem também ser incorporados em macromoléculas via metabolismo intermediário após a conversão com moléculas tais como glicerol e CO_2. Observa-se expressiva conversão do glicidol e seus monoésteres em 3-MCPD e seus ésteres in vivo.

O NOEL do Glicidol é de 100 mg/kg p.c./dia (NTP, 1990).

2.6.7 Dados Toxicológicos do composto Glicidol

Os estudos de câncer em animais experimentais pela exposição oral ao Glicidol causou tumores em diferentes tecido em camundongos e ratos. A administração do Glicidol por gavagem aumentou a incidências de tumores benignos e/ou malignos na glândula mamária (adenoma, fibroadenoma, ou adenocarcinoma) em ratos de ambos os sexo e camundongos femeas, no estômago (papiloma ou carcinoma) em ratos de ambos os sexos e camundongos machos, na glândula tireóide (célula folicular- adenoma ou carcinoma) no cerébro (glioma) em ratos de ambos os sexos, a glândula de Harder (adenoma ou adenocarcinoma) em camundongos de ambos os sexos, e a pele (papiloma ou carcinoma célula escamosas, tumores na célula basal, adenoma ou adenocarcinoma na glândula sebácea em camundongos de ambos os sexos e ratos machos. Nas concentrações de 37.5 mg/kg pc e 75 mg/kg pc, também foi observado câncer em ratos na glândula zimbal (carcinoma) e testisculo (mesotelioma na tunica vaginalis) e tumores no intestino (pólipos adenomatoso ou adenocarcinoma) em machos e tumores na glândula mamaria (fibroadenoma ou adenocarcinoma), cavidade oral (papiloma or carcinoma), and glândula clitoral (adenoma, adenocarcinoma, ou carcinoma) em fêmeas. Na concentração de 50 mg/kg pc, em camundongos, exposição oral para o Glicidol também se observou câncer do útero (carcinoma ou adenocarcinoma) e tecido subcutâneo (sarcoma ou fibrosarcoma) em fêmeas e tumores no pulmão (alveolar/bronquiolar adenoma ou carcinoma) e fígado (principalmente carcinoma) em machos (NTP 1990, IARC 2000). Também é possível relacionar a exposição do Glicidol ao câncer de estômago glandular (fibrosarcoma) em ratos fêmeas e câncer na bexiga urinária (carcinoma) e testículo (sarcoma do epididimo) em camundongos machos nas concentrações 37.5 mg/kg pc, 50 mg/kg pc e 75 mg/kg pc.

Não foram encontrados na literatura cientica pesquisada studos epidemiológicos que correlacionem alterações do desenvolvimento de câncer em humano e exposição ao glicidol (NTP, 1994).

2.6.8 Cenário Internacional da exposição ao 3-MCPD e glicidol

Estudos preliminares avaliaram a ingestão de 3-MCPD a partir de seus ésteres, considerando a hidrólise completa destes compostos. Com base nesse princípio, o Instituto Federal Alemão para Avaliação do Risco (BfR) estimou que a ingestão de 3-MCPD para adultos através do consumo de óleos e gorduras vegetais poderia chegar a até cinco vezes o valor da PMTDI de 2 µg/kg p.c. estabelecida pelo JECFA, considerando o nível mais alto de ésteres de 3-MCPD encontrado nesses produtos.

Para crianças alimentadas com fórmulas infantis, o BfR estimou que a ingestão de 3-MCPD poderia corresponder de 3,6 a 20 vezes o valor da PMTDI, utilizando os níveis mínimo e máximo de ésteres de 3-MCPD encontrados nas amostras. Com base no mesmo princípio, Zelinková et. al., 2006 estimaram que a ingestão de 3-MCPD devido à presença de seus ésteres em fórmulas infantis poderia atingir até 8,2 vezes o valor da PMTDI.

Considerando a alta biodisponibilidade do 3-MCPD verificada em alguns estudos após administração oral de 3-MCPD-dipalmitato e a indicação de que diésteres estão presentes em concentrações superiores às de monoésteres, estes dados iniciais sugerem que a ocorrência de ésteres de 3-MCPD em alimentos pode estar associada a riscos significativos à saúde humana.

Desde 2009, o Comitê do Codex sobre Contaminantes em Alimentos (CCCF) têm solicitado uma avaliação toxicológica completa dos ésteres de 3-MCPD ao JECFA. Entretanto, como informações importantes estão sendo disponibilizadas, o JECFA ainda não avaliou estes dados. Diante de tais evidências, é altamente recomendável que estratégias de mitigação sejam desenvolvidas de forma a diminuir a exposição dos consumidores a estes compostos.

Foi conduzido um estudo nos Estados Unidos para avaliar a ocorrência de 3-MCPD e ésteres de glicidol em 116 amostras óleos comestíveis industrias e varejo utilizando LC-MS/MS. Neste estudo foram encontrados valores de 0.005 a 7.2 mg/kg de 3-MCPD em 94 óleos refinados. Para o glicidol os valores encontrados foram de 0.09 a 10.5 mg/kg em óleos não refinados e industrias, sendo que as maiores concentrações foram observadas em óleo de palma refinado e oleína de palma (Macmahon et. al., 2013).

Xiao et. al., 2013, conduziu um estudo, em Hong Kong para avaliar a exposição na dieta do 3-MCPD e seus ésteres em 290 amostras individuais de alimentos, onde foram detectados níveis de 3-MCPD para biscoitos (440 µg/kg), óleos e gorduras (390 µg/kg), snacks e pasta chinesa (270 µg/kg). A exposição pela dieta em consumidores de médio e alto consumo foi avaliada entre 0.20 a 0.53 µg.kg p.c./dia, mostrando que a ingestão destes compostos corresponde de 0,7 a 26% da PMTDI, considerando tanto grandes e médios consumidores quanto ao consumo de alimentos processados e de óleos e gorduras. Desta forma este estudo não sugere que possam ocorrer efeitos tóxicos relevantes tendo como causa o 3-MCPD.

No estudo conduzido por Li et. al., 2015, na China, foi avaliado à exposição do 3-MCPD e seus ésteres em 143 amostras de óleos vegetais (girassol, amendoim, canola, gergelim, soja) e amostras de gordura e os resultados médios entre as amostras permaneceram entre 570 a 1518 µg/kg sendo que o óleo de palma apresentou o maior valor de 1518 µg/kg e o óleo de canola 570 µg/kg apresentou, sendo o óleo de canola o menor valor para ésteres de 3-MCPD.

Posteriormente, foram calculados o nível de consumo e peso corpóreo de diferentes grupos etários da população, variando o consumo médio entre 60 a 85. No mesmo estudo foi realizado

a avaliação da exposição chinesa apresentado os resultados médios entre 0.60 a 1.17 µg/kg peso corpóreo) quando comparados com a TDI 2 µg/kg pc, apresentam o consumo seguro dos óleos. Através destes resultados de avaliação de exposição probabilísticos foi observado que os valores médios se encontram abaixo do PMTDI. Entretanto nos altos percentis (95, 97.5 e 99) os valores em todos os grupos etários foram maiores que o PMTDI, observando-se que crianças e adolescentes são mais expostos aos ésteres de 3-MCPD que adultos. O estudo sugeriu a redução do nível de 3-MCPD e seus ésteres em óleos comestíveis e que a redução do consumo seria prioritária para minimizar o risco de 3-MCPD e seus ésteres (Li et. al., 2015).

No estudo realizado por Custodio-Mendonza et. al., 2018 na Espanha, utilizando a cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa/massa e o método QuEchERS, foram analisadas 100 amostras de diferentes óleos vegetais e alimentos gordurosos do mercado local espanhol. Os resultados indicaram que óleo de oliva virgem e óleos brutos (que ainda não haviam passado pelo processo de refino) não apresentavam os analitos. No óleo de palma foram encontrados os maiores valores dos diésteres de 3-MCPD (1,2-Dilinoleoil-3cloropropanodiol (LILI) e 1-2-bispalmitoil-3cloropropanediol (PAPA), sendo que as concentrações atingiram 10 mg/kg. Além disso, na margarina avaliada foram detectados os teores de 8.09, 3.77 e 3.72 mg/kg para LILI, PAPA e 1-oleoil-2-linoleoil-3-cloropropanediol respectivamente.

Neste mesmo estudo, Custodio-Mendonza et. al., 2018 avaliaram o risco da presença deste analitos na população espanhola, onde o consumo de óleo é 12.66 L/pessoa/ano em 2016, especialmente óleo de oliva (8.51 L) dos quais 5.02 L foram óleo de oliva refinado e óleo de girassol (3.21 L). Utilizando os valores obtidos pelos autores e considerando o peso corpóreo de 70 kg por indivíduo, o valor médio de ingestão diária foi de 0.12 a 0.23 µg/kg por dia de óleo refinado de oliva e 0.25 µg/kg óleo de girassol, sendo valor similar ou menor quando comparado ao resto da Europa, e considerado inferior ao TDI (2 µg/kg p.c.) estabelecido pela EFSA.

A avaliação da exposição para o 3-MCPD e seus ésteres foi realizado pela EFSA de 2016 considerando níveis de exposição do composto principal, indiferente da sua forma original. A média e altas exposições crônicas alimentar (P95) estimadas foram altas para grupos jovens (crianças, bebês até 2 anos e crianças até 10 anos) em comparação com adolescente e grupos adultos. Os niveis médios de exposição (reportados como mínimo e máximo foram) faixas de 0.5 à 1.5 µg 3-MCPD/kg pc/dia através de pesquisas alimentas de grupos jovens, de 0.2 à 0.7 µg 3-MCPD/kg pc/dia para adolescentes e grupos adultos. A alta exposição na faixa de 1.1 à 2.6 µg 3-MCPD/kg pc/dia para grupos jovens, de 0.3 à 1.3 µg 3-MCPD/kg pc/dia em adolescentes e adultos. Cenários específicos foram considerados para crianças menores de 2 anos recevendo fórmula infantil, baseado na média e ocorrência P95 do 3-MCPD e seus produtos. A exposição respectiva estimada de 2.4 e 3.2 µg 3-MCPD/kg pc/dia. (EFSA, 2018)

2.6.9 Cenário Brasileiro da exposição ao 3-MCPD e glicidol

No Brasil, Arisseto et. al, 2013 realizaram uma pesquisa de exposição ao 3-MCPD pela dieta em alimentos processados e ingredientes alimentícios, como proteína vegetal hidrolisada, molho de soja, produtos à base de cereais, ingredientes derivados de malte e alimentos defumados. Neste trabalho os alimentos que apresentaram maior consumo foram pães (53 g/pessoa/dia) , sopas 50 g/pessoa/dia) e cerveja (31.1 g/pessoa/dia). Neste mesmo trabalho foram avaliados os níveis do composto 3-MCPD e os alimentos que apresentaram maior valor do composto 3-MCPD foram os molhos (220.6-221.4 µg/kg) e outras (leguminosas 102. 3 µg/kg), os demais alimentos apresentaram valores menores como exemplo os pães apresentaram valores de 3-MCPD de 2.8-10.9 µg/kg. A ingestão foi calculada combinando-se dados sobre o consumo alimentar, fornecidos pela Pesquisa de Orçamento Familiares 2008-2009, com os níveis de ocorrência dos contaminantes, determinados utilizando cromatografia gasosa – espectrometria de massas. A exposição ao 3-MCPD variou de 0,06 a 0,51 µg/kg p.c. considerando médios e grandes consumidores. Com base nesses resultados, verificou-se que a exposição aos cloropropanóis não representa um risco significativo à saúde da população brasileira. Entretanto, o consumo de determinados alimentos contendo altos níveis de 3-MCPD poderia ultrapassar a ingestão diária máxima tolerável provisória de 2 µg/kg p.c. estabelecida para este composto e, assim, representaria uma preocupação potencial.

Não houve diferença na ingestão do composto de 3-MCPD entre homens e mulheres, sendo de 0.1 µg/kg p.c. para consumidores médios e 0.45 µg/kg p.c. para alto consumidores. (Arisseto, et. al. 2013).

Nos resultados apresentados pelo mesmo autor, os adolescentes obtiveram a ingestão de 0.1 a 0.5 µg/kg p.c., adultos obtiveram a ingestão de 0.1 a 0.4 µg/kg p.c., os idosos obtiveram a ingestão de 0.1 a 0.4 µg/kg p.c. Foi também avaliado a ingestão entre a área urbana os valores de ingestão foram de 0.1 a 0.45 µg/kg p.c. e área rural de 0.05 a 0.35 µg/kg p.c. Finalmente na avaliação por região, onde o Nordeste e Sul apresentaram resultados entre 0.1 a 0.5 µg/kg p.c. e a região centro-oeste apresentou o menor valor de 0.05 a 0.35 µg/kg p.c.

Em outro estudo, Arisseto et. al, 2014 avaliou 97 amostras de óleos vegetais e gorduras do mercado brasileiro e encontrou níveis do contaminante 3-MCPD e seus ésteres entre 0.05 a 5.09 mg/kg sendo que as maiores concentrações foram observadas em óleo de bagaço de azeitona e em produtos para aplicação industrial como óleo de palma e suas frações (oleína e estearina).

2.6.10. Consumo de Óleos no Brasil baseado na Pesquisa de Orçamento Familiar

O Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) é o órgão responsável pelo desenvolvimento e publicação das Pesquisas de Orçamentos Familiares (POF) que permitem avaliar, além de outros dados, a tendência do consumo alimentar, de forma indireta, por meio da estimativa de despesas efetuadas com a aquisição de alimentos para consumo no domicílio. A primeira POF desenvolvida pelo IBGE foi denominada Estudo Nacional de Despesa Familiar (ENDEF), correspondendo aos anos de 1974 e 1975, com âmbito territorial nacional com exceção das áreas rurais das regiões Norte e Centro-Oeste. Após essa versão inicial, aconteceram mais quatro pesquisas de orçamentos familiares: entre 1987-1988; 1995-1996; 2002-2003 e a última versão, referente aos anos de 2008-2009 (IBGE, 2011).

As versões anteriores à POF 2008-2009, no que diz respeito ao consumo alimentar, possuíam limitações para uso dos dados, uma vez que não apresentavam informações sobre o consumo efetivo individual, a distribuição intrafamiliar dos alimentos e a quantidade consumida fora do domicílio, tendo coletado apenas dados de aquisição domiciliar de alimentos, possibilitando apenas estimar e inferir sobre tendências no consumo da população. Portanto, as POFs anteriores contemplam o consumo familiar sob a ótica do orçamento domiciliar e não do perfil de consumo individual. Por sua vez, a POF 2008-2009 incorpora informações sobre o consumo alimentar pessoal no Brasil por grandes regiões. Com a divulgação dos resultados do estudo: Análise de Consumo Alimentar Pessoal no Brasil (POF 2008-2009) pelo IBGE, realizado em parceria com Ministério da Saúde, foi possível obter pela primeira vez informações sobre o consumo efetivo individual de alimentos dentro e fora do domicílio, por brasileiros com 10 anos ou mais. Para tanto, os indivíduos participantes da pesquisa (34.003 moradores de 13.569 domicílios) foram orientados a registrar detalhadamente os alimentos consumidos, a forma de preparo (cru, cozido, frito, assado etc.), a quantidade consumida, o horário e onde o consumo ocorreu, dentro ou fora do domicílio (IBGE, 2011).

Com o intuito de avaliar o consumo de óleos no Brasil para posteriormente realizar a avaliação do risco, foi consultado a Pesquisa de Orçamento Familiar divulgado pelo IBGE e foram coletadas as informações contidas na tabela 4.

A tabela 4 apresenta os dados de aquisição alimentar domiciliar anual dos óleos e gorduras

Tabela 4 - Aquisição alimentar domiciliar *per capita* anual, por Grandes Regiões, segundo os produtos - fornecidos de Orçamento Familiares 2008-2009

Produtos	Aquisição alimentar domiciliar *per capita* anual (kg)					
	Brasil	Grandes Regiões				
		Norte	Nordeste	Sudeste	Sul	Centro-Oeste
Óleos e gorduras	8.932	8.752	7.322	9.262	10.587	10.159
Óleos	7.104	7.126	5.503	7.555	8.137	8.622
Azeite de oliva	0.178	0.081	0.063	0.293	0.151	0.124
Óleo de girassol	0.141	0.154	0.058	0.166	0.215	0.155
Óleo de canola	0.064	0.010	0.010	0.098	0.110	0.053
Óleo de milho	0.126	0.059	0.082	0.166	0.174	0.036
Óleo de soja	6.342	6.561	5.054	6.688	6.849	8.082
Óleo não especificado	0.117	0.209	0.133	0.082	0.126	0.143
Outros	0.136	0.053	0.103	0.062	0.512	0.030

Tabela 5 – Consumo alimentar médio per capita e percentual de consumo fora do domicílio em relação ao total consumido, por sexo, segundo os alimentos período 2008-2009

Alimentos	**Consumo alimentar médio per capita (g/dia)**			**Percentual de consumo fora do domicílio em relação ao total consumido (%)**		
	Total	**Masculino**	**Feminino**	**Total**	**Masculino**	**Feminino**
Óleos e Gorduras	6,6	7,0	6,2	7,8	8,5	7,1
Óleos e Gorduras diet/light	0,2	0,1	0,2	14,5	4,5	20,7

2.6.11 Avaliação da Exposição apresentado por 3-MCPD e Glicidol

A metodologia utilizada para a etapa de avaliação de exposição foi realizada através do aplicativo desenvolvido pelo ILSI (Valerio, L.B; Pais, M.C.N, 2015) onde foi considerado a estimativa dos consumos médios diários per capita por Unidade de Federação utilizando como base as informações do IBGE, no POF (Pesquisa Orçamento Familiar, 2008-2009). A escolha da utilização do aplicativo foi a forma com que os dados foram publicados pelo IBGE na edição de 2008-2009 não permite sua utilização imediata para realizar avaliações que necessitem dos dados de consumo dos alimentos em sua forma in natura, uma vez que os alimentos foram citados em sua forma final de consumo. Portanto, além de esta versão fornecer dados claros sobre o consumo de alimentos in natura, oferece também informações acerca do consumo de alimentos preparados e processados. Assim sendo, quando há a necessidade de obter os dados de consumo per capita dos alimentos in natura, tanto os consumidos desta forma quanto a porcentagem advinda de algum alimento preparado ou processado devem ser levados em consideração. Por fim, as quantidades de cada item das receitas, correspondente aos ingredientes in natura, seriam somados à quantidade deste mesmo alimento consumido diretamente in natura.

Na metodologia utilizada foi avaliado que em alguns estados do país, devido ao número reduzido de pessoas na subamostra e ao pequeno registro de consumo de determinados alimentos, preferiu-se a obtenção das estimativas por Grandes Regiões visando à obtenção de estimativas mais consistentes. Segundo informações do IBGE, o desenho da amostra das duas últimas POFs foi estruturado de tal modo que propicia a publicação de resultados nos seguintes níveis: Brasil, Grandes Regiões (Norte, Nordeste, Sudeste, Sul e Centro-Oeste) e por situações urbana e rural (IBGE, 2011). Foram adotadas duas metodologias para a obtenção das estimativas de consumos médios diários per capita: MET 01 – Dados de Consumo do Primeiro Dia e MET 02 – Dados de Consumo Considerando os Dois Dias Reportados – Reporte da Variação Intrapessoal. A primeira metodologia foi baseada naquela utilizada pelo IBGE em que se consideram apenas os dados do primeiro dia de registro. Esta metodologia foi considerada pois os procedimentos estatísticos utilizados na estimativa de consumo usual, a partir da repetição de diário alimentar ou recordatório de 24-horas, não permitem a estimativa do consumo usual de alimentos consumidos episodicamente (Kipnis et. al., 2009), além da consideração de que o primeiro dia de registro apresenta melhor qualidade da informação do que os dias subsequentes (Sawaya et. al., 1996; Subar et. al., 2003). Por fim, ficou evidente que, para caracterizar médias de consumo populacionais, métodos que envolvem a descrição de um dia de consumo são apropriados, desde que a amostra seja representativa de toda população estudada e os dias da semana sejam igualmente representados (Kroes, 2002; Dodd et. al., 2006). Quando a variabilidade intrapessoal

e a distribuição dos consumos individuais forem requeridas, um levantamento de pelo menos dois dias não consecutivos dos referidos métodos (diário ou registro alimentar e o recordatório de 24 horas) deve ser realizado (Kroes, 2002; Dodd et. al., 2006). Sendo assim, para as análises em que a variabilidade intrapessoal é importante, a segunda metodologia (MET 02 – Dados de Consumo Considerando os Dois Dias Reportados – Reporte da Variação Intrapessoal) considerou os dados do primeiro e do segundo dia de registro.

Inicialmente, para o cálculo das estimativas de consumo médio, foi necessário promover a expansão do dado amostral. Cada domicílio pertencente à subamostra da POF representa um determinado número de domicílios da população de onde a amostra original foi retirada. Dessa forma, cada domicílio da subamostra está associado a um peso amostral (fator de expansão) que permite a obtenção de estimativas das quantidades de interesse para o universo da pesquisa (IBGE, 2011).

Para o caso da metodologia em que se consideraram os dados do primeiro e do segundo dia de registro, os números de indivíduos da população foram multiplicados por 2 (para obtenção do total da população nos dois dias de pesquisa). Estimou-se, também, os desvios padrões ponderados pelos fatores de expansão associados a cada estimativa.

Para o contaminante Glicidol, não há estudos de TDI disponíveis na literatura, por esta razão para a avaliação do risco foi utilizado o limite máximo de 1000 (μg/kg p.c.) estabelecido para óleos e gorduras vegetais na legislação Europeia 2018/290 como PMTDI.

3.OBJETIVOS

3.1 Geral

✓ Avaliar a presença dos ésteres de cloropropanóis (3-MCPD) e glicidol em óleos vegetais comestíveis produzidos no Brasil e posteriormente avaliação do risco toxicológico nas commodities.

3.2 Específicos

✓ Identificar e quantificar tais substâncias em amostras de óleos vegetais produzidos no mercado brasileiro pelo método de GC/MS/MS;

✓ Para tanto foi validado um método analítico que permita a identificação e quantificação destes contaminantes em óleo vegetal comestível.

✓ Avaliar o risco toxicológico da presença destes compostos nestas matrizes, ao comparar o nível de consumo do óleo de soja estabelecido pela POF - Pesquisa de Orçamento Familiar– Brasil, 2008 e o teor destes compostos nestes alimentos.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

A determinação do 3-MCPD e glicidol na amostra de óleo vegetal foi realizada por cromatografia gasosa (GC) acoplada ao espectrometria de massa operando no modo tandem (GC-MS/MS)Uma técnica que alguns sistemas sofisticados de GC-MS oferecem é a análise no modo tandem (MS/MS). Nessa técnica, as moléculas de interesse sofrem fragmentação duas vezes. Primeiramente as moléculas são fragmentadas a 70 eV e então o sistema é capaz de isolar e refragmentar um fragmento selecionado (íon pai), gerando o espectro obtido do íon pai. Para escolha do íon pai deve ser realizada uma análise no modo GC-MS (SCAN), e a partir do espectro de massas da molécula de interesse, é selecionado o íon de maior intensidade para ser refragmentado. O equipamento utiliza uma ampla faixa de freqüência de onda para o isolamento do íon pai, que acontece em duas etapas: primeiramente são expulsos os íons de m/z menor que o íon pai e em seguida os de m/z maior que do íon pai. A análise no modo tandem propicia maior seletividade e sensibilidade do sistema GC-MS. O método descreve metodologia direta para determinação dos ésteres de 3-MCPD e 3-MCPD livre após clivagem do éster por catálise alcalina e derivatização com ácido fenilborônico. Este método possibilita determinação indireta dos ésteres de glicidol sobre a suposição que não há outras substâncias presentes que possam reagir na temperatura ambiente com cloreto inorgânico para gerar 3-MCPD (AOCS Cd 29C, 2013). Esta técnica foi escolhida em função da importância e credibilidade da instituição AOCS no mercado de óleos, bem como a necessidade da determinação do 3-MCPD e glicidol pela toxicidade destes contaminantes no processamento de óleos.

4.1 Amostras

As amostras dos óleos de palma, soja, canola, girassol e milho foram coletadas por lote utilizando amostrador automático no processo produtivo dos óleos após a desodorização. As amostras foram coletadas dos fornecedores Agro Premium, Aliança, Cargill, Celena, Cereal, Cofco, Correcta, Indemil, Ingredion, Louis Dreyfus, Parecis, Vopak, Raatz e Pordini.

4.2 Reagentes e padrões

O padrão utilizado foi o 1,2-bis-palmitoester-3-MCPD (equivalente 5,0 µg/Ml livre de 3-MCPD) do fornecedor Toronto Research lote 1AXF24-1. As soluções-estoque foram preparadas nas concentrações de 0,1, 0,3, 0,5, 0,8, 1,0 e 2,0, 3,0, 4,0 e 5,0 mg/kg. Para o Glicidol, foi utilizado o padrão estearato glicidil com pureza de 98% do fornecedor Toronto Research lote 1-EJB-84-1. As soluções-estoque do estearato glicidil foram preparadas 0,05, 0,1 e 5 mg/kg. Os solventes utilizados foram grau PA sendo: tolueno, tert-butil metil éter, metanol, iso-hexano, etil acetato,

dietil éter, iso-octano, ácido sulfúrico, solução aquosa de cloreto de sódio, solução aquosa de brometo sódio, solução de metóxido de sódio e sulfato de sódio. O padrão interno utilizado foi o 1,2-dipalmitato-3-MCPD-d_5 (D5-3-MCPD) (equivalente 5,0 µg/mL livre de 3-MCPD) do fornecedor Toronto Research lote 14-BHW-22-1.

Matriz livre de MCPD

A matriz usada como branco foi o óleo de oliva virgem fabricado marca Borges lote 5002295 L4313H Validade: 6/11/2018, pois o mesmo não possui aquecimento em seu processamento, desta forma não é esperada a formação do 3-MCPD e seus ésteres, bem como o glicidol. O mesmo foi confirmado durante os experimentos.

Amostras de Referência

Foram consideradas no trabalho realizado como amostras de referência, amostras de óleo recebidas das filiais da empresa distribuídas geograficamente pela Europa, Ásia, América do Norte, as quais passaram por testes analíticos nas 8 unidades na empresa (ensaios Inter laboratoriais), e foram estabelecidos os teores de 3-MCPD e glicidol, além de terem sido comparadas com resultados de análise em laboratório externo. Além disso, foi utilizada uma amostra de óleo vegetal do fornecedor FAPAS (padrão proficiência) identificada com a codificação 2649 com valor conhecido de 3-MCPD na faixa de: 1,13 – 2,09 mg/kg e glicidol na faixa de: 0,2 a 0,44 mg/kg. Foi utilizada a matriz óleo de canola do fornecedor FAPAS lote 1063 validade: Dezembro/2018 para realização dos testes de recuperação, precisão e exatidão.

Os equipamentos e vidrarias utilizadas foram:

- Cromatógrafo gasoso Agilent 7890 acoplado ao espectrômetro de massa 7000B;
- Coluna Cromatográfica DB 17-MS, 30 m, ID: 0.25 mm fase estacionária 0,25 microns;
- Pipetas automáticas (volumes: 10-40 µl; 40-200µl);
- Balões volumétricos (10, 25, 100 e 1000 ml);
- Béqueres;
- Estufa aproximadamente 80^0C;
- Balança analítica;

4.3 Preparo das amostras

- As amostras de óleo de canola e óleo de oliva foram fundidas em estufa a 80^0C;
- 2 amostras de óleo de canola e óleo de oliva (100 mg) foram pesadas em tubos de 15 mL, adicionadas de 100 µL do padrão interno 1,2-dipalmitato-3-MCPD-d_5 e 100 µL tert-butil metil éter (Rota A e Rota B), e os dois frascos foram misturados até a completa dissolução das amostras;
- Foi adicionado 200 µL da solução de metóxido de sódio e submetido a agitação;
- O tempo de reação foi de 3,5 a 5,5 minutos, ocasionalmente agitando os frascos de reação.
- A clivagem do éster foi finalizada ao se adicionar no frasco de reação:

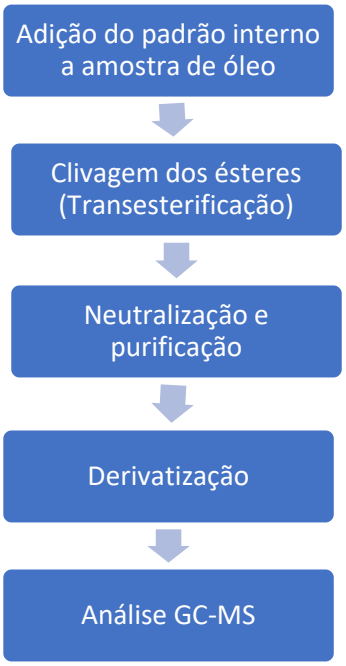
Rota A: 600 µL solução de cloreto sódio acidificado;

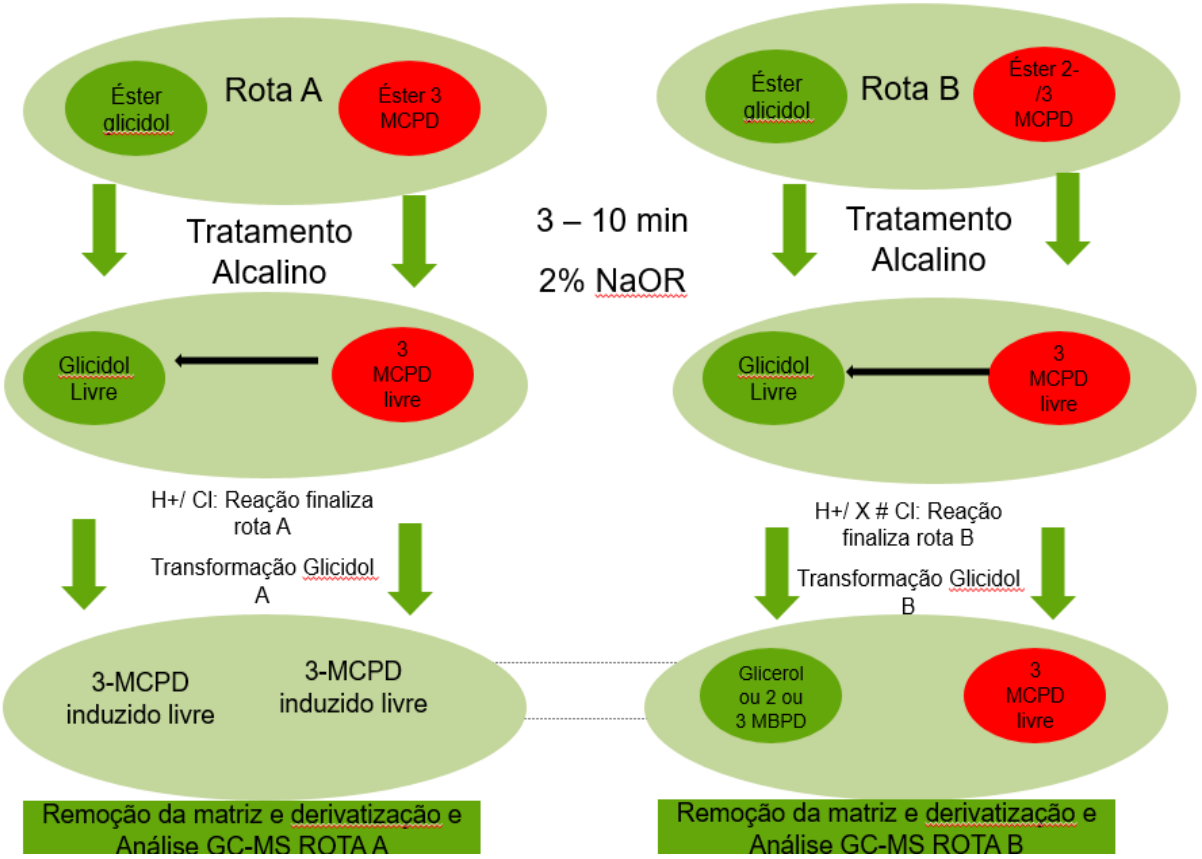
Rota B: 600 µL solução de salina livre de cloreto acidificado;

- Foi adicionado em ambos os frascos 600 µL de iso-hexano, e após vigorosa agitação, os frascos foram deixados a temperatura ambiente por 5 minutos;
- Após nova agitação a fase orgânica foi separada e o procedimento de extração foi repetido com 600 µL de iso-hexano para ambas as rotas;
- A fase aquosa foi extraída três vezes com 600 µL da mistura de dietil éter/acetato de etila (600 µL/mL dietil éter; 400 µL/mL acetato etila). O extrato orgânico foi adicionado a fase aquosa com pequena quantidade de sulfato de sódio para remoção da água. Foram adicionados 20 µL do reagente de derivatização.
- Os extratos foram evaporados à secura usando nitrogênio e redissolvidos com 500 µL de iso-octano.

A figura 11 ilustra a marcha analítica para a análise do contaminante 3-MCPD e Glicidol

Figura 11 Marcha Analítica para análise do contaminante 3-MCPD e Glicidol





Fonte: Hrncirik, 2011

4.4. Análise das amostras

Após a extração com o solvente as amostras de óleo de canola e azeite de oliva foram analisadas pelo GC-MS/MS. Foi usado Hélio como gás de arraste, com fluxo de 1.0 mL min-1. A programação da temperatura foi 85 ºC por 0.5 minutos, aumentada 6ºC/min à 150ºC, novamente aumentada 12ºC/min à 180ºC, e finalmente à 280 ºC com taxa 25ºC/min e isoterma final de 7 min em modo splitless. Todas as amostras foram analisadas no método MRM para quantificação utilizando os íons 150/201 para o padrão, e 147/198 para analito (AOCS 29c , 2013).

As condições cromatográficas foram as seguintes:

Para as injeções realizadas, os parâmetros do instrumento foram:

Injetor: Frontal

Amostrador: Automático

Tempo de Equilíbrio do Forno: 0.5 min

Temperatura Máxima: 325 C

Programação do Forno: 85 °C for 0.5 min, após 6 °C/min até 150 °C por 0 min, então 12 °C/min até 180 °C por 0 min, então 25 °C/min até 280 °C por 7 min

Tempo total da Corrida: 24.833 min

Célula de colisão QQQ EPC

Gás Hélio: 2.25 mL/min

Gás Nitrogênio: 1.5 mL/min

Velocidade da Limpeza do Solvente: 300 µL/min

Velocidade do Dispenser da Limpeza do Solvente: 6000 µL/min

Velocidade da Injeção:6000 µL/min

Modo de Injeção: Splitless

Thermal Aux 2 (MSD Transfer Line)

Programação da Temperatura do injetor: 280 °C

Pressão Vácuo: 9.6686 psi

4.5 <u>Validação do método</u>

O método de validação utilizado se baseou no protocolo EURACHEM edição 2014 (*The Fitness for Purpose of Analytical Methods a Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics*) e SANTE edição 2017 (*Guidance document on analytical quality control and method*

validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed) onde foram analisados os parâmetros recomendados por esta diretriz. As matrizes óleo de soja, girassol, canola, palma e milho foram consideradas similares quanto ao efeito matriz, sendo a canola escolhida para validação, uma vez que é conhecido que a canola possui valores baixos destes contaminantes.

4.5.1 Limite de Detecção (LD)

O limite de detecção é determinado para estabelecer o limite inferior da faixa de operação prática do método (EURACHEM, 2014).

Foi estabelecido através da análise da matriz branca sendo utilizado o óleo de oliva virgem, até o menor nível detectável. Recomenda-se que o LD seja de 2 a 3 vezes superior ao ruído da linha de base (BRASIL, 2003). Recomenda-se que as análises para essa determinação sejam realizadas no mínimo em 6 replicatas (EURACHEM, 2014). No presente trabalho foram analisadas 20 replicatas.

4.5.2 Limite de Quantificação (LQ)

Foi estabelecido através da análise da matriz branca até o menor nível determinado com precisão e exatidão aceitáveis. Considera-se este limite quando for 10 vezes superior ao ruído da linha de base (BRASIL, 2003). Outra abordagem é a utilização de calcular o desvio padrão das análises e multiplicar por 10 utilizando a equação $LOQ = k_Q \times s'_0$. Sendo s'_0 desvios padrão usado para calcular LQ e k_Q usualmente é 10 (EURACHEM, 2014). Recomenda-se que as análises para essa determinação sejam realizadas no mínimo em 6 replicatas. No presente trabalho foram analisadas 20 replicatas da matriz isenta dos contaminantes e 6 replicatas para os padrões. Também foi realizado ensaios utilizando o padrão de 1,2-bis-palmitoester-3-MCPD e glicidil estearato na concentração de 50 μg/kg para comprovar o limite experimental de quantificação, utilizando o menor nível da curva de calibração e realizando 6 replicatas para o padrão de 1,2-bis-palmitoester-3-MCPD e glicidil estearato.

4.5.3 Linearidade

Linearidade do método, que corresponde ao intervalo das concentrações em que a intensidade da resposta do detector é proporcional às concentrações consideradas (CHASIN et. al., 1998), foi realizado pela adição de diferentes concentrações (0,05, 0,1, 0,3, 0,5, 0,8, 1,0 e 2,0, 3,0, 4,0, 5,0 e 10 mg/kg) do analito às amostras de azeite, abrangendo diversos pontos do intervalo de faixa dinâmica. Estas amostras, juntamente com o branco, foram analisadas em sete replicatas. A linearidade é uma importante propriedade de métodos utilizados para fazer

medições numa faixa de concentrações; a linearidade é a resposta a padrões puros e a amostras (SANTE, 2017).

A linearidade de um método pode ser observada pelo gráfico dos resultados dos ensaios em função da concentração do analito e verificada a partir da equação da regressão linear, determinada pelo método dos mínimos quadrados. Para tal, deve ser verificada a ausência de valores discrepantes para cada nível de concentração e a homocedasticidade dos dados, antes de fazer a regressão linear. A sensibilidade é a inclinação da curva analítica. (INMETRO,2003).

Foi também avaliado a análise de resíduos decorrentes dos ajustes da curva analítica, sendo um conjunto de técnicas utilizadas para investigar a adequabilidade de um modelo de regressão, sendo que a análise de gráfico de resíduos permite detectar problemas no ajuste da curva. as suposições do modelo ajustado precisam ser validadas para que os resultados sejam confiáveis. O gráfico de análise de resíduos também permite observar o comportamento das variâncias em uma curva de calibração com o aumento da concentração. (EURACHEM, 2014).

4.5.4 Curva de Calibração

Uma vez definida a faixa de trabalho para o preparo da curva de calibração foram adicionadas as soluções-padrão de 1,2-dipalmitato-3-MCPD-d_5, para se obter as concentrações desejadas. Tais amostras assim como o branco foram submetidas ao procedimento analítico descrito no início da metodologia. Para cada bateria de amostras analisadas foi realizada uma curva de calibração correspondente. Foi avaliada a presença de possíveis valores aberrantes através do teste de Grubbs (Miller, 1993). Com intuito de verificar a eficiência do modelo proposto de regressão linear foi construído e analisado o gráfico de resíduos. O resíduo foi calculado através da diferença do valor observado e o valor calculado através da equação da reta, de regressão, para cada valor x. O teste de Grubbs consiste na equação:

$$Grubbs = \frac{< valor\ estranho\ -\ média >}{desvio\ padrão}$$

4.5.5 Precisão do Método Analítico

A precisão do método analítico corresponde ao parâmetro que avalia a proximidade entre várias medidas efetuadas em uma mesma amostra. A medida de precisão pode ser expressa através do cálculo do desvio padrão e do coeficiente de variação, obtidos em condições determinadas de repetibilidade e/ou reprodutibilidade (CHASIN et. al., 1998). A repetitividade indica a variabilidade observada dentro do laboratório, por um curto período, usando o mesmo operador, o mesmo equipamento, entre outros fatores. A precisão pode ser estimada dentro de

um laboratório ou por estudos Inter laboratoriais. O desvio padrão da reprodutibilidade Inter laboratorial para um método específico só pode ser estimado diretamente através de estudos Inter laboratoriais. Ele mostra a variabilidade obtida quando diferentes laboratórios analisam a mesma amostra. A precisão intermediária corresponde a variação de resultados observados quando um ou mais fatores, tais como tempo, equipamento e operador, variam dentro do laboratório; são obtidos valores diferentes dependendo de quais fatores são mantidos constantes. Estimativas da precisão intermediária são geralmente determinadas dentro dos laboratórios, mas também pode ser determinada através de estudos Inter laboratoriais. A precisão observada de um procedimento analítico é um componente essencial da incerteza total, e deve ser determinado por combinação de variâncias individuais ou pelo estudo do método completo de operação (EURACHEM, 2014). No ensaio de precisão foi realizado 6 replicatas nas seguintes concentrações utilizando azeite como matriz em três níveis diferentes: 0.05 mg/kg, 1.0 mg/kg e 5.0 mg/kg para validação para o composto 3-MCPD utilizando o padrão de 1,2-bis-palmitoester-3-MCPD. Para o Glicidol foi utilizado o padrão de glicidil estearato nos níveis 0.05, e 5.0 mg/kg.

Segundo a SANTE (2017), os valores são aceitos se obedecerem aos critérios de 70 a 120% de recuperação e ±20% de variação entre os resultados.

4.5.6 Exatidão

A exatidão representa o grau de concordância entre os resultados individuais encontrados em um determinado ensaio e um valor de referência aceito como verdadeiro (RIBANI et. al, 2004), sendo sempre verificada dentro de certos limites ou faixas de aceitação, determinados pelas concentrações estudadas, podendo ser valores estreitos em níveis de concentração elevados e mais amplos em níveis de traços. A exatidão pode ser calculada a partir da análise de amostras de referência, de comparação entre métodos e de estudos de recuperação. Para o presente estudo, foram realizados estudos de recuperação, em 6 replicatas e em três níveis de concentrações diferentes.

A exatidão foi estudada a partir dos mesmos dados obtidos para o ensaio de precisão sendo os valores de aceitação entre 70 e 120% de recuperação, com DPR (Desvio-padrão Relativo, ou RSD – Relative Standard Deviation). Segundo a SANTE (2017), os resultados acima de 120% podem ser aceitos, se os mesmos apresentarem boa precisão (dentro do limite de ±20%).

4.5.7 Seletividade

A seletividade foi estudada através da injeção de amostras brancas: óleo bruto de canola e girassol; óleo degomado para soja; azeite de oliva de oliva e realizado a comparação com os picos cromatográficos do analito e através da avaliação das relações sinal/ruído. Foi também

realizada fortificação nas matrizes de amostras de canola, girassol, algodão, soja, solvente e palma adicionando o padrão 1,2-dipalmitato-3-MCPD-d_5 e posteriormente realizado a recuperação dos mesmos e avaliado com base nos valores de aceitação entre 70 e 120% de recuperação, com DPR (Desvio-padrão Relativo, ou RSD – Relative Standard Deviation). Segundo a SANTE (2017), os resultados acima de 120% podem ser aceitos, se os mesmos apresentarem boa precisão (dentro do limite de ±20%)

4.5.8 Robustez

Segundo o INMETRO (2003), a robustez de um método mede a sensibilidade que este apresenta frente a pequenas variações. Diz-se que um método é robusto quando ele não é afetado por uma modificação pequena e deliberada em seus parâmetros (Ribani et. al., 2004).

A robustez permite não somente avaliar este parâmetro no método, mas também demonstrar a influência de cada parâmetro analítico nos resultados (Cezar & Pianetti, 2009).

Para avaliar a robustez no presente método, foram selecionados três parâmetros, realizados em quatro ensaios, independentes entre si e susceptíveis de influenciarem os resultados das determinações: o volume do derivatizante entre 10 e 30 µL e tempo de reação do tratamento alcalino, onde foi variado entre 3.5 e 5.5 minutos. E finalmente variou-se o tempo de extração de 5 e 10 min com iso-hexano. Foram avaliados a fixação dos valores nominais e alternativos para quantificação dos desvios dos fatores em relação aos valores prescritos. A amostra utilizada nos ensaios de robustez foi a de referência FAPAS 2649 com valor conhecido de 3-MCPD na faixa de: 1,13 – 2,09 mg/kg. Representa-se normalmente o valor nominal por “1” e o valor alternativo por “-1” (RELACRE, 2000). A Tabela 6 apresenta o plano de ensaio típico experimental de robustez.

Tabela 6. Quadro Típico para Plano de Ensaio de Robustez

	A	B	C	Rei
1^0 Ensaio	1	1	1	RE1
2^0Ensaio	1	-1	-1	RE2
3^0Ensaio	-1	1	-1	RE3
4^0Ensaio	-1	-1	1	RE4
	RA	RB	RC	

Onde:

Re1= resultado obtido pela combinação do ensaio i;

A,B,C = fatores em análise (valor nominal/valor alternativo)

Ri = (A,B,C) = efeitos de cada fator

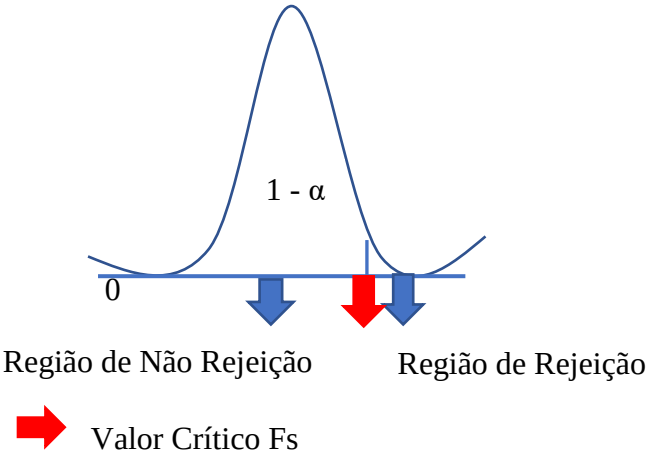
A = Volume do derivatizante, onde (1) = 10 µL e (-1) = 30 µL

B = Tempo de reação do tratamento alcalino, onde (1) = 3.5 min e (-1) = 5.5 min

C = Tempo de extração com iso-hexano, onde (1) = 5 min e (-1) = 10 min

Com o intuito de avaliar os resultados obtidos foi realizado o teste de variância (ANOVA) onde foi utilizado o teste de hipótese F, sendo que a estatística do teste F segue uma distribuição F, com c-1 graus de liberdade (gl), correspondente a média quadrados de (MQ) no numerador e n-c graus de liberdade correspondente a média de quadrados no denominador. Para um dado nível de significância, α, a hipótese nula é rejeitada, se a estatística do teste F calculada for maior que o valor crítico da causa superior, a partir da distribuição F, tendo c-1 graus de liberdade, no numerador e n-c graus de liberdade no denominador, sendo ilustrado na figura 12.

Figura 12. Ilustração Gráfica do Teste F



5. RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Validação do Método

5.1.1 Limite de Detecção e Quantificação

Como mencionado no item materiais e métodos, este estudo utilizou a matriz branca de Azeite de Oliva para avaliação do limite de detecção e quantificação. Os resultados encontrados são apresentados na tabela 7.

Tabela 7: Valores obtidos durante a avaliação do Limite de Detecção e Quantificação para 3-MCPD e Glicidol

Matriz Branca = Óleo de Oliva Virgem Número de Replicatas	**3-MCPD (µg/kg)**	**Glicidol (µg/kg)**
1	85	7
2	44	55

3	47	45
4	78	18
5	92	1
6	77	21
7	89	5
8	72	25
9	66	37
10	77	22
11	92	0
12	75	18
13	53	30
14	94	1
15	75	20
16	76	24
17	84	13
18	81	16
19	76	26
20	83	9
Média (µg/kg)	75.8	19.7
Desvio Padrão (µg/kg)	14.1	14.5
Limite de Detecção - LD ((µg/kg)	42.4	43.5
Limite de Quantificação - LQ ((µg/kg)	141	145

Observa-se na tabela 7 que foram realizadas vinte repetições da matriz branca para os contaminantes 3-MCPD e glicidol, e considerando três vezes o desvio padrão (EURACHEM, 2014) para o 3-MCPD, foi estabelecido o limite de detecção – LD - de 42,4 µg/kg, e para o glicidol, considerando três vezes o desvio padrão, foi estabelecido o limite de detecção de 43,5 µg/kg.

Para a determinação do limite de quantificação foi considerado 10 vezes o desvio padrão (EURACHEM, 2014) estabelecendo o valor de 141 µg kg, e de 145 µg/kg, respectivamente, como os limites de quantificação para o 3-MCPD e para o Glicidol. Para esta determinação foram considerados os resultados obtidos através do sinal/ruído.

Entretanto, com o intuito calcular o valor experimental do limite de quantificação foram realizados ensaios de 6 replicatas utilizando o padrão 1,2-bis-palmitoester-3-MCPD, na concentração de 50 µg/kg, onde os resultados são apresentados na tabela 8.

Tabela 8: Resultados analíticos da concentração de padrão 1,2-bis-palmitoester-3-MCPD na concentração de 50 µg/kg.

Padrão	Área Padrão Interno	Relação Padrão Interno/Padrão	Desvio Padrão
LQ 50 replicata-1	38719	0,018	0,00133
LQ 50 replicata-2	22266	0,020	
LQ 50 replicata-3	17682	0,021	
LQ 50 replicata-4	18000	0,019	
LQ 50 replicata-5	57387	0,018	
LQ 50 replicata-6	88577	0,020	

Assim, a tabela 8 indica que foram realizadas 6 repetições do padrão de 1,2-bis-palmitoester-3-MCPD e considerando três vezes o desvio padrão 1,2-bis-palmitoester-3-MCPD (EURACHEM, 2014) para o 3-MCPD.

Os valores calculados do LD e LQ foram uma estimativa do que pode ser atingido pelo equipamento através dos cálculos indicados na tabela 8. Foi adotado o valor de 50 µg/kg como valor experimental de LQ para o componente 3-MCPD uma vez que o valor 50 µg/kg foi o menor valor obtido com precisão adequada através da curva de calibração.

O mesmo foi realizado para o padrão de glicidil estearato na concentração de 50 µg/ kg, em 6 replicatas cujos resultados são apresentados na tabela 9:

Tabela 9: Resultados analíticos da concentração de padrão glicidil estearato na concentração de 50 µg kg.

Padrão	Valores Obtidos	Desvio Padrão
LQ 50 replicata-1	0,043	0,002412
LQ 50 replicata-2	0,046	
LQ 50 replicata-3	0,041	
LQ 50 replicata-4	0,040	

LQ 50 replicata-5	0,042	
LQ 50 replicata-6	0,047	

Assim, a tabela 9 indica que foram realizadas 6 repetições do padrão de glicidil estearato e estabelecendo o desvio padrão entre as replicatas 1 e 2 (EURACHEM, 2014) para este analito.

Desta forma foram estabelecidos os limites de detecção - LD (3-MCPD: 42,4 µg/kg; Glicidol: 43,5 µg/kg) e limites de quantificação - LQ (3-MCPD: 50.0 µg/kg; Glicidol: 50 µg/kg) comparáveis com estudos anteriores realizados e encontrados na literatura (Arisseto et. al., 2014), neste estudo o autor obteve o limite de quantificação onde o método foi validado com 50 µg/kg LD e 100 µg/kg. Vale ressaltar que a metodologia utilizada pelo autor difere da metodologia utilizada, sendo esta uma metodologia indireta com conversão ácida para os compostos de interesse do presente estudo, onde foi utilizada a conversão alcalina.

Entretanto, os resultados encontrados neste estudo apresentaram valores maiores quando comparados com estudos realizados por outros autores, como na validação realizada por Kuhmann, 2011, o limite de detecção para Glicidol foi 25 µg/kg. Na validação, realizada por Kuhman, 2011, o autor utilizou a metodologia de clivagem alcalina de ésteres, sendo a mesma clivagem utilizada no presente trabalho, porém os compostos de interesse da validação proposta pelo autor são a formação dos compostos 2-MCPD, 3-MCPD e Glicidol, a qual difere do presente trabalho.

Wenzl et. al., 2015 validaram o método usando PBA internamente para 3- e 2-MCPD, e usando amostras de biscoitos, batata, cereais, pão, carne e peixe e encontrando boa correlação com os resultados das amostras analisadas com HFBI. Neste caso o LQ foi de 15 e 10 µg/kg para formas livres do 3-MCPD e 2-MCPD, respectivamente. O LQ do glicidol liberado dos ésteres em base óleos foi de 30 µg/kg, resultados menores quando comparado com os encontrados no presente trabalho cujo LQ é de de 50 µg/kg para glicidol.

5.1.2 Linearidade e Curva de Calibração

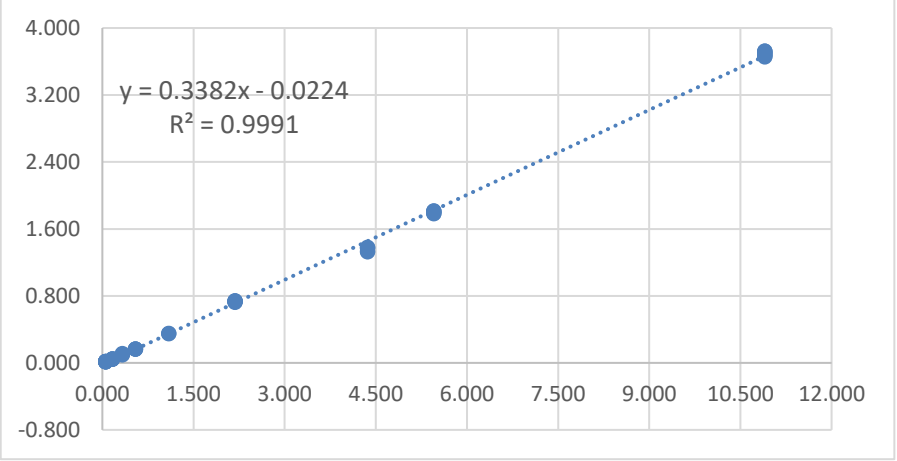
A curva de calibração foi realizada nas concentrações 0,05, 0,1, 0,3, 0,5, 1,0 e 2,0, 4,0, 5,0 e 10 mg/kg do padrão 1,2-bis-palmitoester-3-MCPD. A tabela 10 apresenta os dados obtidos da área do padrão 1,2-bis-palmitoester-3-MCPD através da utilização do padrão interno (dipalmitato d5-3-MCPD).

Tabela 10: Curva de calibração dos níveis 0,05, 0,1, 0,3, 0,5, 1,0 e 2,0, 4,0, 5,0 e 10 mg/kg do padrão 1,2-bis-palmitoester-3-MCPD.

Média				
Padrões	**Concentrações mg kg^{-1}**	**Resultados**	**Desvio Padrão**	**Recuperação (%)**
0,05	0,05	0,047	0,074	85,2
0,1	0,1	0,099133	0,095281	99,133
0,3	0,3	0,292757	0,047996	102,472
0,5	0,5	0,493886	0,075827	98,777
0,8	0,8	0,8082	0,04687	101,025
1	1	1,159729	0,345629	115,973
2	2	2,01075	0,068498	100,538
3	3	2,898814	0,165686	96,627
4	4	4,191186	0,387773	104,780
5	5	5,001	0,186188	100,010
10	10	10,01	0,067	100,3

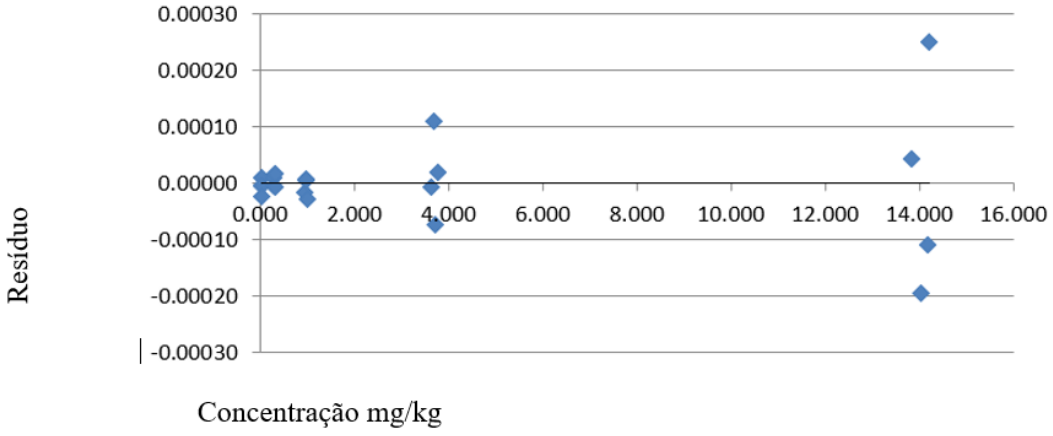
A figura 13 ilustra a curva de calibração do padrão 1,2-bis-palmitoester-3-MCPD, com linearidade adequada (0 – 10,0mg kg^{-1}, r^2, = 0,9991), pois a resposta da curva foi linear obedecendo a equação y = 0,3382x – 0,0224.

Figura 13: Curva de calibração relativa aos teores com variação de 0 – 10 mg kg^{-1} do padrão 1,2-bis-palmitoester-3-MCPD



No gráfico de análise de resíduos ilustrado na figura 14, observa-se uma distribuição aleatória em torno da linha da reta confirmando a linearidade do método. De acordo com a análise de resíduos apresentaram o comportamento homocedástico e normalmente distribuído.

Figura 14: Análise de resíduos obtidos através da curva de calibração



Na validação realizada por Kuhmann, 2011, o autor obteve uma linearidade de r^2 >0.999 com faixa de trabalho de 0,1 a 5,7 mg/kg. No método validado no presente trabalho, os resultados obtidos nos ensaios da curva de calibração e linearidade demonstraram que este é capaz de expressar resultados com boa linearidade (0 - 10.0mg kg, r^2, = 0,9991). Os resultados obtidos nos ensaios de recuperação obedeceram aos critérios de 70 a 120% de recuperação, e ±20% de variação entre os resultados de acordo com SANTE (2017).

5.1.3 Precisão

5.1.3.1 3-MCPD

O ensaio de precisão foi realizado em 6 replicatas nas concentrações 0.05, 1.0 e 5.0 mg/kg do padrão 1,2-bis-palmitoester-3-MCPD utilizando azeite de oliva. Os resultados são apresentados na tabela 11.

Tabela 11: Ensaio de Precisão nas concentrações 0,05, 1,0 e 5,0 mg/kg para 3-MCPD

Amostras	Replicata 1 (mg/kg)	Replicata 2 (mg/kg)	Replicata 3 (mg/kg)	Replicata 4 (mg/kg)	Replicata 5 (mg/kg)	Replicata 6 (mg/kg)
Nível Baixo Dia 1	0,057	0,058	0,061	0,049	0,056	0,061
Nível Baixo Dia 2	0,063	0,069	0,070	0,064	0,063	0,067
Nível Baixo Dia 3	0,067	0,066	0,054	0,062	0,059	0,064
Nível Médio Dia 1	1,040	1,035	1,103	1,075	1,099	1,087

Nível Médio Dia 2	1,097	1,090	1,140	1,140	1,136	1,121
Nível Médio Dia 3	1,097	1,087	1,151	1,161	1,148	1,142
Nível Alto Dia 1	5,101	5,022	5,206	5,238	5,319	5,278
Nível Alto Dia 2	5,452	5,529	5,499	5,560	5,409	5,327
Nível Alto Dia 3	5,471	5,383	5,656	5,636	5,728	5,701

Um resumo dos resultados de ensaio de precisão e precisão intermediária são indicados na tabela 12

Tabela 12: Ensaio da Repetibilidade e Reprodutividade Intermediária para 3-MCPD

Replicatas	**Média (mg/kg)**	**Repetibilidade**		**Reprodutibilidade Intermediária**	
		DPR	**CV [%]**	**DPR (iR)**	**CV [%]**
18	0,06	0,005	7,43	0,01	9,87
18	1,11	0,023	2,08	0,04	3,15
18	5,52	0,104	1,88	0,23	4,12

DPR = Desvio Padrão

CV = Coeficiente de Variação

Os resultados obtidos para o composto 3-MCPD nos níveis 0,05, 1,0 e 5,0 mg/kg para 3-MCPD, sendo 7,43, 2,08 e 1,88 atenderam respectivamente a variação de 20% entre os resultados para repetibilidade. Na reprodutibilidade intermediária os resultados obtidos para o composto 3-MCPD nos níveis 0.05, 1,0 e 5,0 mg/kg para 3-MCPD, foram 9,87, 3,15 e 4,12 e atenderam respectivamente a variação de 20% entre os resultados.

5.1.3.2 Glicidol

O ensaio de precisão foi realizado em 6 replicatas nas concentrações 0.05 e 5.0 mg/kg do padrão de glicidol utilizando azeite de oliva como matriz e os resultados são apresentados na tabela 13, sendo que a tabela 14 apresenta o resumo da precisão do método utilizado na analise do Glicidol.

Tabela 13: Taxa de Recuperação da fortificação com 0,05 e 5,0 mg/kg de Glicidol

Amostras	Replicata 1 (mg/kg)	Replicata 2 (mg/kg)	Replicata 3 (mg/kg)	Replicata 4 (mg/kg)	Replicata 5 (mg/kg)	Replicata 6 (mg/kg)
Nível Baixo Dia 1	0,043	0,046	0,041	0,040	0,042	0,047
Nível Baixo – Dia 2	0,041	0,043	0,043	0,041	0,042	0,047
Nível Alto – Dia 1	5,274	5.230	5,236	5,410	5,411	5,385
Nível Alto – Dia 2	5,088	5,221	5,070	5,089	5,264	5,092

Tabela 14: Ensaio de Precisão do composto Glicidol

Replicatas	**Média (mg/kg)**	**Repetibilidade**		**Reprodutibilidade Intermediária**	
		DPR	**CV [%]**	**DPR (iR)**	**CV [%]**
18	0,043	0,002412	5,6	0,003	5,9
18	5,2308	0,1268	2,42	0,008	2,6
18	5,52	0,104	1,88	0,23	4,12

DPR = Desvio Padrão

CV = Coeficiente de Variação

Os resultados obtidos para o glicidol nos níveis 0,05 e 5,0 mg/kg, de 5,6% e 2,42 % atenderam respectivamente a variação de 20% para repetibilidade. Em reprodutibilidade intermediária os resultados obtidos nos níveis 0,05 e 5,0 mg/kg p-MCPD, foram 5,9, e 2,6 % e atenderam respectivamente a variação de 20% entre os resultados. Os dados obtidos no presente trabalho, são, portanto, compatíveis para o ensaio de precisão. Wenzl et. al. (2015) encontrou valores de 5–15% para óleo fortificado com 50 µg/kg ésteres de ácido graxo de 3- e 2-MCPD e GE e valores similares para batata fritas.

5.1.4 Exatidão

5.1.4.1 3-MCPD

Os resultados do ensaio de exatidão realizado em 6 replicatas nas concentrações 0,05 mg/kg, 1,0 mg/kg e 5,0 mg/kg utilizando azeite são apresentados na tabela 15.

Tabela 15: Resultado da Exatidão do método utilizado, para as concentrações 0,05 mg/kg, 1,0 mg/kg e 5,0 mg/kg para 3-MCPD

Amostras	Replicata 1 (mg/kg)	Replicata 2 (mg/kg)	Replicata 3 (mg/kg)	Replicata 4 (mg/kg)	Replicata 5 (mg/kg)	Replicata 6 (mg/kg)	Média	Desvio PadrãoDPR	Recuperação (%)
Nível Baixo Dia 1	0,057	0,058	0,061	0,049	0,056	0,061	0,057	0,004427	114
Nível Baixo Dia 2	0,063	0,069	0,07	0,064	0,063	0,067	0,066	0,003098	132
Nível Baixo Dia 3	0,067	0,066	0,054	0,062	0,059	0,064	0,062	0,004858	124
Nível Médio Dia 1	1,0400	1,0350	1,1030	1,0750	1,0990	1,0870	1,073167	0,029356	107,3167
Nível Médio – Dia 2	1,0970	1,0900	1,1400	1,1400	1,1360	1,1210	1,120667	0,022286	112,0667
Nível Médio Dia 3	1,0970	1,0870	1,1510	1,1610	1,1480	1,1420	1,131	0,03099	113,1
Nível Alto – Dia 1	5,1010	5,0220	5,2060	5,2380	5,3190	5,2780	5,194	0,112244	103,88
Nível Alto – Dia 2	5,4520	5,5290	5,4990	5,5600	5,4090	5,3270	5,462667	0,085549	109,2533
Nível Alto – Dia 3	5,4710	5,3830	5,6560	5,6360	5,7280	5,7010	5,595833	0,137581	111,9167

Os resultados obtidos na recuperação para o composto 3-MCPD atenderam ao critério de 70 a 120%. Entretanto no nível 0,05 mg/kg, os valores ultrapassaram 120%. Ainda assim, de acordo com SANTE, 2017 valores de exatidão eventualmente podem ultrapassar o limite de 120% desde

que mantenham a precisão, desta forma, considera-se que o método atendeu aos requisitos de exatidão.

5.1.4.2 Glicidol

Os resultados do ensaio de exatidão, para o glicidol, realizado em 6 replicatas nas concentrações 0,05 e 5,0 mg/kg utilizando o azeite de oliva como matriz são apresentados na tabela 16.

Tabela 16: Resultados obtidos na avaliação da Exatidão do Composto Glicidol

Amostras	Média	Desvio Padrão DPR	Recuperação (%)	Coeficiente de variação CV (%)
Nível Baixo – Dia 1	0,043167	2,651159	86,33	1,62
Nível Baixo – Dia 2	0,042833	2,518619	85,66	1,70
Nível Alto – Dia 1	5,324333	0,126877	106,48	4,16
Nível Alto – Dia 2	5,137333	0,08295	102,74	6,1

Como pode ser observado na tabela 16 os valores de exatidão e CV do glicidol atenderam o critério da SANTE (2017), uma vez que apresentou variação de 70 a 120% de recuperação, e ±20% de variação entre os resultados.

Em outra abordagem visando avaliar a exatidão, o padrão de referência FAPAS foi analisado em 2 dias consecutivos em 6 replicatas, sendo que o mesmo apresenta o valor conhecido de 3-MCPD na faixa de 1,13 – 2,09 mg/kg. Os resultados são apresentados na tabela 17.

Tabela 17: Análise do Padrão de Referência FAPAS, com valor conhecido de 3-MCPD na faixa de 1,13 – 2,09 mg/kg, realizado em 2 dias consecutivos em 6 replicatas

3-MCPD

Amostras	Replicatas						Média	Desvio Padrão DPR	Coeficiente de Variação CV %	Recuperação (%)
	1	2	3	4	5	6				
Fapas Dia 1 (mg/Kg)	1,702	1,627	1,641	1,579	1,701	1,704	1,56	0,05	3,11	96,9
Fapas Dia 2 (mg/Kg)	1,349	1,467	1,442	1,398	1,516	1,591	1,461	0,08	5,87	98

A tabela 18 apresenta os resultados das análises do Padrão de Referência FAPAS para glicidol, realizadas em 2 dias consecutivos, em 6 replicatas

Tabela 18: Resultados das análises do Padrão de Referência FAPAS para glicidol, realizadas em 2 dias consecutivos, em 6 replicatas

Glicidol

Amostras	Replicatas						Média	Desvio Padrão DPR	Coeficiente de Variação CV (%)	Recuperação (%)
	1	2	3	4	5	6				
Fapas Dia 1 (mg/Kg)	0,375	0,360	0,373	0,330	0,346	0,377	0,3602	0,018	5,2	120
Fapas Dia 2 (mg/Kg)	0,371	0,383	0,378	0,302	0,325	0,370	0,3548	0,033	9,34	118

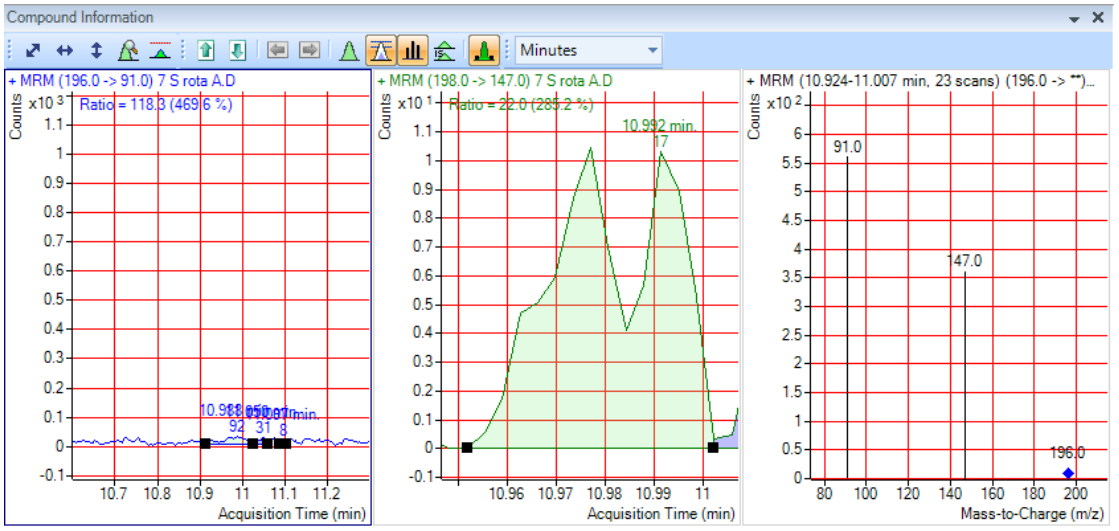
Os valores de recuperação e CV, tanto para o 3-MCPD quanto para o glicidol, obedecem aos critérios de 70 a 120% de recuperação, e ±20% de variação entre os resultados, preconizados por SANTE (2017).

5.1.5 Seletividade

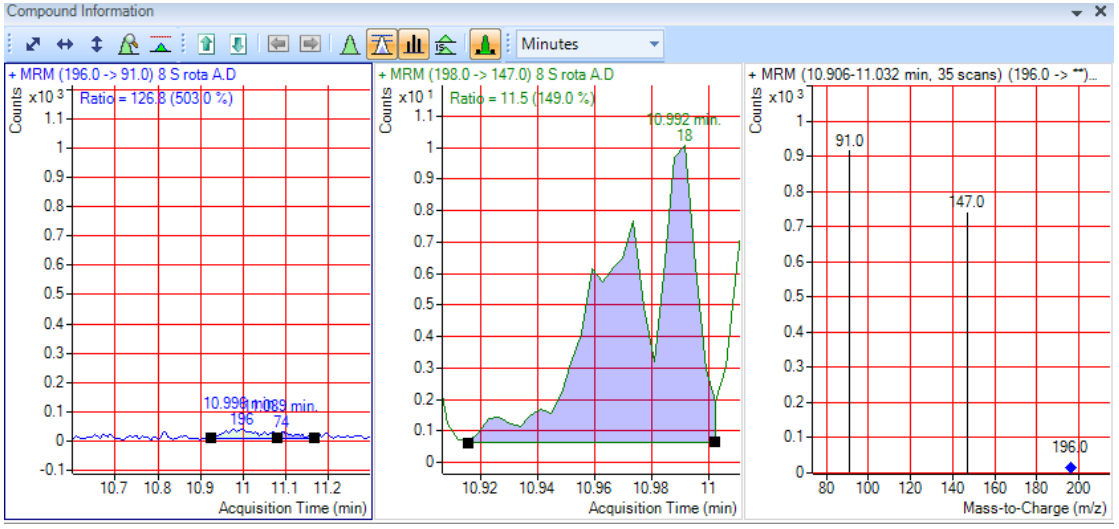
Na seletividade foram utilizados os óleos de canola bruto, soja degomada, girassol degomada, e azeite. As análises foram realizadas, em duplicata. Nos tempos de retenção 11,2 min ± 0,3 min., não foram encontrados os picos referentes aos compostos 3- MCPD e glicidol. A figura 15 iustra um exemplo destes resultados, para o óleo de girassol bruto.

Figura 15. Ilustração cromatográfica do Óleo de girassol bruto nos tempos de retenção 11,2 min. ± 0,3 min.

Duplicata 1



Duplicata 2



A tabela 19 apresenta os resultados dos ensaios de recuperação das matrizes óleo de algodão, óleo de canola, óleo de girassol, óleo de milho, óleo de palma, óleo de soja e solvente fortificado com padrão 1,2-dipalmitato-3-MCPD-d5

Tabela 19: Ensaios de Recuperação das matrizes óleo de algodão, óleo de canola, óleo de girassol, óleo de milho, óleo de palma, óleo de soja e solvente fortificado com padrão 1,2-dipalmitato-3-MCPD-d5

Amostras	Replicata 1 (mg/kg)	Replicata 2 (mg/kg)	Amostra Fortificada (mg/kg)	Amostra Fortificada (mg/kg)	Recuperação replicata 1 (%)	Recuperação replicata 2 (%)
Óleo de algodão	0,1022	0,1035	1,3001	1,3001	109,90	109,78

Óleo de canola	0,0544	0,0537	1,1662	1,1511	102,00	100,68
Óleo de girasol	0,1889	0,1941	1,2855	1,3279	100,60	104,02
Óleo de Milho	0,1061	0,1123	1,1961	1,2026	100,00	100,03
Óleo de palma	0,2330	0,2465	1,3460	1,3328	102,11	99,66
Óleo de soja	0,4848	0,4795	1,6515	1,7748	107,03	118,83
Solvente	0,0178	0,0169	0,5641	0,5498	100,24	97,78

De acordo com o ensaio de recuperação realizado nos diferentes óleos de algodão, canola, de girassol, milho, palma e soja, observa-se que não há efeito da matriz, e atende aos critérios de 70 a 120% de recuperação e ±20% de variação entre os resultados (SANTE, 2017). Desta forma, e possível se construir curvas de calibração a partir do solvente, facilitando a avaliação das amostras.

5.1.6 Robustez

Os 4 ensaios de robustez foram realizados utilizando a amostra de referência FAPAS com valor conhecido de 3-MCPD na faixa de: 1,13 – 2,09 mg/kg, e os resultados obtidos são apresentados na tabela 20.

Tabela 20: Resultados analíticos da robustez, para o composto 3-MCPD.

Ensaios	Replicata 1	Replicata 2
1^0 Ensaio	1,5208	1,5294
2^0Ensaio	1,5223	1,5023
3^0Ensaio	1,5259	1,5361
4^0Ensaio	1,5605	1,5643

Na análise estatística utilizou-se o teste ANOVA para verificar a igualdade dos resultados. Os resultados são apresentados na tabela 21.

Tabela 21: Teste ANOVA utilizado nos ensaios de robustez para o composto 3-MCPD

Grupo	Soma	Média	Variância
1^0 Ensaio	189,075	94,538	0,142
2^0Ensaio	189,378	94,689	0,784
3^0Ensaio	189,429	94,714	0,199
4^0Ensaio	191,030	95,515	0,027

ANOVA						
Variação	SQ	Gl	MQ	F	Valor P	F crítico
Entre grupos	1,167	3	0,389	1,351	0,377	6,591
Dentro dos grupos	1,152	4	0,288			
Total	2,319	7				

SQ = Soma dos quadrados

gl = grau de liberdade

MQ = Média Quadrática

F Teste= variância entre as amostras/ variância dentro das amostras

Valor P = Valor conclusivo se a recuperação diferente significativamente do 100% ($p < 0,05$), com um nível de confiança de 95%

F Crítico = Valor Crítico

Os resultados apresentados na tabela 21 indicam que os dados de recuperação obtidos são estatiscamente iguais (F< F crítico) pois o valor obtido do F foi igual 1,351 e o valor F crítico é 6,591. Desta forma o valor do F foi menor que o F crítico, o que sugere que o método apresentou a robustez requerida.

5.2 RESULTADOS ANALÍTICOS PARA 3-MPCD E GLICIDOL

Após a validação as amostras foram submetidas ao método de ensaio e seus resultados analíticos foram avaliados. As concentrações das 368 amostras apresentaram resultados para 3-MCPD com valores médios entre 203 a 1205 µg/kg e para o glicidol de 163 a 2683 µg/kg onde foi observado o elevado desvio padrão entre as amostras analisadas. A tabela 22 apresenta limites analíticos do 3-MCPD e Glicidol nas amostras de óleos vegetais analisados em µg/kg, onde indica os valores médios, mediana, desvio padrão encontrados entre os resultados.

Tabela 22: Limites Analíticos do 3-MCPD e Glicidol nas amostras de óleos vegetais analisados em(µg/kg)

Amostra	N	Média 3-MCPD e DPR	Mínimo 3-MCPD	Máximo 3-MCPD	Mediana 3-MCPD	Média Glicidol e DPR	Mínimo Glicidol	Máximo Glicidol	Mediana Glicidol µg/kg
Óleo de Canola	76	285± 258	85	1650	867,5	208 ± 161	2	1198	600
Óleo de Soja	30	203 ± 90	100	423	261,5	204 ± 103	6	455	230,5
Óleo de Palma	33	1205 ± 544	260	2547	1403,5	2683 ± 896	1600	5260	3430
Óleo de palmiste	10	220 ± 60	140	350	245	608 ± 325	117	1164	640,5
Oleina de palma	50	336 ± 83	220	560	390	211 ± 149	2	586	294
Óleo de Milho	48	238 ± 65	100	420	260	408 ± 260	42	1082	562
Óleo de Algodão	70	264 ± 40	100	400	250	173 ± 77	0	561	280,5
Óleo de Girassol	51	251 ± 119	73	470	271,5	151 ± 110	14	559	286,5

N = Número de Amostras

DPR = Desvio Padrão

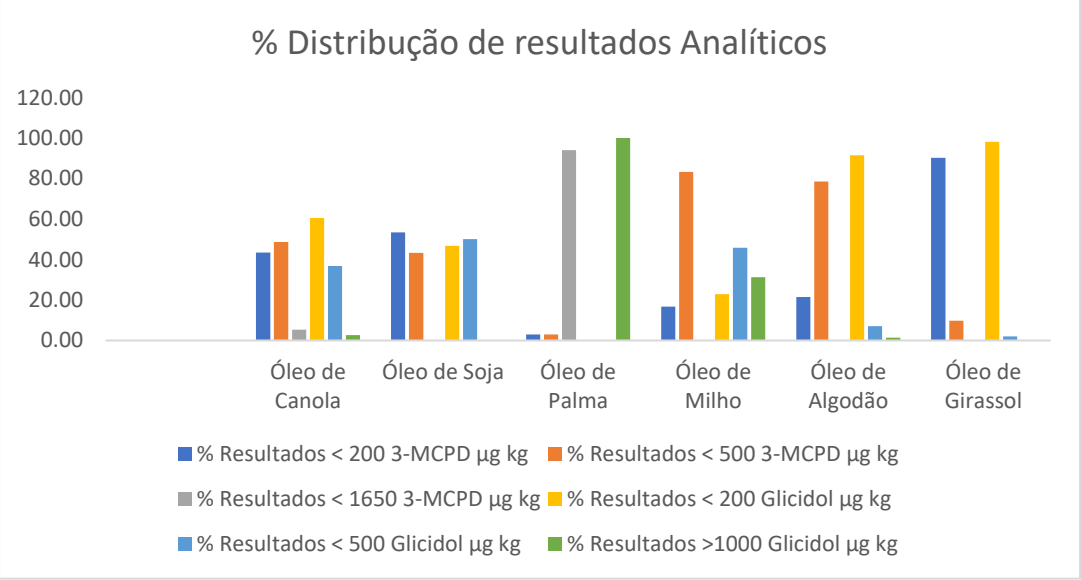
A tabela 23 apresenta o percentual de distribuição dos resultados analíticos do 3-MCPD e Glicidol nas amostras de óleos vegetais analisados em µg/kg, onde indica os percentuais de resultados até de 200, 500, 1650 µg/kg para 3-MCPD e 200, 500, 1000 µg/kg para Glicidol

Tabela 23: Percentual de Distribuição dos Resultados Analíticos do 3-MCPD e Glicidol nas amostras de óleos vegetais analisados em(µg/kg)

Amostra	N	% Resultados < 200 3-MCPD µg kg	% Resultados < 500 3-MCPD µg kg	% Resultados < 1650 3-MCPD µg kg	% Resultados < 200 Glicidol µg kg	% Resultados < 500 Glicidol µg kg	% Resultados >1000 Glicidol µg kg
Óleo de Canola	76	43,42	48,68	5,26	60,53	36,84	2,63
Óleo de Soja	30	53,33	43,33	0,00	46,67	50,00	0,00
Óleo de Palma	33	3,03	3,03	93,94			100,00
Óleo de Milho	48	16,67	83,33	0	22,92	45,83	31,25
Óleo de Algodão	70	21,43	78,57		91,43	7,14	1,43
Óleo de Girassol	51	90,20	9,80		98,04	1,96	

A figura 16, ilustra a distribuição do percentual dos resultados analíticos dos compostos 3-MCPD

Figura 16 Distribuição do percentual de resultados analíticos do 3-MCPD e Glicidol



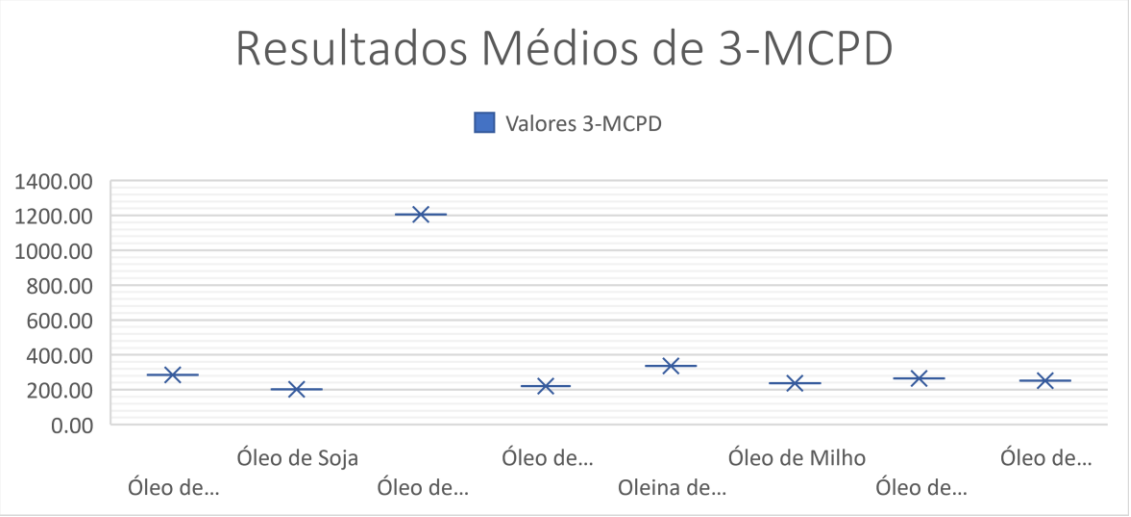
A figura 16 ilustra a distribuição em percentual dos resultados do 3-MCPD e Glicidol dos óleos, em relação ao óleo de palma os resultados estão elevados, sendo que 93% dos resultados do composto de 3-MCPD são inferiores a 1650 µg/kg e superiores a 1000 µg/kg para Glicidol, sendo compatíveis com os dados da literatura que demonstram que o óleo de palma apresentam resultados superiores para estes compostos em relação as demais matrizes.

Para o óleo de algodão e girassol, o alto percentual (91,4 e 98,04 %) respectivamente apresenta valores inferiores a 200 µg/kg para o glicidol, indicando resultados compatíveis com a literatura.

Constata-se que nas análises do óleo de milho 83,3% dos resultados de 3-MCPD são inferiores a 500 µg/kg.

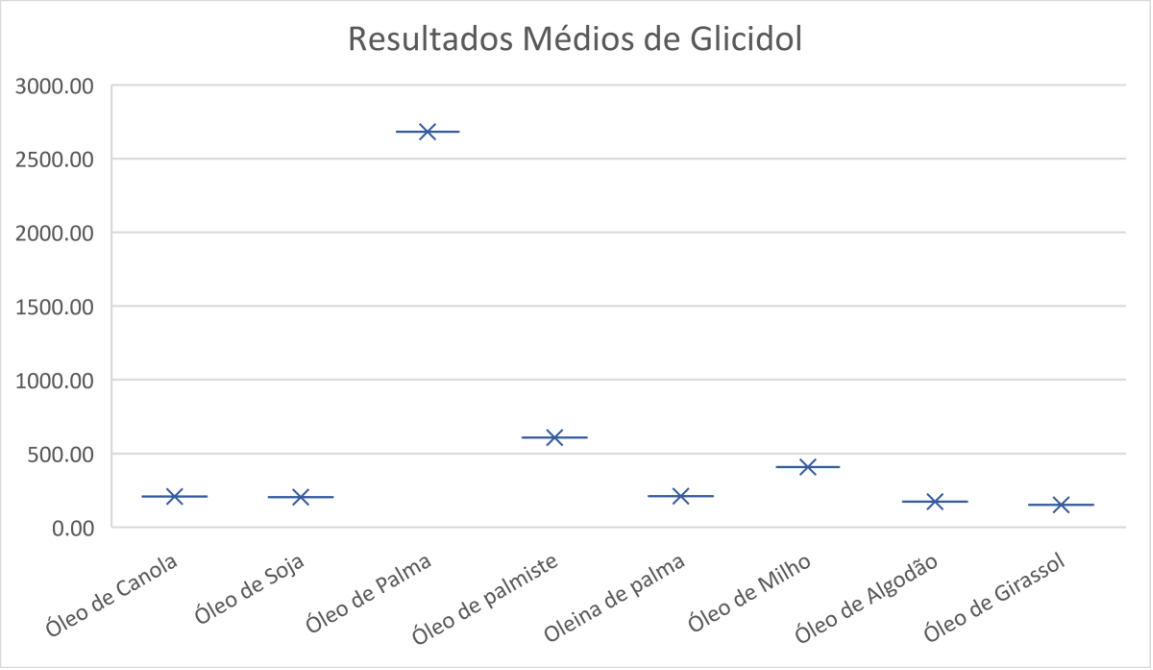
As figuras 17 e 18 ilustram, respectivamente, os resultados médios em µg/kg de 3-MCPD e de glicidol obtidos nas 368 amostras analisadas.

Figura 17 – Resultados Médios (µg/kg) de 3-MCPD obtidos das 368 amostras analisadas



Na figura 17 estão ilustrados os valores médios para o composto 3-MCPD obtidos no presente estudo, indicando que o óleo de palma apresenta valores médios maiores que as demais matrizes.

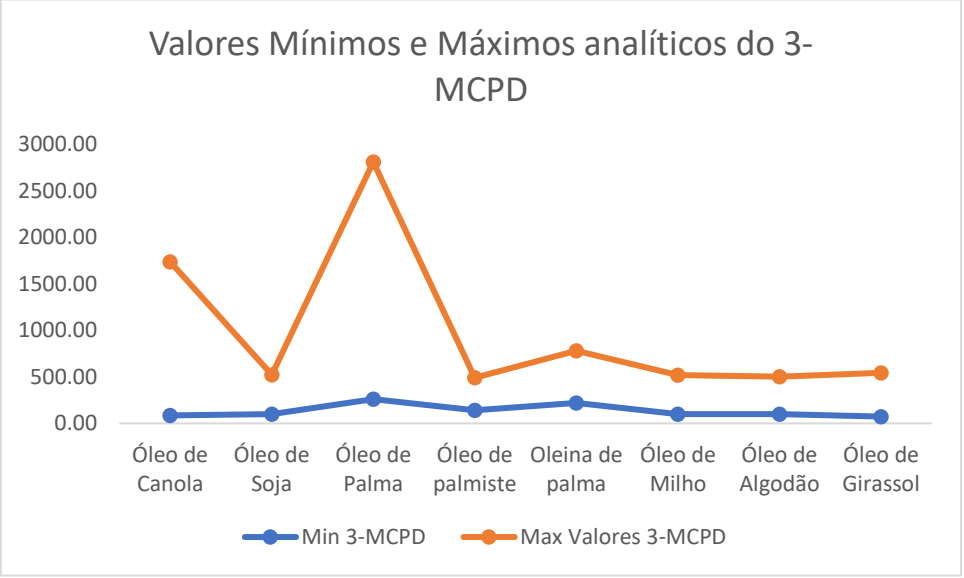
Figura 18 – Resultados Médios de Glicidol (µg/kg) obtidos das 368 amostras analisadas



Na figura 18 estão ilustrados os valores médios para o composto glicidol obtidos no presente estudo, indicando que o óleo de palma apresenta valores médios maiores que as demais matrizes.

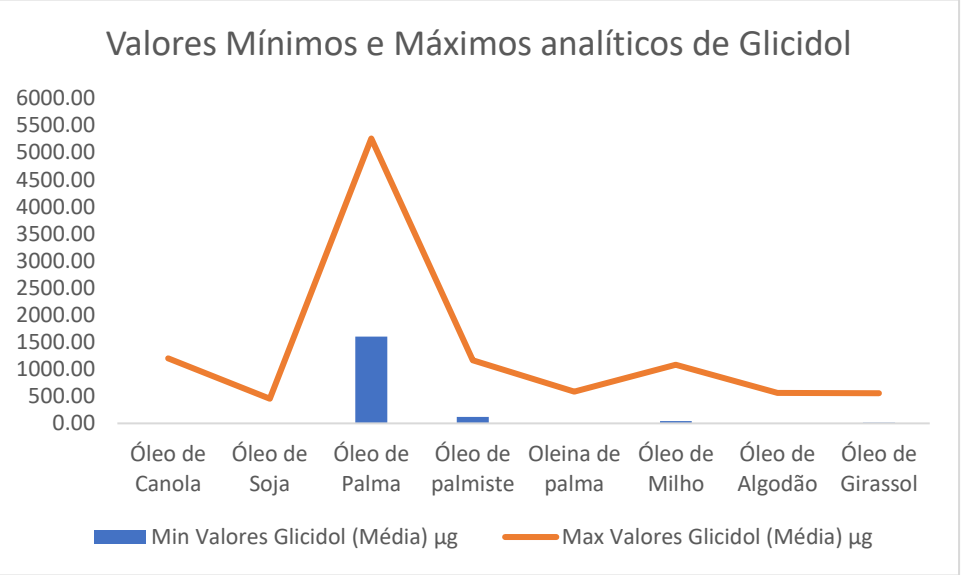
Nas figuras 19 e 20 observam-se, respectivamente, os resultados representativos de valores mínimos e máximos do 3-MCPD, e do glicidol.

Figura 19 Ilustração de Valores Mínimos e Máximos do 3-MCPD



Na figura 19 ilustra a faixa entre o mínimo e máximo do composto 3-MCPD, ilustrando que o óleo de palma apresenta a maior variação entre os resultados analíticos.

Figura 20 Ilustração de Valores Mínimos e Máximos do glicidol



Na figura 20 ilustra a faixa entre o mínimo e máximo do composto glicidol, ilustrando que o óleo de palma apresenta a maior variação entre os resultados analíticos obtidos no presente trabalho

Os resultados encontrados no presente trabalho se contrapõem aos encontrados por Arisseto et. al., 2014 que avaliou 97 amostras de óleos vegetais e gorduras do mercado brasileiro utilizando a metodologia desenvolvida pela autora, a qual se baseia na metanólise ácida de 16 horas e que detectou no óleo de soja valores de 1190 µg/kg, aproximadamente 5 vezes o valor obtido no presente trabalho, que foi de 203 µg/kg. Ainda por estes mesmos autores, na matriz óleo de milho, foi encontrado o valor de 1120 µg/kg para o composto 3-MCPD, enquanto que no presente trabalho o valor encontrado foi de 238 µg/kg sendo aproximadamente 5 vezes menor. Para o óleo de palma, o valor médio foi de 1205 µg/kg obtido no presente trabalho, demostrando também uma redução de aproximadamente 3 vezes quando comparado com o valor encontrado de 3870 µg/kg (Arisseto et al, 2014). Estes autores não analisaram a presença de Glicidol nas amostras.

Em estudo realizado na Polônia, (Jedrkiewicz, 2016), utilizando a metodologia do pesquisador Kuhlmann a qual se baseia na AOCS 29a utilizando metanólise alcalina, o valor obtido para óleo de canola e óleo de girassol foi de 260 a 300 µg/kg para o composto 3-MCPD, sendo, portanto, resultados similares aos encontrados no presente trabalho. No óleo de milho o resultado encontrado foi de inferior ao limite de detecção (10 µg/kg), sendo que o mesmo difere do resultado encontrado no presente trabalho, cujo valor obtido foi de 238 µg/kg.

Kuhlmann, 2011, na Alemanha encontrou resultados de 100 a 600 µg/kg do composto Glicidol para o óleo de soja e 100 a 500 µg/kg para o composto 3-MCPD utilizando a metodologia AOCS 29a a qual consiste na análise direta do 3-MCPD e Glicidol através da cromatografia gasosa GC-MS/MS. No presente trabalho foram obtidos resultados similares, ou seja de 204 µg/kg para óleo de soja para o composto Glicidol e 203 µg/kg para o composto 3-MCPD. No caso do glicidol, também detectou no óleo de palma resultados entre 300 a 18000 µg/kg e para 3-MCPD os valores entre 1100 a 10000 µg/kg, sendo que no presente trabalho os valores encontrados ficaram entre 1600 a 5260 µg/kg para o Glicidol e entre 260 a 2547 µg/kg para 3-MCPD. Ainda no caso do Glicidol, no óleo de canola, Kuhlmann, encontrou valores de 100 a 300 µg/kg e para 3-MCPD de 100 a 1000 µg/kg, enquanto no presente trabalho, para o Glicidol os resultados tiveram uma variação de 2 a 1198 µg/kg e para 3-MCPD entre 85 a 1650 µg/kg, No mesmo trabalho, o autor também avaliou na matriz óleo de girassol, e encontrou para o Glicidol valores de 100 a 400 µg/kg e para 3-MCPD 100 a 2100 µg/kg e no presente trabalho os valores obtidos para o composto glicidol ficaram entre 14 a 559 µg/kg e para 3-MCPD entre 73 a 470 µg/kg. Para o glicidol os resultados foram similares, entretanto para o 3-MCPD os resultados do presente trabalho apresentaram menor variabilidade. Finalmente no mesmo trabalho o autor avaliou a matriz óleo de milho onde foi obtido o resultado 700 µg/kg para o composto glicidol e para o composto 3-MCPD o resultado foi de 200 µg/kg e no presente trabalho os resultados para glicidol ficaram entre 42 a 1082 µg/kg e para 3-MCPD o valor entre 100 a 420 µg/kg, sendo que neste último os resultados apresentaram maior variabilidade para a matriz de óleo de milho.

Em relação as metodologias analíticas ainda não há um padrão estabelecido na determinação de 3-MCPD e glicidol, desta forma há diferentes limites sensibilidade, especificidade e exatidão entre elas, sugerindo uma complexidade nas comparações dos resultados analíticos. Weisshaar (2008) demonstrou que o procedimento de transesterificação ácida incorreta pode produzir altos níveis de ésteres de 3-MCPD comparados com o procedimento de transesterificação com metóxido de sódio\metanol. Esta constatação foi devido a formação adicional de 3-MCPD sob condições ácidas. Entretanto, as constatações anteriomente determinadas quando o 3-MCPD livre é liberado por transesterificação por catalise alcalina, a presença de glicidol e cloreto pode resultar na super estimação de éster 3-MCPD em óleos testados (Kuhlmann 2008; Hrncirik et al. 2011). Por outro lado, Hrncirik et. al.(2011) demonstrou que, devido à degradação irreversível do Glicidol durante a transesterificação ácida, a conversão subsequente do 3-MCPD provou ser impossível. Posteriomente sugere a razão pela melhor robustez e seletividade da

transterificação ácida. Entretando, estudos utilizando o equipamento NMR (Nuclear Magnetic Resonance) indica conversão bidirecional entre Glicidol e 3-MCPD com transesterificação alcalina (Kaze et. al 2011). Portanto foi detectado que 37% da massa do 3-MCPD foi convertida em glicidol durante a etapa de derivatização na etapa A, enquanto >70% da massa do Glicidol foi convertida em 3-MCPD. Adicionalmente, a reação incompleta da abertura do anel epóxido do glicidol e seus ésteres de (aproximadamente 90%) pode ser observada pelo tratamento ácido na opção B. Desta forma o 3-MCPD e seus ésteres são determinados e formados à partir de acilglicerols e substâncias relacionadas a cloretos durante o pré-tratamento ácido, o qual interferm na exatidão da determinação dos ésteres de 3-MCPD. Os resultados obtidos levam a uma subestimação dos teores de glicidol em óleos quando o método indireto é utilizado. (Cheng et al, 2017).

5.3 AVALIAÇÃO DO RISCO PARA 3-MCPD E GLICIDOL

No processo de caracterização da exposição, foi realizada uma pesquisa dos dados da ingestão diária de óleos vegetais comestíveis em banco de dados oficiais, porém não foi encontrada informação específica. No relatório do POF – Pesquisa de Orçamentos Familiares, do IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, de 2008 e 2009, disponibiliza para consulta a aquisição dos diferentes tipos de óleos, bem como o consumo total dos óleos e gorduras da população brasileira. Ambos os dados, tanto de aquisição, como d consumo foram utilizados para avaliação da exposição. Com o objetivo do refinamento dos dados foi também utilizado o o aplicativo desenvolvido pelo ILSI, 2015 referente ao consumo de óleos pela população brasileira. Devido ao alto desvio padrão dos resultados analíticos a avaliação da exposição foi realizada considerando a mediana dos dados obtidos e o pior cenário.

Para construção do pior cenário foi utilizado o maior resultado analítico apresentado no alimento e o maior consumo diário entre os valores de aquisição, consumo e ILSI dos óleos vegetais. Desta forma foi possível demonstrar a pior condição da avaliação da exposição.

Em relação ao Brasil, a tabela 24 apresenta as médias de consumo dos alimentos considerando a avaliação de exposição baseadas na Pesquisa de Orçamento Familiar dos dados refinados publicados (ILSI,2015).

Tabela 24: Média de consumo dos alimentos considerando a avaliação de exposição baseadas na Pesquisa de Orçamento Familiar (ILSI,2015)

Alimento	Alimento Consumido (na forma in natura)	Região de Maior consumo	Metodologia 1 Consumo per capita Diário Total (g/dia)	Metodologia 2 Consumo per capita Diário Total (g/dia)
Óleo de Canola		Sul	0,0011	0,0006
Óleo de soja	Margarina – óleo de soja	Sudeste	6,9295	6,4736
Óleo de soja	Margarina folhada – soja	Sudeste	0,0807	0,0923
Óleo de soja	Margarina light – soja	Sudeste	0,1587	0,12
Óleo de soja	Gordura de soja	Sudeste	0,3215	0,3301
Óleo de soja	Óleo de soja	Sudeste	31,0568	29,6514
Óleo de soja	Óleo de soja para fritar	Sudeste	0,1517	0,1596
Óleo de soja	Óleo	Sudeste	0,0045	0,0029
Óleo de Palma	Azeite dendê	Nordeste	0,0044	-
Óleo de Palma	Azeite dendê para fritar	Nordeste	0,1182	0,0143
Óleo de Palma	Palma	Nordeste	0,1554	0,1133
Óleo de Milho	Óleo de milho	Nordeste	0,0374	0,0238

Óleo de Algodão		Nordeste	0,0071	0,004
Óleo de Girassol	Óleo de Girassol	Sul	0,00058	0,00071

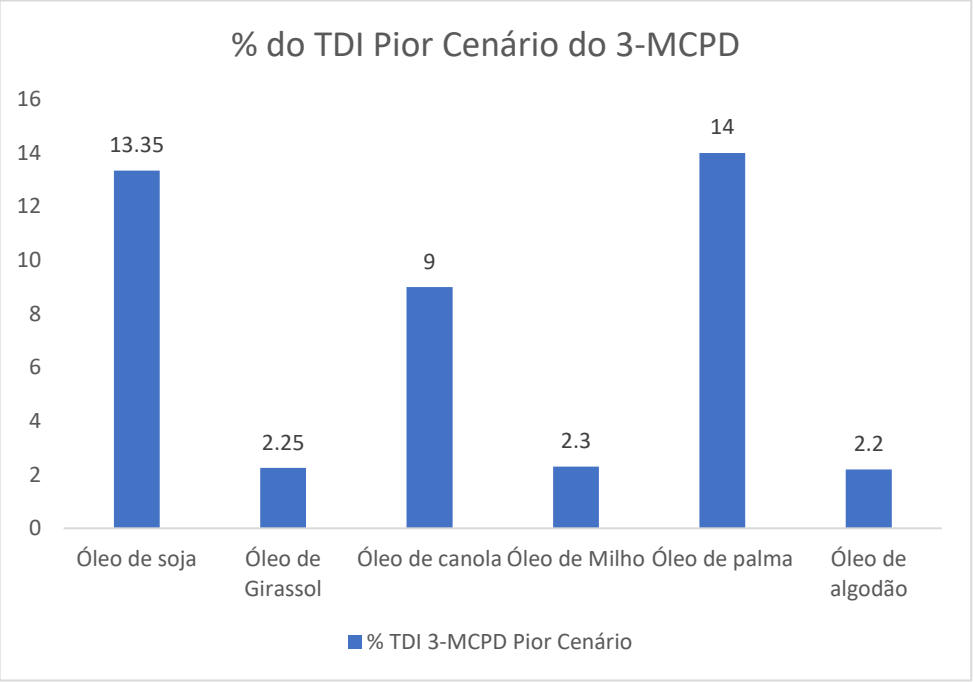
Para a obtenção dos valores estimados de ingestão diária para os compostos 3-MCPD e glicidol, foram utilizados os consumos médios diários dos óleos e relacionados com os resultados analíticos obtidos com as medianas das 368 amostras analisadas. Foi utilizado como base, os valores de TDI para 3-MCPD (2 µg/kg p.c) descritos na tabela 25.

Tabela 25: Valores Estimados de Ingestão obtidos através de resultados Analíticos para 3-MCPD

Alimento	Valores TDI 3MCPD µg/kg p.c.	Valores µg/kg p.c. 3-MCPD Mediana POF Aquisição	Valores µg/kg p.c. 3-MCPD Mediana POF Consumo	Valores µg/kg p.c. 3-MCPD Mediana ILSI	Valores µg/kg p.c. 3-MCPD Pior cenário	% TDI Pior Cenário
Óleo de soja	2	0,075	0,028	0,1655	0,27	13,35
Óleo de Girassol	2	0,00172	0,029	0,000032	0,0451	2,25
Óleo de canola	2	0,002458	0,095	0,00010	0,1815	9
Óleo de Milho	2	0,0014	0,0286	0,00016	0,0462	2,3
Óleo de palma	2	0,007	0,15	0,0065	0,28	14
Óleo de algodão	2	0,0013	0,0275	0,0000295	0,044	2,2

A figura 21 ilustra o percentual da TDI através da avaliação de risco para composto 3-MCPD, sendo que óleo de soja apresenta 13,35% (0,27 µg/kg p.c.), o óleo de canola apresenta 9% (0,18 µg/kg p.c.), o óleo de palma apresenta 14 % (0,28 µg/kg p.c), o óleo de milho apresenta 2.3 % (0,0462 µg/kg p.c.), o óleo de algodão e óleo de girassol apresenta 2,2 % (0,04 µg/kg p.c) do valor da TDI (2 µg/kg p.c.),

Figura 21: Percentual da TDI através da avaliação de risco para composto 3-MCPD



Na avaliação do risco realizada para o contaminante 3-MCPD foi possível detectar que o óleo de soja possui o percentual de 13,35% (0,27 µg/kg pc), ou seja a ingestão encontra-se abaixo do TDI que é de 2µg/kg pc. Em estudo anterior realizado no Brasil por Arisseto, 2013, estes autores constataram a exposição ao composto 3-MCPD com a variação entre 0,06 a 0,51 µg/kg p.c./dia considerando médios e grandes consumidores de diversos alimentos, porém o estudo não contemplou os óleos vegetais comestíveis. Desta forma não foi possível realizar a comparação entre os resultados destes autores e o presente trabalho, pois as matrizes diferem.

Na avaliação do risco realizado em óleos vegetais na China (Li et. al., 2015) não foi especificado o tipo de óleo consumido pela população, porém foram avaliadas faixas etárias e gênero onde foi possível avaliar a média de consumo entre crianças (7-10 anos do gênero feminino foi de 1.17 µg/kg peso corpóreo e para o masculino 1.15 µg/kg peso corpóreo), pré-adolescentes (11-13 anos - feminino 0.77 µg/kg peso corpóreo e masculino 0.77 µg/kg peso corpóreo), adolescentes (14-17 anos - feminino 0.73 µg/kg peso corpóreo e masculino 0.64 µg/kg peso corpóreo), adultos (18-49 anos - feminino 0.63 µg/kg peso corpóreo e masculino 0.89 µg/kg peso corpóreo) e idosos (acima de 50 anos - feminino 0.62 µg/kg peso corpóreo e masculino 0.60 µg/kg peso corpóreo) evidenciando que não houve um aumento do risco na população chinesa associado ao composto 3-MCPD. Este estudo apresentou resultados maiores da exposição ao composto comparado com o valor apresentado no presente trabalho, porém a

POF não estratifica as faixas etárias, não sendo possível a comparação da avaliação de exposição entre as faixas etárias. Entretanto os resultados são inferiores a TDI, sugerindo consumo seguro para a população brasileira.

A avaliação do risco realizada para óleos vegetais na Espanha (Custodio-Mendonza et. al., 2018) encontrou o valor médio de ingestão diária entre 0.12 a 0.23 µg/kg por dia de óleo refinado de oliva e 0.25 µg/kg óleo de girassol, sendo valor similar ou menor quando comparado ao resto da Europa, e inferior ao TDI de 2 µg/kg p.c. estabelecido pela EFSA,2016. Os valores obtidos no presente trabalho se assemelham aos resultados encontrados para o óleo de girassol (0.014 µg/kg), pois os valores estão abaixo da TDI (2 µg/kg p.c.), sugerindo consumo seguro deste óleo.

As análises de risco dos óleos de algodão, milho e palma, realizadas no presente trabalho, indicam o consumo seguro destas commodities. Não foram encontrados na literatura científica estudos associados a avaliação do risco destes óleos vegetais comestíveis.

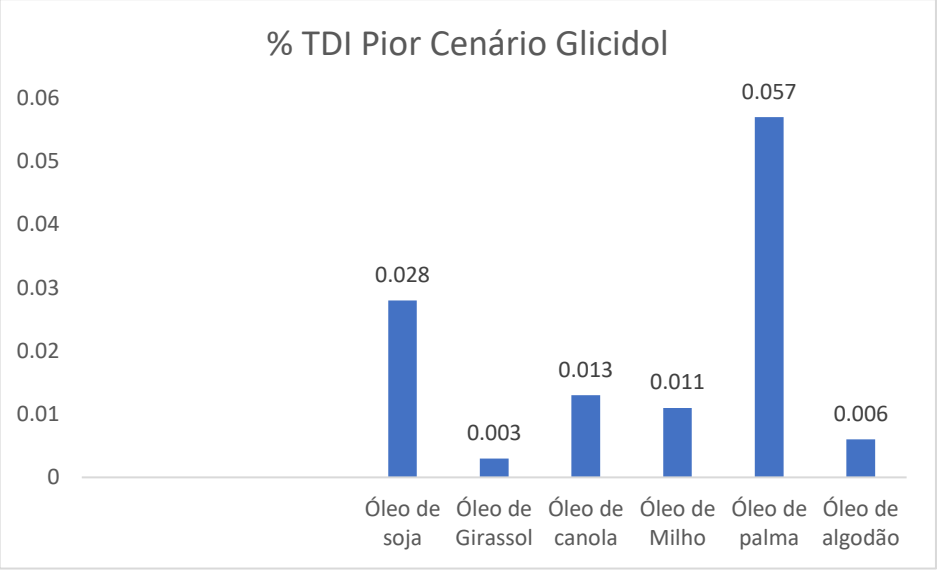
Dando continuidade ao trabalho de avaliação do risco, foi utilizado como base os valores de TDI para Glicidol (1000 µg/kg p.c) , onde foi utilizado a mediana (devido ao alto desvio padrão) e utilizando os dados da POF para aquisição, consumo e os dados refinados do ILSI, 2015, descritos na tabela 26.

Tabela 26 - Valores Estimados de Ingestão obtidos através de resultados Analíticos para Glicidol

Alimento	Valores TDI Glicidol µg/kg p.c.	Valores µg/kg p.c. Glicidol Mediana POF Aquisição	Valores µg/kg p.c. Glicidol Mediana PO F Consumo	Valores µg/kg p.c. Glicidol Mediana ILSI	Valores µg/kg p.c. Glicidol Pior cenário	% TDI Pior Cenário
Óleo de soja	1000	0,066	0,0253	0,14	0,288	0,028
Óleo de Girassol	1000	0,0018	0,031	0,000033	0,03	0,003
Óleo de canola	1000	0,0017	0,066	0,00007	0,13	0,013
Óleo de Milho	1000	0,003	0,061	0,0003	0,11	0,011
Óleo de palma	1000	0,018	0,37	0,032	0,57	0,057
Óleo de algodão	1000	0,0014	0,030	0,000033	0,061	0,006

A figura 22 ilustra o percentual da TDI através da avaliação do risco para composto Glicidol, onde descreve que o óleo de soja, utilizando o pior cenário indica o consumo de 0,028% (0,288 µg/kg p.c/dia.) do valor da TDI, óleo de girassol de 0,003 % (0,03 µg/kg p.c/dia.), óleo de canola de de 0,013 % (0,13 µg/kg p.c/dia.), óleo de milho de de 0,011 % (0,11 µg/kg p.c/dia.), óleo de algodão de 0,006 % (0,061 µg/kg p.c/dia.), e óleo de palma 0,006% (0,061 µg/kg p.c.) do valor da TDI que é de 1000 µg/kg p.c.

Figura 22. Percentual da TDI através da avaliação do risco para o composto Glicidol



Os teores de Glicidol observados para o Glicidol para o óleo de soja foi de 0,066 µg/kg p.c., utilizando a mediana e dados de aquisição da POF, posteriormente usando os dados de consumo da POF os resultados foram de 0,0253 µg/kg p.c e utilizando os dados refinados do ILSI, o valor foi de 0,14 µg/kg p.c/dia. Assim sim, utilizando o pior cenário para óleo de soja o valor foi de 0,288 µg/kg p.c/dia. Para o óleo de palma o valor foi de 0,018 µg/kg p.c/dia utilizando a mediana e dados de aquisição da POF, posteriormente usando os dados de consumo da POF os resultados foram de 0,37 µg/kg p.c e utilizando os dados refinados do ILSI, o valor foi de 0,032 µg/kg p.c/dia. Assim sim, utilizando o pior cenário para óleo de palma o valor foi de 0,57 µg/kg p.c/dia. Para o óleo de girassol o valor foi de 0,0018 µg/kg p.c/dia utilizando a mediana e dados de aquisição da POF, posteriormente usando os dados de consumo da POF os resultados foram de 0,031 µg/kg p.c e utilizando os dados refinados do ILSI, o valor foi de 0,0003 µg/kg p.c/dia. Assim sim, utilizando o pior cenário para óleo de girassol o valor foi de 0,03 µg/kg p.c/dia. Para o óleo de canola o valor foi de 0,0017 µg/kg p.c/dia utilizando a mediana e dados de aquisição

da POF, posteriormente usando os dados de consumo da POF os resultados foram de 0,066 μg/kg p.c e utilizando os dados refinados do ILSI, o valor foi de 0,00007 μg/kg p.c/dia. Para o óleo de girassol, utilizando o pior cenário, o valor foi de 0,13 μg/kg p.c/dia. Para o óleo de milho o valor foi de 0,003 μg/kg p.c/dia utilizando a mediana e dados de aquisição da POF, posteriormente usando os dados de consumo da POF os resultados foram de 0,061 μg/kg p.c e utilizando os dados refinados do ILSI, o valor foi de 0,0003 μg/kg p.c/dia. Assim, utilizando o pior cenário para óleo de milho o valor foi de 0,11 μg/kg p.c/dia. Finalmente para o óleo de algodão o valor foi de 0,0014 μg/kg p.c/dia utilizando a mediana e dados de aquisição da POF, posteriormente usando os dados de consumo da POF os resultados foram de 0,03 μg/kg p.c e utilizando os dados refinados do ILSI, o valor foi de 0,0003 μg/kg p.c/dia. Assim, utilizando o pior cenário para óleo de milho o valor foi de 0,061 μg/kg p.c/dia. Desta forma, os dados de exposição baseando-se na Ingestão Diária Tolerável de 1000 μg/kg p.c sugere o consumo seguro dos óleos vegetais pela população brasileira. Vale ressaltar que foi não foi possível encontrar na literatura valores disponíveis da avaliação do risco do composto Glicidol.

6. CONCLUSÕES

- O método padronizado mostrou-se aplicável a extração, detecção e quantificação dos compostos 3-MCPD e Glicidol propostos para as matrizes de óleos vegetais comestíveis. Não foi observado efeito matriz, sendo que o desenvolvimento dos parâmetros instrumentais dos ensaios se mostrou eficaz.
- A validação do método permitiu analisar os compostos 3-MCPD e Glicidol na faixa de trabalho necessária, com o desempenho adequado para estabelecer um possível programa de monitoramento das matrizes propostas, garantindo a segurança da produção de óleos vegetais comestíveis em relação à exposição dos compostos 3-MCPD e Glicidol.
- As concentrações das amostras analisadas (368 amostras) apresentaram resultados para 3-MCPD com valores médios entre 203 a 1205 µg/kg.
- O Glicidol, porém, apresentou desvio padrão elevado entre as amostras, com valores de 2 a 1198 µg/kg, com variação mais acentuada para o óleo de palma entre 1600 a 5260 µg/kg.
- Na avaliação do risco realizada para o composto 3-MCPD observou-se que mesmo utilizando o pior cenário de exposição considerando os valores analíticos e consumo, os resultados da avaliação da exposição foi 0,27 µg/kg pc/dia resultando em 13,35 % da TDI estabelecida para o óleo de soja, o qual é o óleo vegetal que representa 72% do total de aquisição de óleos vegetais no Brasil. Portanto os resultados sugerem o consumo seguro para a população brasileira.
- Na avaliação de risco realizada para o composto glicidol foi possível detectar que o óleo de soja mesmo na situação de pior cenário de exposição e consumo possui o percentual de 0,028% e óleo de palma de 0,057 % do valor utilizado como Ingestão Diária Tolerável (1000µg), na ausência de valores toxicológicos disponíveis, foi utilizado o limite máximo regulatório da Comunidade Europeia, sugerindo assim, o consumo seguro deste óleo quanto a um possível risco químico para os consumidores.

7. RECOMENDAÇÕES

- No Brasil não há legislação aplicável para os contaminantes 3-MCPD e Glicidol, bem como nenhum programa de monitoramento implementando, como pode ser encontrado, por exemplo, para alguns contaminantes em alimentos, como praguicidas, metais, drogas veterinárias, entre outros. Assim, seria importante a inserção destes compostos nestes programas de monitoramento.
- Outro ponto importante a ser considerado é que estes compostos são formados no processo de produção do óleo vegetal e há poucos estudos estabelecendo a correlação, parâmetros e precursores necessários para sua formação, bem como a remoção dos mesmos no processo. Desta forma, torna-se necessário que sejam realizados estudos focados na formação destes compostos, bem como na prevenção, remoção e regulamentação dos mesmos.
- Recomenda-se também a realização de estudos nos produtos industrializados que utilizam óleos vegetais na fritura, pois há aquecimento no processo e ainda não está claramente elucidado o impacto deste aquecimento sobre a formação de compostos de 3-MCPD e Glicidol. Outro fator relevante é a reutilização exacerbada destes óleos de fritura, sendo também recomendado a realização de estudos em óleos reutilizados para avaliação do impacto na formação dos compostos 3-MCPD e glicidol.
- Recomenda-se também a realização de estudos para comparação de resultados através das inúmeros métodos analíticos disponives afim de garantir a comparabilidade dos resultados.

8.REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRAHAM, K., et.al. **Relative oral bioavailability of 3-MCPD from 3-MCPD fatty acid ester in rats.** Archives of Toxicology. 2013. 87, 649-659

ABU-EL-HAJ et. al. **Rapid and simple determination of chloropropanols (3-MCPD and 1,3-DCP) in food products using isotope dilution GC-MS**. Food Control 18. 2007. Pages: 81-90

ABNT.ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 5426**: Guia de Utilização da Norma - Planos de amostragem e procedimento na inspeção por atributo, 63P, Jan 1985

ABNT.ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **Diretrizes para Apresentação de dissertações e Teses USP**, 2016 3^0 Edição Sistema Integrado de Bibliotecas USP

APPEL, K, et.al. **Relative oral bioavailability of glycidol from glycidyl fatty acid esters in rats.** Archives of Toxicology, Volume 87, Issue 9, 2013 pages: 1649-1659

AOCS. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society. **Indirect Method for Simultaneous Determinations of 3-Chloro-1,2-Propanediol Fatty Acid Esters and Glycidyl Fatty Acid Esters**. Journal American Oil Chemicals Society: 2012, 89:1403-1407

AOCS. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society. Cd 29a-13. **2- and 3-MCPD Fatty Acid Esters and Glycidol Fatty Acid Esters in Edible Oils and Fats by Acid Transesterification and GC/MS**. Revisado em 2017

AOCS. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society. Cd 29b-13. **2- and 3-MCPD Fatty Acid Esters and Glycidol Fatty Acid Esters in Edible Oils and Fats by Alkaline Transesterification and GC/MS**. Revisado em 2017

AOCS. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists Society. Cd 29c-13 **2- and 3-MCPD Fatty Acid Esters and Glycidol Fatty Acid Esters in Edible Oils and Fat by GC/MS.** Revisado em 2017

ARDREY, B. **Liquid chromatography-mass spectrometry: an introduction**. Cichester: John Wiley & Sons, 2003. 276 p.

ARISSETO, A.P. et. al., **Estimate of dietary intake of chloropropanols 3-MCPD and 1,3-DCP.** Ciência e Tecnologia de Alimentos: 2013 33: 125-133

ARISSETO, A.P.; MARCOLINO, P.F.C; VICENTE, E. **Determination of 3-monochloropropane-1,2-diol fatty acid esters in Brazilian vegetable oils and fats by an in-house validated Method.** Food Additives & Contaminants: Part A, 2014

BAKHIYA, N. et.al. **Toxicological assessment of 3-chloropropane-1, 2-diol and glycidol fatty acid esters in food**. Molecular Nutrition Food Res. 2011, 55, 509.

BASTOS, R.K.X. et. al. ***Controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano*: evolução da legislação brasileira**. In: CONGRESSO REGIONAL DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL DA 4ª REGIÃO DA AIDIS, CONE SUL, 4, 2003, São Paulo. Anais. Rio de Janeiro: ABES, 2003. (CD-ROM).

BECALSKI, A; ZHAO, T; SIT, DANIEL, S. **Cyclohexanone/sulfonated polymer catalyst: a new simple derivatizing procedure for GC-MS determination of 2- and 3-monochloropropanediols.** Food and Energy Security 2013; 2(2): 157–165

BEVILACQUA, P.D. et. al. **Densidades de Giardia e Cryptosporidium em mananciais de abastecimento de água e prevalência de giardíase: usos e aplicações do modelo teórico de avaliação de risco**. In: CONGRESSO INTERAMERICANO DE ENGENHARIA SANITÁRIA E AMBIENTAL, 28, 2002, Cancún, México: Anais.Cidade do México: Associação Interamericana de Engenharia Sanitária e Ambiental, 2002. (CD-ROM)

[BFR] BUNDESINSTITUT FÜR RISIKOBEWERTUNG. **Infant formula and follow-up formula may contain harmful 3-MCPD fatty acid esters**. 2007. Disponível em: http://www.bfr.bund.de/cm/349/infant_formula_and_follow_up_formula_may_contain_harmful_3_mcpd_fatty_acid_esters.pdf, Acesso em Janeiro 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Medicamentos. Inspeção. Centros de Bioequivalência. Legislação. Resolução n.899, de 29 de maio de 2003.

Determina a publicação do "Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. Disponível em: http://e-legis.bvs.br/leisref/public/showAct.php?id=15132&word. Acesso em: 20 de novembro de 2016.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução nº 85, de 13 de dezembro de 2004. **Regulamento Técnico para óleos e Gorduras Vegetais**. Disponível em: Acesso em 20 dezembro 2016.

BRASIL. Informe Técnico nº 11, de 5 out. 2004 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde**. Óleos e gorduras utilizados em frituras**. Disponível em: <http://anvisa.gov.br/alimentos/informes/11_051004.htm>. Acesso em 20/12/2016

BRASIL. Resolução RDC nº 270 de 23 de set. 2005 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária do Ministério da Saúde. Aprova o **Regulamento Técnico referente a Óleos Vegetais, Gorduras Vegetais e Creme Vegetal**, constante do anexo desta Resolução. Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil, Poder Executivo, Brasília, DF, 23 set. 2005. Seção 1, nº 184, p. 372-3.

BRASIL. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2002-2003. Aquisição alimentar domiciliar per capita - Brasil e Grandes Regiões**. Rio de Janeiro: IBGE, 2004. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/ home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2002aquisicao/ default.shtm>. Acesso em: 10 de Abril de 2018.

BRASIL. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009.** Rio de Janeiro: IBGE, 2010a. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/xml/ pof_2008_2009.shtm>. Acesso em: 10 jul. 2018.

BRASIL. INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. **Antropometria e estado nutricional de crianças, adolescentes e adultos no Brasil**. In: INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA - IBGE. Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009. Rio de Janeiro: IBGE, 2010b. Disponível em: <http:// www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/ pof/2008_2009_encaa/default.shtm>. Acesso em: 17 jul. 2018.

BRASIL.INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA – IBGE. **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009. Análise do Consumo Alimentar Pessoal no Brasil**. Rio de Janeiro: IBGE, 2011. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/ populacao/condicaodevida/pof/2008_2009_analise_consumo/ default.shtm>. Acesso em: 11 jul. 2018.

BREITLING-UTZMANN, C.M; KOBLER, H; HERBOLZHEIMER, D; MAIER, A. **3-MCPD occurence in bread crust and various food groups as well as formation in toast**. Deutsche Lebensmittel- Rundschau. 2003. 99:280-285.

BREITLING-UTZMANN, C.M; HRENN, H; HAASE, N.U; UNBEHEND, G.M. **Influence of dough ingredients on 3-chloropropane-1,2-diol (3-MCPD) formation in toast**. Food Additives Contaminants.2005. 22:97–103.

BRERETON, P.et. al. **Determination of 3-monochloropropane1,2-diol in food and food ingredients using mass spectrometric detection: collaborative study**. Journal of the Association of Oficial Analytical Chemists International, 2001.84, 1-11.

BUHRKE, T; WEIßHAAR, R; LAMPEN A. **Absorption and metabolism of the food contaminant 3-chloro-1,2-propanediol (3-McPD) and its fatty acid esters by human intestinal caco-2 cells**. 2011.Archives Toxicology 85(10):1201–1208

CAO et. al. **A Novel Derivatization Method Coupled with GC–MS for the Simultaneous Determination of Chloropropanols**. Chromatographia.China. 2009. 70.Pages 661-664.

CESAR, I.C.; PIANETTI, G.A**. Robustness Evaluation of the chromatographic method for the quantitation of lumefrantrine using Youden's test**. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences.v.45,n.2,2009

CHASIN, A.A.M.; NASCIMENTO, E.S.; NETO, L.M.R. **Validação de métodos em análises toxicológicas: uma abordagem geral.** Revista Brasileira Toxicologia. São Paulo, v.11, n.1, p.1-6, 1998.

CHENG, W. et. al. **Glycidil Fatty Acid Esters in Refined Edible Oils: a review on formation, occurrence, analysis and elimination methods**. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. 2017. Vol. 00

CHIARADIA, M et. al. **O Estado da Arte da cromatografia associada à espectrometria de massas acoplada à espectrometria de massas na análise de compostos tóxicos em alimentos**. Química Nova. Vol. 31, nº 3, 623-636, 2008

CHO, W.-S.; et.al.**Carcinogenicity study of 3-monochloropropane-1, 2-diol in Sprague–Dawley rats.**Food Chem. Toxicol. 2008, 46, 3172.

CHUNG, W.; HUI, W.; CHENG, S. **Sensitive method for the determination of 1,3-dichloropropan-2-ol and 3-chloropropane-1,2-diol in soy sauce by capillary gas chromatography with mass spectrometric detection.** Journal of Chromatography A. 2002. 952, 185-192

CHUNG, S.W.C; CHAN, B.T.P. **Simultaneous determination of 2- and 3-monochloropropan-1,3 diol esters in food by enzymatic hydrolysis and GC-MS detection**. Chromatographia**.** 2012. Volume 75, Issue 17-18 pp 1049-1056.

CHUNG, S.W.C., et. al. **Occurrence of bound 3-monochloropropan-1,2-diol content in commonly consumed foods in Hong Kong analysed by enzymatic hydrolysis and GC-MS detection**. Food Additives and Contaminants. 2013. 30, 1248-1254.

COLLIER P.D; CROMIE, D.D.O; DAVIES, A.P.**Mechanism of formation of chloropropanols present in protein hydrolysates.** Journal of American Oil Chemistry Society**,** 1991. 68, 785–790.

CRABO, B.; APPELGREN, L.E. **Distribution of ^{14}C-alpha-chlorohydrin in mice and rats.** Journal Reprodutibility Fertility, 1972. 30, 161–163.

CRAFT, B. D.; CHIODINI, A.; GARST, J.; GRANVOGL, M.; **Fatty acid esters of monochloropropanediol (MCPD) and glycidol in refined edible oils**. Food Additives Contaminants. 2013, 30, 46.

CREWS, C.et. al**. 3-Chloropropane-1, 2-diol in models simulating processed foods: precursors and agents causing its decomposition**. Czech Journal of Food Sciences - UZPI (Czech Republic) 2003 agris.fao.org

CREWS, C. et.al.**Formation and occurrence of esters of 3-chloro-1,2-propanediol (3-MCPD) in foods: what we know and what we assume.** European Journal of Lipid Science and Technology, 2011.113, 279–303

CREWS, C. et.al.**Analitycal approaches for 3-MCPD esters and glycidyl esters in food and biological samples: a review and future perspectives**.Food Additive and Contaminants. 2013 30, 11.

CUSTUDIO-MENDONZA; et.al. **Occurrence and exposure of 3-monochloroporpanediol diesters in edible iols and oil-based foodstuffs from the Spanish market**. Food Chemistry 270 (2019) 214-222, 2018

DIARIT, F; NINONUEVO, M.R. **Development of an analytical method for 3-monochloropropane-1, 2-diol in soy sauce using 4-heptanone as derivatizing agent**. Food additives and contaminants Vol. 21, No. 3, 2004 pp. 204–209

DAVÍDEK J, VELÍŠEK J, KUBELKA V, JANÍČEK G. New chlorine-containing compounds in protein hydrolysates. In: Baltes W, Czedik-Eysenberg PB, Pfannhauser W editors. **Journal Agri Food Chem.** 1980 28 (6) pp. 1142-1144

DIVINOVÁ, V; SVEJKOVSKÁ, B; DOLEŽAL, M; VELÍŠEK, J. **Determination of free and bound 3-chloropropane-1,2-diol by gas chromatography with mass spectrometric detection using deuterated 3-chloropropane-1,2-diol as internal standard**. Czech Journal Food Science 2004 22*:*182–9.

DODD K.W, et. al. **Statistical methods for estimating usual intake of nutrients and foods: a review of the theory.** Journal American Diet Associate 2006 Oct;106(10):1640-50.

DUBOIS, M; et. al. **Determination of seven glycidyl ester in edible oils by gel permeation chromatography extraction and liquid chromatography coupled to mass spectrometry detection.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59, 2011 12291-12301.

EDWARDS, E.M., JONES, A.R. & WAITES, G.M.H. **The entry of alpha-chlorohydrin into body fluids of male rats and its effect upon incorporation of glycerol into lipids**. Journal Reprodutive **Fertil**., 1975 43, 225–232.

ERMACORA A, HRNCIRIK K. **Evaluation of an improved indirect method for the analysis of 3-MCPD esters based on acid transesterification**. 2012a. J Am Oil Chem Soc. 89:211–217.

ERMACORA A, HRNCIRIK K. **Indirect determination of 2-/3-MCPD and glycidyl esters in oils/fats: a new method based on acid transesterification**. 2012b Paper presented at: 102nd AOCS Annual Meeting & Expo; 29 April–2 May 2012; Long Beach, CA, USA.

ESTADOS UNIDOS. **Agency for toxic substances and disease registry (ATSDR**). Minimal Risk Levels. Disponível em http://www.atsdr.cdc.gov/mrls/index.asp. Acesso em 12 de out. de 2018.

ESTADOS UNIDOS. **Environmental Protection Agency. Human Health Risk Assessment**. Disponível em: http// www.epa.gov/risk_assessment/health-risk.htm. Acesso em 04 de Out. 2018

EUROPEAN FOOD SAFETY AUTHORITY. **Risks for human health related to the presence of 3- and 2-monochloropropanediol (MCPD), and their fatty acid esters, and glycidyl fatty acid esters in food**. EFSA Journal 2016;14(5):442. doi: 10.2903/j.efsa.2016.4426

EURACHEM GUIDE, **The Fitness for Purpose of Analytical Methods: a Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics,** LGC, Teddington, Middlesex, UK, 2ª ed. 2014. Disponível em: http://www.eurachem.org. Acesso em: 20 jan. 2018

FDA. U.S. FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. CPG Sec. 500.500 **Guidance Levels for 3-MCPD(3-chloro-1,2-propanediol) in Acid-Hydrolyzed Protein and Asian-Style Sauces.** Disponível em:
https://www.fda.gov/iceci/compliancemanuals/compliancepolicyguidancemanual/ucm074419.htm
Acesso em 03 de jan. 2018.

FIEBIG, H. J.; **Determination of ester-bound 3-chloro-1, 2-propanediol and glycidol in fats and oils–a collaborative study.** European Journal Lipid Science Technol. 2011, 113, 393.

FRANK, N. et. al.**Application of gastrointentinal modelling to the study of the digestion and transformation of dietary glycidyl esters.** Food Additives Contaminants. 2013, 30, 69.

FRY, H; SCHÖDEL, C; THESE, A; PREISS-WEIGERT, A. **Collaborative study for the determination of 3-MCPD and 2-MCPD-fatty acid esters in fat containing foods.** First collaborative study – Part II. Method validation and proficiency test . 2013. Berlin: BfR-Wissenschaft

Guivant et. al. **Reflexividade na sociedade de risco: conflitos entre leigos e peritos sobre os agrotóxicos. Qualidade de vida e riscos ambientais.** Niterói: Editora da UFF, p. 281303, 2000.

HAAS, C.N.; ROSE, J.B.; GERBA, C.P. **Quantitative microbial risk assessment.** USA: John Wiley & Sons Inc., 1999.

HAGER, J. W.; LE BLANC, J. C. Y.; **High-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry with a new quadrupole/linear ion trap instrument.** Journal of Chromatography, A 2003, 1020, 3.

HAMLET, C. G., **Analytical methods for the determination of 3-Chloro-1,2-propandiol and 2-chloro-1,3-propandiol in hydrolysed vegetable protein, seasonings and food products using gas chromatography/ion trap tandem mass spectrometry**. Food Additives and Contaminants, 1998. 15, 451-465.

HAMLET C.G, SADD P; GRAY, D. **Influence of composition, moisture, pH and temperature on the formation and decay kinetics of monochloropropanediols in wheat flour dough.** European Food Research and Technology, 2003 216, 122–128.

HAMLET C.G; SADD, P.;GRAY, D. **Generation of monochloropropanediols (MCPDs) in model doμgh systems. Leavened doughs**. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52, 2004, 2059–2066

HAMLET C.G, SADD, P.;GRAY, D. **Generation of monochloropropanediols (MCPDs) in model dough systems. Unleavened doughs.** Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52, 2004, 2067–2072.

HAMLET, C. G.; SADD, P.; **Chloropropanols and their esters in cereal products**. Czech Journal Food Science. 2004, 22, 259.

HAMLET, C; SADD P.A.; STADLER, R.H; LINEBACK, D.R. **Process induced food toxicants: occurrence, formation, mitigation, and health risks.** 2009. Wiley, Hoboken, NJ

HAMLET C.G; ASUNCION L. **Single-laboratory validation of a method to quantify bound 2-chloropropane-1,3-diol and 3-chloropropane-1,2-diol in foodstuffs using acid catalysed transesterification, HFBI derivatisation and GC/MS detection**. European Journal Lipid Science Technology.2011. 113(3):345–355

HAMLET, C.G. et. al. **Investigation of the formation of 3-chloropropane-1,2-diol (3-MCPD) from mono and diesters of its fatty acids in foods.** Institute of Chemical Technology Prague. 2014

HARTMAN L; ESTEVES, W. **Tecnologia de óleos e gorduras vegetais.** Série Tecnologia Industrial. v. 13. São Paulo: Comercio, Ciência e Tecnologia, 1982. 169 p.

HOYT, J. A, et. al. **Utilization of a short-term male reproductive toxicity study design to examine effects of α-chlorohydrin (3-chloro-1,2-propanediol)**. 1994. Reprodutive Toxicology**.,** 8: 237–250.

HRNCIRIK, K.; ZELINKOVÁ, Z.; ERMACORA, A.; **An initial study on the formation of 3-MCPD esters during oil refining**.European Journal Lipid Science Technology. 2011, 113, 361.

HWANG, M.; YOON, E.; KIM, J.; JANG, D. D.; YOO, T. M.; **Toxicity value for 3-monocloropropane 1,2 diol using a benchmark dose methodology**. Reguloratory Toxicology Pharmacology**.** 2009, 53, 102.

IARC (INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER). IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Lyon: **IARC, 77,** 2000 p. 469.

IARC (INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER). IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Lyon: **IARC, 101**, 2012 p. 586.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, QUALIDADE E TECNOLOGIA - INMETRO. **Orientação sobre Validação de Métodos Analíticos:** DOQ-CGCRE- 008, rev. 04. Rio de Janeiro, 2011.

JECFA. Joint Expert Committee on Food Additives. Safety evaluation of certain food additives and contaminants. Eighty-third meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. **Glycidyl esters:** JECFA/83/SC Pages 5.7.

_____. **1,3-dichloro-2-propanol.** Safety evaluation of certain food additives and contaminants. In: WHO food addit ser 48. Prepared by the fifty-seventh meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA).2002. Geneva, Switzerland.

JEDRKIEWICZ, R. et. al. **Determination of 3-MCPD and 2-MCPD esters in edible oils, fish oils and lipid fractions of margarines available on Polish market.** Food Control. 59. 2016. Pages 487-492

JEDRKIEWICZ, R. et. al. **Novel fast analytical method for indirect determination of MCPD fatty acid esters in edible oils and fats based on simultaneous extraction and derivatization.** Analytical and Bioanalytical Chemistry. 2017. Volume 409, Issue 17 Pages 4267-4278

JOINT FAO / WHO EXPERT COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES, 41ª, Geneva, 1993. **Toxicological evaluation of certain food additives and contaminants:chloropropanols.** Geneva, WHO/IPCS, 1993. (WHO Food Additives Series, 32).

JONES A.R.**The metabolism of 3-chloro-, 3-bromo- and 3-iodopropan-1,2-diol in rats and mice**. Xenobiotica. 1975.5:155–165.

JONES, A.R. **The antifertility actions of alpha-chlorohydrin in the male**..*Life Sci*ence, 1978 23, 1625–1646.

JORNAL OFICIAL DA UNIÃO EUROPEIA, 2018. EU 2018/290 **Regulamento de Glicidol em óleos e gorduras vegetais.** Disponível em: https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32018R0290&from=EN. Acesso em: 20 junho. 2018.

KARASEK, L; WENZL, T; ULBERTH, F. **Proficiency test on the determination of 3-MCPD esters in edible oil**. Geel (Belgium): Publications Office of the European Union. 2010. EUR 24356 EN (DOI 10.2787/2587) Disponível: http://irmm.jrc.ec.europa.eu/interlaboratory_ comparisons/3_MCPD/Documents/eur_24356_en_3-mpcd_ esters_in_edible_oil.pdf/. Acesso em 10 de jan. 2018

KAZE N, et al. 2011. **Bidirectional conversion between 3-monochloro-1, 2-propanediol and glycidol in course of the procedure of DGF standard methods**. J Am Oil Chem Soc 88:1143–5

KLAASEEN, C.D.; WATKINS III, J.B. **Fundamentos em Toxicologia de Casarret e Doull**. AMGH Editora, 2ª Edição, Porto Alegre, 2012

KIPNIS, V,et. al. **Modeling data with excess zeros and measurement error: application to evaluating relationships between episodically consumed foods and health outcomes**. Biometrics. 2009 Dec;65(4):10031010.

KISSA, E. **Determination of 3-chloropropanediol and related dioxolanes by gas chromatography**. Journal Chromatography 605(1) 1992 134–138

KROES R et. al. **Assessment of intake from the diet**. Food and Chemical Toxicology 2002;40:327-385.

KUBALLA, T; RUGE, W. **Analysis and Detection of 3-monochloropropane-1,2 diol (3-MCPD) in food by GC/MS/MS.** Varian GC/MS Application Note, 2004

KUHLMANN, J.; **Determination of bound 2,3-epoxy-1-propanol (glycidol) and bound monochloropropanediol (MCPD) in refined oils.** European Journal Lipid Science. Technol. 2011, 113, 335.

KUSTERS M, et. al. **Rapid and simple micromethod for the simultaneous determination of 3-MCPD and 3-MCPD esters in different foodstuffs**. Journal Agriculture Food Chemistry**.** 58.2010: 6570–6577

KÜSTERS M et. al. **Simultaneous determination and differentiation of glycidyl esters and 3-monochloropropane-1,2-diol (MCPD) esters in different foodstuffs by GC-MS.** Journal Agriculture Food Chemistry. 2011. 59:6263–6270.

LARSEN, J.C. **3-MCPD esters in food products**. Summary Report of a Workshop held in February 2009 in Brussels Belgium. Danish Institute for Food and Veterinary Research, Denmark. 2009 pp. 32 ref.12

LEON, N. et. al. **Determination of 3-MCPD by GC-MS/MS with PTV-LV injector used for a survey of Spanish foodstuffs.** Talanta 75 2008. Pages 824-831

LYNCH, B.S. et.al. **Carcinogenecity of monochloro-1,2-propanediol (alpha-chloro-hydrin, 3-MCPD).** International Journal Toxicology. 1998.17, 47–76.

LINEBACK, D. R.; STADLER, R. H. **Process-induced food toxicants: occurrence, formation, mitigation, and health risks;** John Wiley & Sons Inc.: New York, 2009, cap. 1.

LIU, M. et. al.**Acute oral toxicity of 3-MCPD mono and di palmitic esters n Swiss mice and their cytoxicity in NRK-52-E rat kidney cells.** Food Chemistry Toxicology. 2012, 50, 3785.

LMBG. Bundesinstitut für Gesundheitlichen Verbraucherschutz und Veterinärmedizin Bestimmung von **3-Chlor-1,2-Propandiol (3-MDCP) in Speisewürzen** (Eiweisshydrolysate) (No 52.02 1). Beuth Verlag, Berlin, 1995

MACMAHON, S; BEGLEY, T; DIACHENKO, G. **Occurrence of 3-MCPD and glycidyl esters in edible oils in the United States.** Journal Food Additives & Contaminants: Part A. Volume 30. 2013 Pages: 2081- 2092

MEIERHANS, DC; BRUEHLMANN, S; MEILI, J; TAESCHLER, C. **Sensitive method for the determination of 3-chloropropane-1,2-diol and 2-chloropropane-1,3-diol by capillary gas**

chromatography with mass spectrometric detection. Journal Chromatography A.1998. 802(2):325–333

MILLER, J.C.;MILLER, J.N; **Estatística para química analítica**. Addison-Wesley Wilmington. 1993. 2. Ed.Delaware, USA

NOMEIR AA, et.al. **Comparative disposition of 2,3-epoxy-1-propanol (glycidol) in rats following oral and intravenous administration.** Journal Toxicology Environmental Health 1995. 44:203–217

NTP (National Toxicology Program) **Reports on Carcinogens.** Fourteenth Edition U Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA, 1994

NTP (National Toxicology Program) **Toxicology and carcinogenesis studies of glycidol in F344/N rats and B6C3F mice (gavage studies).** Technical Report No. 374, NIH Pub Na. 90-2829, US Department of Health and Human Services, National Institutes of Health, Bethesda, MD, USA, 1990

NYMAN, P.J., DIACHENKO, G.W.,PERFEITTI, G.A. **Determination of 1,3-dichlorpropanol in soy and related sauces using gas chromatography/mass spectrometry**. Food additives and Contaminants, 2003, 903-908

OGA, S.; CAMARGO, M.M.A; BATISTUZZO, J.A.O. **Fundamentos de Toxicologia**. 3ª Edição, São Paulo, Atheneu Editora, 2008.

ONAMI, S et. al. **Orally administered glycidol and its fatty acid esters as well as 3-MCPD fatty acid esters are metabolized to 3-MCPD in the F344 rat**. Regulatory Toxicology Pharmacology 2015 73(3):726–731

PESSELMAN, RL;FEIT M. **Determination of residue epichlohydrin and 3-chloropropanediol in water by gas chromatography with electron capture detection.** Journal Chromatography 1988 439:448–52.

PLANTINGA, MJ. et. al. **Determination of 3-Chloropropane-1,2-Diol in Liquid Hydrolyzed Vegetable Proteins by Capillary Gas-Chromatography with Flame Ionization Detection.** Journal of Chromatography A. 1991;555:311–314.

PUDEL, F. et. al. **On the necessity of edible oil refining and possible sources of 3-MCPD and glycidyl ester.** European Journal Lipid Science Technology**.** 2011, 113, 360.

RAHN, A. K. K.; YAYLAYAN, V. A.; **What we know about the molecular mechanism of 3-MCPD ester formation.** European Journal Lipid Science Technology. 2011, 113, 330

RAMY, R et. al. **Evaluation of the genotoxic potential of 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) and its metabolites, glycidol and β-chlorolactic acid, using the single cell gel/comet assay**. Food and Chemical Toxicology 45, 2007. 41-48.

RACAMONDE et. al. **Determination of chloropropanols in foods by one-step extraction and derivatization using pressurized liquid extraction and gas chromatography-mass spectrometry**. Journal of Chromatography. 2011 1218(39):6878-6883

RELACRE, "Guia 13 – **Validação de Métodos Internos de Ensaios em Análise Química**", Relacre, 2000

REECE P. **The origin and formation of 3-MCPD in foods and food ingredients**. FSA Project: C03017, 18, 19.*2005.*

RETHO, C; BLANCHARD, F. **Determination of 3-chloropropane-1,2-diol as its 1,3-dioxolane derivative at the μg kg^{-1} level: Application to a wide range of foods**. Food Additives Contaminants.2005 22:1189–1197

RIBANI, M. et.al. **Validação em Métodos Cromatográficos e Eletroforéticos**. Química Nova. V.27, n.5, p. 771-780, 2004

RODMAN LE, ROSS RD. **Gas-liquid chromatography of 3-chloropropanediol**. Journal Chromatography A 1986. 369*:*97–103.

SAMPAIO, K. A.; CERIANI, R.; SILVA, S. M.; TAHAM, T.; MEIRELLES, A. J. A.; **Steam Deacidification of pam oil.** Food Bioproducts Processing. 89 (C4) 2011, 383-390

SAMPAIO, K. A. ., AYALA, J. V. ., SILVA, S. M. ., CERIANI, R. ., VERHÉ, R. ., & MEIRELLES, A. J. A. **Thermal degradation kinetics of carotenoids in palm oil**. AOCS, Journal of the American Oil Chemists' Society, 2013 90(2), 191–198.

SANTE, EUROPEAN COMISSION. **Guidance Document on Analytical Quality Control and Method Validation Procedures for Pesticide Residues Analysis in Food and Feed**. 2017. Document No. SANTE/11813/2017. Disponível em: < https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/plant/docs/pesticides_mrl_guidelines_wrkdoc_2017-11813.pdf> Acesso em: 09 fev. 2019.

SAWAYA AL et. al. **Evaluation of four methods for determining energy intake in young and older women: comparison with doubly labeled water measurements of total energy expenditure**. The American Journal of Clinical Nutrition .1996 Abr:63(4):491-499.

SCF, SCIENTIFIC COMMITTEE ON FOOD. **Opinion on 3-Monochloro-Propane-1,2-Diol (3-MCPD),** updating the SCF opinion of 1994 adopted on 30 May 2001. http://ec.europa.eu/food/fs/sc/ scf/out91_en.pdf (Accessado em 09 Janeiro 2018)

SEEFELDER, W.; SCANLAN, F.; STUDER, A.; THEURILLAT, V; STADLER, R. H.; **The Formation of 3-Monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) in Food and Potential Measures of Control**. Thermal Processing of Food: Potential Health Benefits and Risks. 2007

SEEFELDER, W.et. al. **Esters of 3-chloro-1,2-propanediol (3-MCPD) in vegetable oils: significance in the formation of 3-MCPD**.Food Additives Contamination**.** 2008, 25, 391

SEEFELDER, W.; SCHOLZ, G.; SCHILTER, B.; **Structural diversity of dietary fatty esters of chloropropanols and related substances.** European Journal Lipid Science Technology. 2011, 113, 319

SILVERSTEIN, R.M et. al. **Spectrometric Identification of organic compounds**. 7. Ed. Nova York: John Wiley and Sons, 2005

SHAHIDI, F. **Bailey's Industrial Oil and Fat Products**. 6th Edition. Volume 5 John Wiley & Sons Inc.: New York, 2005, cap. 2.8.

SOLOMON, K.R.; STEPHENSON, G.R. Pesticides and the environment. Guelph: **Canadian Network of Toxicology Centres Press**, 2007. 422p.

Spyres, G. **Determination of 3-chloropropane-1, 2-diol in hydrolysed vegetable proteins by capillary gas chromatography with electrolytic conductivity detection.** Journal of Chromatography., 1993 638 -671.

SUBAR AF et. al. **Using intake biomarkers to evaluate the extent of dietary misreporting in a large sample of adults: the OPEN study**. American Journal of Epidemiology 2003 jul;158(1):113.

SUAREZ, P.; RAMALHO, H. **A química dos Óleos e Gorduras e seus Processos de Extração e Refino** Revista Virtual de Química, 2013 Brasilia.

SVEJKOVSKÁ, B. et. al. **Esters of 3-chloropropane-1,2-diol in foodstuffs**. Czech Journal Food Science 2004, 22, 190.

SVEJKOVSKÁ, B.; DOLEZAL, M.; VELISEK, J.; **Formation and decomposition of 3-chloropropane-1,2-diol esters in models simulating Processed Foods**. Czech Journal Food Science. 2006, Vol. 24 N.4 Pages 172-179.

TAREKE, E.; RYDBERG, P.; KARLSSON, P.; ERIKSSON, S.; TÖRNQVIST, M.; J. **Analysis of acrylamide, a carcinogen formed in heated foodstuffs.** Agriculture Food Chemistry. 2002, 50, 4998.

TENG, Z.; WANG. Q. Chemistry and Safety of 3-MCPD. **Food Safety Chemistry Toxicant Ocurrence, Analysis and Mitigation.** CRC Press. 2015. Pages 89-112

UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY (USEPA).**Risk assessment, management and communication of drinking water contamination.** Office of Drinking Water. Office of Research and Development. Office of Technology Transfer and Regulatory Support, June 1990.

USHIJIMA, K.et. al., **Analysis for residual 3-chloro-1,2propanediol in seasonings after derivatisation with phenyl boronic acid**. Shokuhin Eiseigaku Zasshi**,**1995. 36, 360±364.

VANBERGEN, C. A.,COLLIER, P. D., CROMIE, D.D.O.,LUCAS, H.D., PRESTON, H.D., AND SISSONS, J., **Determination of chloropropanols in protein hydrolysate**. Journal of Chromatography, 1992, 589, 109-119.

VALERIO, L.B; et. al. **Avaliação do Consumo de Alimentos In natura da População Brasileira por Meio da Pesquisa de Orçamentos Familiares - Bloco de Consumo Alimentar Pessoal (POF 2008/2009).** Série de Publicações ISI Brasil. Volume 2. 2015

VAN DEN WIJNGAARD AJ, JANSSEN DB, WITHOLT B.**Degradation of epichlorohydrin and halohydrins by bacterial cultures isolated from freshwater sediment**. Journal Genetics Microbiology. 1989.135:2199–2208.

Vékey, K.; J. **Mass Spectrometry and mass-selective detection in chromatography. Chromatography Journal.** A 2001, 921(2) 227-236.

VELISEK, J. et. al. **Chlorohydrins in protein hydrolusates**. Forsch. 1978, 167, 241.

VELISEK, J.; DAVÍDEK, J.; KUBELKA, V.; JANÍCEK, G.; SVOBODOVÁ, Z.; SIMICOVÁ, Z.; **New chlorine-containing organic compounds in protein hydrolysates**. Journal Agriculture Food Chemistry. 1980, 28, 1142.

VELISEK, J.; DOLEZAL, M.; CREWS, C.; DVORÁK, T.; **Optical isomers of chloropropanediols: mechanisms of their formation and decomposition in protein hydrolysates**. Czech Journal Food Science. 2002 20, 161.

VELISEK, J., DAVIDEK, T., DAVIDEK, J., KUBELKA, V., AND VIDEN, I., **3-Chloro-1,2-propanediol derived amino acids in protein hydrolysates**. Journal of Food Science, 56, 1991 139±142.

XIAO, Y et. al; **Dietary exposure of Hong Kong adults to fatty acid esters of 3-monochloropropane-1,2-diol.** Food Additives & Contaminants: Vol. 30, N 9, 1508 - 1512 Part A, 2013

XU, X; YIPING, R; WU, P; SHEN, X; HAN, J; FENG, X. **The simultaneous separation and determination of chloropropanols in soy source and other flavoring with gas chromatography-mass spectrometry in negative chemical and electron impact ionization modes**. Food Additives and Contaminants, 23(2), 2006, 110–119

ZEIGER, E., ANDERSON, B., HAWORTH, S., LAWLOR, T., MORTELMANS, K., **Salmonella mutagenicity tests: IV. Results from the testing of 300 chemicals**. Environmental Molecule Mutagen 11 (Suppl. 12), 1988.1–157.48

ZELINKOVÁ, Z., et. al. **Fatty acid esters of 3-chloropropane-1,2-diol in edible oils.** (2006) Food Additives and Contaminants**,** 23 (12), pp. 1290-1298.

ZELINKOVÁ, Z.; DOLEZAL, M.; VELISEK, J.; **Fatty acid esters of 3-chloropropane-1,2-diol in edible oils.** European Food Technology. 2009, 228, 571.

WAKABAYASHI K, et. al. **Species differences in toxicokinetic parameters of glycidol after a single dose of glycidol or glycidol linoleate in rats and monkeys**. Journal Toxicology. 2012. Sci 37:691–698

WEISSHAAR, R.; **Determination of total 3-chloropropane-1, 2-diol (3-MCPD) in edible oils by cleavage of MCPD esters with sodium methoxide** European Journal Lipid Science. Technol. 2008, 110, 183.

WENZL T, LACHENMEIER DW, GÖKMEN V. **Analysis of heat-induced contaminants (acrylamide, chloropropanols and furan) in carbohydrate-rich food**. Analytical Bioanalytical Chemistry.2007 389:119–137

WENZL T, et. al. **Development and validation methods for the analysis 3-MCPD (both in free and ester form) and glycidyl esters in various food matrices and performance of an ad-hoc survey on specific food groups in support to a scientific opinion on comprehensive**

risk assessment on the presence of 3-MCPD and glycidyl esters in food. 2015. EFSA supporting publication: EN-779

WITTMANN, R., **Determination of dichloropropanols and monochloropropandiols in seasonings and in foodstuffs containing seasonings.** Zeitschrift fu Èr Lebensmittel-Untersuchung und Forschung, 1991 193, 224±229.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. **IPCS risk assessment terminology**. Harmonization Project Document n. 1. Geneva: WHO, 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. ***Principles for the assessment of risks to human health from exposure to chemicals*.** International Programme on Chemical Safety, Environmental Health Criteria 210. Geneva: WHO, 1999. Disponível em: http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc210.htm. Acesso em: 5 abr. 2018.

WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO. **Principles and methods for the risk assessment of chemicals in food.** International Programme on Chemical Safety, Environmental Health Criteria 240. Geneva: WHO, 2009. Disponível em: http://www.who.int/foodsafety/publications/chemical-food/en/. Acesso em: 10 jul. 2018

9. ANEXOS

9.1 Resultados analíticos de 3-MCPD e Glicidol das amostras analisados contendo data de produção, rastreabilidade, ordem carregamento e tipo de matriz

Rr	Rastreabilidade do tanque	Orgem carregamento	Comentários	Éster 3 MCPD (µg/kg 3-MCPD livre)	Éster 3-MCPD + Éster Glicidil (µg/kg)	Éster Glicidil (µg/kg Glicidol livre)
05.04.2018	94G	1291	Óleo de Canola / Rapessed Oil	140	390	2
19.03.2018	94X	1429	Óleo Milho	220	270	42
09.01.2018	TK 1925A		Óleo de Canola / Rapessed Oil	299	314	13
27.03.2018	94X	1251	Óleo Milho	260	320	50
03.05.2018	94X	1470	Óleo Milho	210	290	67
10.05.2018	94X	1509	Óleo Milho	250	350	84
02.04.2018	94G	1269	Óleo de Canola / Rapessed Oil	180	220	34
01.12.2017	16L	01.12.2017	Oleina Palma Refinado	250	500	2

06.05.2018	94X	1486	Óleo Milho	210	320	92
01.10.2017	94X	2401	Óleo Milho	275	394	100
15.04.2018	6403	1359	Óleo de soja Refinado	100	107	6
29.07.2018	16P		Óleo de Palma Refinado	1721	3631.000	1600
17.04.2018	94P	1377	Óleo de Canola / Rapessed Oil	250	330	67
05.02.2018	6403	969	Óleo de soja Refinado	180	268	74
16.06.2018	94G	7809	Óleo de Canola / Rapessed Oil	360	440	67
02.03.2018	TK 1925A		Óleo de Canola / Rapessed Oil	176	258	69
30.03.2018	16Q	300317	Óleo de Palma Refinado	750	2710	1642
01.03.2018	5901L	20912	Óleo Algodão Refinado	250	240	-8

03.09.2018	94H	8233	Óleo Milho	280	420	117
15.06.2018	94H	7800	Óleo Milho	100	250	126
12.09.2018	94G	8274	Óleo de Canola / Rapessed Oil	200	290	75
12.05.2018	94P	1523	Óleo de Canola / Rapessed Oil	300	400	84
07.02.2018	94G	980	Óleo de Canola / Rapessed Oil	170	276	89
28.10.2017	16L	28.10.2017	Oleina Palma Refinado	280	640	3
01.06.2018	94H	7756	Óleo Milho	100	250	126
22.06.2018	94H	7842	Óleo Milho	420	610	159
11.06.2018	94H	1693	Óleo Milho	100	320	184
24.06.2018	6403	1771	Óleo de soja Refinado	100	198	82

05.01.2018	94G	1298	Óleo de Canola / Rapessed Oil	147	255	90
13.09.2018	94G	2295	Óleo de Canola / Rapessed Oil	190	300	92
08.09.2018	94G	8258	Óleo de Canola / Rapessed Oil	220	330	92
30.04.2018	94P	1492	Óleo de Canola / Rapessed Oil	280	390	92
24.06.2018	6403	1773	Óleo de soja Refinado	100	200	84
04.10.2017	16L	04.10.2017	Oleina Palma Refinado	280	650	3
19.12.2017	5901L	20852	Óleo Algodão Refinado	270	270	0
04.05.2018	16Q	040517	Óleo de Palma Refinado	1130	3120	1667
10.02.2018	94P	1018	Óleo de Canola / Rapessed Oil	189	302	95
22.08.2018	94G	2132	Óleo de Canola / Rapessed Oil	100	220	101

08.02.2018	TK 1925A		Óleo de Canola / Rapessed Oil	94	219	105
23.02.2018	TK 1925A		Óleo de Canola / Rapessed Oil	85	214	108
27.09.2018	94P	2376	Óleo de Canola / Rapessed Oil	274	403	108
08.09.2018	6403	8092017	Óleo Algodão Refinado	302	327	21
01.03.2018	16P		Óleo de Palma Refinado	1010	3377	1982
07.08.2018	94G	8092	Óleo de Canola / Rapessed Oil	220	350	109
19.09.2018	16P		Óleo de Palma Refinado	2370	4774.000	2013
04.01.2018	TK 94P	794	Óleo Girassol	73	193	101
27.07.2018	16P		Óleo de Palma Refinado	1744	4260.000	2107

15.04.2018	94Z	1370	Óleo Algodão Refinado	258	300	35
23.07.2018	16P		Óleo de Palma Refinado	1621	4147.000	2116
10.08.2018	16P		Óleo de Palma Refinado	1550	4170.000	2194
24.07.2018	16P		Óleo de Palma Refinado	1694	4331.000	2208
25.02.2018	16P		Óleo de Palma Refinado	2090	4730	2211
16.01.2018	TK 94P	866	Óleo Girassol	87	170	70
23.07.2018	16P		Óleo de Palma Refinado	1429	4124.000	2257
28.03.2018	6403	280317	Óleo Algodão Refinado	250	300	42
28.07.2018	16P		Óleo de Palma Refinado	1747	4477.000	2286

09.02.2018	6403	962	Óleo de soja Refinado	206	322	97
24.12.2017	6403	743	Óleo de soja Refinado	126	252	106
02.01.2018	6403	775	Óleo de soja Refinado	201	334	111
01.07.2018	6403	1807	Óleo de soja Refinado	100	240	117
24.06.2018	94H	7864	Óleo Milho	220	460	201
22.06.2018	94H	1693	Óleo Milho	100	380	235
10.02.2018	5901L	14916	Óleo Algodão Refinado	310	360	42
21.10.2017	16L	21.10.2017	Oleina Palma Refinado	270	650	3
31.07.2018	94G	8063	Óleo de Canola / Rapessed Oil	220	350	109
10.04.2018	94X	1331	Óleo Milho	260	550	243

28.12.2017	TK 94P	765	Óleo Girassol	89	167	65
10.02.2018	5901L	14916	Óleo Algodão Refinado	310	360	42
07.12.2017	TK 94P	678	Óleo Girassol	90	194	87
24.11.2017	16L	24.11.2017	Oleina Palma Refinado	270	670	3
21.07.2018	16P		Óleo de Palma Refinado	1291	4024.000	2289
25.03.2018	16Q	250517	Óleo de Palma Refinado	620	3430	2353
15.04.2018	94Z	1372	Óleo Algodão Refinado	269	320	43
17.01.2018	5901L	14807	Óleo Algodão Refinado	220	280	50
17.12.2017	TK 94P	5004	Óleo Girassol	99	176	64
17.01.2018	5901H	14807	Óleo Algodão Refinado	220	280	50
21.03.2018	5901A	21138	Óleo Algodão Refinado	240	300	50

19.11.2017	TK 94P	550	Óleo Girassol	100	196	80
13.04.2018	94Z	1364	Óleo Algodão Refinado	260	320	50
15.12.2017	16L	15.12.2017	Oleina Palma Refinado	300	720	4
13.12.2017	16L	13.12.2017	Oleina Palma Refinado	300	740	4
05.09.2018	16L	5092017	Oleina Palma Refinado	510	530	17
06.08.2018	16L	06/08/2017	Oleina Palma Refinado	440	510	59
10.03.2018	16L	10032017	Oleina Palma Refinado	320	440	101
27.07.2018	16L	27072017	Oleina Palma Refinado	460	580	101
23.03.2018	16L	23032017	Oleina Palma Refinado	260	390	109
29.11.2017	TK 94P	613	Óleo Girassol	102	215	95
20.05.2018	94N	1563	Óleo Girassol	103	316	178
10.12.2017	TK 94P	694	Óleo Girassol	107	192	71
01.03.2018	5901L	14615	Óleo Algodão Refinado	250	330	67

10.06.2018	6403	10062017	Óleo Algodão Refinado	108	194	72
30.11.2017	5901L	20795	Óleo Algodão Refinado	250	340	75
26.02.2018	94Z	1496	Óleo Algodão Refinado	330	420	75
22.02.2018	94Z	1478	Óleo Algodão Refinado	300	400	84
08.04.2018	5901L	21200	Óleo Algodão Refinado	223	330	90
13.06.2018	94G	7786	Óleo de Canola / Rapessed Oil	380	510	109
16.11.2017	TK 94P	591	Óleo Girassol	108	204	80
09.01.2018	94N	819		110	240	109
18.05.2018	94N	1542	Óleo Girassol	110	330	184
18.05.2018	94N	1542	Óleo Girassol	110	330	184

22.08.2018	94G	2131	Óleo de Canola / Rapessed Oil	117	250	111
04.10.2017	94X	2423	Óleo Milho	301	602	252
30.03.2018	16Q	300317	Óleo de Palma Refinado	650	3460	2353
05.09.2018	94P	2229	Óleo Milho	187	495	258
08.04.2018	5901L	21200	Óleo Algodão Refinado	223	330	90
15.05.2018	6404	150517	Óleo Algodão Refinado	150	265	96
17.02.2018	TK 94P	1055	Óleo Girassol	112	206	79
02.02.2018	TK 94P	953	Óleo Girassol	123	240	98
21.07.2018	TQ 16E	27072018	Óleo de palmiste	220	360	117
21.09.2018	TQ 16E	21092018	Óleo de palmiste	250	670	352
12.05.2018	94N	1520	Óleo Girassol	170	370	168

12.05.2018	94N	1520	Óleo Girassol	170	370	168
01.04.2018	94L	1283	Óleo de girassol Refinado	190	207	14
11.09.2018	TQ 16E	11092018	Óleo de palmiste	210	720	427
20.07.2018	16P		Óleo de Palma Refinado	1153	4021.000	2402
27.07.2018	TQ 16E		Óleo de palmiste	210	760	461
01.06.2018	TQ 16E	1062018	Óleo de palmiste	140	740	503
28.06.2018	TQ 16E	28062018	Óleo de palmiste	140	750	511
10.04.2018	94N	1338	Óleo Girassol	225	280	46
30.04.2018	6403	300417	Óleo Algodão Refinado	270	400	109
30.07.2018	6403	30072017	Óleo Algodão Refinado	120	253	111
25.09.2018	94X	2369	Óleo Milho	246	576	276

25.03.2018	16Q	250317	Óleo de Palma Refinado	590	3610	2529
22.08.2018	94G	2131	Óleo de Canola / Rapessed Oil	117	250	111
16.05.2018	6405.00	160517	Óleo Algodão Refinado	158	291	111
25.01.2018	5901L	20971	Óleo Algodão Refinado	300	440	117
25.01.2018	5901L	20971	Óleo Algodão Refinado	300	440	117
03.03.2018	16P		Óleo de Palma Refinado	830	3992	2648
09.01.2018	94P	819	Óleo de Canola / Rapessed Oil	107	243	114
07.02.2018	94G	982	Óleo de Canola / Rapessed Oil	177	315	116
15.04.2018	16P	150417	Óleo de Palma Refinado	990	4190	2680
22.08.2018	94P	2068	Óleo de Canola / Rapessed Oil	100	240	117

11.08.2018	6403	11082017	Óleo Algodão Refinado	100	241	118
28.04.2018	5901H	21257	Óleo Algodão Refinado	228	370	119
28.04.2018	5901H	21257	Óleo Algodão Refinado	228	370	119
09.08.2018	94P	2048	Óleo de Canola / Rapessed Oil	100	240	117
07.12.2017	TK 94Z	675	Óleo de girassol Refinado	240	908	559
13.03.2018	TK 1925A		Óleo de Canola / Rapessed Oil	97	244	123
03.10.2017	94P	2389	Óleo de Canola / Rapessed Oil	277	445	141
15.07.2018	16P		Óleo de Palma Refinado	1439	4747.000	2770
01.04.2018	94G	15130	Óleo de Canola / Rapessed Oil	281	450	142
08.05.2018	16P	080517	Óleo de Palma Refinado	930	4250	2781

05.03.2018	16P		Óleo de Palma Refinado	820	4230	2856
21.04.2018	94N	1408	Óleo Girassol	242	272	25
19.07.2018	TQ 16E	21072018	Óleo de palmiste	210	1310	921
18.12.2017	94L	5004	Óleo de girassol Refinado	250	582	278
23.05.2018	6403	3496	Óleo Algodão Refinado	200	350	126
08.03.2018	6403	080317	Óleo Algodão Refinado	230	380	126
02.02.2018	6403	952	Óleo de soja Refinado	110	266	131
18.11.2017	94L	538	Óleo de girassol Refinado	250	722	395
21.05.2018	6403	3493	Óleo Algodão Refinado	250	400	126
16.04.2018	94G	1376	Óleo de Canola / Rapessed Oil	280	450	142

08.02.2018	94L	998	Óleo Milho	217	550	279
13.08.2018	TQ 16E	13/08/2018	Óleo de palmiste	350	1560	1013
28.05.2018	6403	3528	Óleo Algodão Refinado	350	500	126
26.12.2017	5901F	14707	Óleo Algodão Refinado	239	390	126
05.01.2018	TK 1925A		Óleo de Canola / Rapessed Oil	290	463	145
26.04.2018	16P	260417	Óleo de Palma Refinado	860	4320	2898
08.04.2018	1925A	15172	Óleo de Canola / Rapessed Oil	186	375	158
28.07.2018	94P	1982	Óleo de Canola / Rapessed Oil	110	300	159
21.06.2018	94G	7482	Óleo de Canola / Rapessed Oil	420	610	159
28.11.2017	94L	605	Óleo de girassol Refinado	253	564	260

02.05.2018	16P	020517	Óleo de Palma Refinado	840	4480	3049
10.09.2018	16P		Óleo de Palma Refinado	2547	6235.000	3089
15.04.2018	94N	1369	Óleo Girassol	254	248	-5
22.12.2017	5901F	14707	Óleo Algodão Refinado	239	390	126
02.10.2017	94X	2404	Óleo Milho	269	610	286
25.04.2018	16Q	250417	Óleo de Palma Refinado	640	4520	3250
16.04.2018	16Q	160417	Óleo de Palma Refinado	260	4310	3392
01.12.2017	16L	1122017	Oleina Palma Refinado	560	690	109
19.06.2018	94H	7893	Óleo Milho	200	560	302
19.07.2018	6403	19072017	Óleo Algodão Refinado	129	281	127

27.07.2018	6403	27072017	Óleo Algodão Refinado	119	272	128
17.01.2018	5901C	14807	Óleo Algodão Refinado	194	350	131
25.08.2018	94P	2162	Óleo Milho	215	620	339
25.08.2018	94P	2162	Óleo Milho	215	620	339
14.11.2017	94G	8582	Óleo de Canola / Rapessed Oil	810	1000	159
06.04.2018	16P	060417	Óleo de Palma Refinado	610	6150	4640
03.02.2018	6403	30217	Óleo Algodão Refinado	400	560	134
25.09.2018	94H	2370	Óleo Milho	251	663	345
21.05.2018	6403	3428	Óleo Algodão Refinado	220	390	142

24.04.2018	6403	270417	Óleo Algodão Refinado	220	390	142
12.03.2018	16P		Óleo de Palma Refinado	1130	7073	4977
17.04.2018	16P	170417	Óleo de Palma Refinado	780	7060	5260
02.08.2018	94G	2007	Óleo de Canola / Rapessed Oil	120	320	168
25.05.2018	16Q	250517	Óleo de Palma Refinado	1343	4018	
20.05.2018	6403	3490	Óleo Algodão Refinado	280	450	142
15.05.2018	6403	3428	Óleo Algodão Refinado	300	470	142
21.03.2018	5901I	21138	Óleo Algodão Refinado	236	410	146
26.05.2018	16P	260517	Óleo de Palma Refinado	1365	4180	
21.03.2018	5901I	21138	Óleo Algodão Refinado	236	410	146

23.05.2018	6403	3490	Óleo Algodão Refinado	260	440	151
25.02.2018	6403	250217	Óleo Algodão Refinado	340	520	151
02.10.2017	94G	8371	Óleo de Canola / Rapessed Oil	190	390	168
29.03.2018	94N	1261	Óleo Girassol	258	275	14
16.05.2018	6403	3477	Óleo Algodão Refinado	290	480	159
02.09.2018	16L	02092017	Oleina Palma Refinado	220	360	117
15.04.2018	94Z	1370	Óleo de girassol Refinado	258	300	35
03.09.2018	94G	2217	Óleo de Canola / Rapessed Oil	160	380	184
13.12.2017	5901A	14679	Óleo Algodão Refinado	225	420	163
13.12.2017	5901A	14679	Óleo Algodão Refinado	225	420	163

06.03.2018	6403	060317	Óleo Algodão Refinado	210	410	168
16.05.2018	6403	3476	Óleo Algodão Refinado	260	460	168
30.11.2017	6403	625	Óleo de soja Refinado	114	287	145
22.03.2018	94G	9200	Óleo de Canola / Rapessed Oil	220	440	184
21.01.2018	94L	898	Óleo Milho	229	679	377
02.01.2018	6403	776	Óleo de soja Refinado	175	372	165
11.05.2018	94G	15280	Óleo de Canola / Rapessed Oil	266	489	187
05.10.2017	94P	2425	Óleo de Canola / Rapessed Oil	339	564	188
11.08.2018	94H	8113	Óleo Milho	250	710	385

24.08.2018	6403	2148	Óleo de soja Refinado	120	320	168
13.05.2018	6403	3467	Óleo Algodão Refinado	320	520	168
22.09.2018	6403	2346	Óleo de soja Refinado	300	500	168
13.04.2018	94Z	1364	Óleo de girassol Refinado	260	320	50
26.12.2017	6403	751	Óleo de soja Refinado	171	382	177
05.09.2018	94P	2230	Óleo Milho	200	664	389
21.01.2018	94L	900	Óleo Milho	246	765	435
22.04.2018	5901C	21240	Óleo Algodão Refinado	175	380	172
22.04.2018	5901C	21240	Óleo Algodão Refinado	175	380	172
25.08.2018	94P	2257	Óleo Milho	132	658	441

06.02.2018	94L	970	Óleo Milho	245	778	446
04.12.2017	6403	658	Óleo de soja Refinado	165	413	208
14.07.2018	6403	1890	Óleo de soja Refinado	185	451	223
17.01.2018	94L	878	Óleo Milho	264	799	448
12.03.2018	6403	120317	Óleo Algodão Refinado	250	470	184
13.12.2017	5901I	14679	Óleo Algodão Refinado	209	430	185
13.12.2017	5901I	14679	Óleo Algodão Refinado	209	430	185
25.11.2017	94L	590	Óleo de girassol Refinado	266	601	281
08.01.2018	6403	813	Óleo de soja Refinado	423	715	245
29.08.2018	16L	29082017	Oleina Palma Refinado	420	570	126

03.09.2018	94G	2214	Óleo de Canola / Rapessed Oil	135	362	190
26.09.2018	94H	8337	Óleo Milho	180	750	477
04.08.2018	94P	2023	Óleo de Canola / Rapessed Oil	100	330	193
15.04.2018	94Z	1372	Óleo de girassol Refinado	269	320	43
06.01.2018	6403	800	Óleo de soja Refinado	363	656	245
13.09.2018	6403	2292	Óleo de soja Refinado	220	515	247
26.04.2018	94P	1435	Óleo de Canola / Rapessed Oil	230	460	193
26.04.2018	94G	15211	Óleo de Canola / Rapessed Oil	299	537	199
03.09.2018	94P	2220	Óleo de Canola / Rapessed Oil	110	350	201

22.02.2018	94Z	1478	Óleo de girassol Refinado	300	400	84
06.10.2017	94H	8381	Óleo Milho	200	770	477
07.02.2018	6403	981	Óleo de soja Refinado	254	555	252
30.01.2018	TK 6403	936	Óleo de soja Refinado	249	569	268
28.05.2018	94Y	1604	Óleo de girassol Refinado	320	580	218
11.01.2018	6403	842	Óleo de soja Refinado	308	631	271
03.12.2017	6403	646	Óleo de soja Refinado	126	450	271
10.02.2018	5901C	14916	Óleo Algodão Refinado	207	430	187
02.12.2017	6403	645	Óleo de soja Refinado	138	469	277
06.11.2017	16L	6112017	Oleina Palma Refinado	490	640	126

10.02.2018	5901C	14916	Óleo Algodão Refinado	207	430	187
22.08.2018	94H	8172	Óleo Milho	310	880	477
23.02.2018	5901C	14944	Óleo Algodão Refinado	196	430	196
28.05.2018	94Y	1604	Óleo de girassol Refinado	320	580	218
26.02.2018	94L	1496	Óleo de girassol Refinado	330	420	75
27.06.2018	16L	27062017	Oleina Palma Refinado	420	580	134
23.02.2018	5901C	14944	Óleo Algodão Refinado	196	430	196
14.08.2018	16L	14/08/2017	Oleina Palma Refinado	440	600	134
04.05.2018	5901L	21274	Óleo Algodão Refinado	180	440	218
04.05.2018	5901L	21274	Óleo Algodão Refinado	180	440	218
06.05.2018	5901E	21281	Óleo Algodão Refinado	209	490	235

05.05.2018	94Z	1478	Óleo de girassol Refinado	340	450	92
05.05.2018	94Z	1478	Óleo de girassol Refinado	340	450	92
05.05.2018	94L	1531	Óleo de girassol Refinado	350	620	226
06.05.2018	5901E	21281	Óleo Algodão Refinado	209	490	235
19.01.2018	6403	885	Óleo de soja Refinado	373	730	299
08.03.2018	94X	1157	Óleo Milho	250	849	502
27.12.2017	6403	753	Óleo de soja Refinado	168	530	303
21.08.2018	6403	2338	Óleo de soja Refinado	280	670	327
17.07.2018	94G	7980	Óleo de Canola / Rapessed Oil	150	400	209
13.11.2017	16L	13112017	Oleina Palma Refinado	400	590	159

18.01.2018	6403	879	Óleo de soja Refinado	287	765	400
28.11.2017	94Z	605	Óleo Algodão Refinado	250	560	260
05.05.2018	94L	1531	Óleo de girassol Refinado	350	620	226
20.07.2018	TQ 16E		Óleo de palmiste	250	1640	1164
25.11.2017	94Z	590	Óleo Algodão Refinado	270	600	276
21.05.2018	94Y	1566	Óleo de girassol Refinado	360	531	143
18.11.2017	94Y	538	Óleo Algodão Refinado	250	720	394
24.11.2017	6403	579	Óleo de soja Refinado	234	777	455
19.09.2018	16L	19092017	Oleina Palma Refinado	470	660	159
05.05.2018	94L	1539	Óleo de girassol Refinado	360	590	193

05.05.2018	94L	1539	Óleo de girassol Refinado	360	590	193
07.12.2017	94Z	675	Óleo Algodão Refinado	240	910	561
05.05.2018	94L	1501	Óleo de girassol Refinado	380	650	226
09.06.2018	16L	09062017	Oleina Palma Refinado	260	470	176
28.06.2018	94G	7888	Óleo de Canola / Rapessed Oil	150	400	209
29.10.2017	16L	29102017	Oleina Palma Refinado	440	650	176
08.04.2018	16L	8042017	Oleina Palma Refinado	280	500	184
23.12.2017	16L	231216	Oleina Palma Refinado	310	560	209
07.10.2017	16L	7102017	Oleina Palma Refinado	450	700	209
22.01.2018	16L	22012017	Oleina Palma Refinado	400	670	226
12.04.2018	94G	1305	Óleo de Canola / Rapessed Oil	220	470	209
25.03.2018	16L	250317	Oleina Palma Refinado	280	600	268

18.08.2018	94G	8147	Óleo de Canola / Rapessed Oil	450	710	218
11.01.2018	16L	110117	Oleina Palma Refinado	300	620	268
01.08.2018	94P	1972	Óleo de Canola / Rapessed Oil	100	370	226
05.11.2017	TK 1925A		Óleo de Canola / Rapessed Oil	284	560	231
05.05.2018	94L	1501	Óleo de girassol Refinado	380	650	226
09.06.2018	94G	1484	Óleo de Canola / Rapessed Oil	100	380	235
13.02.2018	16L	13022017	Oleina Palma Refinado	370	690	268
04.01.2018	94G	847	Óleo de Canola / Rapessed Oil	380	660	235
20.05.2018	16L	200517	Oleina Palma Refinado	330	660	276
13.09.2018	94P	2286	Óleo de Canola / Rapessed Oil	265	550	239
19.04.2018	1925A	15187	Óleo de Canola / Rapessed Oil	158	449	244

20.05.2018	16L	200517	Oleina Palma Refinado	310	650	285
20.05.2018	16L	200517	Oleina Palma Refinado	350	710	302
12.09.2018	94P	2284	Óleo de Canola / Rapessed Oil	250	550	251
14.01.2018	94G	8864	Óleo de Canola / Rapessed Oil	170	480	260
20.05.2018	16L	200517	Oleina Palma Refinado	320	690	310
08.03.2018	94G	9135	Óleo de Canola / Rapessed Oil	290	620	276
19.02.2018	16L	190217	Oleina Palma Refinado	250	630	318
20.05.2018	16L	200517	Oleina Palma Refinado	320	700	318
06.11.2017	94G	8548	Óleo de Canola / Rapessed Oil	1650	1990	285
04.08.2018	94P	2020	Óleo de Canola / Rapessed Oil	550	900	293
24.12.2017	16L	24122017	Oleina Palma Refinado	320	700	318
22.04.2018	1925A	15215	Óleo de Canola / Rapessed Oil	296	652	298

20.05.2018	16L	200517	Oleina Palma Refinado	290	680	327
16.02.2018	94G	9030	Óleo de Canola / Rapessed Oil	200	620	352
13.11.2017	16L	131116	Oleina Palma Refinado	290	690	335
20.05.2018	16L	200517	Oleina Palma Refinado	300	700	335
21.12.2017	94L	732	Óleo Milho	179	786	508
13.11.2017	94G	8581	Óleo de Canola / Rapessed Oil	1240	1660	352
01.10.2017	94P	2402	Óleo Milho	241	878	533
25.04.2018	94G	15241	Óleo de Canola / Rapessed Oil	215	645	360
04.05.2018	94L	1476	Óleo de girassol Refinado	400	720	268
06.01.2018	16L	6012017	Oleina Palma Refinado	260	696	365
17.09.2018	94H	8296	Óleo Milho	340	1020	570

24.12.2017	94G	8769	Óleo de Canola / Rapessed Oil	230	668	367
04.05.2018	94L	1476	Óleo de girassol Refinado	400	720	268
04.08.2018	94H	8084	Óleo Milho	290	1000	595
27.02.2018	94G	9079	Óleo de Canola / Rapessed Oil	430	920	410
15.01.2018	16L	15012017	Oleina Palma Refinado	260	700	369
03.12.2017	94L	652	Óleo Milho	215	978	639
23.02.2018	16L	23022017	Oleina Palma Refinado	330	780	377
26.07.2018	94H	8038	Óleo Milho	270	1070	670
23.09.2018	94G	8217	Óleo de Canola / Rapessed Oil	530	1020	410
07.03.2018	16L	7032017	Oleina Palma Refinado	280	740	385
18.05.2018	94N	1552	Óleo Girassol	410	748	283

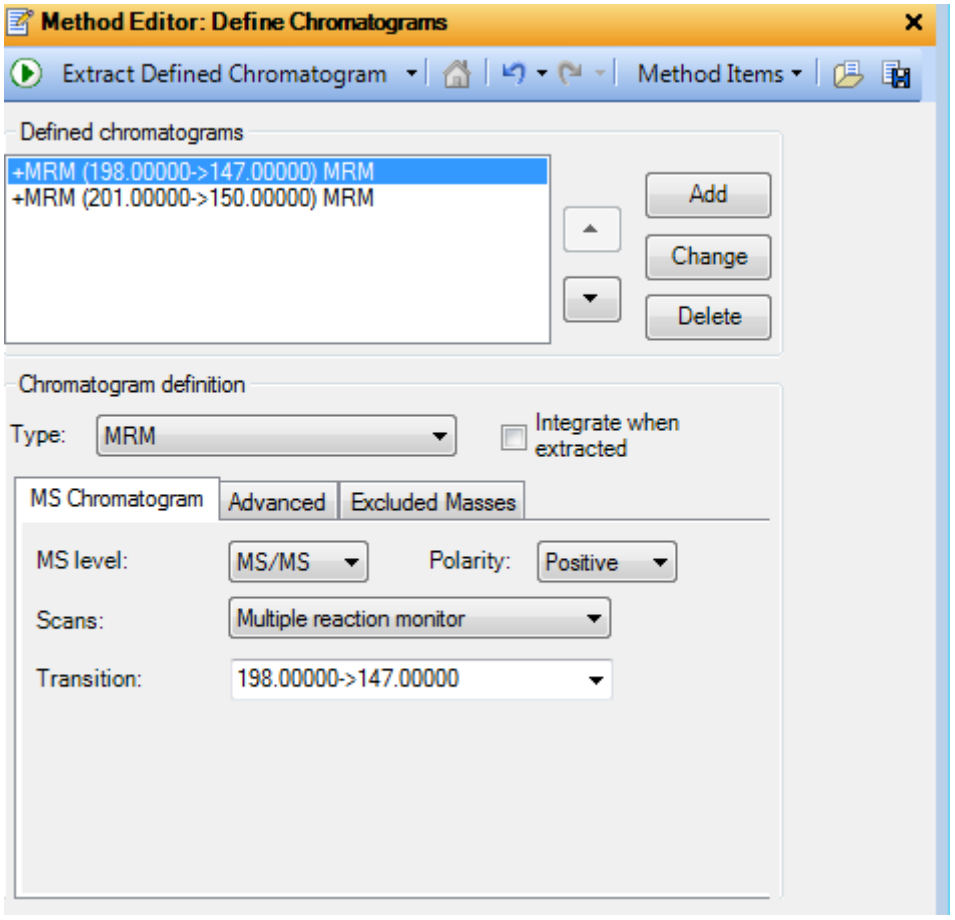
09.01.2018	94L	855	Óleo Milho	316	1139	689
01.12.2017	TK 1925A		Óleo de Canola / Rapessed Oil	336	845	426
27.05.2018	16L	27052017	Oleina Palma Refinado	250	800	461
29.05.2018	94H	7756	Óleo Milho	200	1030	695
23.02.2018	94G	9032	Óleo de Canola / Rapessed Oil	390	900	427
11.08.2018	16L	11082017	Oleina Palma Refinado	230	900	561
28.01.2018	94L	928	Óleo Milho	265	1109	707
11.05.2018	94Y	1515	Óleo de girassol Refinado	410	748	283
11.05.2018	94Z	1513	Óleo de girassol Refinado	425	739	263
27.01.2018	94G	8931	Óleo de Canola / Rapessed Oil	460	970	427

04.05.2018	94Z	1459	Óleo de girassol Refinado	470	530	50
07.02.2018	94G	8782	Óleo de Canola / Rapessed Oil	230	750	436
25.09.2018	16L	25092017	Oleina Palma Refinado	310	1010	586
10.09.2018	94H	8266	Óleo Milho	340	1190	712
25.01.2018	94L	825	Óleo Milho	292	1190	752
09.01.2018	94G	8812	Óleo de Canola / Rapessed Oil	230	787	466
21.03.2018	94X	1225	Óleo Milho	295	1482	994
03.03.2018	94G	9100	Óleo de Canola / Rapessed Oil	330	940	511
17.03.2018	94X	1206	Óleo Milho	331	1612	1073
04.11.2017	94G	8538	Óleo de Canola / Rapessed Oil	1260	2690	1198

02.01.2018	94L	774	Óleo Milho	248	1540	1082
04.05.2018	94Z	1459	Óleo de girassol Refinado	470	530	50

9.2 Configuração do Método de Aquisição

Descrição dos íons monitorados para o analito e o padrão deuterado



9.3 Cromatogramas da Validação do Método

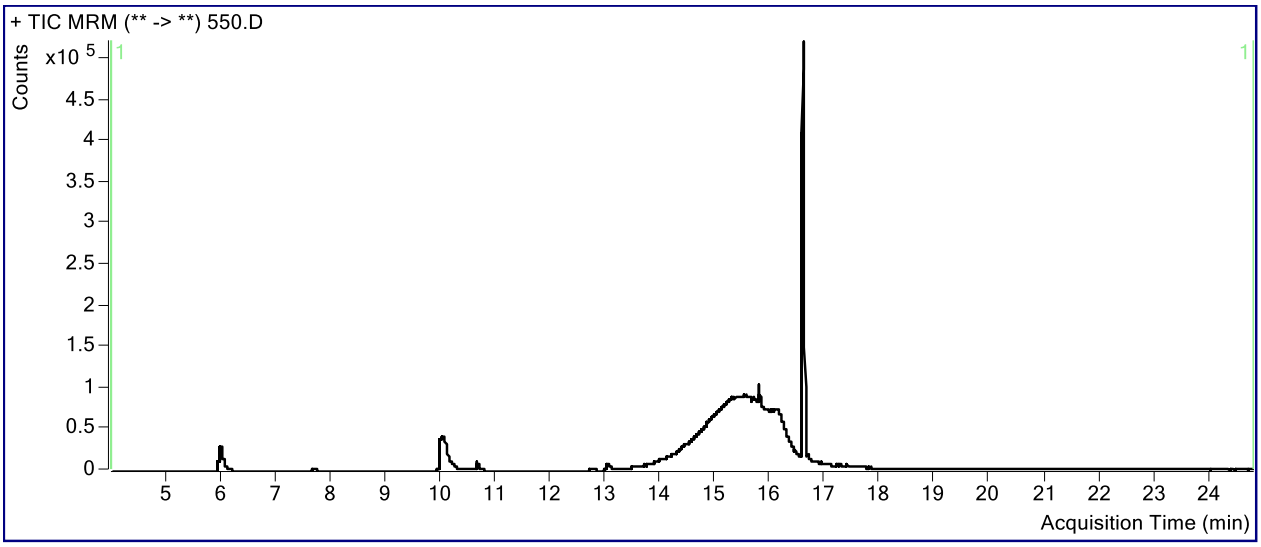
Cromatograma da amostra FAPAS 2649 Rota A-1

Batch Data Path	D:\Validacao 3-MCPD 2018\27072018\Dia 1\QuantResults\28072018.batch.bin		
Analysis Time	8/6/2018 8:29 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/27/2018 11:53 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/6/2018 8:29 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-07-29 05:38	**Data File**	550.D
Sample Type	Sample	**Sample Name**	FAPAS 2649 Rota A-1
Dilution	1	**Acq Method**	Cd 29c-13 - 2017
Position	6	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Comment**	

Sample Chromatogram

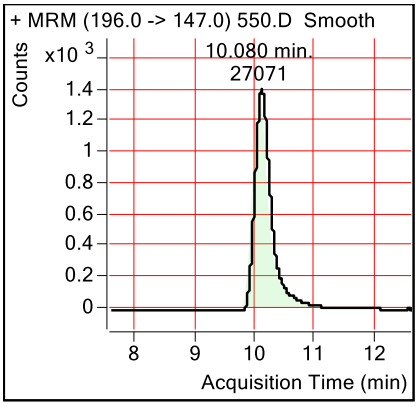


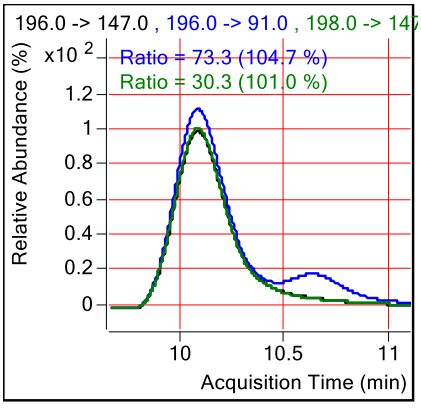
Quantitation Results

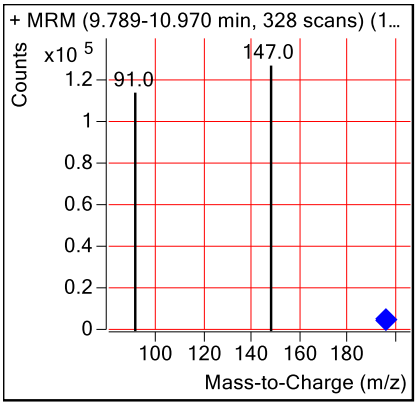
Compound	ISTD Compound	RT	Response	ISTD Resp	Resp Ratio	Fi
3MCPD	3MCPD-D5	10.080	27071	45195	0.5990	2.0

Compound Graphics

Target Compound *3MCPD*







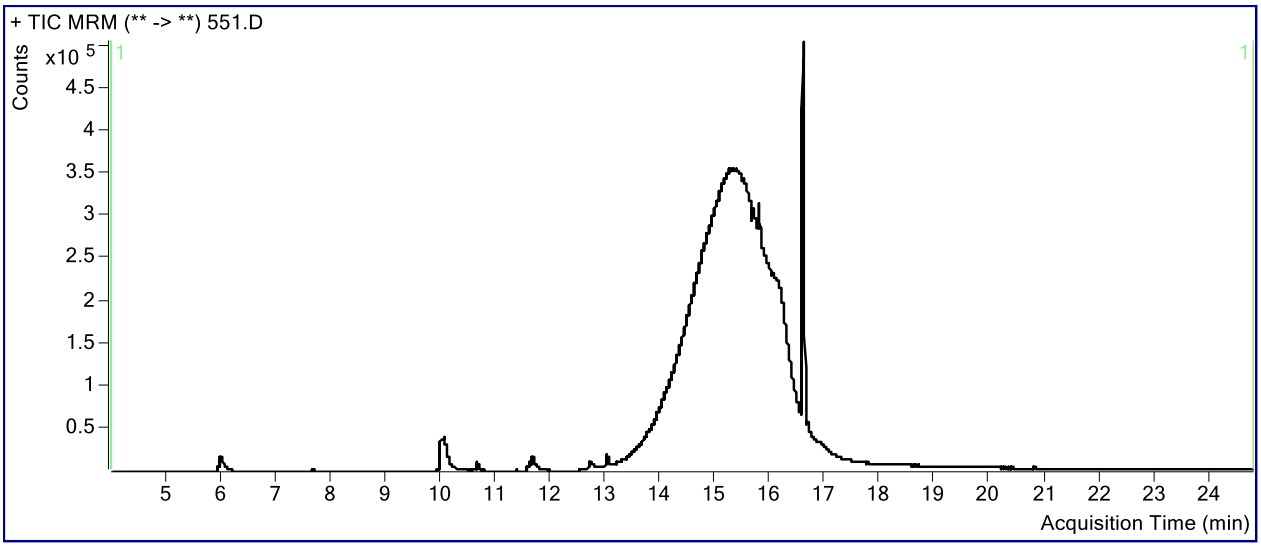
Cromatograma da Amostra FAPAS 2649 Rota B-1 arquivo 551

Analysis Time	8/6/2018 8:29 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/27/2018 11:53 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/6/2018 8:29 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-07-29 06:14	**Data File**	551.D
Sample Type	Sample	**Sample Name**	FAPAS 2649 Rota B-1
Dilution	1	**Acq Method**	Cd 29c-13 - 2017
Position	7	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Comment**	

Sample Chromatogram

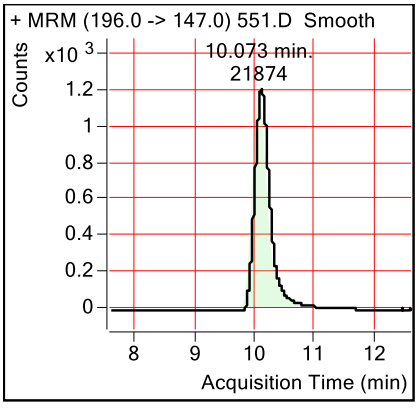


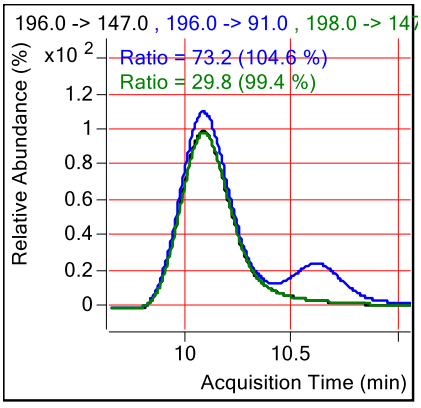
Quantitation Results

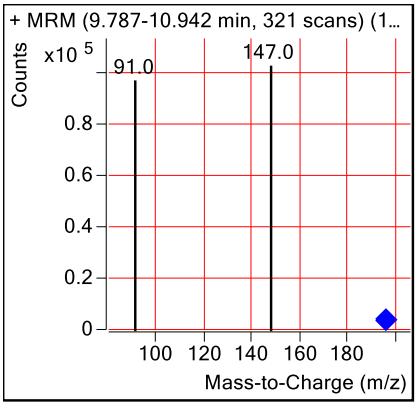
Compound	ISTD Compound	RT	Response	ISTD Resp	Resp Ratio	Fi
3MCPD	3MCPD-D5	10.073	21874	42630	0.5131	1.7

Compound Graphics

Target Compound *3MCPD*







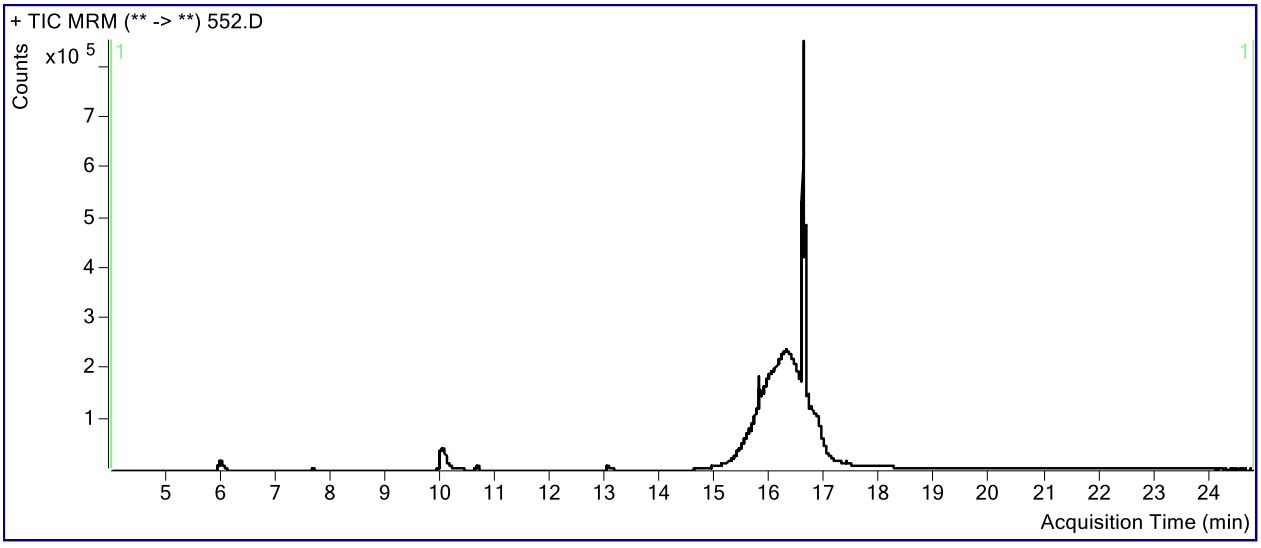
Cromatograma da Amostra de Referência FAPAS 2649 Rota A-2 arquivo 552

Analysis Time	8/6/2018 8:29 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/27/2018 11:53 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/6/2018 8:29 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-07-29 06:50	**Data File**	552.D
Sample Type	Sample	**Sample Name**	FAPAS 2649 Rota A-2
Dilution	1	**Acq Method**	Cd 29c-13 - 2017
Position	8	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Comment**	

Sample Chromatogram

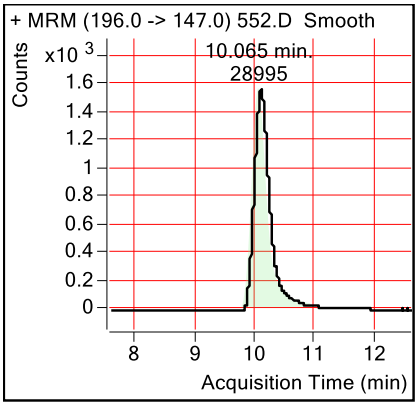


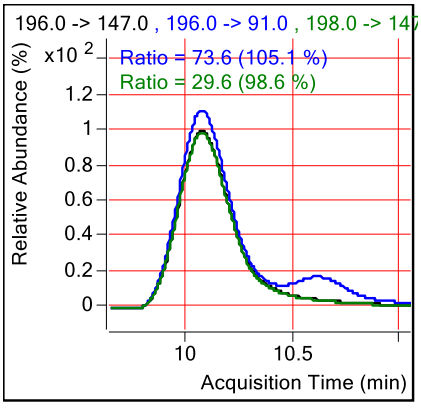
Quantitation Results

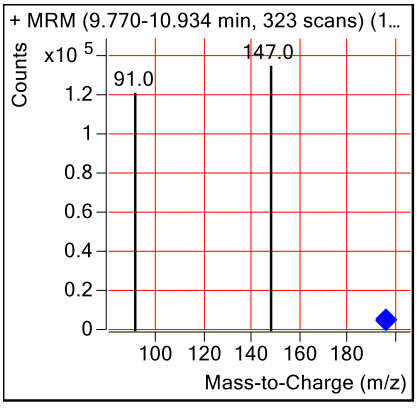
Compound	ISTD Compound	RT	Response	ISTD Resp	Resp Ratio	Fina
3MCPD	3MCPD-D5	10.065	28995	41593	0.6971	2.40

Compound Graphics

Target Compound *3MCPD*







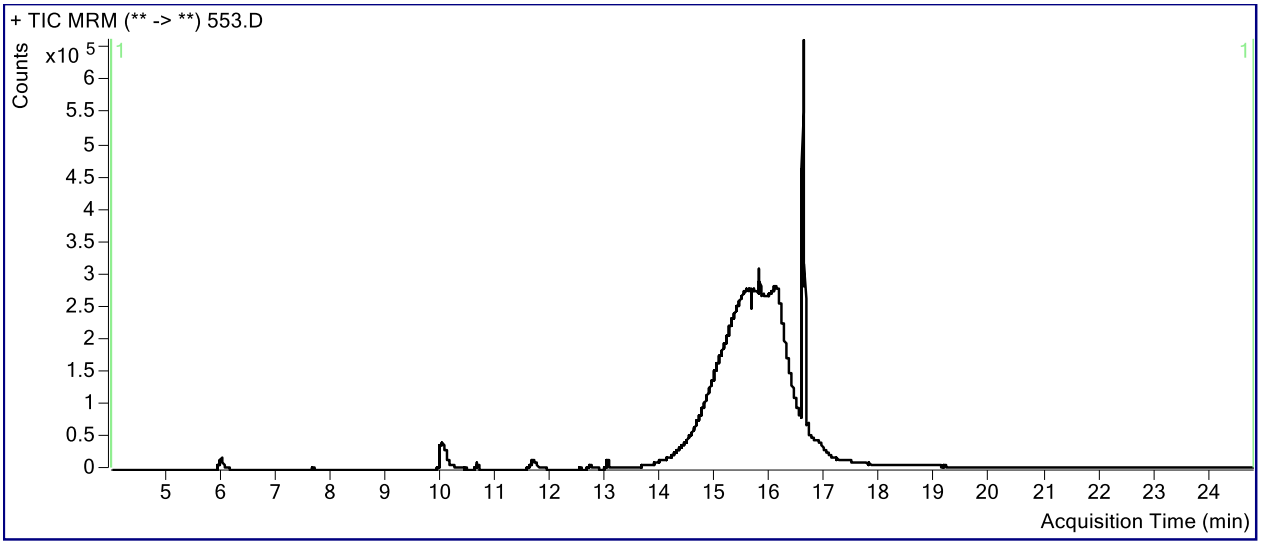
Cromatograma da Amostra de Referência FAPAS 2649 Rota A Arquivo 553

Batch Data Path	D:\Validacao 3-MCPD 2018\27072018\Dia 1\QuantResults\28072018.batch.bin		
Analysis Time	8/6/2018 8:29 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/27/2018 11:53 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/6/2018 8:29 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-07-29 07:26	**Data File**	553.D
Sample Type	Sample	**Sample Name**	FAPAS 2649 Rota A-2
Dilution	1	**Acq Method**	Cd 29c-13 - 2017
Position	9	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Comment**	

Sample Chromatogram

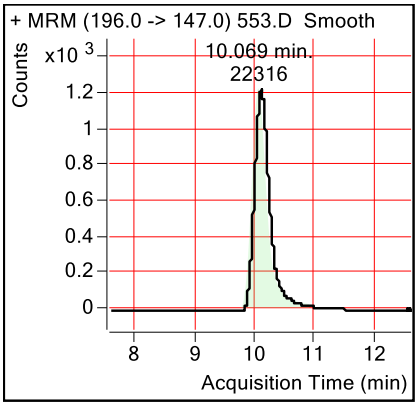


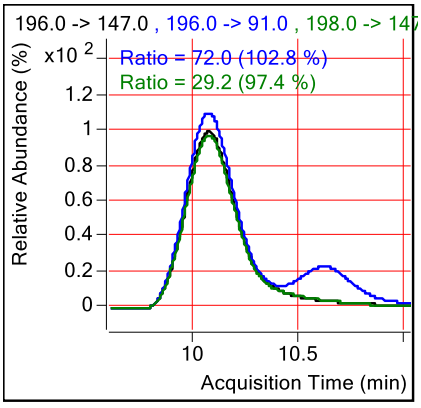
Quantitation Results

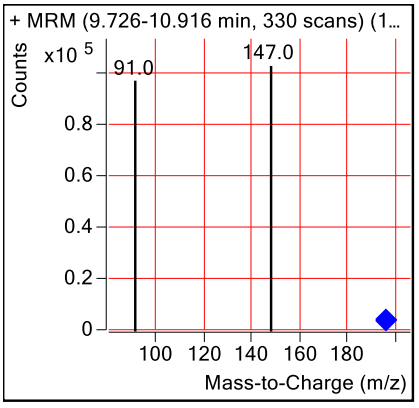
Compound	ISTD Compound	RT	Response	ISTD Resp	Resp Ratio
3MCPD	3MCPD-D5	10.069	22316	42325	0.5273

Compound Graphics

Target Compound *3MCPD*







Cromatograma da Replicata 5000 ppb rota A arquivo 554

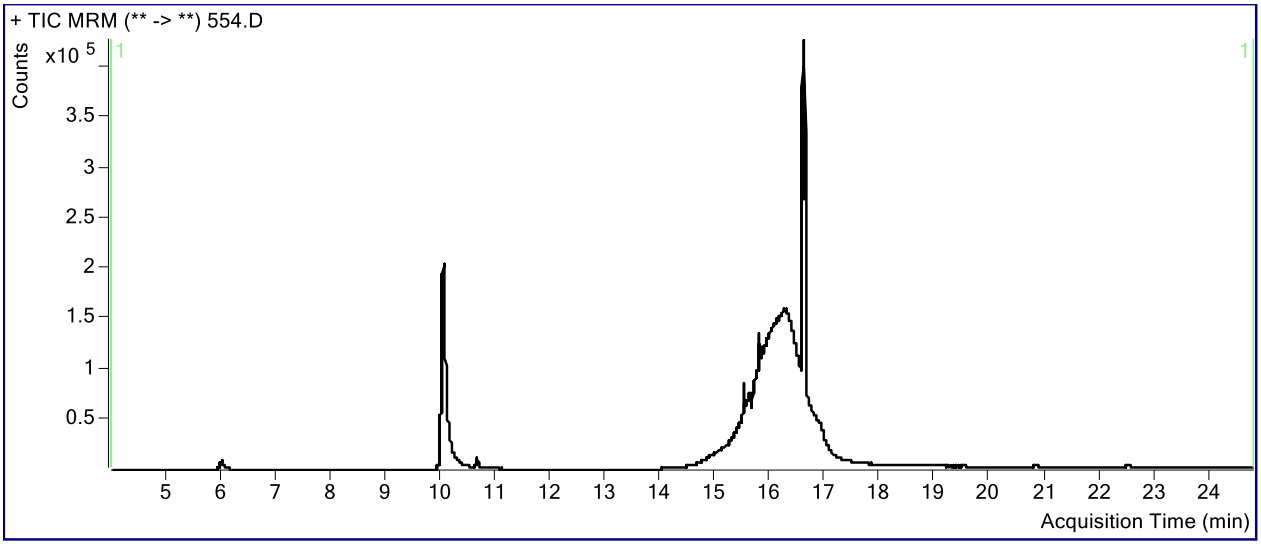
Batch Data Path	D:\Validacao 3-MCPD 2018\27072018\Dia 1\QuantResults\28072018.batch.bin		
Analysis Time	8/6/2018 8:29 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/27/2018 11:53 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/6/2018 8:29 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-07-29 08:39	**Data File**	554.D
Sample Type	Sample	**Sample Name**	Ponto Alto 5000 ppb A-1
Dilution	1	**Acq Method**	Cd 29c-13 - 2017
Position	10	**Sample Info**	

Inj Vol 1 **Comment**

Sample Chromatogram

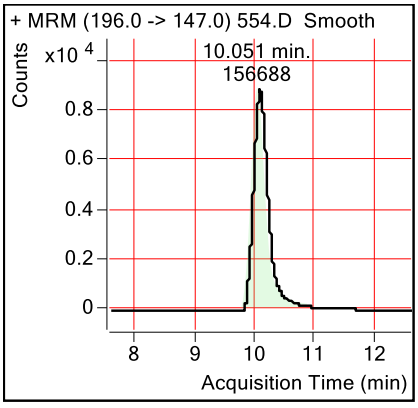


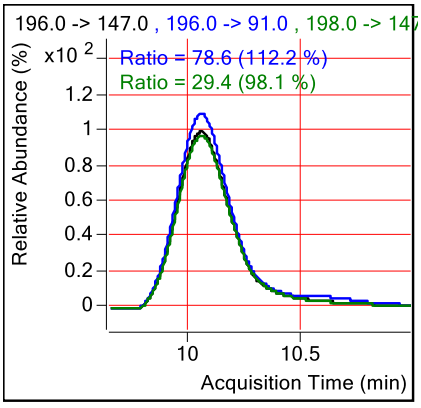
Quantitation Results

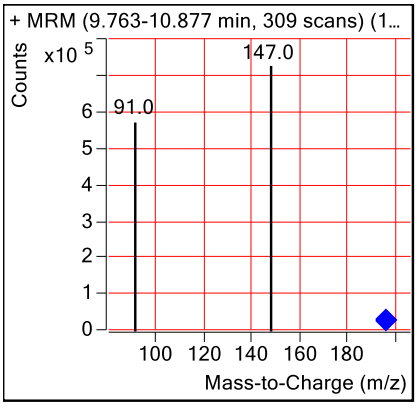
Compound	ISTD Compound	RT	Response	ISTD Resp	Resp Ratio	Fi
3MCPD	3MCPD-D5	10.051	156688	43126	3.6332	12.

Compound Graphics

Target Compound *3MCPD*







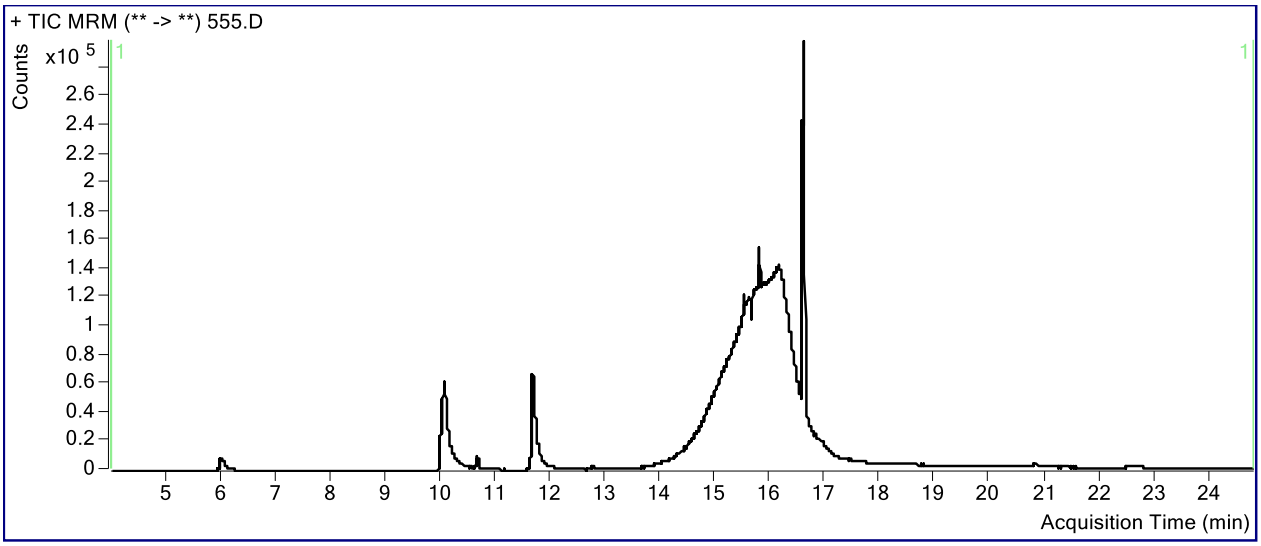
Cromatograma da Replicata 5000 ppb rota B arquivo 555

Batch Data Path	D:\Validacao 3-MCPD 2018\27072018\Dia 1\QuantResults\28072018.batch.bin		
Analysis Time	8/6/2018 8:29 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/27/2018 11:53 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/6/2018 8:29 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-07-29 09:15	**Data File**	555.D
Sample Type	Sample	**Sample Name**	Ponto Alto 5000 ppb B-1
Dilution	1	**Acq Method**	Cd 29c-13 - 2017
Position	11	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Comment**	

Sample Chromatogram

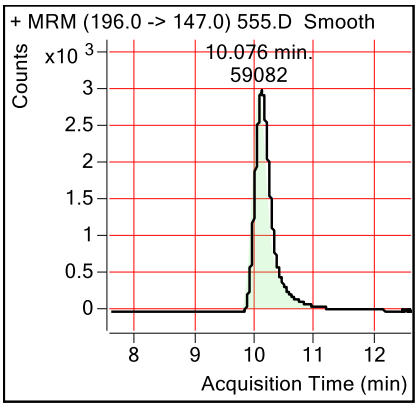


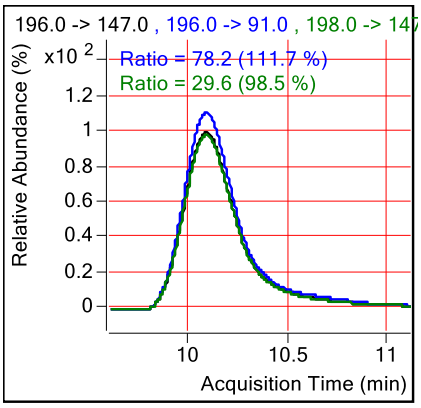
Quantitation Results

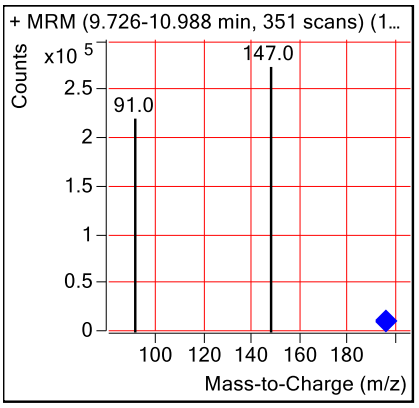
Compound	ISTD Compound	RT	Response	ISTD Resp	Resp Ratio	Fina
3MCPD	3MCPD-D5	10.076	59082	30383	1.9446	6.72

Compound Graphics

Target Compound *3MCPD*







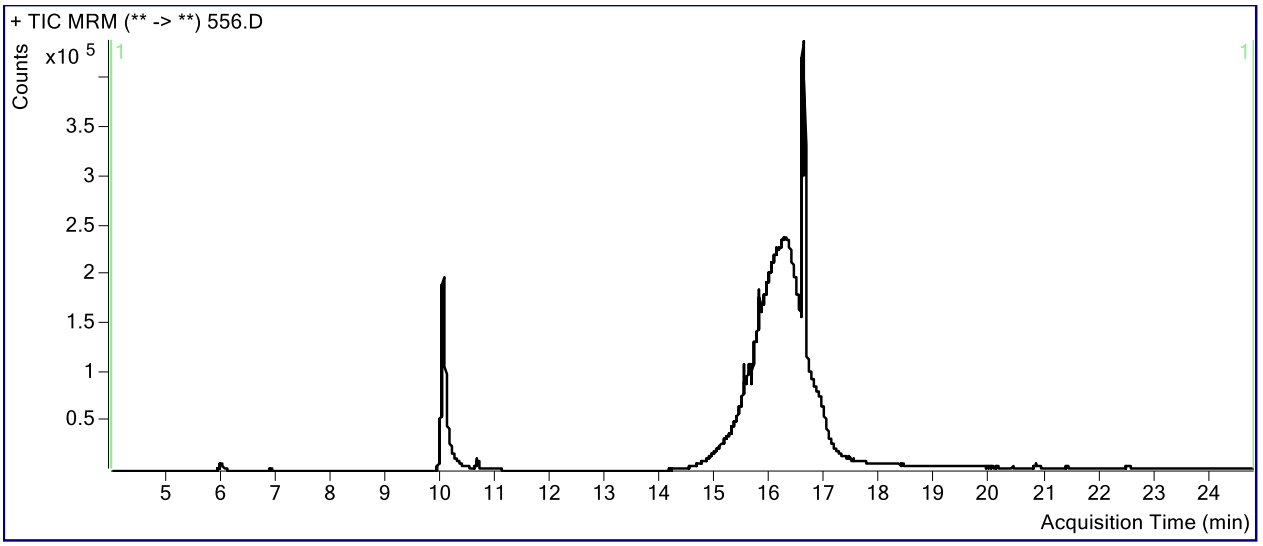
Cromatograma da Replicata 2 5000 ppb rota A arquivo 556

Batch Data Path	D:\Validacao 3-MCPD 2018\27072018\Dia 1\QuantResults\28072018.batch.bin		
Analysis Time	8/6/2018 8:29 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/27/2018 11:53 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/6/2018 8:29 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-07-29 09:51	**Data File**	556.D
Sample Type	Sample	**Sample Name**	Ponto Alto 5000 ppb A-2
Dilution	1	**Acq Method**	Cd 29c-13 - 2017
Position	12	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Comment**	

Sample Chromatogram

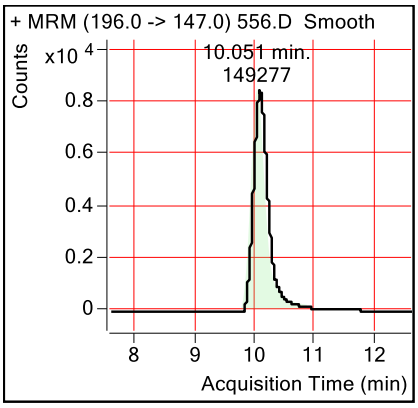


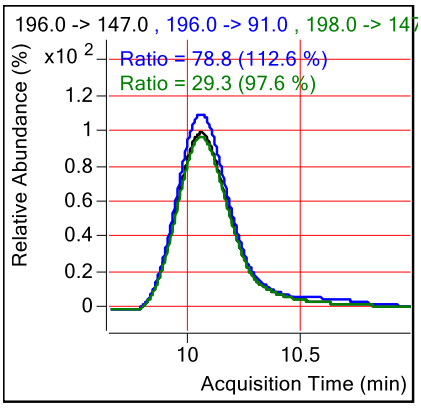
Quantitation Results

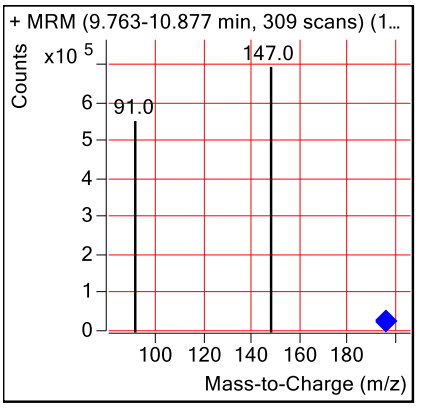
Compound	ISTD Compound	RT	Response	ISTD Resp	Resp Ratio
3MCPD	3MCPD-D5	10.051	149277	41346	3.6104

Compound Graphics

Target Compound *3MCPD*







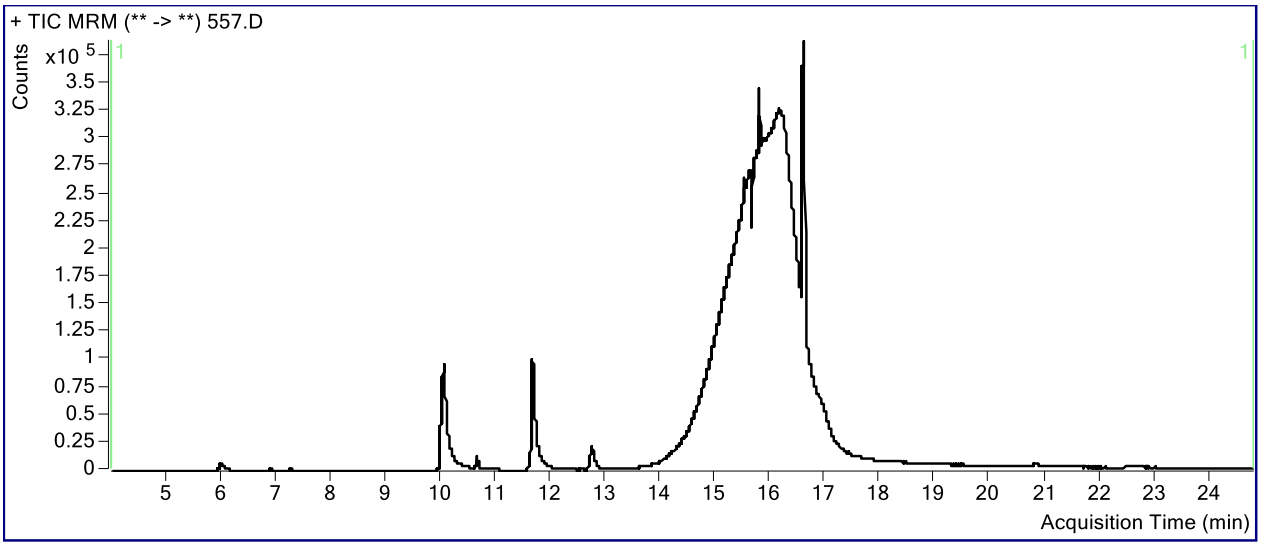
Cromatograma da Replicata 2 5000 ppb rota B arquivo 557

Batch Data Path	D:\Validacao 3-MCPD 2018\27072018\Dia 1\QuantResults\28072018.batch.bin		
Analysis Time	8/6/2018 8:29 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/27/2018 11:53 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/6/2018 8:29 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-07-29 10:27	**Data File**	557.D
Sample Type	Sample	**Sample Name**	Ponto Alto 5000 ppb B-2
Dilution	1	**Acq Method**	Cd 29c-13 - 2017
Position	13	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Comment**	

Sample Chromatogram

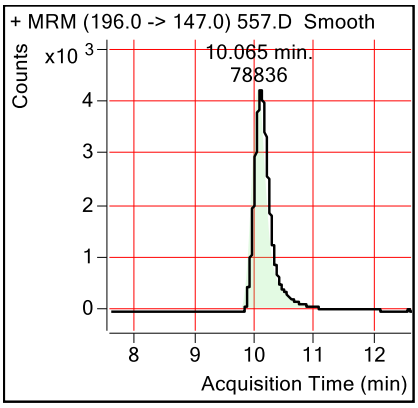


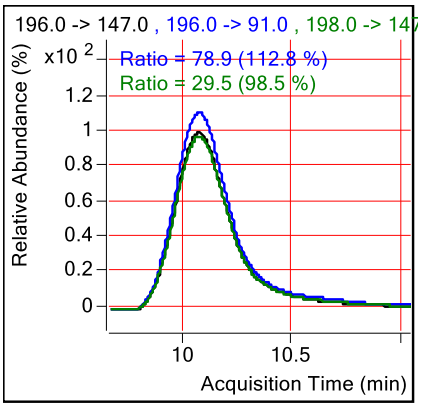
Quantitation Results

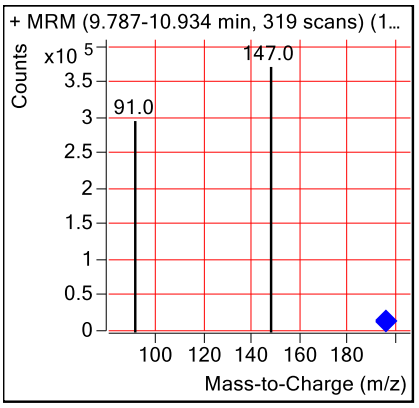
Compound	ISTD Compound	RT	Response	ISTD Resp	Resp Ratio	Fi
3MCPD	3MCPD-D5	10.065	78836	40671	1.9384	6.7

Compound Graphics

Target Compound *3MCPD*







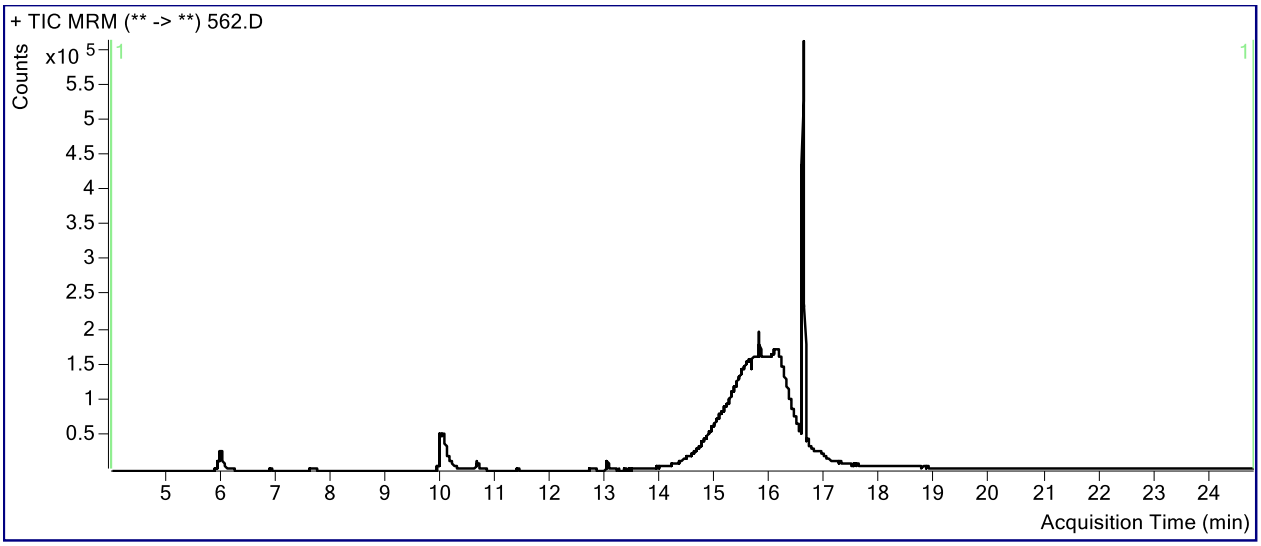
Cromatograma da Amostra de Referência Fapas 2649 dia 2 rota A arquivo 562

Batch Data Path	D:\Validacao 3-MCPD 2018\27072018\Dia 1\QuantResults\28072018.batch.bin		
Analysis Time	8/6/2018 8:29 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/27/2018 11:53 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/6/2018 8:29 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-07-29 16:29	**Data File**	562.D
Sample Type	Sample	**Sample Name**	FAPAS 2649 Rota A-1 - dia 2
Dilution	1	**Acq Method**	Cd 29c-13 - 2017
Position	22	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Comment**	

Sample Chromatogram

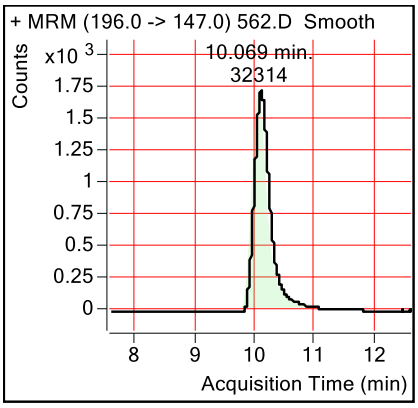


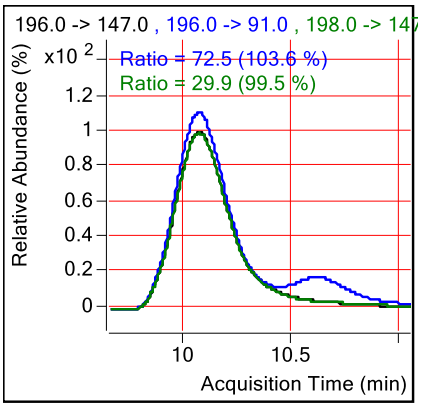
Quantitation Results

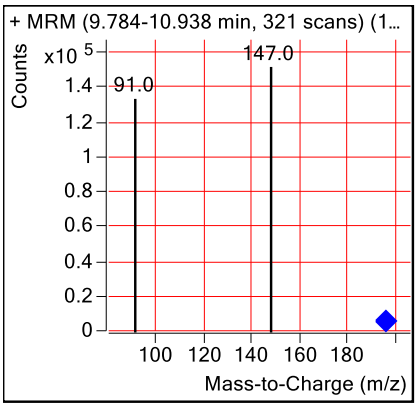
Compound	ISTD Compound	RT	Response	ISTD Resp	Resp Ratio	Fina
3MCPD	3MCPD-D5	10.069	32314	52489	0.6156	2.12

Compound Graphics

Target Compound *3MCPD*







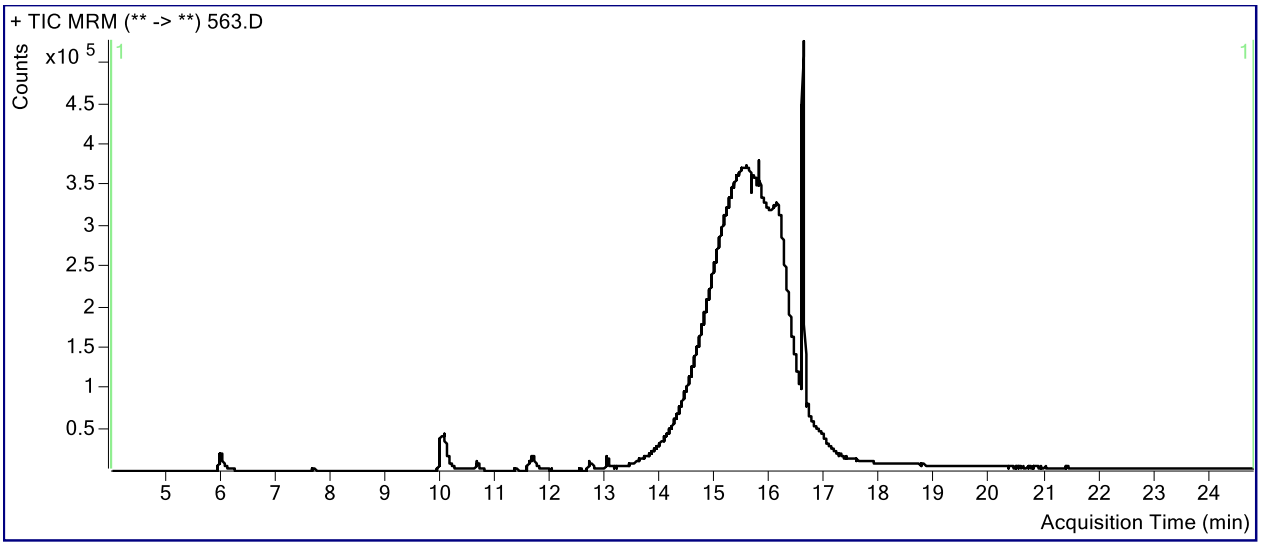
Cromatograma da Amostra de Referência Fapas 649 dia 2 rota B arquivo 563

Batch Data Path	D:\Validacao 3-MCPD 2018\27072018\Dia 1\QuantResults\28072018.batch.bin		
Analysis Time	8/6/2018 8:29 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/27/2018 11:53 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/6/2018 8:29 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-07-29 17:05	**Data File**	563.D
Sample Type	Sample	**Sample Name**	FAPAS 2649 Rota B-1 - dia 2
Dilution	1	**Acq Method**	Cd 29c-13 - 2017
Position	23	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Comment**	

Sample Chromatogram

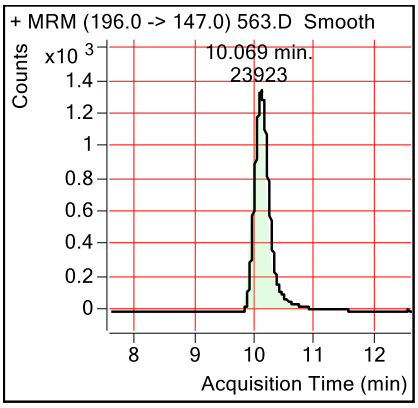


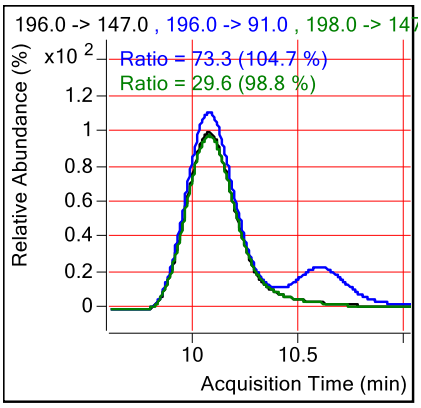
Quantitation Results

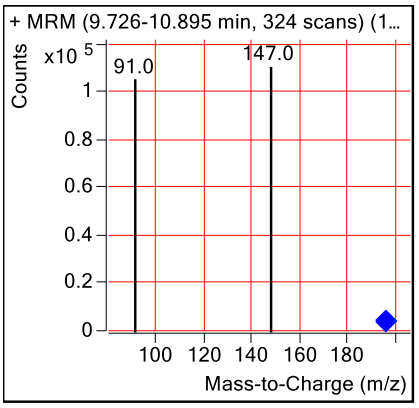
Compound	ISTD Compound	RT	Response	ISTD Resp	Resp Ratio
3MCPD	3MCPD-D5	10.069	23923	45338	0.5277

Compound Graphics

Target Compound *3MCPD*







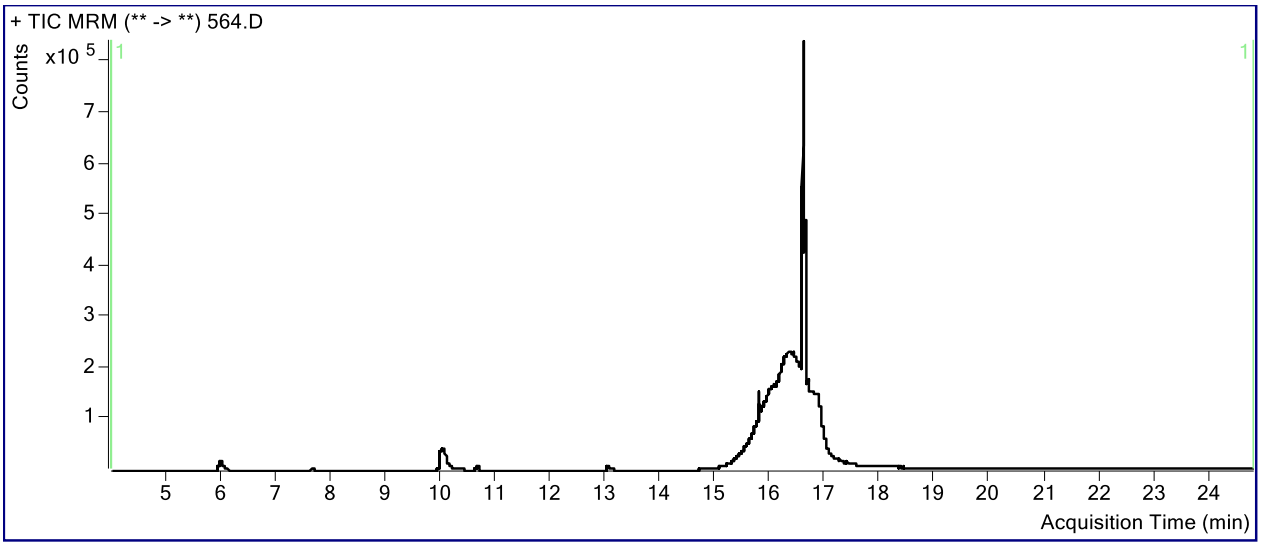
Cromatograma da Amostra de Referência Replicata Fapas 2649 dia 2 rota A arquivo 564

Batch Data Path	D:\Validacao 3-MCPD 2018\27072018\Dia 1\QuantResults\28072018.batch.bin		
Analysis Time	8/6/2018 8:29 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/27/2018 11:53 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/6/2018 8:29 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-07-29 17:41	**Data File**	564.D
Sample Type	Sample	**Sample Name**	FAPAS 2649 Rota A-2 - dia 2
Dilution	1	**Acq Method**	Cd 29c-13 - 2017
Position	24	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Comment**	

Sample Chromatogram

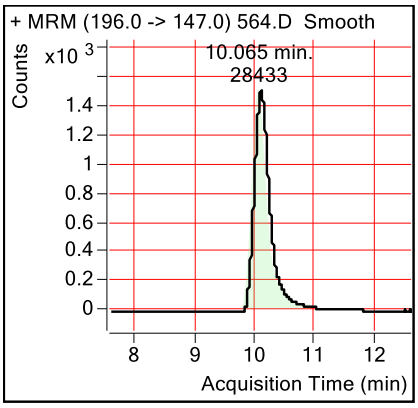


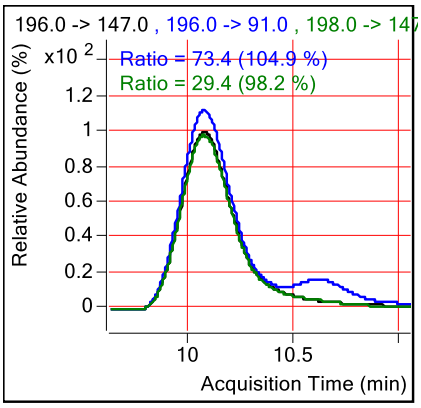
Quantitation Results

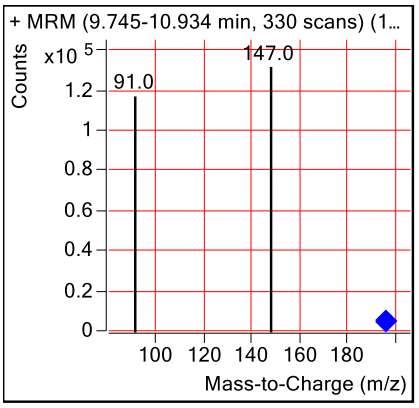
Compound	ISTD Compound	RT	Response	ISTD Resp	Resp Ratio	Fi
3MCPD	3MCPD-D5	10.065	28433	40726	0.6982	2.4

Compound Graphics

Target Compound *3MCPD*







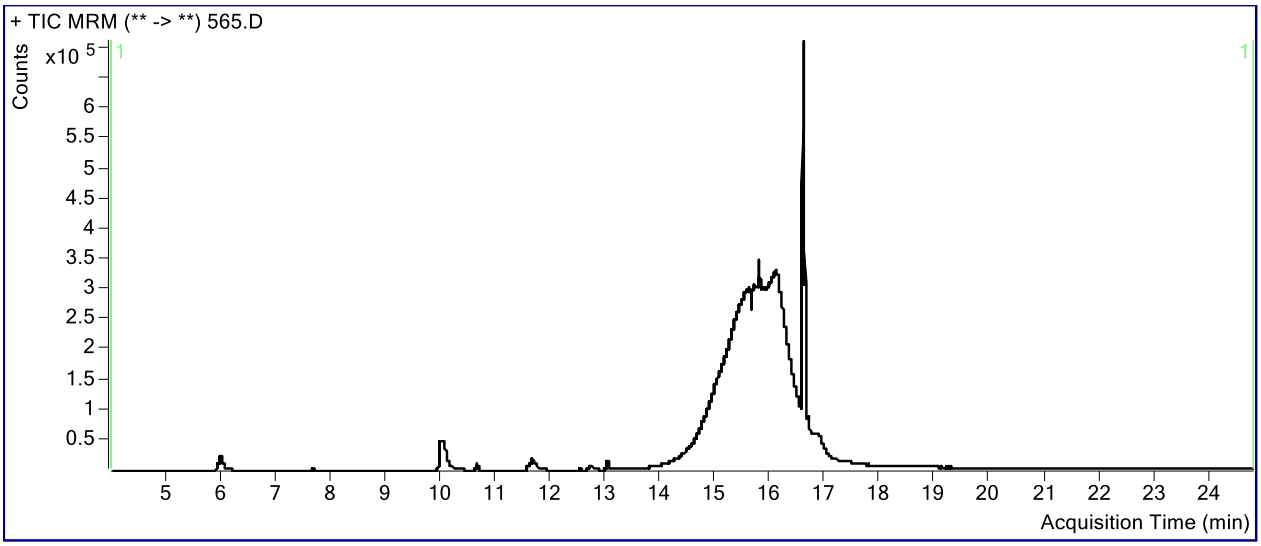
Cromatograma da Amostra de Referência Replicata Fapas 2649 dia 2 rota B arquivo 565

Batch Data Path	D:\Validacao 3-MCPD 2018\27072018\Dia 1\QuantResults\28072018.batch.bin		
Analysis Time	8/6/2018 8:29 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/27/2018 11:53 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/6/2018 8:29 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-07-29 18:17	**Data File**	565.D
Sample Type	Sample	**Sample Name**	FAPAS 2649 Rota B-2 - dia 2
Dilution	1	**Acq Method**	Cd 29c-13 - 2017
Position	25	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Comment**	

Sample Chromatogram

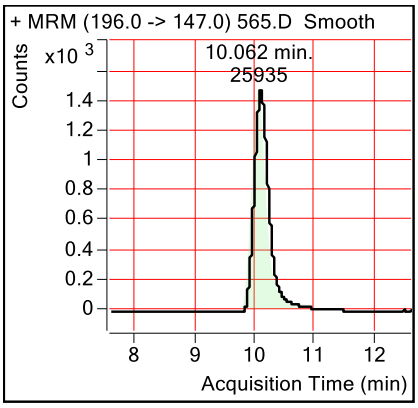


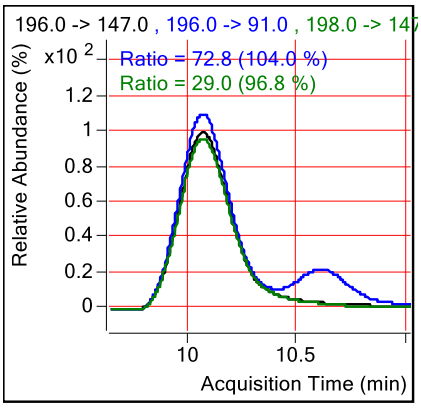
Quantitation Results

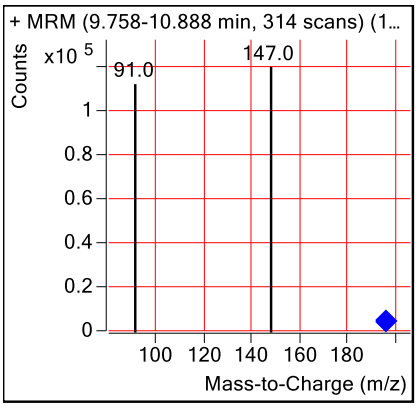
Compound	ISTD Compound	RT	Response	ISTD Resp	Resp Ratio	Fina
3MCPD	3MCPD-D5	10.062	25935	49497	0.5240	1.80

Compound Graphics

Target Compound *3MCPD*







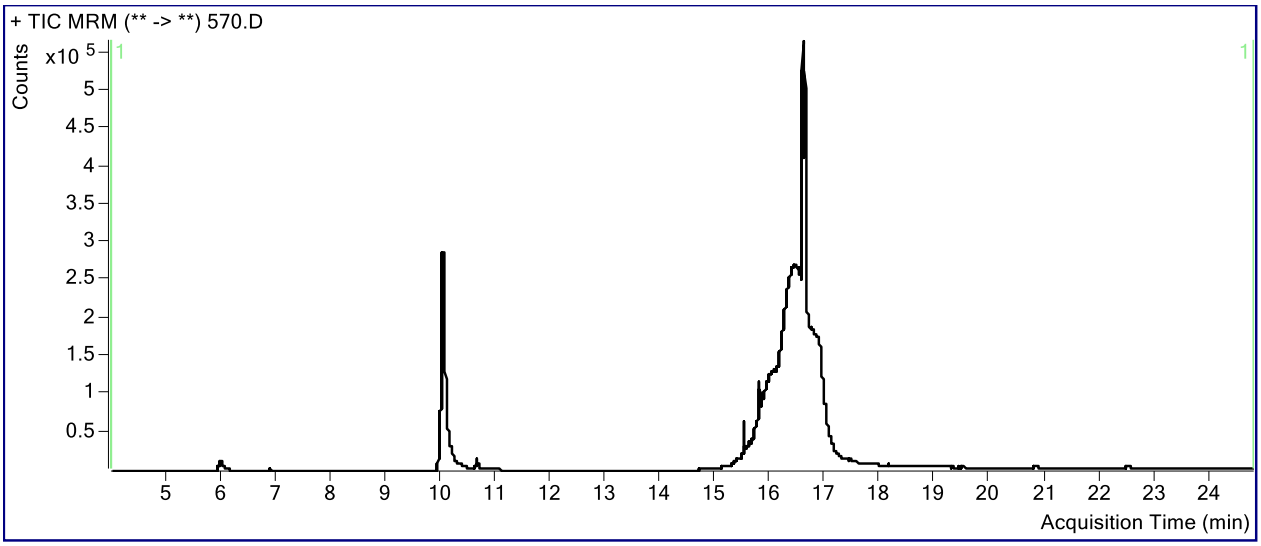
Cromatograma Padrão 3-MCPD Replicata 5000 ppb rota A arquivo 570

Batch Data Path	D:\Validacao 3-MCPD 2018\27072018\Dia 1\QuantResults\28072018.batch.bin		
Analysis Time	8/6/2018 8:29 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/27/2018 11:53 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/6/2018 8:29 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-07-29 21:18	**Data File**	570.D
Sample Type	Sample	**Sample Name**	Ponto Alto 5000 ppb A-1 - dia 2
Dilution	1	**Acq Method**	Cd 29c-13 - 2017
Position	30	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Comment**	

Sample Chromatogram

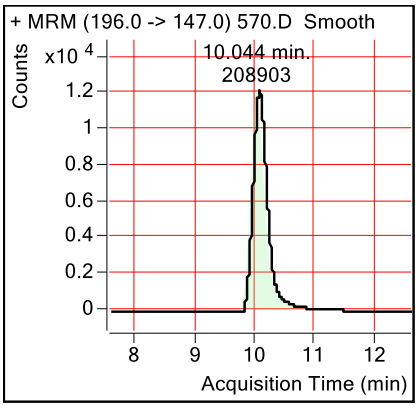


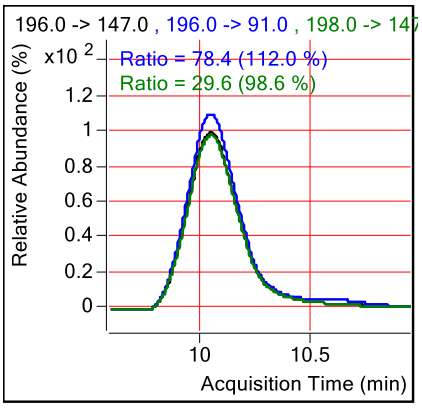
Quantitation Results

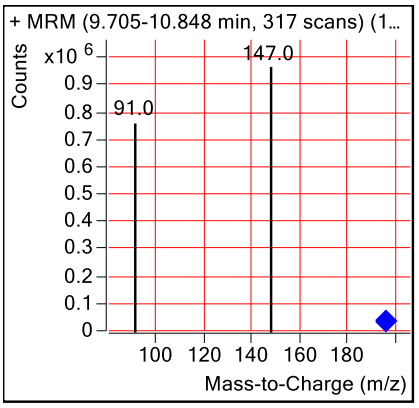
Compound	ISTD Compound	RT	Response	ISTD Resp	Resp Ratio
3MCPD	3MCPD-D5	10.044	208903	57643	3.6241

Compound Graphics

Target Compound *3MCPD*







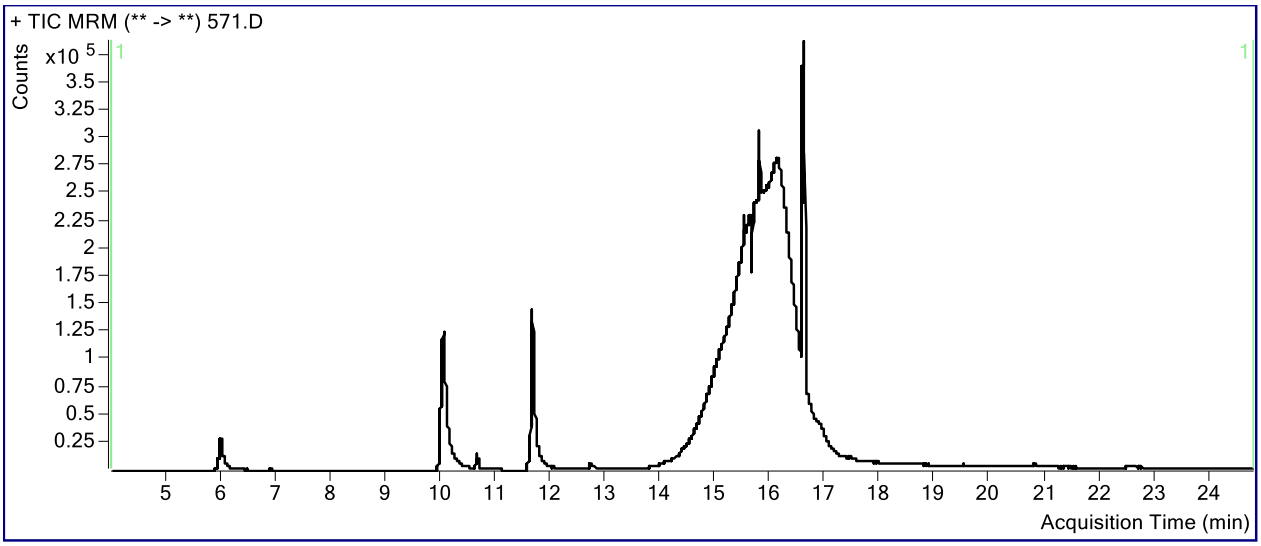
Cromatograma Padrão 3-MCPD Replicata 5000 ppb rota B arquivo 571

Batch Data Path	D:\Validacao 3-MCPD 2018\27072018\Dia 1\QuantResults\28072018.batch.bin		
Analysis Time	8/6/2018 8:29 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/27/2018 11:53 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/6/2018 8:29 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-07-29 21:54	**Data File**	571.D
Sample Type	Sample	**Sample Name**	Ponto Alto 5000 ppb B-1 - dia 2
Dilution	1	**Acq Method**	Cd 29c-13 - 2017
Position	31	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Comment**	

Sample Chromatogram

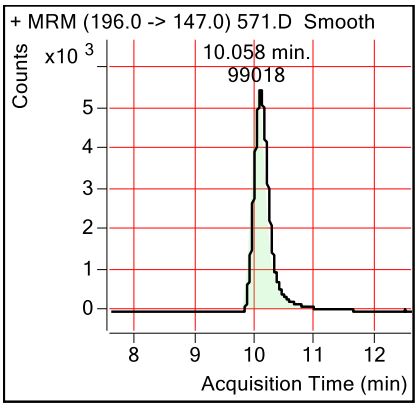


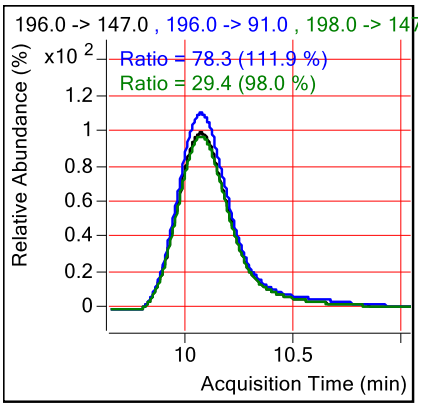
Quantitation Results

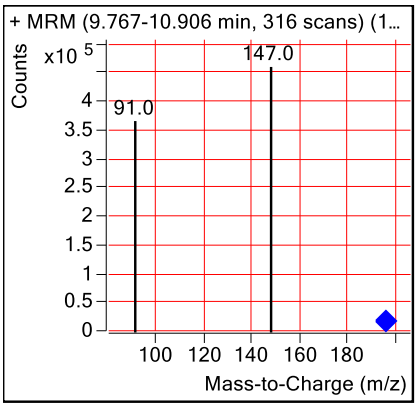
Compound	ISTD Compound	RT	Response	ISTD Resp	Resp Ratio	Fi
3MCPD	3MCPD-D5	10.058	99018	50527	1.9597	6.7

Compound Graphics

Target Compound *3MCPD*







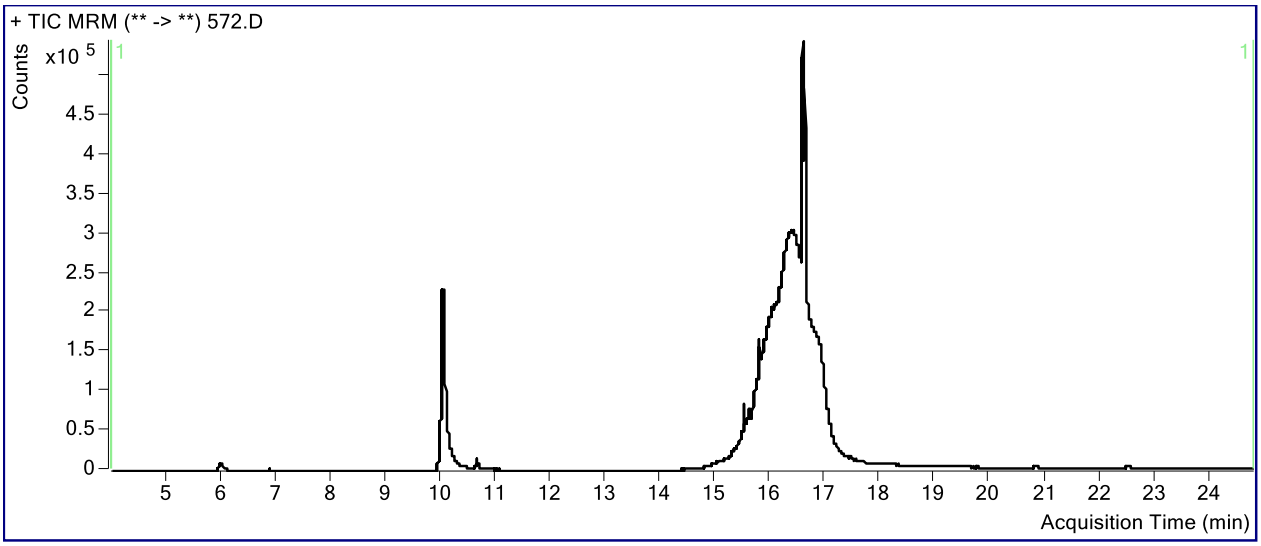
Cromatograma Padrão 3-MCPD Replicata 5000 ppb rota A arquivo 572

Batch Data Path	D:\Validacao 3-MCPD 2018\27072018\Dia 1\QuantResults\28072018.batch.bin		
Analysis Time	8/6/2018 8:29 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/27/2018 11:53 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/6/2018 8:29 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-07-29 22:30	**Data File**	572.D
Sample Type	Sample	**Sample Name**	Ponto Alto 5000 ppb A-2 - dia 2
Dilution	1	**Acq Method**	Cd 29c-13 - 2017
Position	32	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Comment**	

Sample Chromatogram

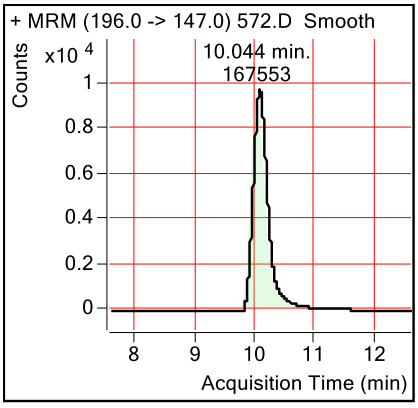


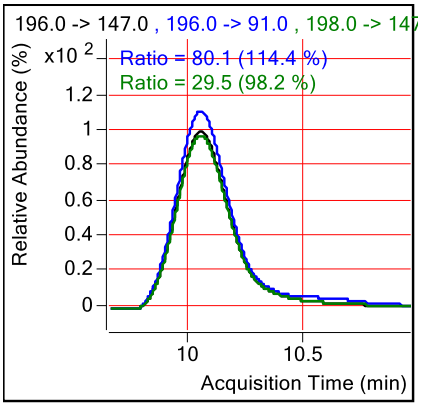
Quantitation Results

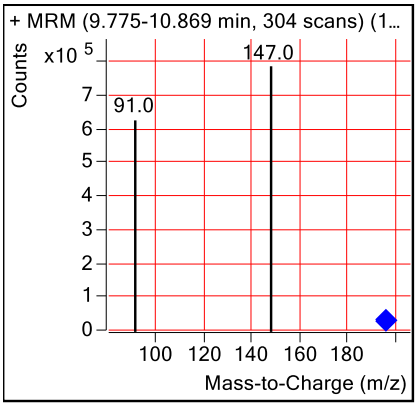
Compound	ISTD Compound	RT	Response	ISTD Resp	Resp Ratio	Fina
3MCPD	3MCPD-D5	10.044	167553	47192	3.5504	12.2

Compound Graphics

Target Compound *3MCPD*







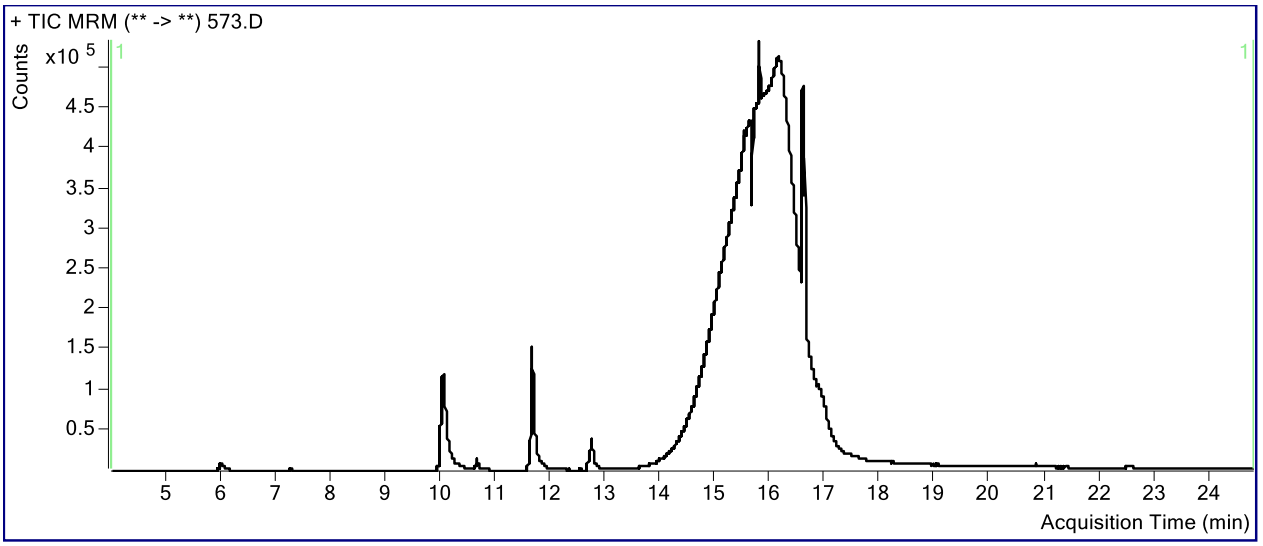
Cromatograma Padrão 3-MCPD Replicata 5000 ppb rota B arquivo 573

Analysis Time	8/6/2018 8:29 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/27/2018 11:53 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/6/2018 8:29 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-07-29 23:07	**Data File**	573.D
Sample Type	Sample	**Sample Name**	Ponto Alto 5000 ppb B-2 - dia 2
Dilution	1	**Acq Method**	Cd 29c-13 - 2017
Position	33	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Comment**	

Sample Chromatogram

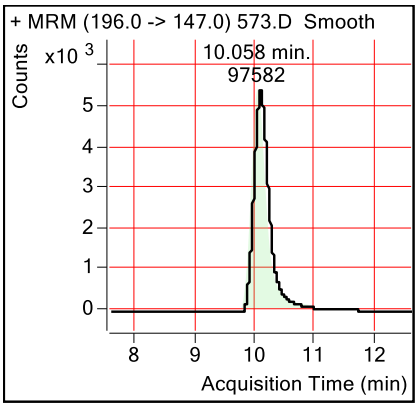


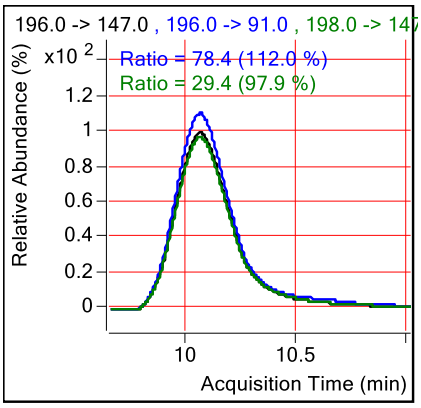
Quantitation Results

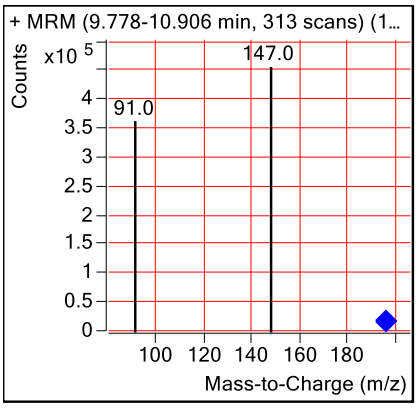
Compound	ISTD Compound	RT	Response	ISTD Resp	Resp Rati
3MCPD	3MCPD-D5	10.058	97582	50684	1.9253

Compound Graphics

Target Compound *3MCPD*







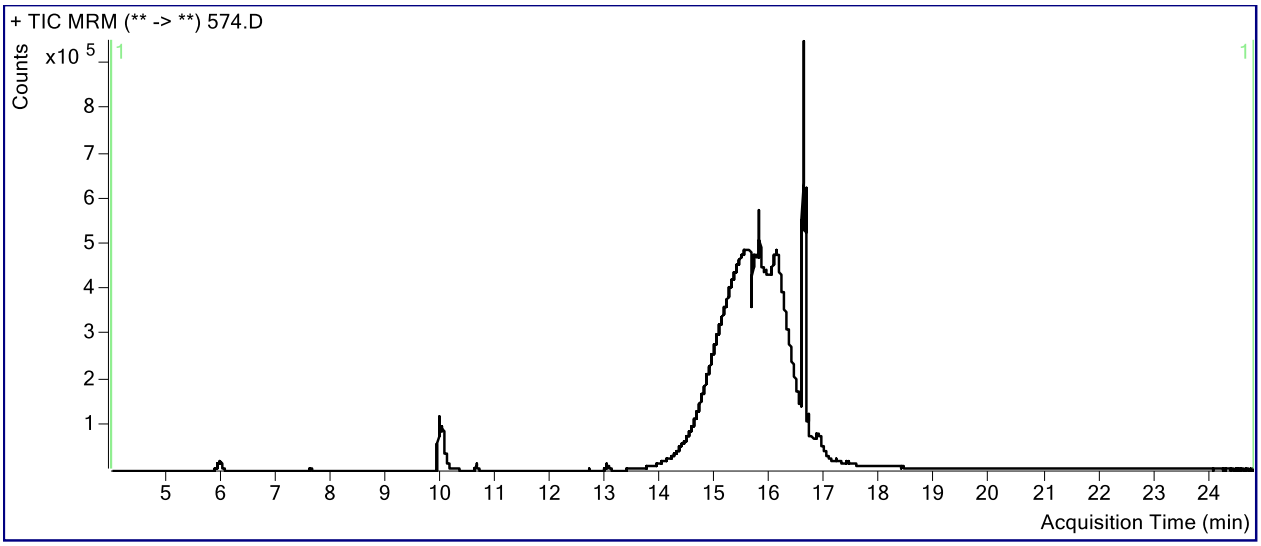
Cromatograma amostra de referência Fapas 2649 rota A arquivo 574

Batch Data Path	D:\Validacao 3-MCPD 2018\27072018\Dia 1\QuantResults\28072018.batch.bin		
Analysis Time	8/6/2018 8:29 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/27/2018 11:53 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/6/2018 8:29 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-07-30 10:09	**Data File**	574.D
Sample Type	Sample	**Sample Name**	FAPAS 2649 Rota A-1 - dia 3
Dilution	1	**Acq Method**	Cd 29c-13 - 2017
Position	101	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Comment**	

Sample Chromatogram

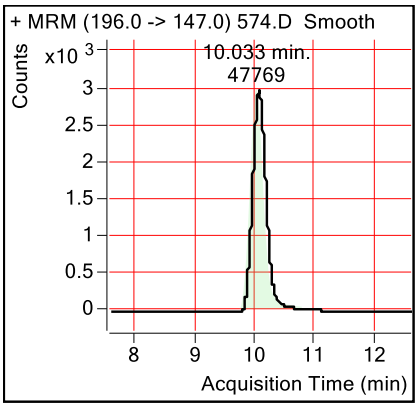


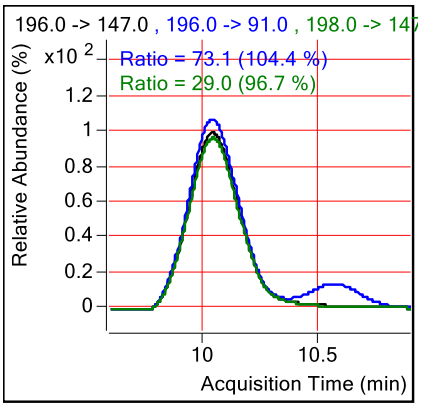
Quantitation Results

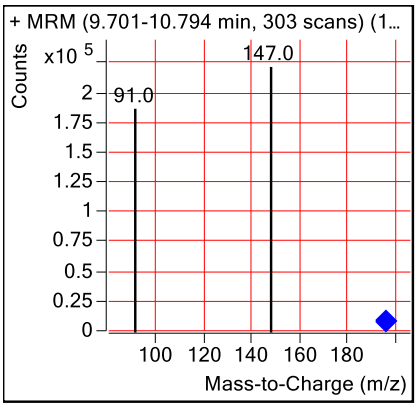
Compound	ISTD Compound	RT	Response	ISTD Resp	Resp Ratio	Fi
3MCPD	3MCPD-D5	10.033	58755	88554	0.6637	2.2

Compound Graphics

Target Compound *3MCPD*







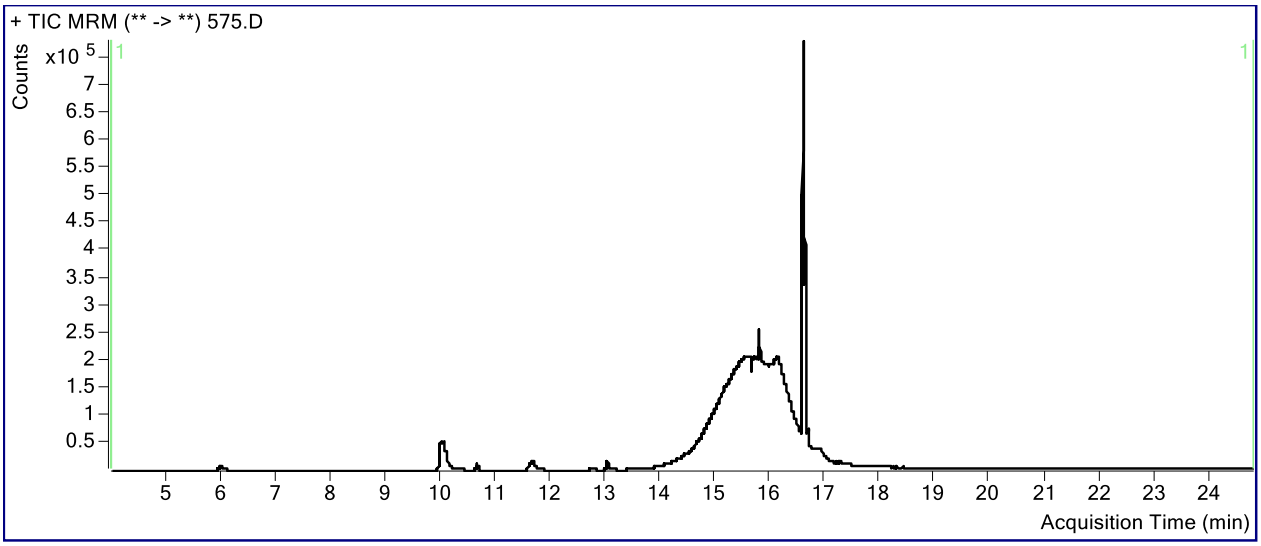
Cromatograma amostra de referência Fapas 49 rota b arquivo 575

Batch Data Path	D:\Validacao 3-MCPD 2018\27072018\Dia 1\QuantResults\28072018.batch.bin		
Analysis Time	8/6/2018 8:29 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/27/2018 11:53 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/6/2018 8:29 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-07-30 10:45	**Data File**	575.D
Sample Type	Sample	**Sample Name**	FAPAS 2649 Rota B-1 - dia 3
Dilution	1	**Acq Method**	Cd 29c-13 - 2017
Position	102	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Comment**	

Sample Chromatogram

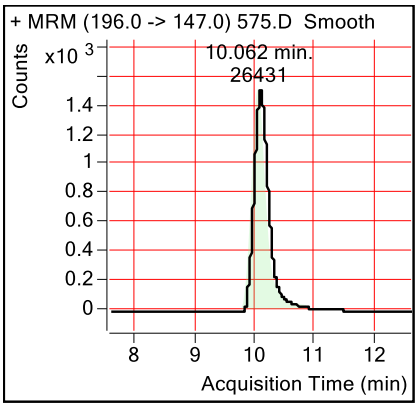


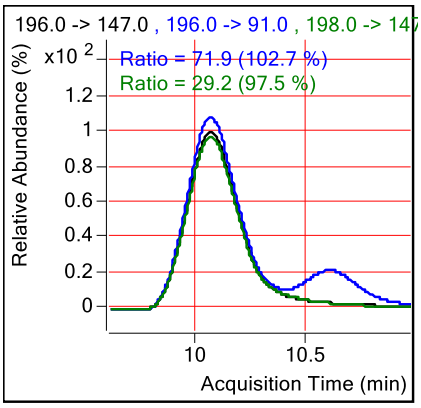
Quantitation Results

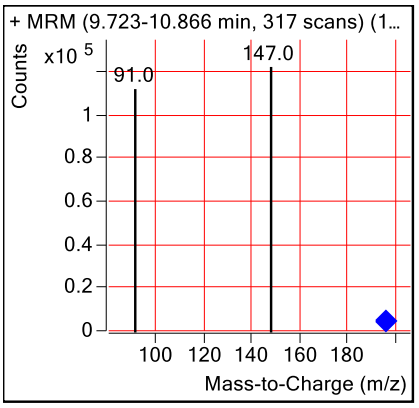
Compound	ISTD Compound	RT	Response	ISTD Resp	Resp Ratio	Fina
3MCPD	3MCPD-D5	10.062	26431	50866	0.5196	1.79

Compound Graphics

Target Compound *3MCPD*







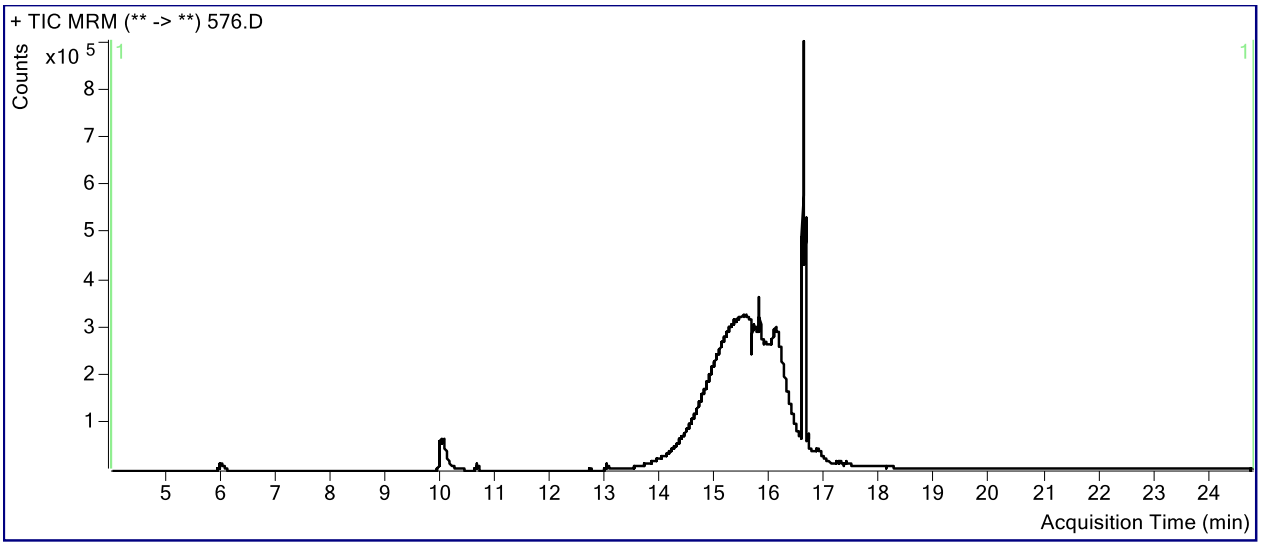
Cromatograma amostra de referência Fapas 649 rota A arquivo 576

Batch Data Path	D:\Validacao 3-MCPD 2018\27072018\Dia 1\QuantResults\28072018.batch.bin		
Analysis Time	8/6/2018 8:29 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/27/2018 11:53 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/6/2018 8:29 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-07-30 11:21	**Data File**	576.D
Sample Type	Sample	**Sample Name**	FAPAS 2649 Rota A-2 - dia 3
Dilution	1	**Acq Method**	Cd 29c-13 - 2017
Position	103	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Comment**	

Sample Chromatogram

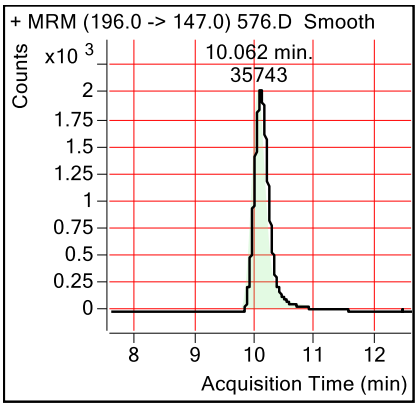


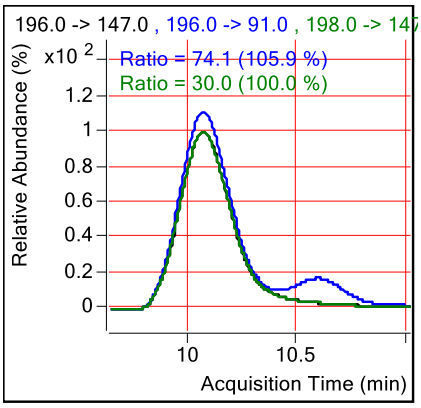
Quantitation Results

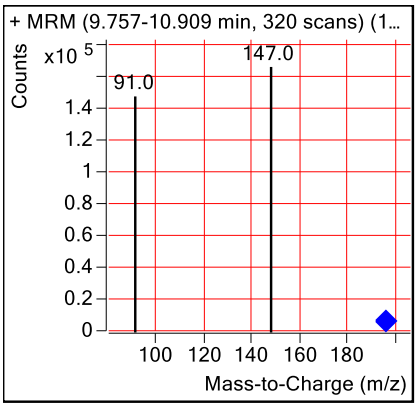
Compound	ISTD Compound	RT	Response	ISTD Resp	Resp Rat
3MCPD	3MCPD-D5	10.062	42316	66765	0.6338

Compound Graphics

Target Compound *3MCPD*







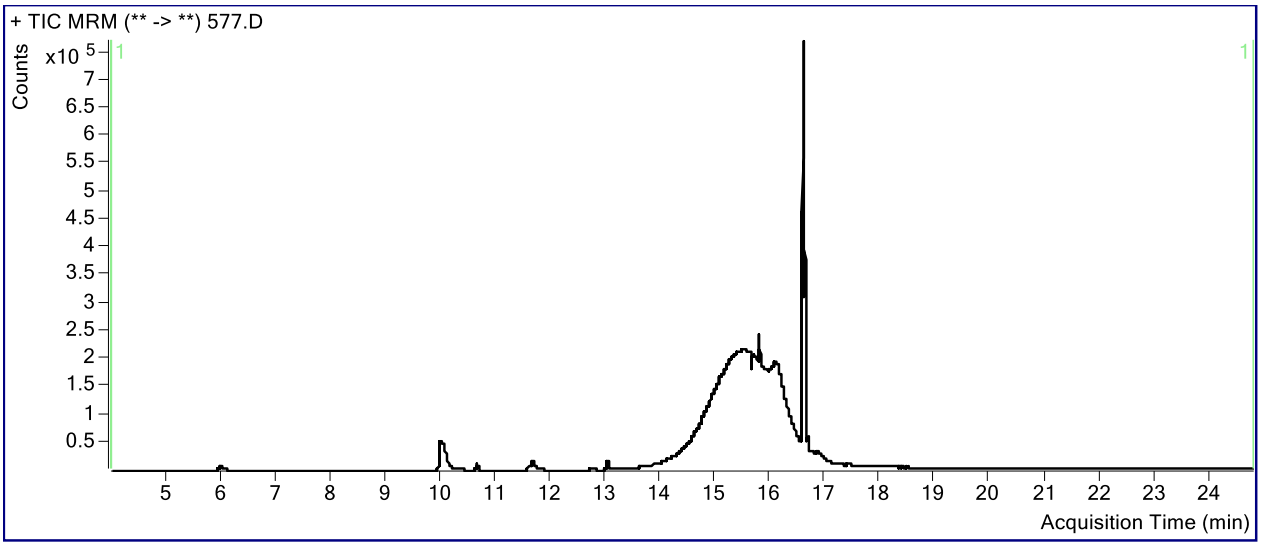
Cromatograma amostra de referência Fapas 2649 rota B arquivo 577

Batch Data Path	D:\Validacao 3-MCPD 2018\27072018\Dia 1\QuantResults\28072018.batch.bin		
Analysis Time	8/6/2018 8:29 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/27/2018 11:53 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/6/2018 8:29 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-07-30 11:57	**Data File**	577.D
Sample Type	Sample	**Sample Name**	FAPAS 2649 Rota B-2 - dia 3
Dilution	1	**Acq Method**	Cd 29c-13 - 2017
Position	104	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Comment**	

Sample Chromatogram

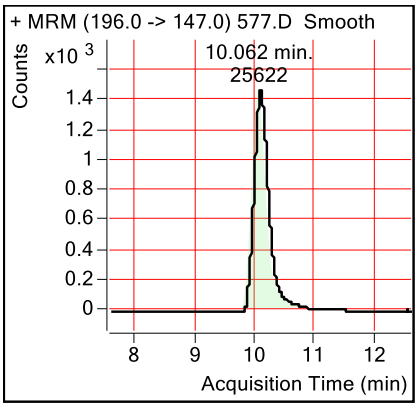


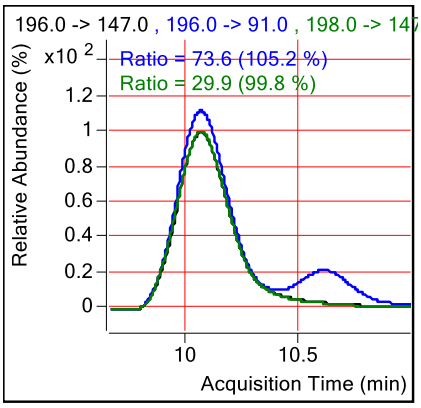
Quantitation Results

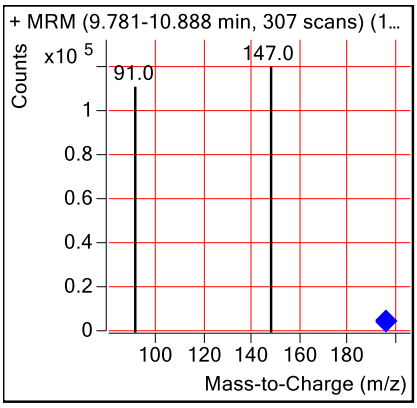
Compound	ISTD Compound	RT	Response	ISTD Resp	Resp Ratio	Fin
3MCPD	3MCPD-D5	10.062	25622	50095	0.5115	1.7

Compound Graphics

Target Compound *3MCPD*







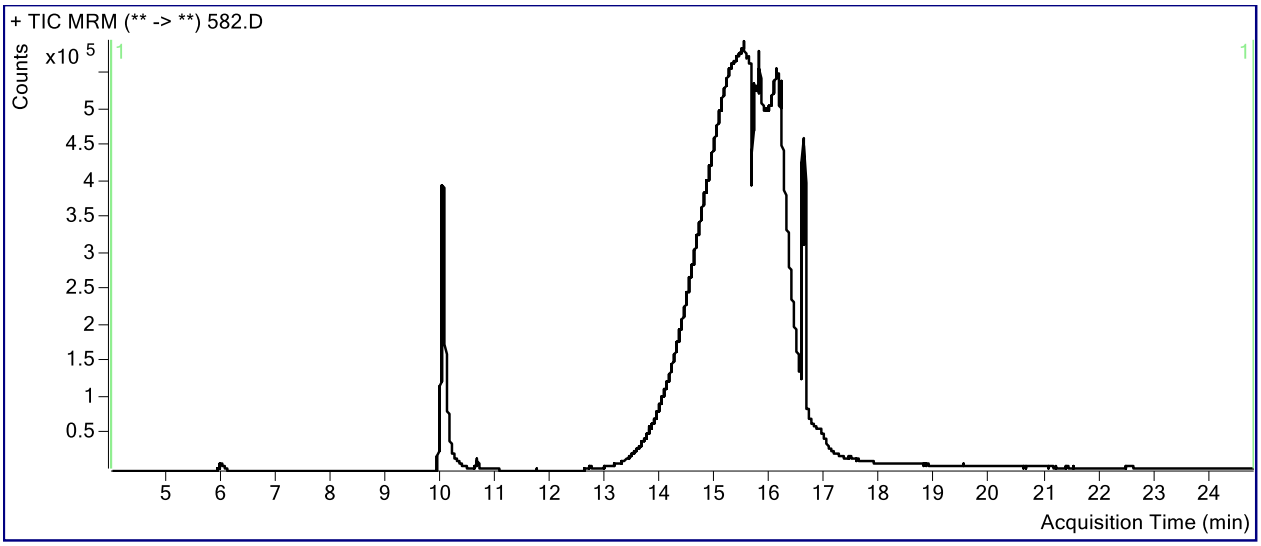
Cromatograma Replicata 5000 ppb dia 3 rota A arquivo 582

Batch Data Path	D:\Validacao 3-MCPD 2018\27072018\Dia 1\QuantResults\28072018.batch.bin		
Analysis Time	8/6/2018 8:29 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/27/2018 11:53 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/6/2018 8:29 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-07-30 14:58	**Data File**	582.D
Sample Type	Sample	**Sample Name**	Ponto Alto 5000 ppb A-1 - dia 3
Dilution	1	**Acq Method**	Cd 29c-13 - 2017
Position	109	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Comment**	

Sample Chromatogram

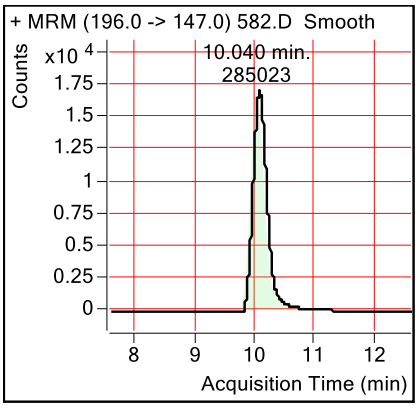


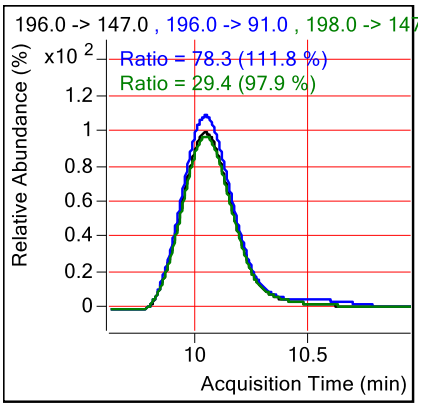
Quantitation Results

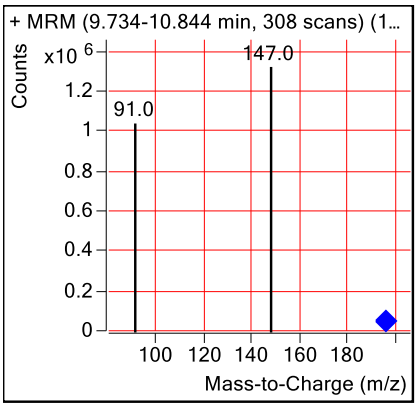
Compound	ISTD Compound	RT	Response	ISTD Resp	Resp Ratio	Fina
3MCPD	3MCPD-D5	10.040	285023	86546	3.2933	11.3

Compound Graphics

Target Compound *3MCPD*







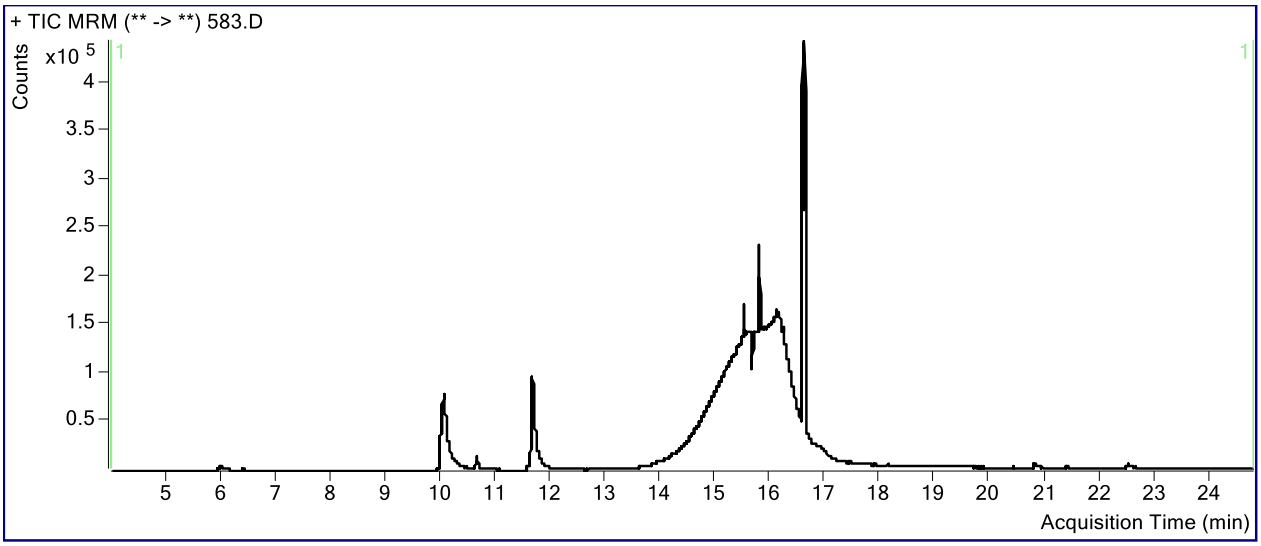
Cromatograma da replicata 5000 ppb dia 3 rota B arquivo 583

Batch Data Path	D:\Validacao 3-MCPD 2018\27072018\Dia 1\QuantResults\28072018.batch.bin		
Analysis Time	8/6/2018 8:29 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/27/2018 11:53 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/6/2018 8:29 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-07-30 15:34	**Data File**	583.D
Sample Type	Sample	**Sample Name**	Ponto Alto 5000 ppb B-1 - dia 3
Dilution	1	**Acq Method**	Cd 29c-13 - 2017
Position	110	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Comment**	

Sample Chromatogram

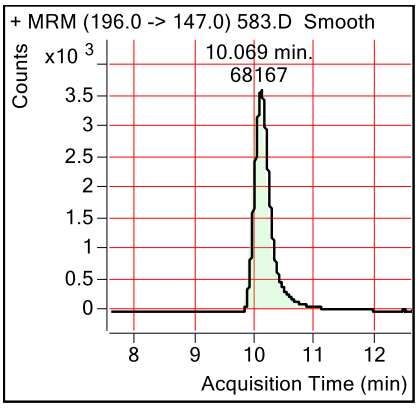


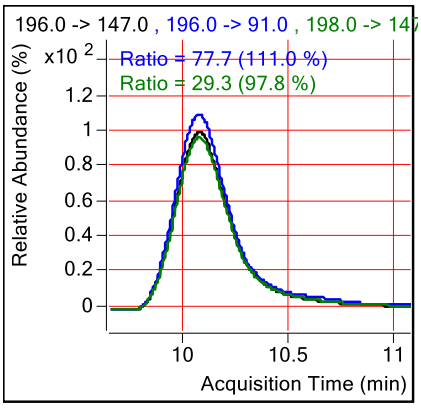
Quantitation Results

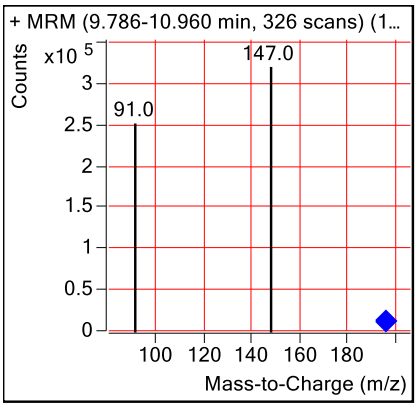
Compound	ISTD Compound	RT	Response	ISTD Resp	Resp Ra
3MCPD	3MCPD-D5	10.069	68167	39370	1.7314

Compound Graphics

Target Compound *3MCPD*







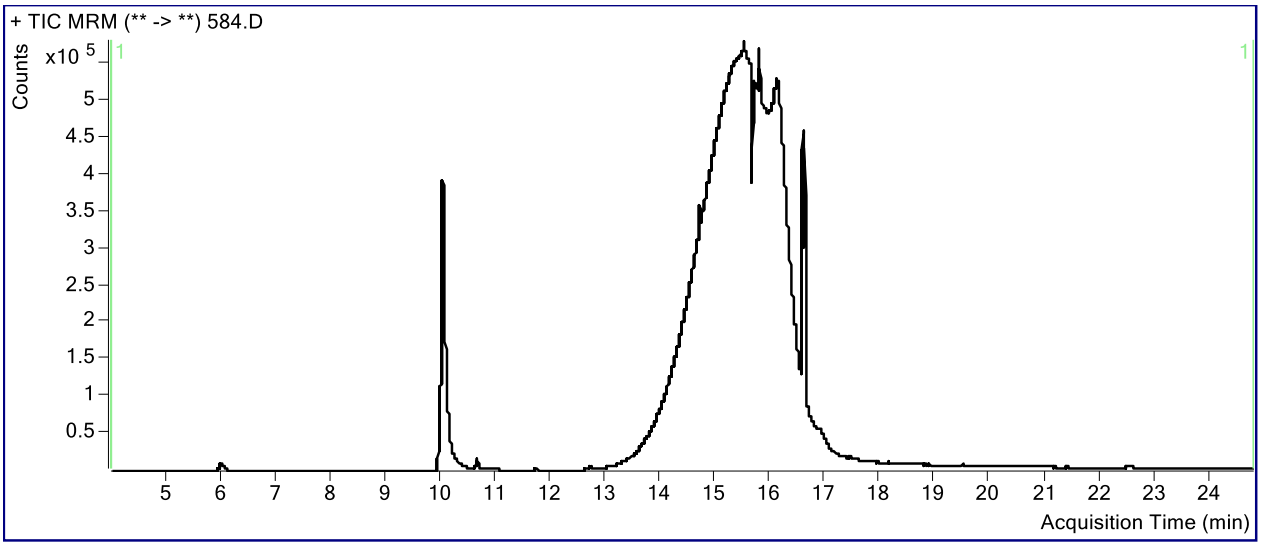
Cromatograma Replicata 5000 ppb dia 3 rota A arquivo 584

Batch Data Path	D:\Validacao 3-MCPD 2018\27072018\Dia 1\QuantResults\28072018.batch.bin		
Analysis Time	8/6/2018 8:29 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/27/2018 11:53 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/6/2018 8:29 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-07-30 16:11	**Data File**	584.D
Sample Type	Sample	**Sample Name**	Ponto Alto 5000 ppb A-2 - dia 3
Dilution	1	**Acq Method**	Cd 29c-13 - 2017
Position	111	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Comment**	

Sample Chromatogram

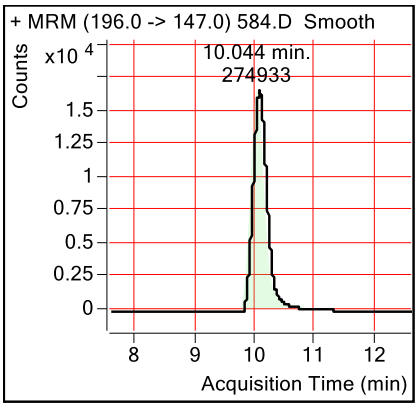


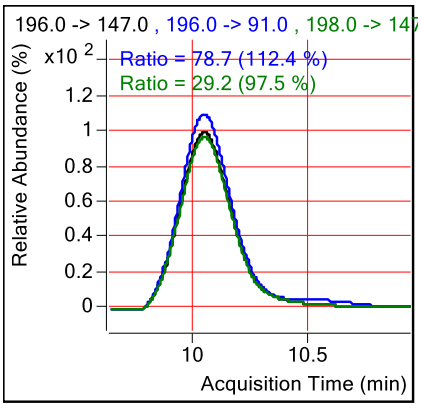
Quantitation Results

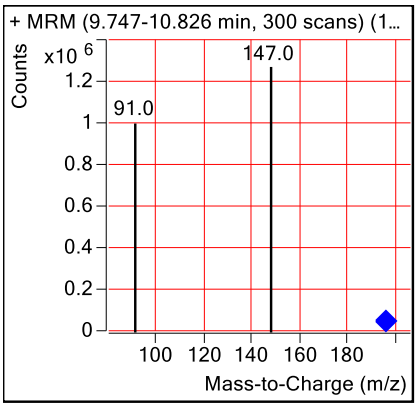
Compound	ISTD Compound	RT	Response	ISTD Resp	Resp Ratio	Fi
3MCPD	3MCPD-D5	10.044	274933	84434	3.2562	11

Compound Graphics

Target Compound *3MCPD*







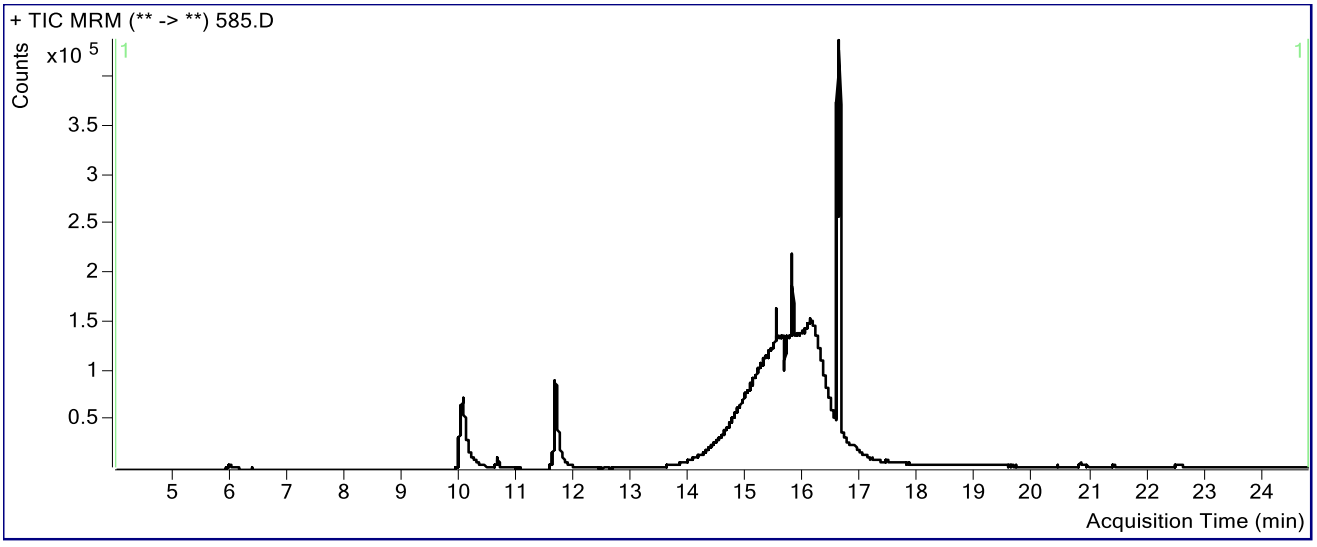
Cromatograma replicata 5000 ppb dia 3 rota B arquivo 585

Batch Data Path	D:\Validacao 3-MCPD 2018\27072018\Dia 1\QuantResults\28072018.batch.bin		
Analysis Time	8/6/2018 8:29 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/27/2018 11:53 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/6/2018 8:29 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-07-30 16:47	**Data File**	585.D
Sample Type	Sample	**Sample Name**	Ponto Alto 5000 ppb B-2 - dia 3
Dilution	1	**Acq Method**	Cd 29c-13 - 2017
Position	112	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Comment**	

Sample Chromatogram

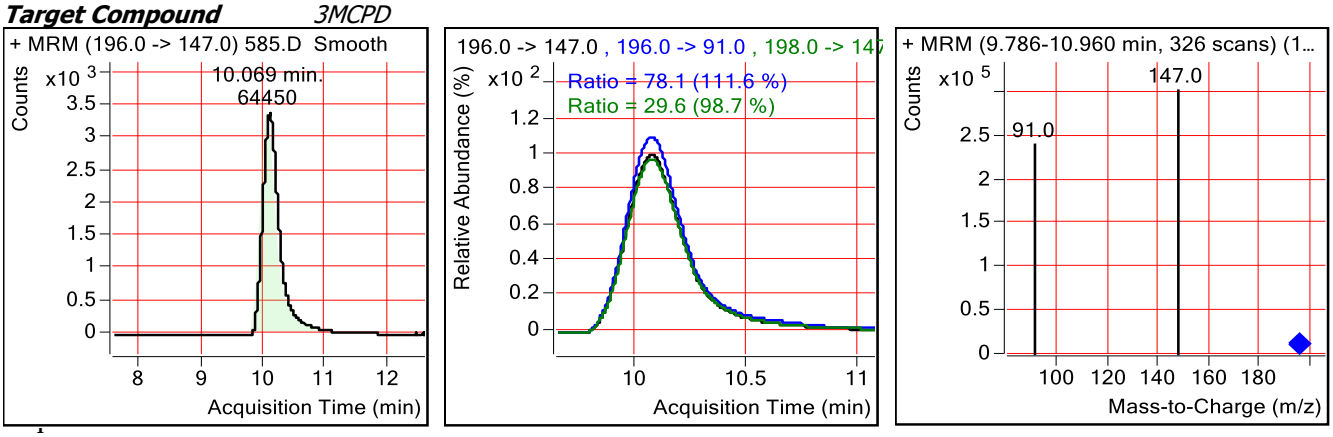


Quantitation Results

Compound	ISTD Compound	RT	Response	ISTD Resp	Resp Ratio	Fina
3MCPD	3MCPD-D5	10.069	64450	36911	1.7461	6.03

Compound Graphics

Target Compound *3MCPD*



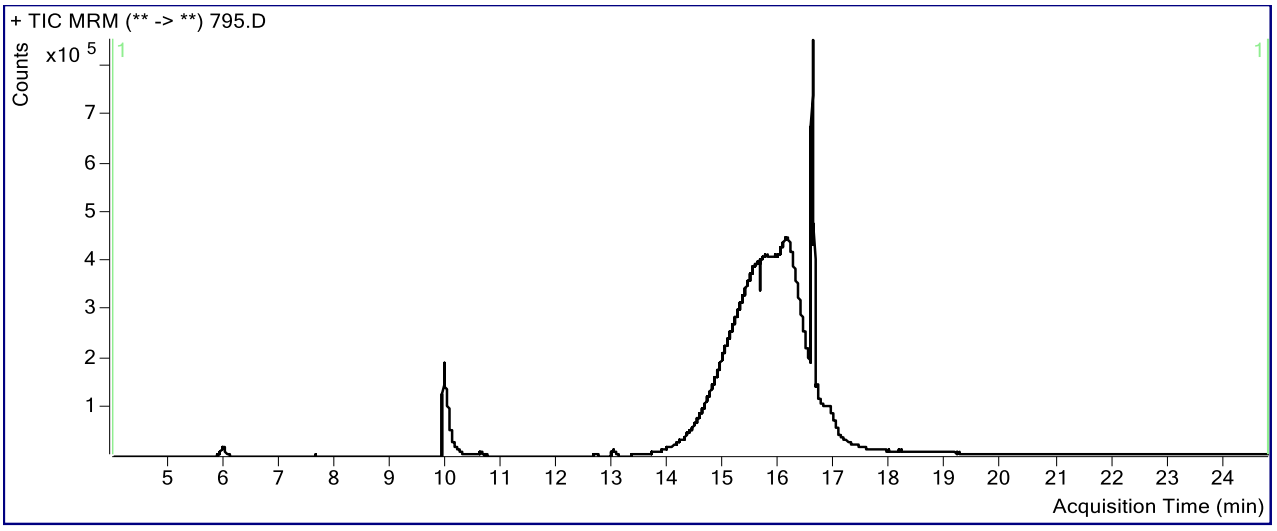
Cromatograma amostra de referência Fapas 2649 rota A arquivo 795

Batch	8/14/2018 8:16 AM	**Analyst Name**	admin
Analysis Time			
Report Time	8/14/2018 8:42 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/14/2018 8:16 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-08-04 15:27	**Data File**	795.D
Position	36	**Sample Name**	FAPAS 2649 Rota A
Dilution	1	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Acq Method File**	Cd 29c-13 - 2017
Sample Type	Sample	**Comment**	

Sample Chromatogram

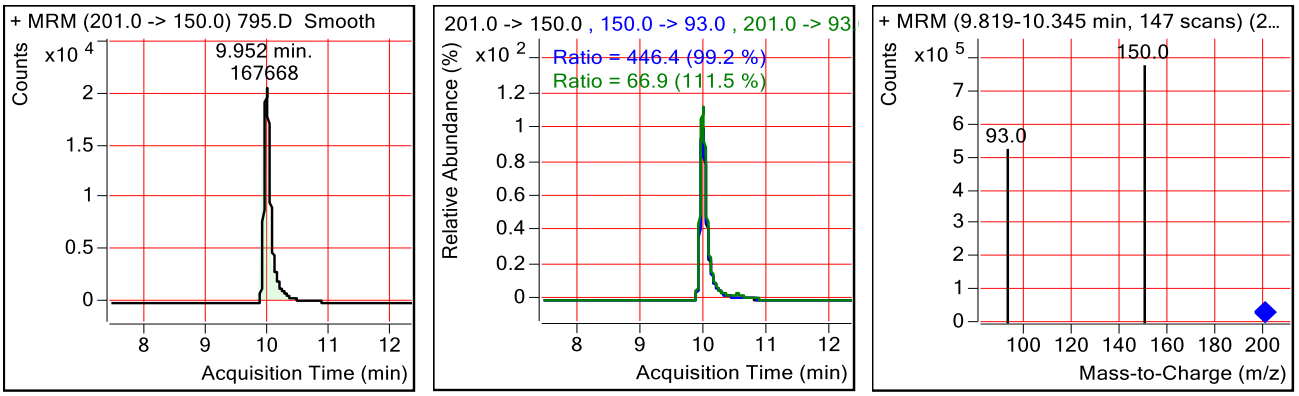


Quantitation Results

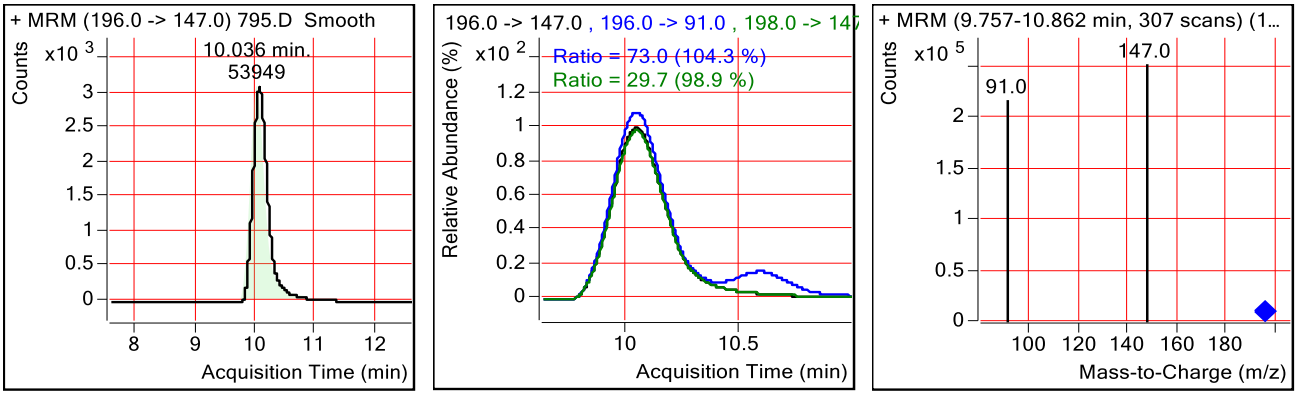
Compound	ISTD	RT	Response
3MCPD	3MCPD-D5	10.036	53949

Compound Graphics

ISTD Compound *3MCPD-D5*



Target Compound *3MCPD*



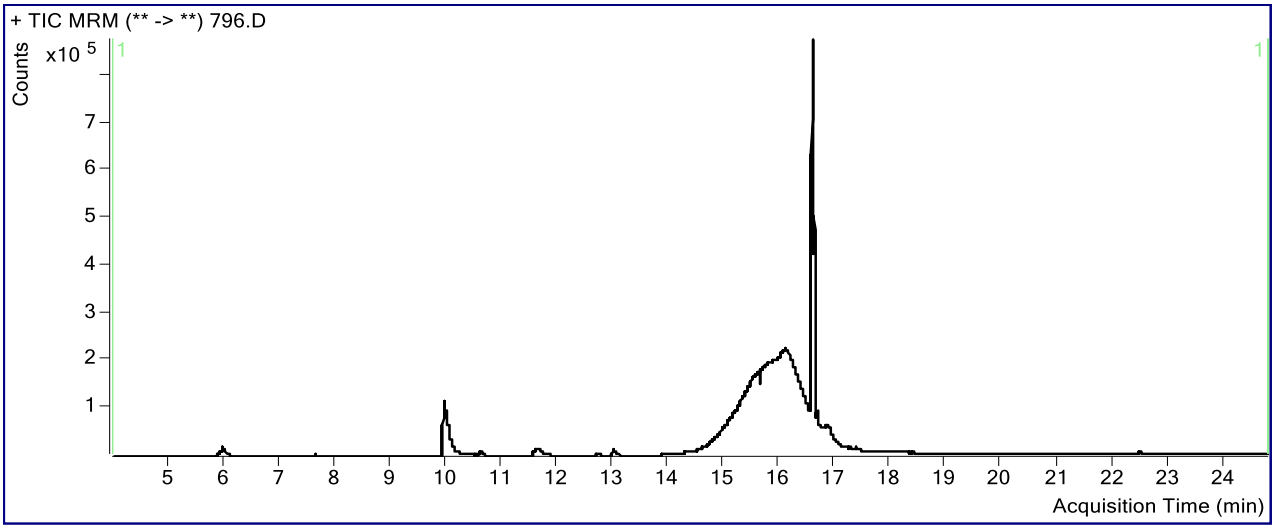
Cromatograma amostra de referência Fapas 2649 rota B arquivo 796

Analysis Time	8/14/2018 8:16 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/14/2018 8:42 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/14/2018 8:16 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-08-04 16:03	**Data File**	796.D
Position	37	**Sample Name**	FAPAS 2649 Rota B-1 - dia 4
Dilution	1	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Acq Method File**	Cd 29c-13 - 2017
Sample Type	Sample	**Comment**	

Sample Chromatogram

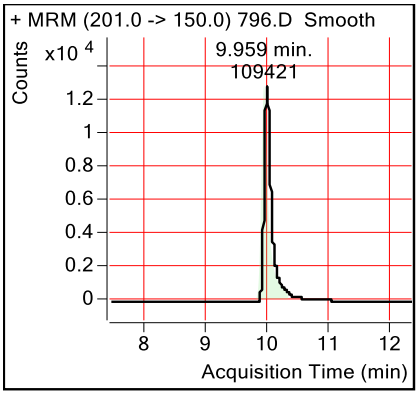


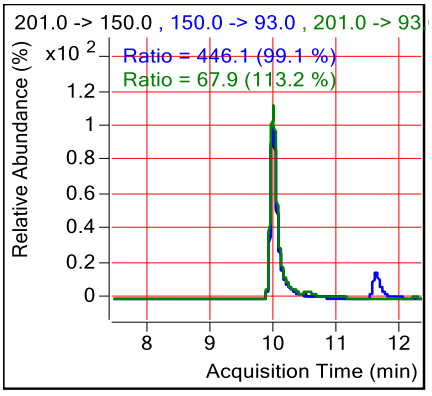
Quantitation Results

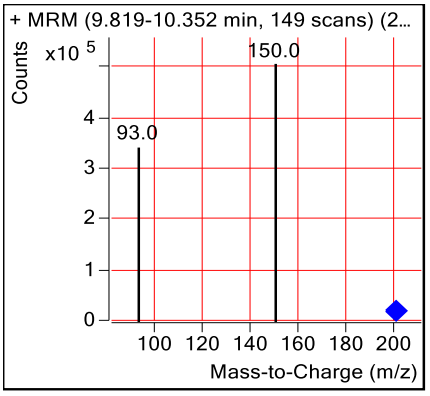
Compound	ISTD	RT	Response	ISTD Resp	RR	Conc
3MCPD	3MCPD-D5	10.044	28728	109421	0.2625	1.5125

Compound Graphics

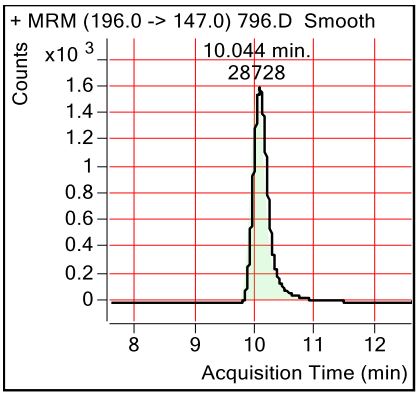
ISTD Compound *3MCPD-D5*

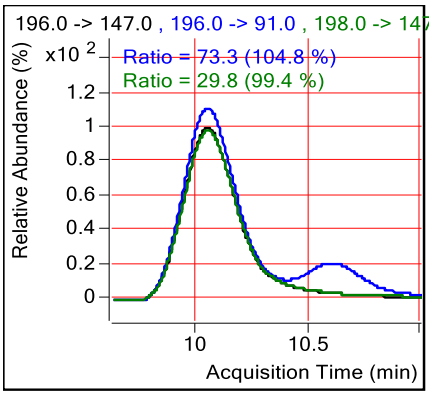


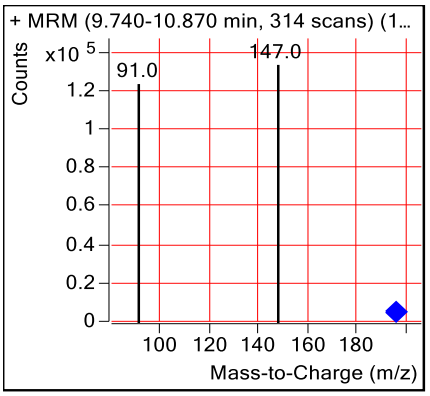




Target Compound *3MCPD*







Cromatograma Amostra de referência Fapas 2649 rota A arquivo 797

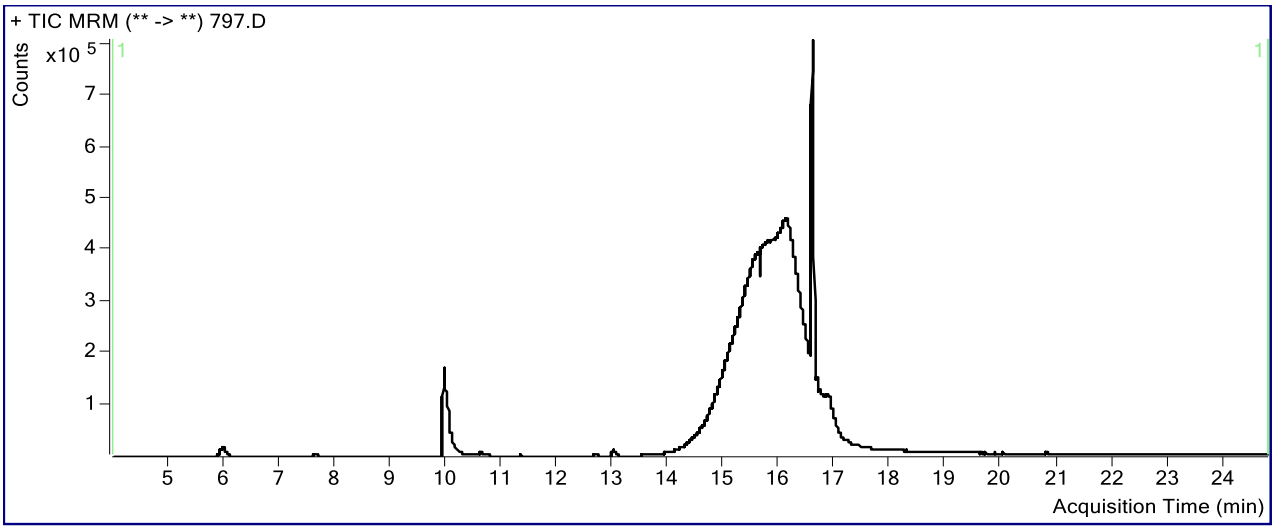
Batch Data Path

Analysis Time	8/14/2018 8:16 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/14/2018 8:42 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/14/2018 8:16 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-08-04 16:39	**Data File**	797.D
Position	38	**Sample Name**	FAPAS 2649 Rota A-2 - dia 4
Dilution	1	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Acq Method File**	Cd 29c-13 - 2017
Sample Type	Sample	**Comment**	

Sample Chromatogram

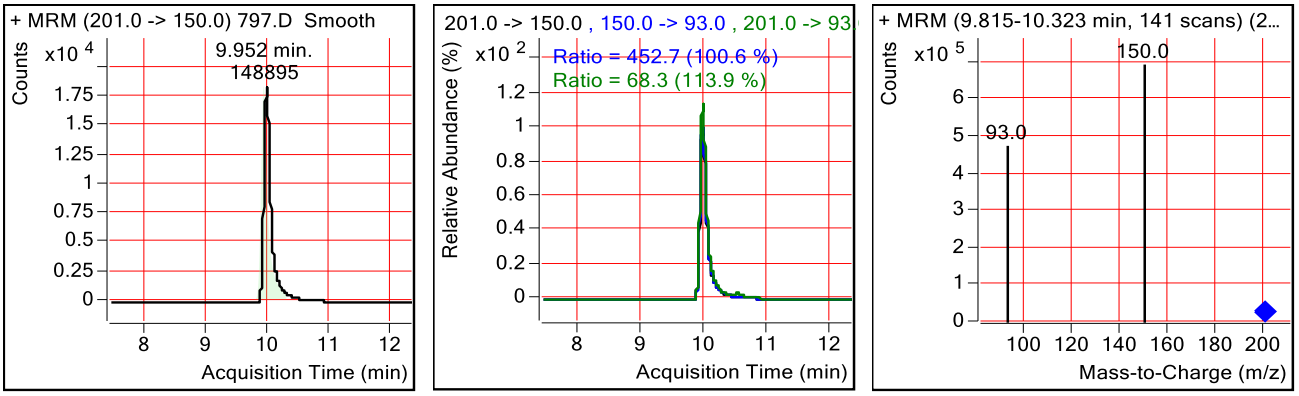


Quantitation Results

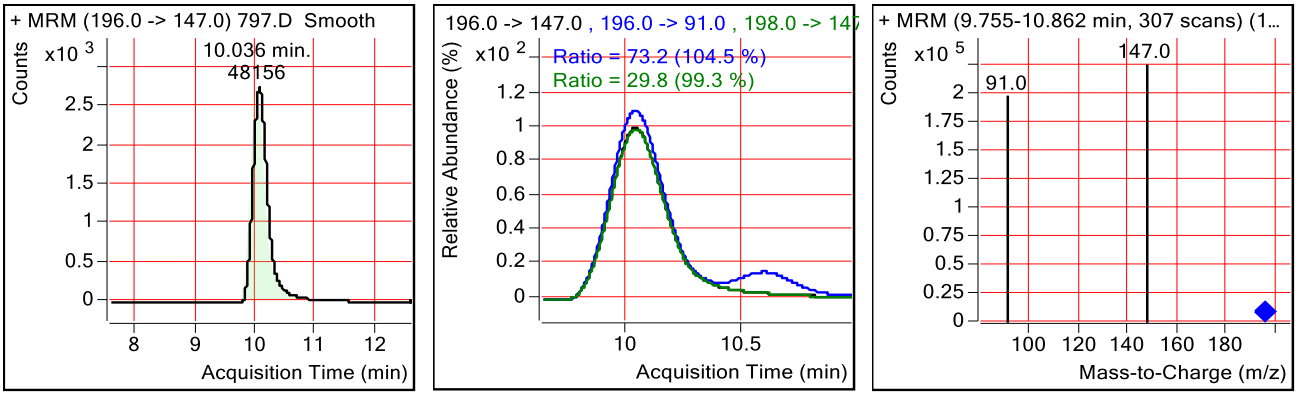
Compound	ISTD	RT	Response	ISTD Resp	RR	Conc
3MCPD	3MCPD-D5	10.036	48156	148895	0.3234	1.8644

Compound Graphics

ISTD Compound *3MCPD-D5*



Target Compound *3MCPD*



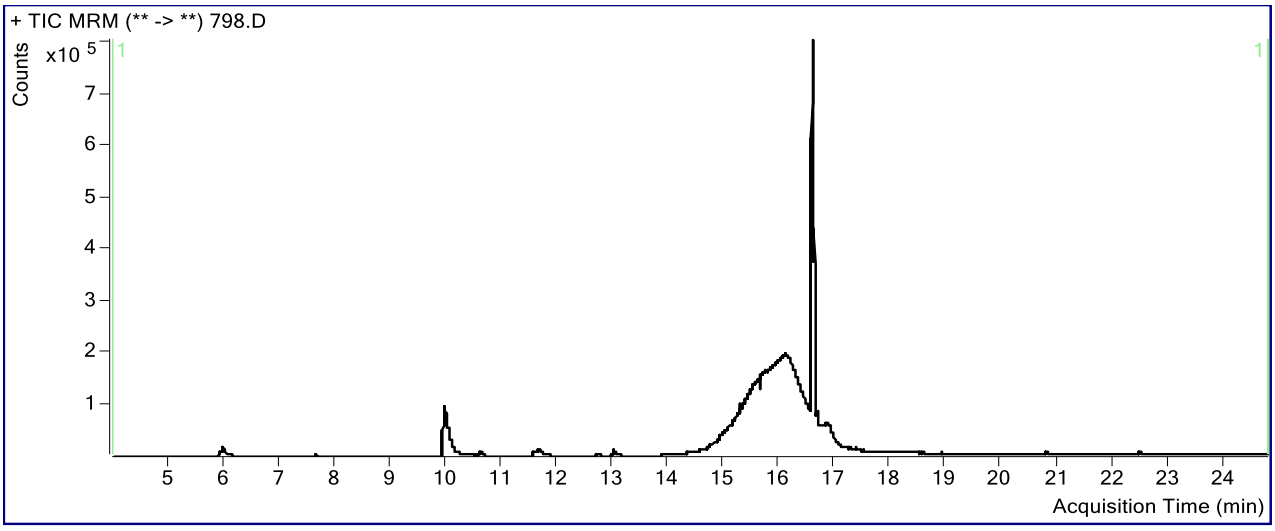
Cromatograma Amostra de referência Fapas 2649 rota B arquivo 798

Batch Data Path			
Analysis Time	8/14/2018 8:16 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/14/2018 8:42 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/14/2018 8:16 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-08-04 17:16	**Data File**	798.D
Position	39	**Sample Name**	FAPAS 2649 Rota B-2 - dia 4
Dilution	1	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Acq Method File**	Cd 29c-13 - 2017
Sample Type	Sample	**Comment**	

Sample Chromatogram

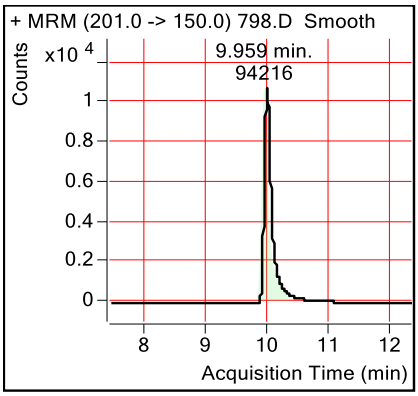


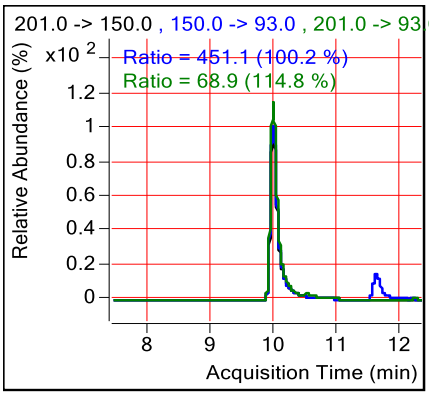
Quantitation Results

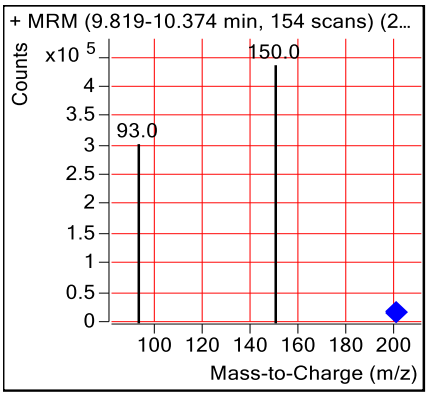
Compound	ISTD	RT	Response	ISTD Resp	RR	Conc
3MCPD	3MCPD-D5	10.044	25518	94216	0.2708	1.5605

Compound Graphics

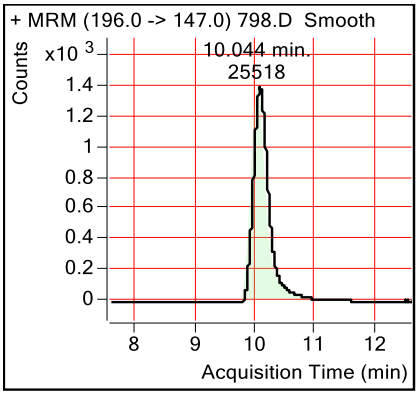
ISTD Compound *3MCPD-D5*

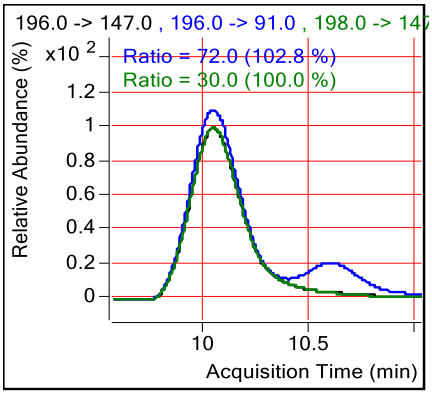


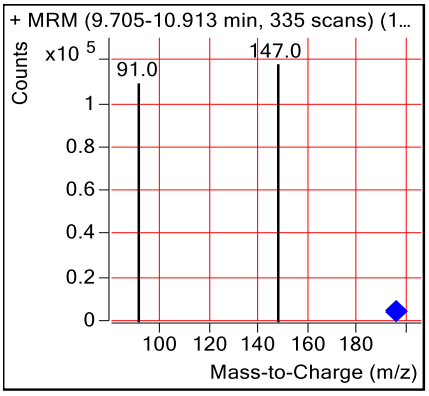




Target Compound *3MCPD*







Cromatograma Padrão 3-MCPD Replicata 5000 ppb rota A arquivo 803

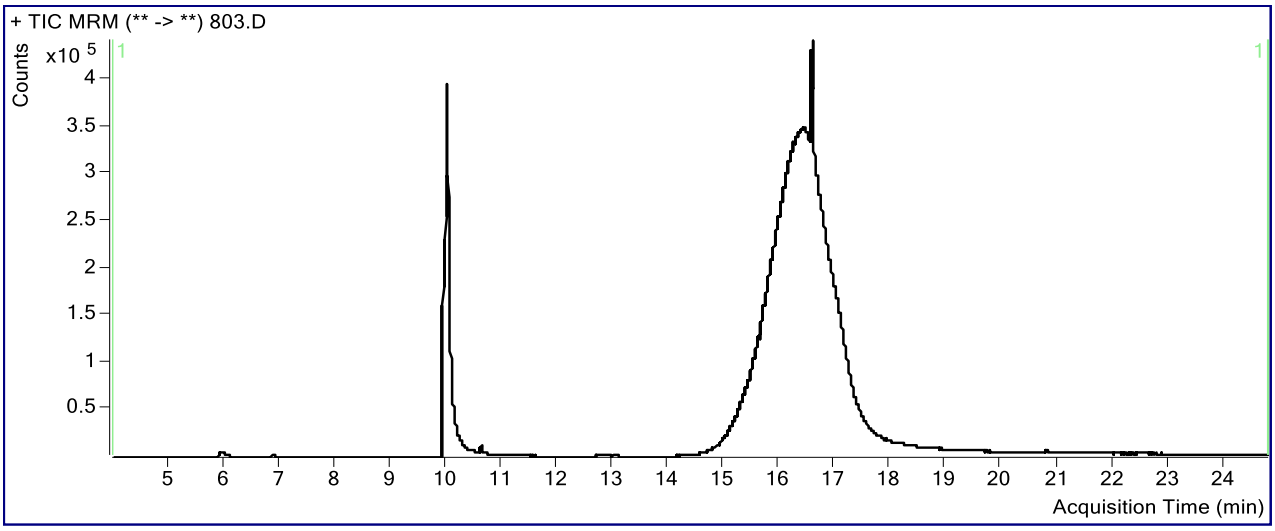
Batch Data Path
Analysis Time 8/14/2018 8:16 AM **Analyst Name** admin

Report Time	8/14/2018 8:42 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/14/2018 8:16 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-08-04 20:17	**Data File**	803.D
Position	44	**Sample Name**	Ponto Alto 5000 p
Dilution	1	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Acq Method File**	Cd 29c-13 - 2017
Sample Type	Sample	**Comment**	

Sample Chromatogram

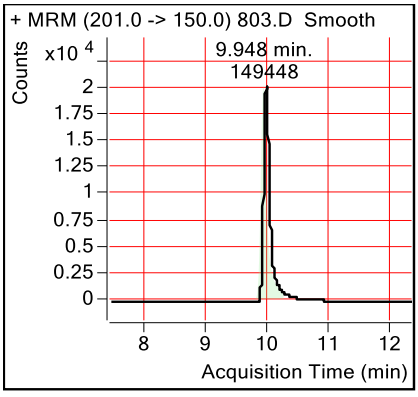


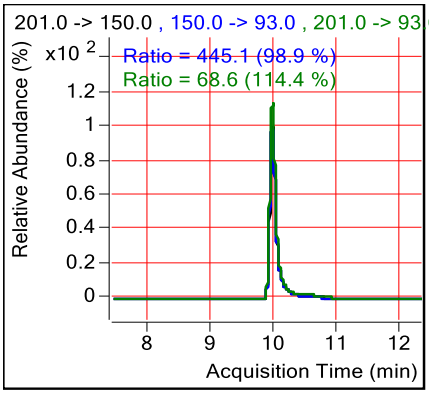
Quantitation Results

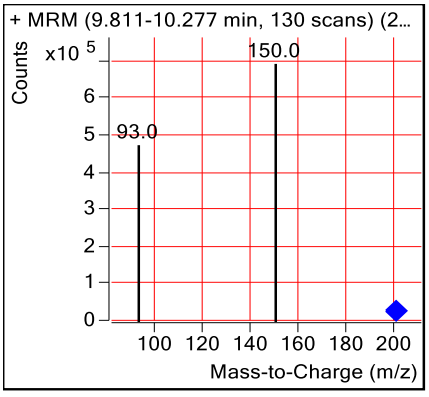
Compound	ISTD	RT	Response
3MCPD	3MCPD-D5	10.022	325796

Compound Graphics

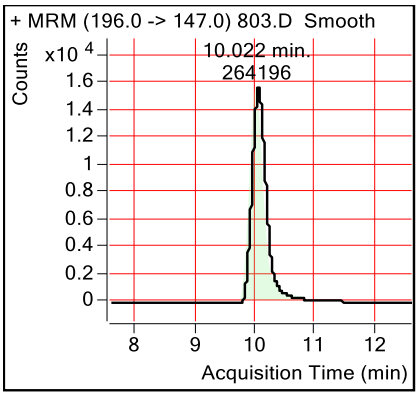
ISTD Compound *3MCPD-D5*

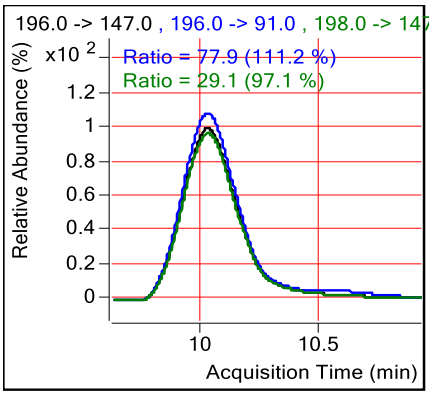


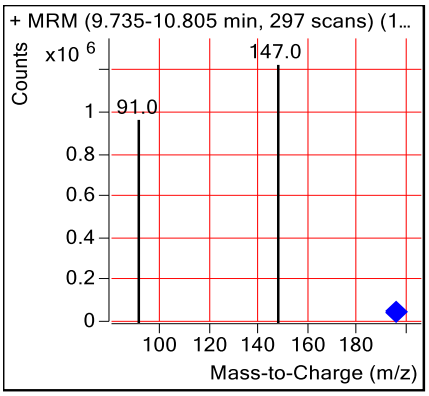




Target Compound *3MCPD*







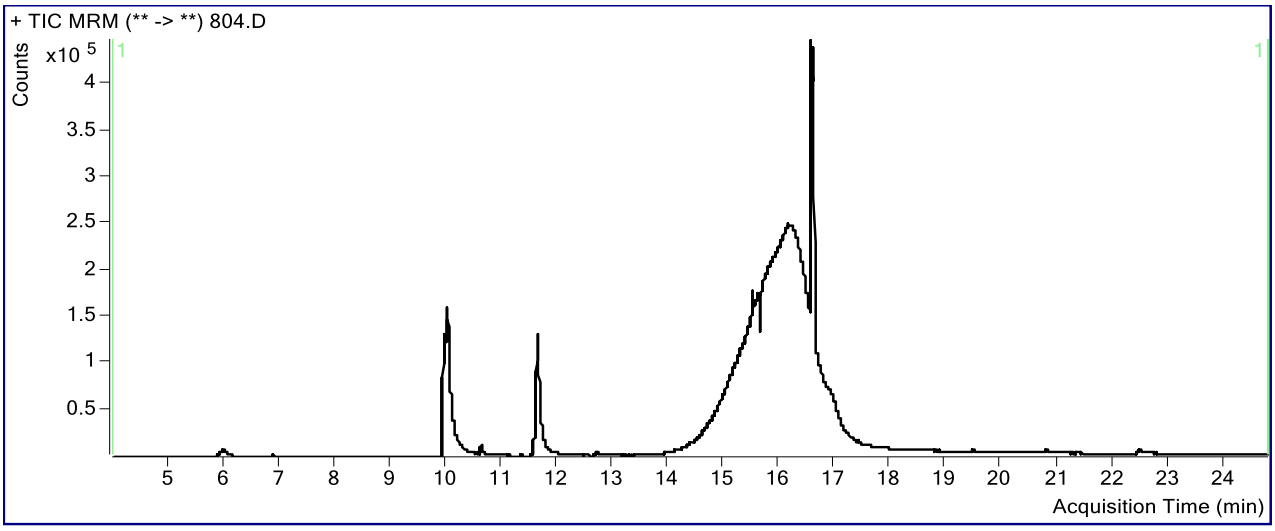
Cromatograma Padrão 3-MCPD Replicata 5000 ppb rota B arquivo 804

Batch Data Path			
Analysis Time	8/14/2018 8:16 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/14/2018 8:42 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/14/2018 8:16 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-08-04 20:53	**Data File**	804.D
Position	45	**Sample Name**	Ponto Alto 5000 ppb B-1 - dia 4
Dilution	1	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Acq Method File**	Cd 29c-13 - 2017
Sample Type	Sample	**Comment**	

Sample Chromatogram

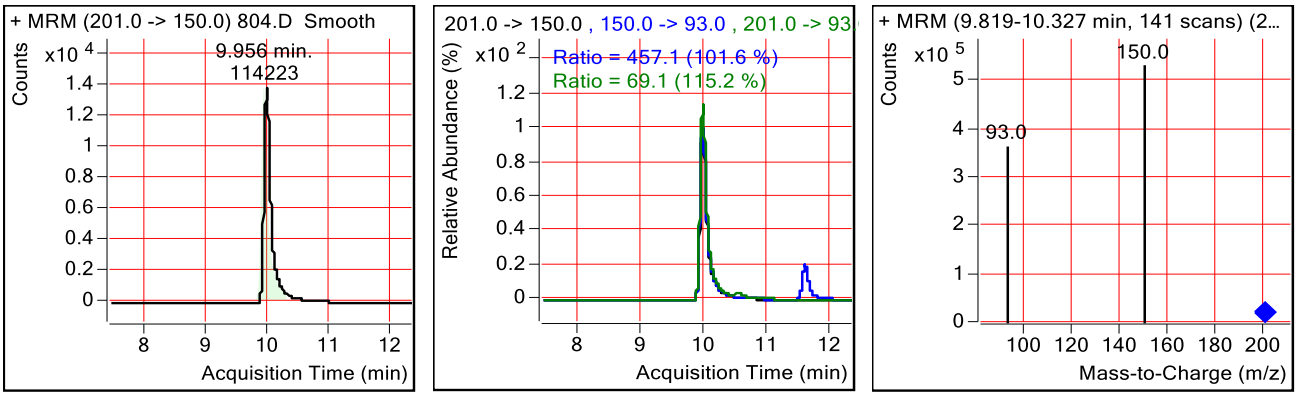


Quantitation Results

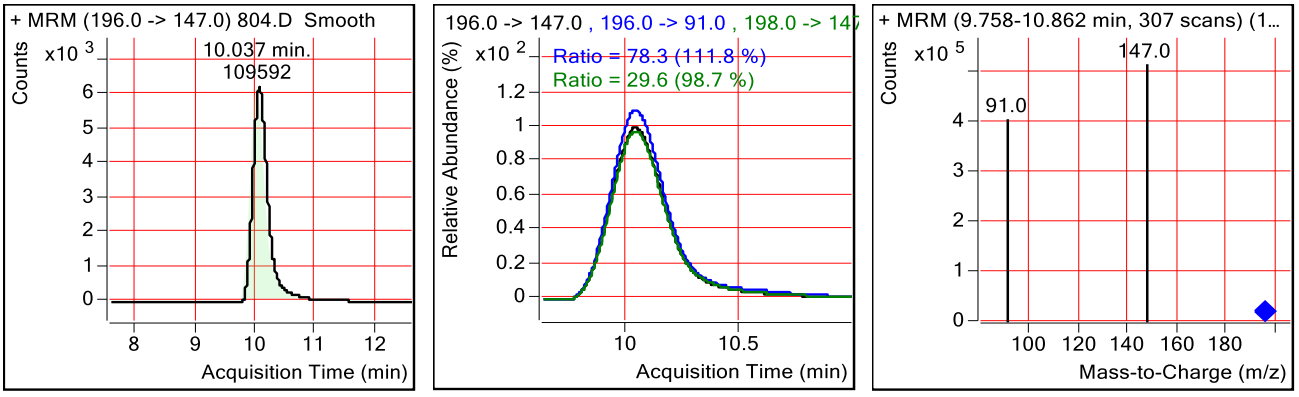
Compound	ISTD	RT	Response	ISTD Resp	RR	Conc
3MCPD	3MCPD-D5	10.037	119031	114223	1.0421	6.0170

Compound Graphics

ISTD Compound *3MCPD-D5*



Target Compound *3MCPD*



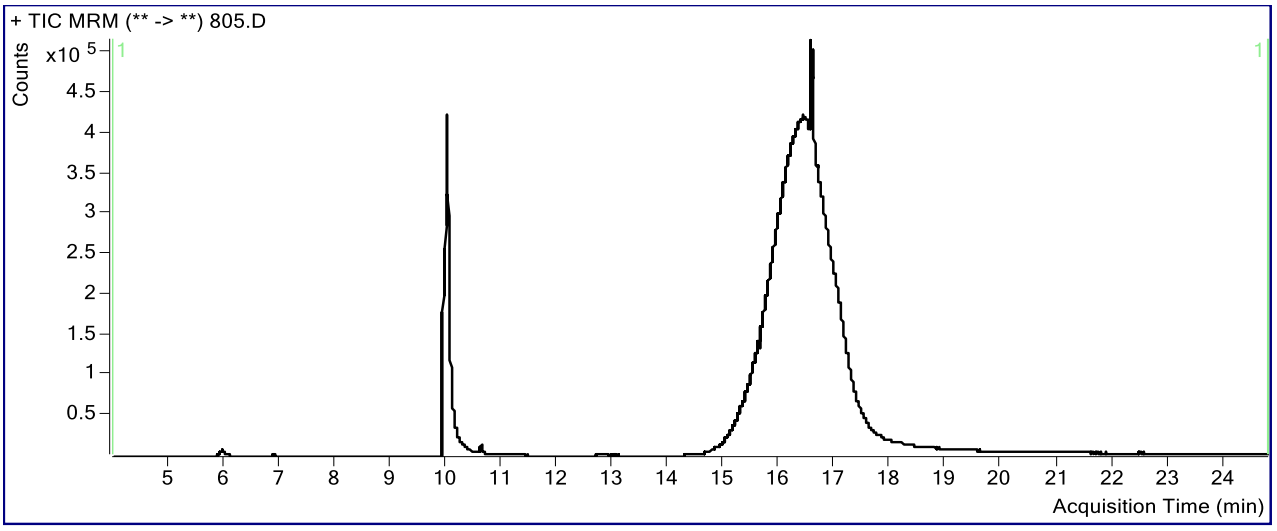
Cromatograma Padrão 3-MCPD Replicata 5000 ppb rota A arquivo 805

Batch Data Path			
Analysis Time	8/14/2018 8:16 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/14/2018 8:42 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/14/2018 8:16 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-08-04 21:29	**Data File**	805.D
Position	46	**Sample Name**	Ponto Alto 5000 ppb A-2 - dia 4
Dilution	1	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Acq Method File**	Cd 29c-13 - 2017
Sample Type	Sample	**Comment**	

Sample Chromatogram

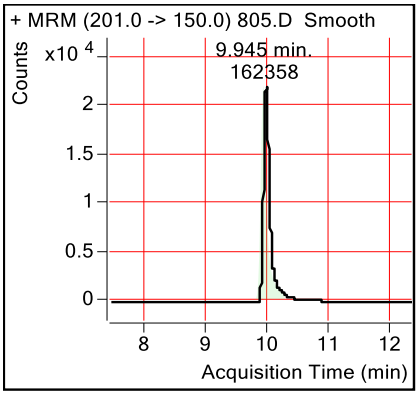


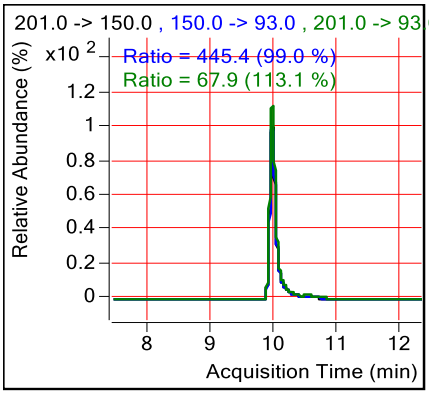
Quantitation Results

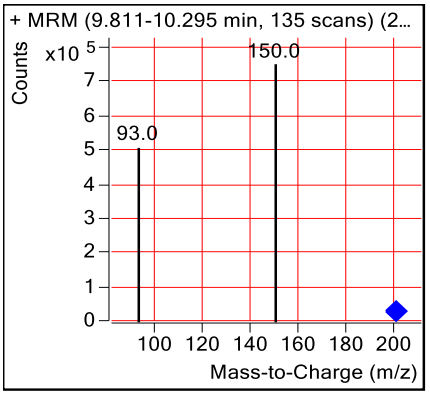
Compound	ISTD	RT	Response	ISTD Resp	RR	Conc
3MCPD	3MCPD-D5	10.018	346536	162358	2.1344	12.3290

Compound Graphics

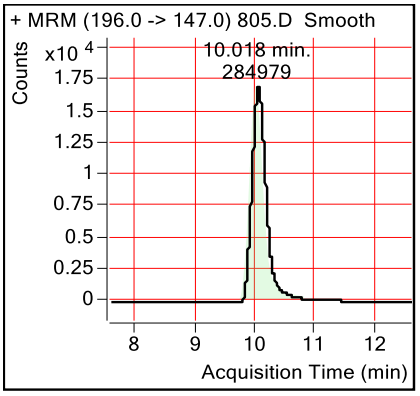
ISTD Compound *3MCPD-D5*

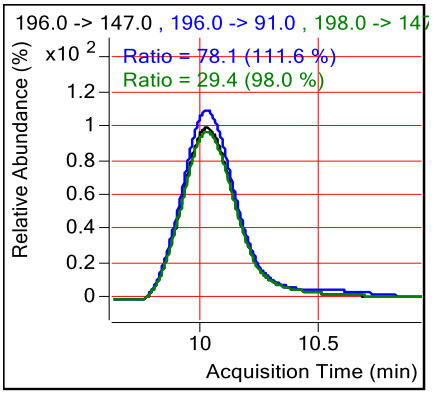


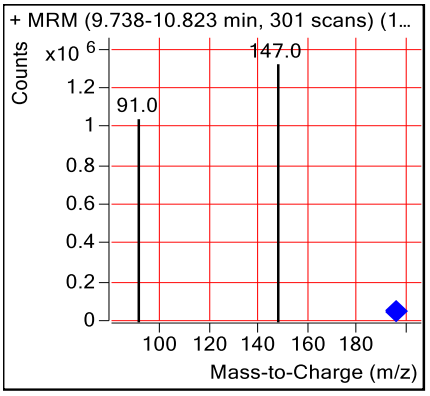




Target Compound *3MCPD*







Cromatograma Padrão 3-MCPD Replicata 5000 ppb rota B arquivo 806

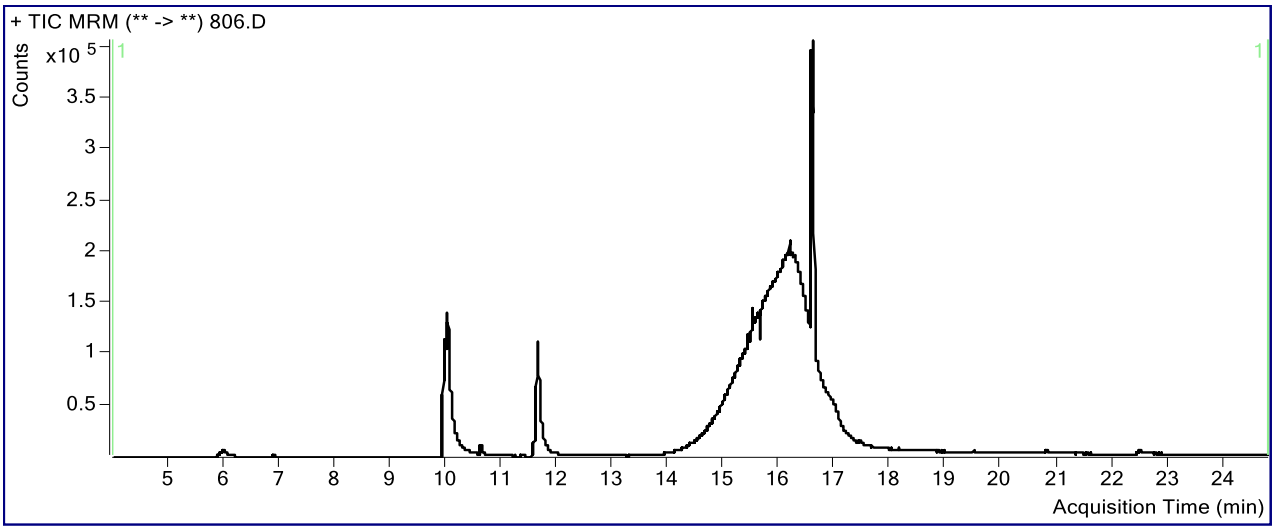
Batch Data Path
Analysis Time 8/14/2018 8:16 AM **Analyst Name** admin

Report Time	8/14/2018 8:42 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/14/2018 8:16 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-08-04 22:05	**Data File**	806.D
Position	47	**Sample Name**	Ponto Alto 5000 ppb B-2 - dia 4
Dilution	1	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Acq Method File**	Cd 29c-13 - 2017
Sample Type	Sample	**Comment**	

Sample Chromatogram

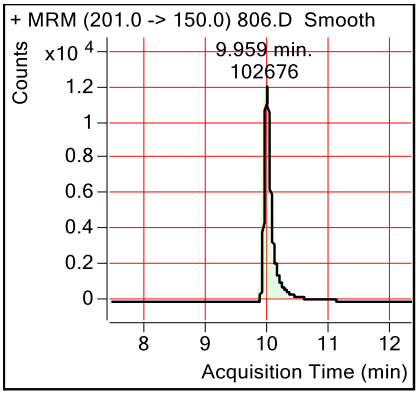


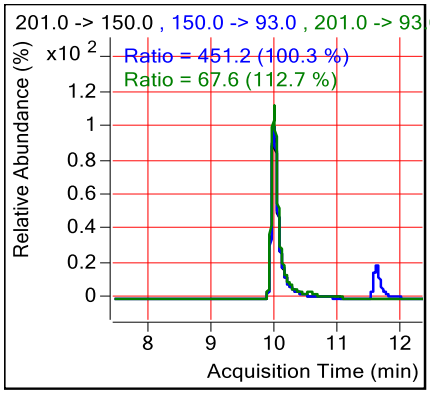
Quantitation Results

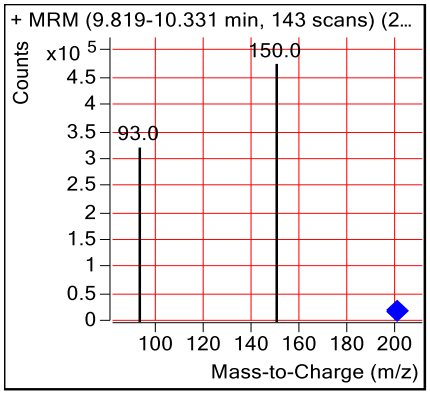
Compound	ISTD	RT	Response	ISTD Resp	RR	Conc
3MCPD	3MCPD-D5	10.040	108857	102676	1.0602	6.1220

Compound Graphics

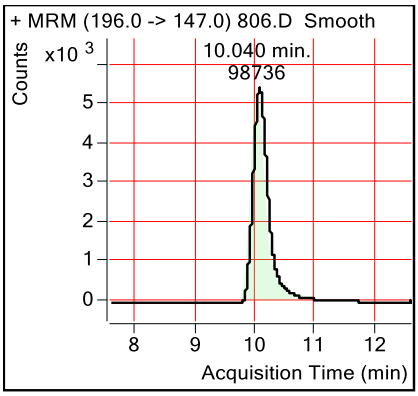
ISTD Compound *3MCPD-D5*

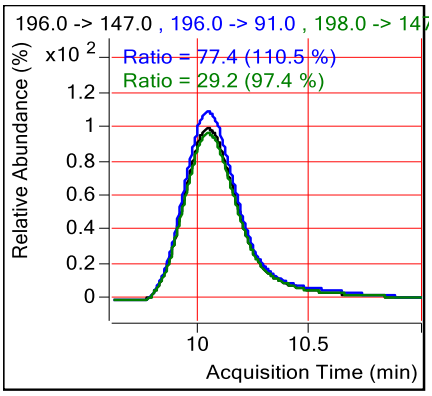


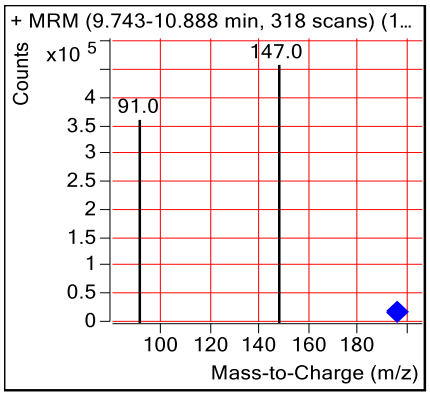




Target Compound *3MCPD*







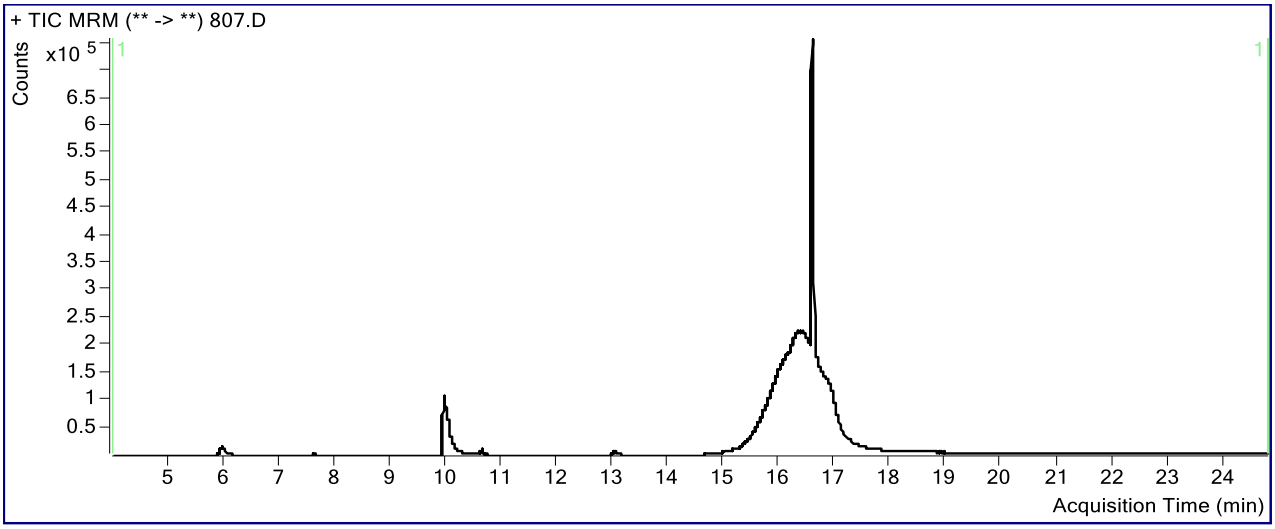
Cromatograma Padrão 3-MCPD Replicata FAPAS 2649 rota arquivo 807

Analysis Time	8/14/2018 8:16 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/14/2018 8:42 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/14/2018 8:16 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-08-05 05:56	**Data File**	807.D
Position	51	**Sample Name**	FAPAS 2649 Rota
Dilution	1	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Acq Method File**	Cd 29c-13 - 2017
Sample Type	Sample	**Comment**	

Sample Chromatogram

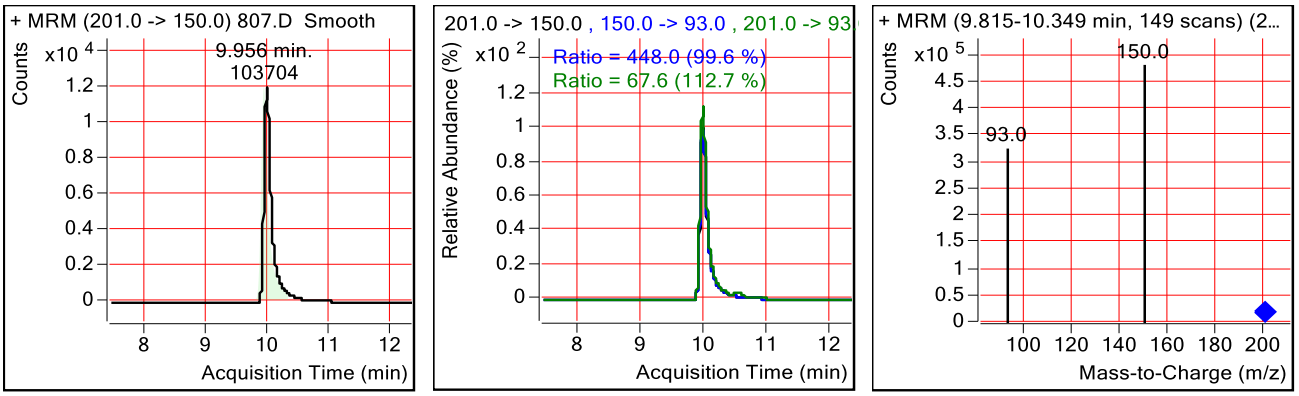


Quantitation Results

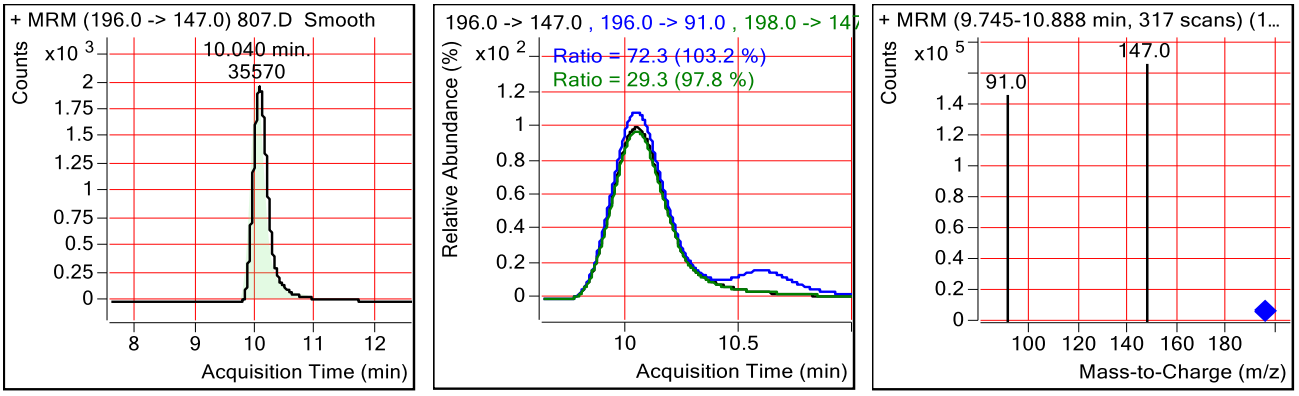
Compound	ISTD	RT	Response
3MCPD	3MCPD-D5	10.040	35570

Compound Graphics

ISTD Compound *3MCPD-D5*



Target Compound *3MCPD*



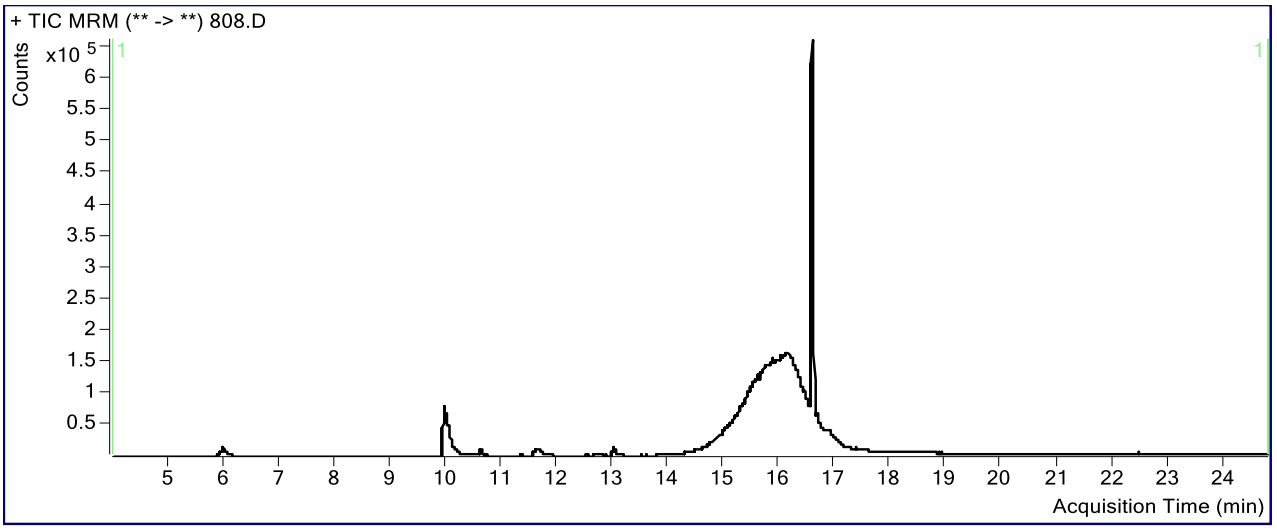
Cromatograma Replicata Padrão Referência FAPAS 2649 rota B arquivo 808

Batch Data Path			
Analysis Time	8/14/2018 8:16 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/14/2018 8:42 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/14/2018 8:16 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-08-05 06:32	**Data File**	808.D
Position	52	**Sample Name**	FAPAS 2649 Rota B-1 - dia 5
Dilution	1	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Acq Method File**	Cd 29c-13 - 2017
Sample Type	Sample	**Comment**	

Sample Chromatogram

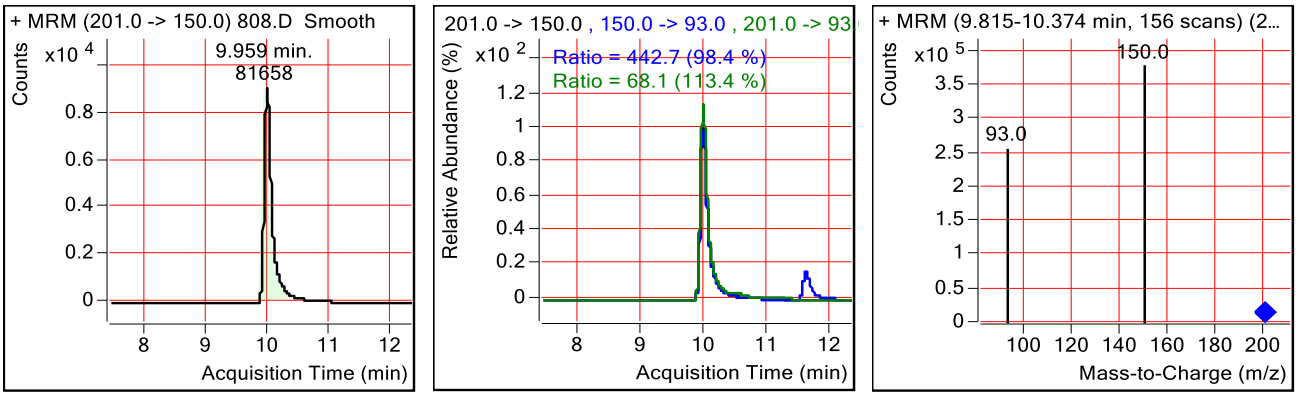


Quantitation Results

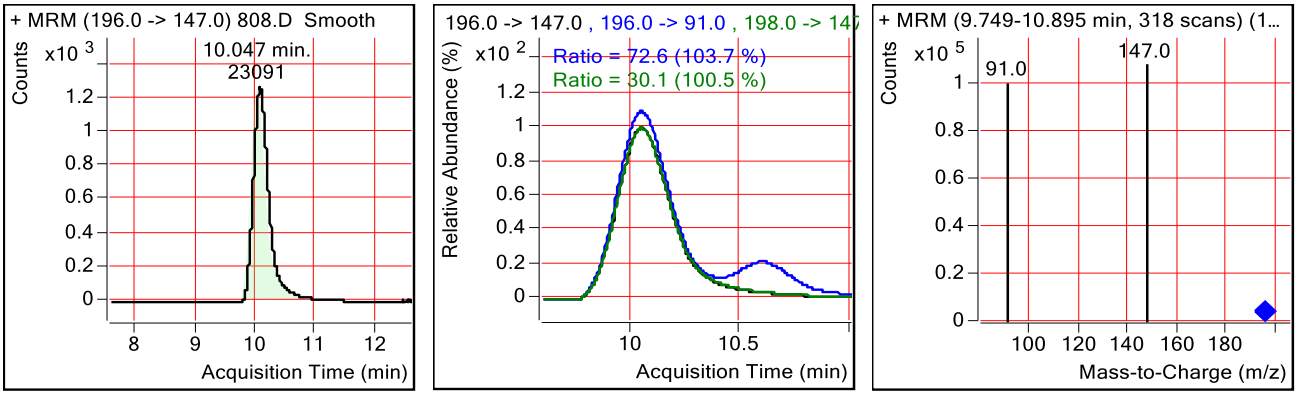
Compound	ISTD	RT	Response	ISTD Resp	RR	Conc
3MCPD	3MCPD-D5	10.047	23091	81658	0.2828	1.6294

Compound Graphics

ISTD Compound *3MCPD-D5*



Target Compound *3MCPD*



Cromatograma Replicata Padrão Referência FAPAS 2649 rota A dia5 arquivo 809

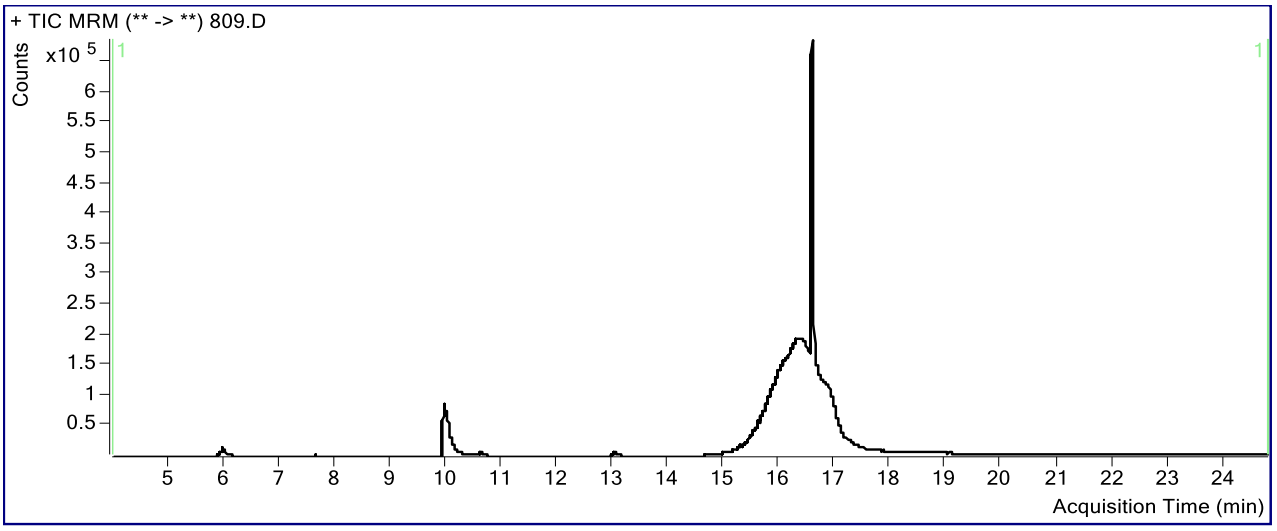
D:\3MCPD_2018\06_08_18\QuantResults\060818.batch.bin
Batch Data Path

Analysis Time	8/14/2018 8:16 AM	**Analyst Name**
Report Time	8/14/2018 8:42 AM	**Reporter Name**
Last Calib Update	8/14/2018 8:16 AM	**Batch State**

Analysis Info

Acq Time	2018-08-05 07:08	**Data File**
Position	53	**Sample Name**
Dilution	1	**Sample Info**
Inj Vol	1	**Acq Method File**
Sample Type	Sample	**Comment**

Sample Chromatogram

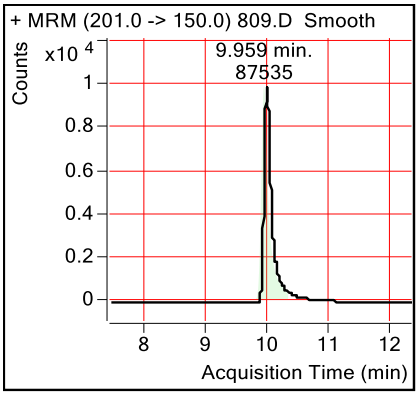


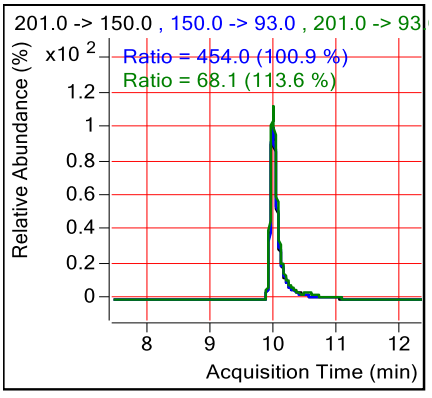
Quantitation Results

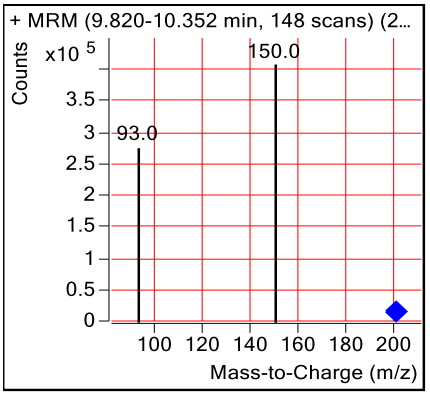
Compound	ISTD	RT
3MCPD	3MCPD-D5	10.044

Compound Graphics

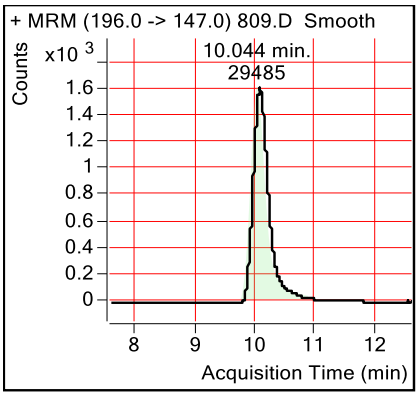
ISTD Compound *3MCPD-D5*

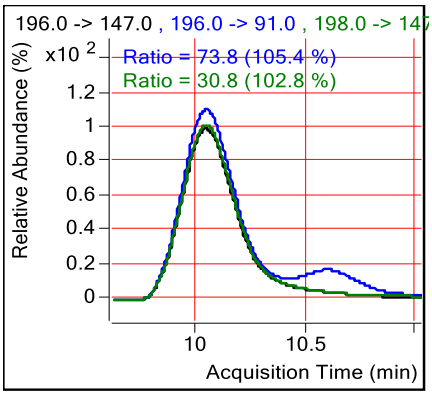


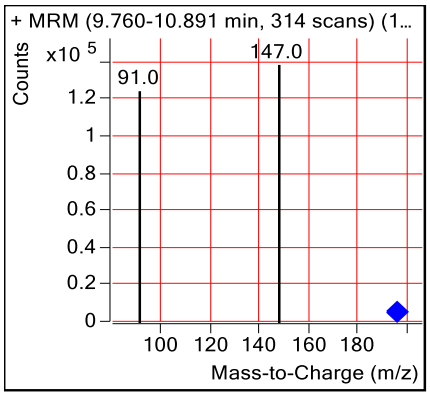




Target Compound *3MCPD*







Cromatograma Replicata Padrão Referência FAPAS 2649 rota B arquivo 810

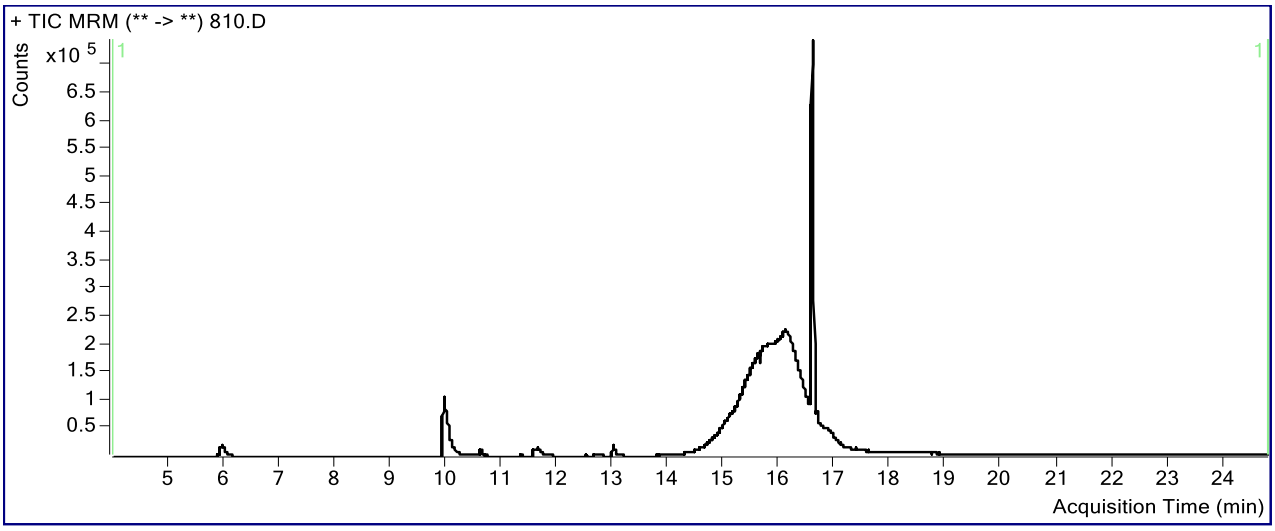
D:\3MCPD_2018\06_08_18\QuantResults\060818.batch.bin
Batch Data Path

Analysis Time	8/14/2018 8:16 AM	**Analyst Name**	a
Report Time	8/14/2018 8:42 AM	**Reporter Name**	a
Last Calib Update	8/14/2018 8:16 AM	**Batch State**	P

Analysis Info

Acq Time	2018-08-05 07:45	**Data File**	8 F
Position	54	**Sample Name**	5
Dilution	1	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Acq Method File**	C
Sample Type	Sample	**Comment**	

Sample Chromatogram

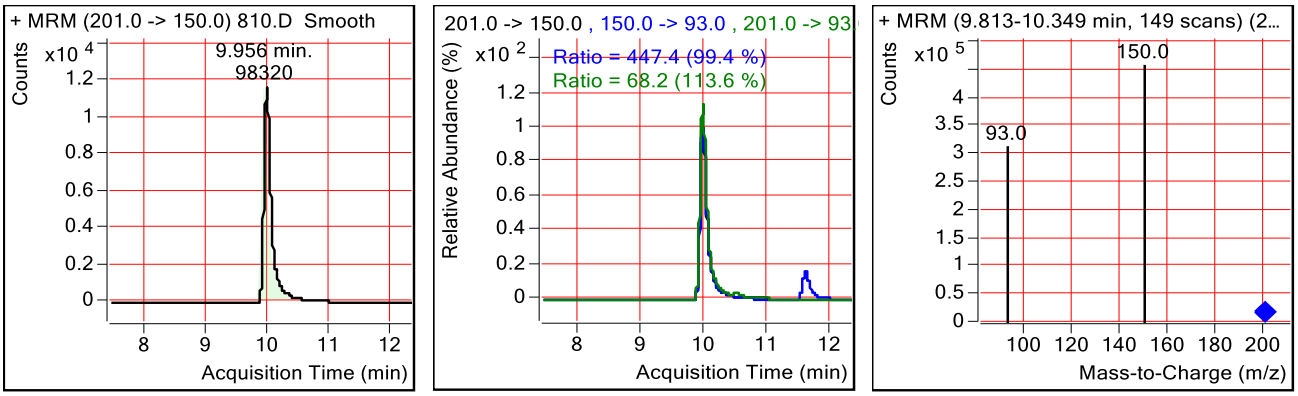


Quantitation Results

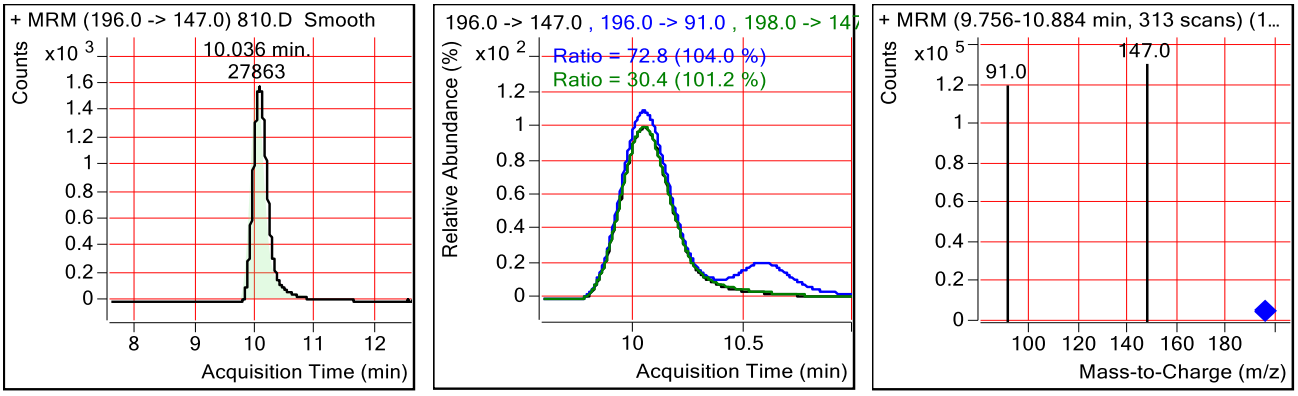
Compound	ISTD	RT
3MCPD	3MCPD-D5	10.036

Compound Graphics

ISTD Compound *3MCPD-D5*



Target Compound *3MCPD*



Cromatograma Padrão 3-MCPD nível alto rota A replicata dia 5

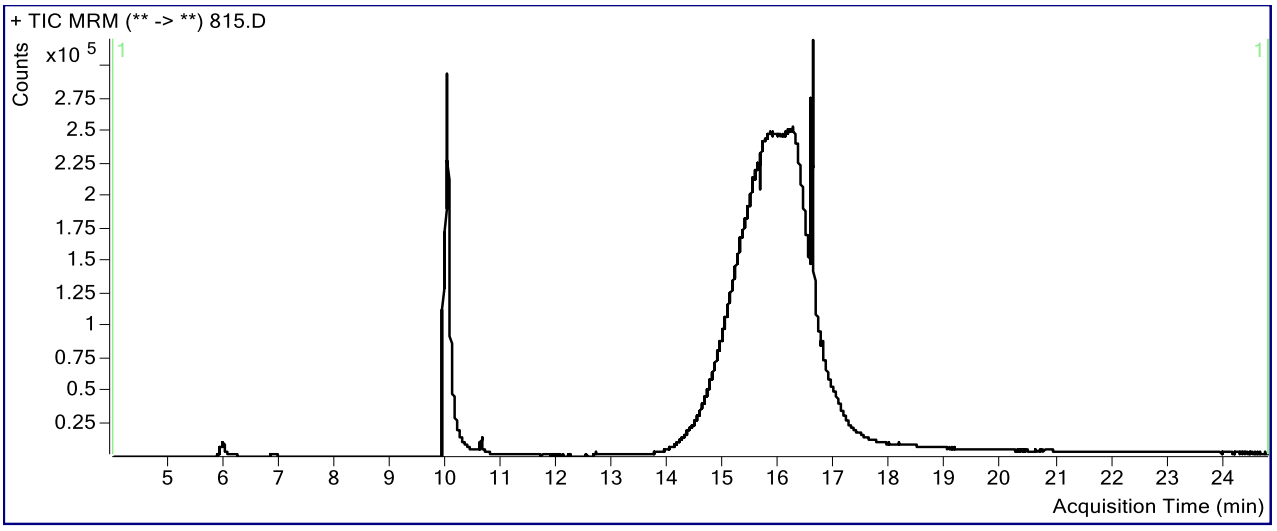
D:\3MCPD_2018\06_08_18\QuantResults\060818.batch.bin
Batch Data Path

Analysis Time	8/14/2018 8:16 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/14/2018 8:42 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/14/2018 8:16 AM	**Batch State**	Proce

Analysis Info

Acq Time	2018-08-05 10:46	**Data File**	815.D
Position	59	**Sample Name**	Ponto
Dilution	1	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Acq Method File**	Cd 29
Sample Type	Sample	**Comment**	

Sample Chromatogram

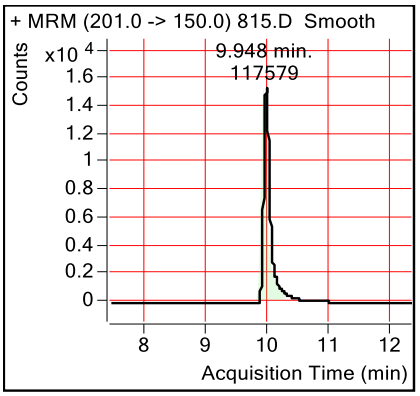


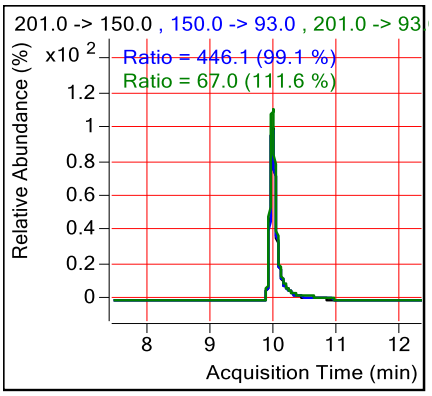
Quantitation Results

Compound	IS
3MCPD	3MCPD-

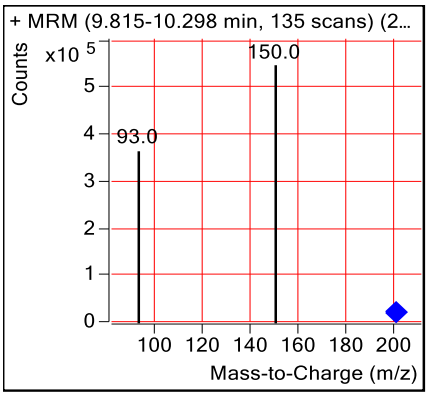
Compound Graphics

ISTD Compound

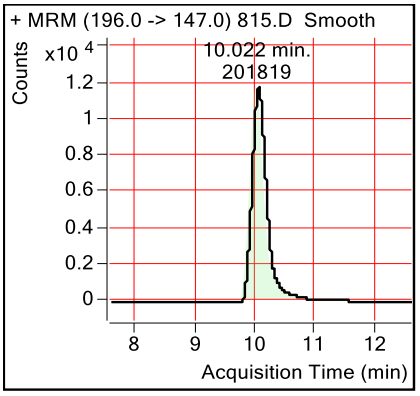


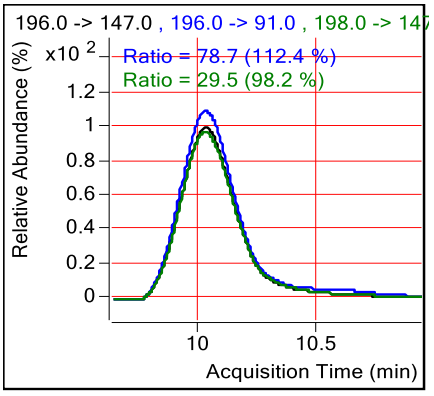


3MCPD-D5

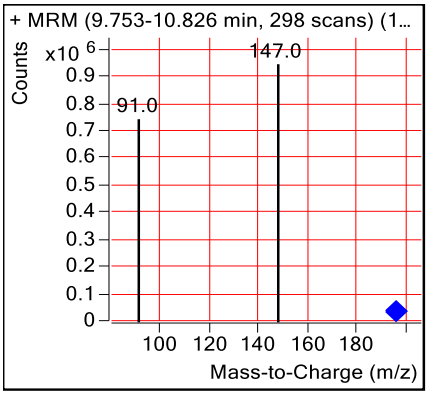


Target Compound





3MCPD



Cromatograma Padrão 3-MCPD nível alto rota B replicata dia 5

D:\3MCPD_2018\06_08_18\QuantResults\060818.batch.bin
Batch Data Path

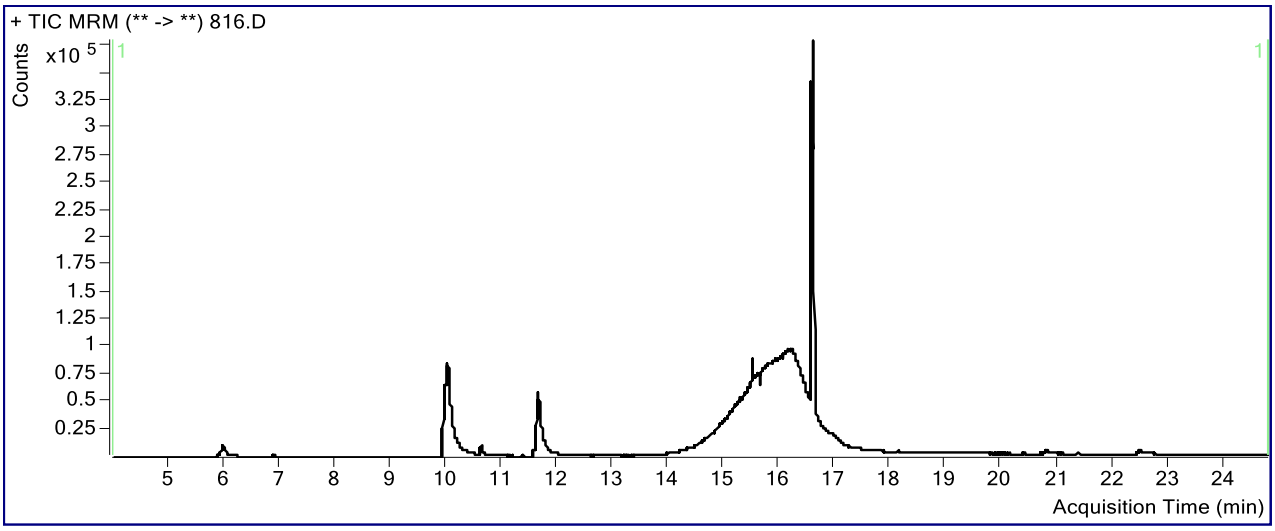
Analysis Time 8/14/2018 8:16 AM **Analyst Name** admin

Report Time	8/14/2018 8:42 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/14/2018 8:16 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-08-05 11:22	**Data File**	816.D
Position	60	**Sample Name**	Ponto Alto 5000 ppb B-1 - dia 5
Dilution	1	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Acq Method File**	Cd 29c-13 - 2017
Sample Type	Sample	**Comment**	

Sample Chromatogram

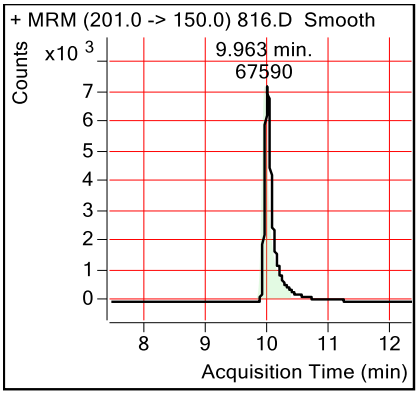


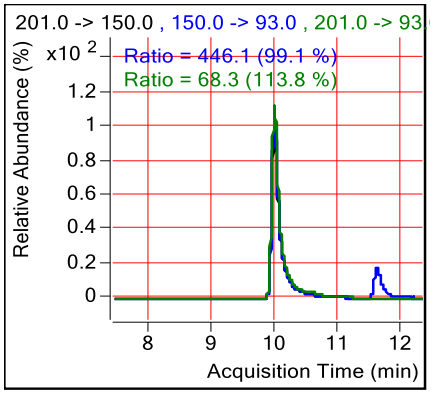
Quantitation Results

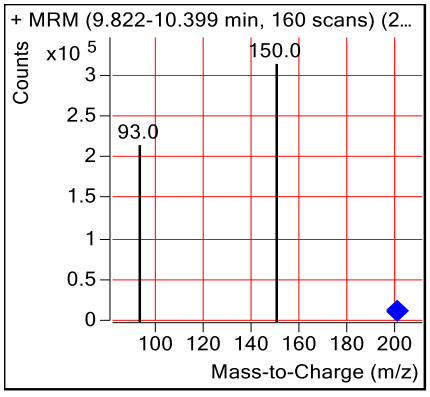
Compound	ISTD	RT	Response	ISTD Resp	RR	Conc
3MCPD	3MCPD-D5	10.047	71632	67590	1.0598	6.1200

Compound Graphics

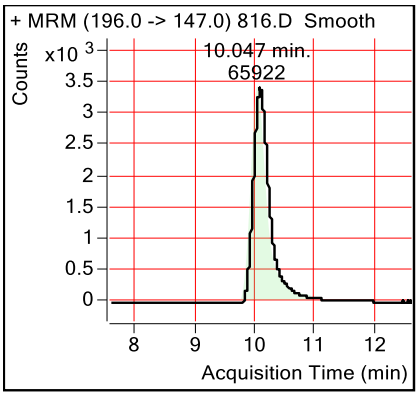
ISTD Compound *3MCPD-D5*

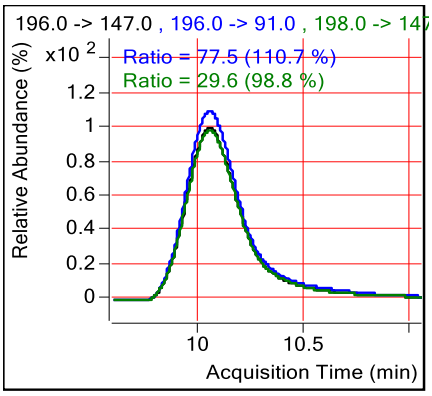


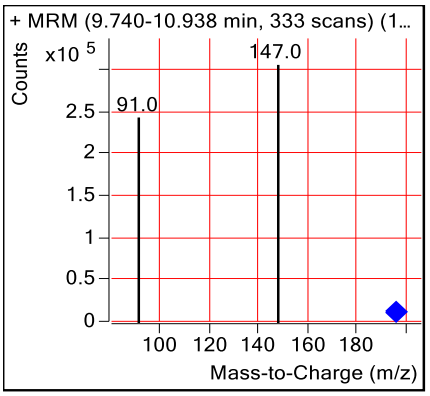




Target Compound *3MCPD*







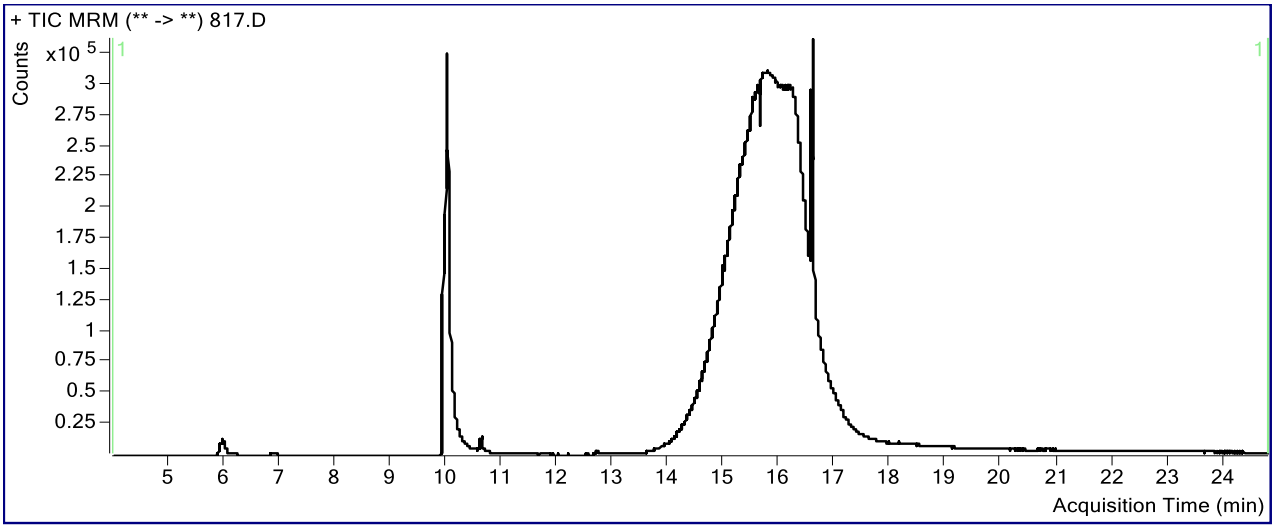
Cromatograma Amostra de Referência FAPAS ROTA A dia 5 arquivo 817

Analysis Time	8/14/2018 8:16 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/14/2018 8:42 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/14/2018 8:16 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-08-05 11:58	**Data File**	817.D
Position	61	**Sample Name**	Ponto Alto 5000 ppb A-2 - dia 5
Dilution	1	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Acq Method File**	Cd 29c-13 - 2017
Sample Type	Sample	**Comment**	

Sample Chromatogram

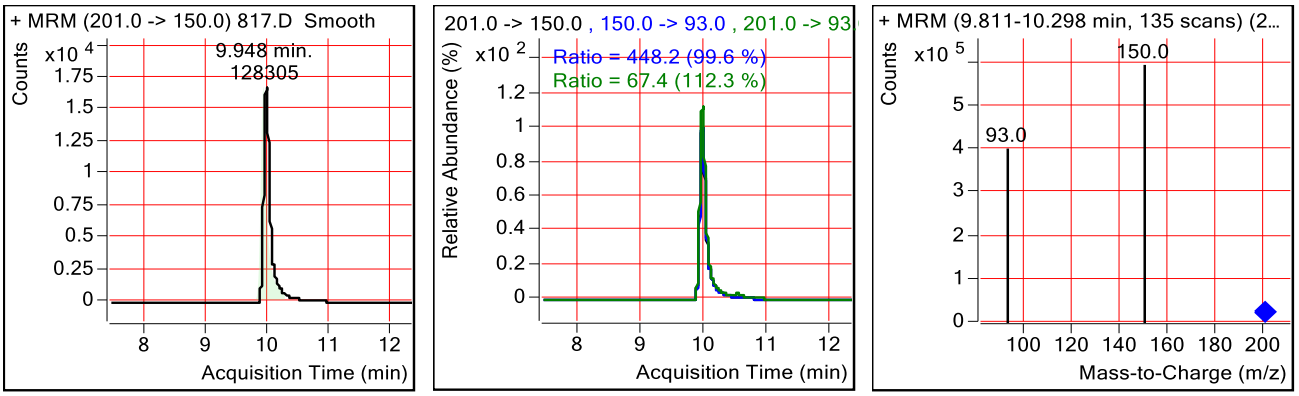


Quantitation Results

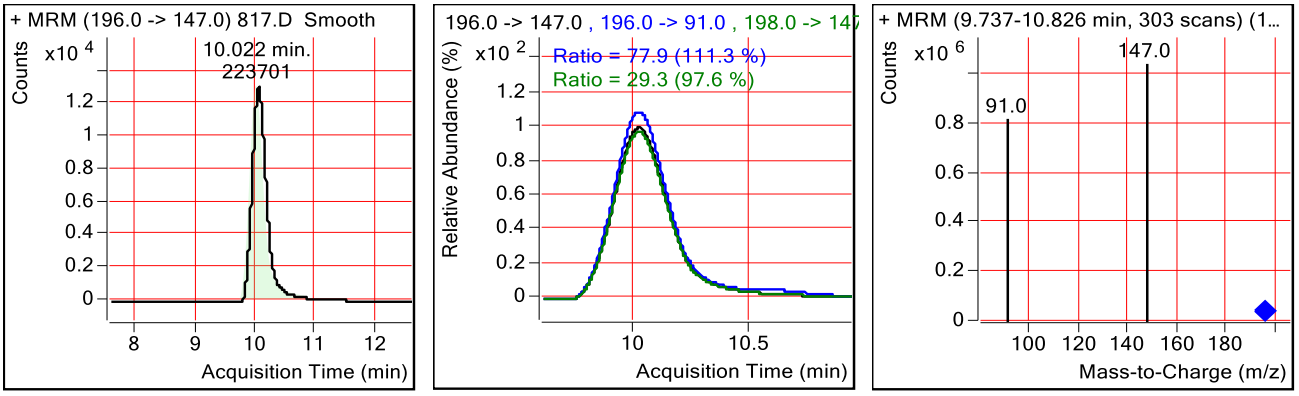
Compound	ISTD	RT	Response	ISTD Resp	RR	Conc
3MCPD	3MCPD-D5	10.022	278487	128305	2.1705	12.5380

Compound Graphics

ISTD Compound *3MCPD-D5*



Target Compound *3MCPD*



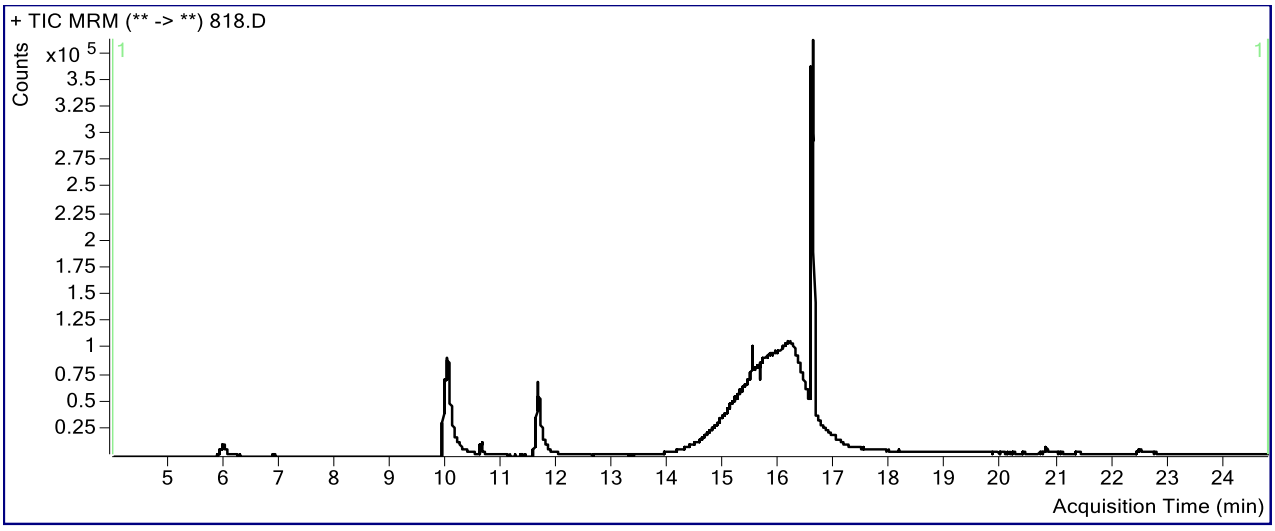
Cromatograma Nível Alto 5000 µg/kg rota B dia 5

Analysis Time	8/14/2018 8:16 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/14/2018 8:42 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/14/2018 8:16 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-08-05 12:34	**Data File**	818.D
Position	62	**Sample Name**	Ponto Alto 5000 ppb B-2 - dia 5
Dilution	1	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Acq Method File**	Cd 29c-13 - 2017
Sample Type	Sample	**Comment**	

Sample Chromatogram

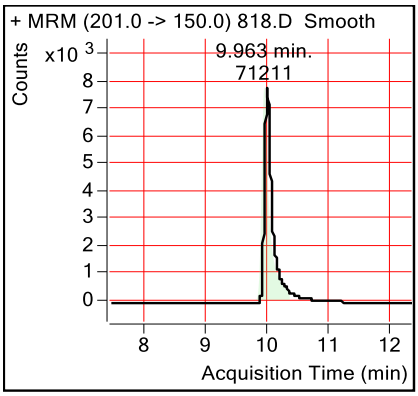


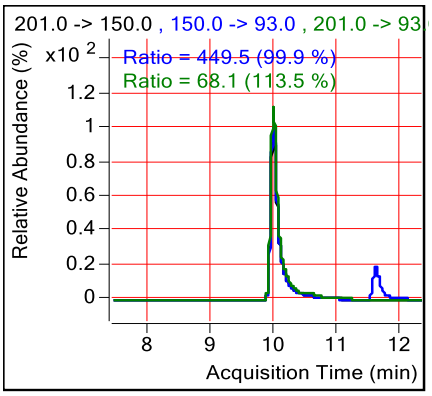
Quantitation Results

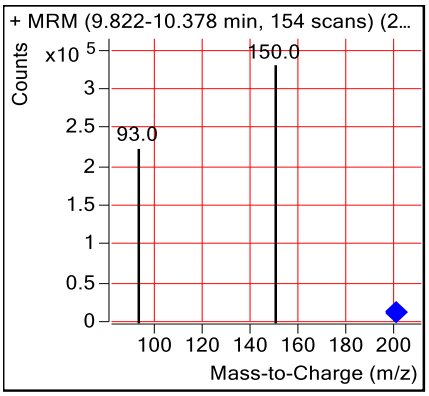
Compound	ISTD	RT	Response	ISTD Resp	RR	Conc
3MCPD	3MCPD-D5	10.047	80625	71211	1.1322	6.5380

Compound Graphics

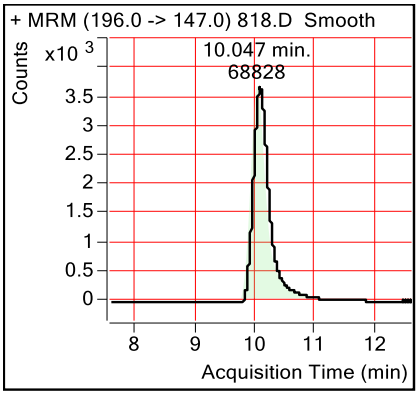
ISTD Compound *3MCPD-D5*

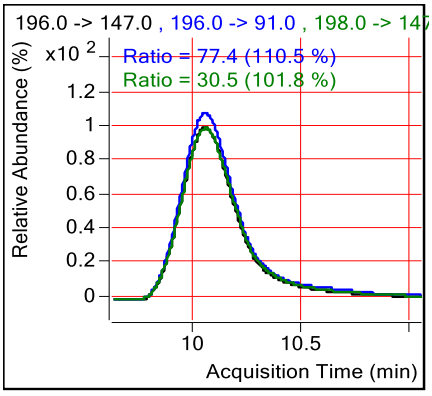


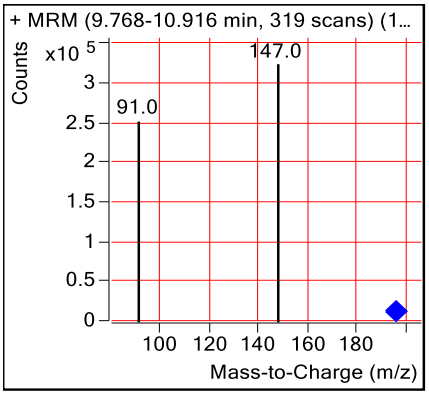




Target Compound *3MCPD*







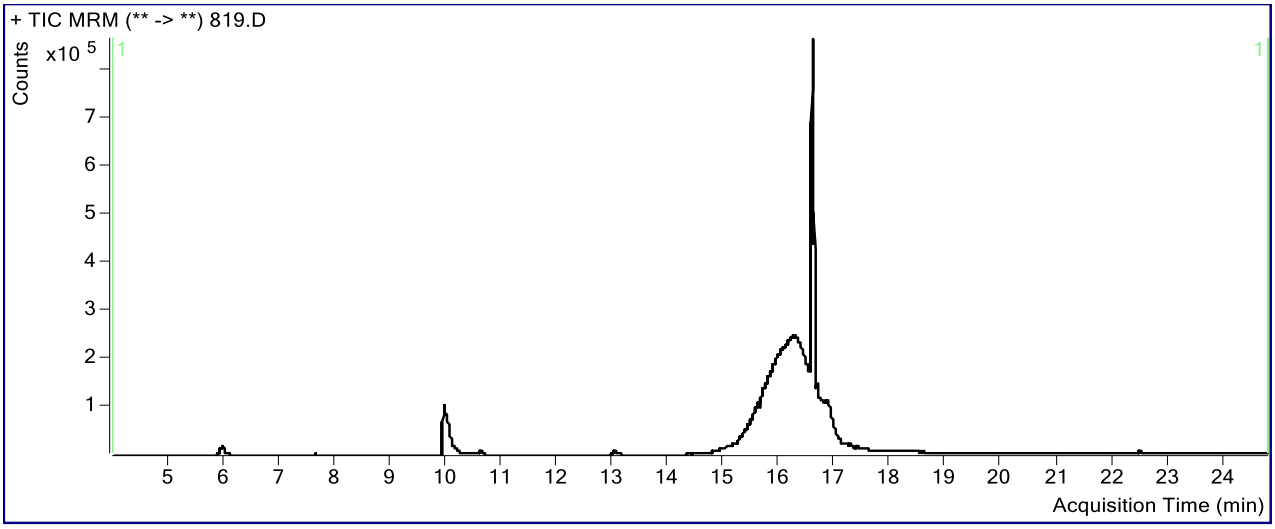
Cromatograma Amostra de Referência FAPAS ROTA A

Analysis Time	8/14/2018 8:16 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/14/2018 8:42 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/14/2018 8:16 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-08-05 16:48	**Data File**	819.D
Position	81	**Sample Name**	FAPAS 2649
Dilution	1	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Acq Method File**	Cd 29c-13 -
Sample Type	Sample	**Comment**	

Sample Chromatogram

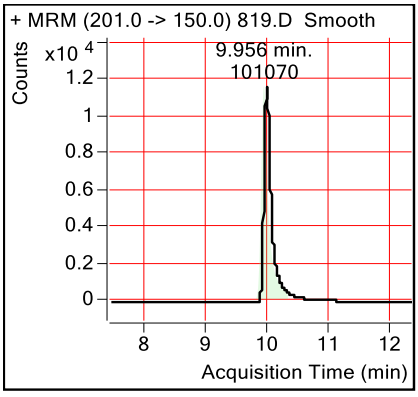


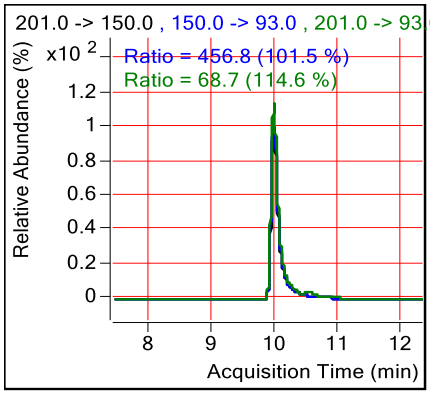
Quantitation Results

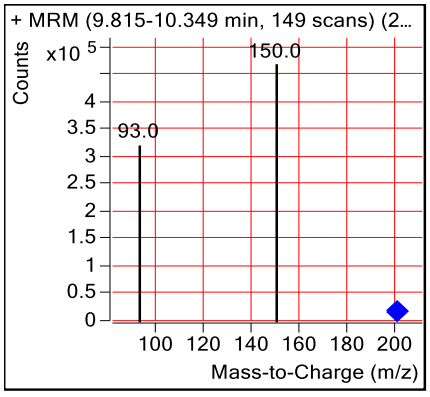
Compound	ISTD	RT	Resp
3MCPD	3MCPD-D5	10.040	

Compound Graphics

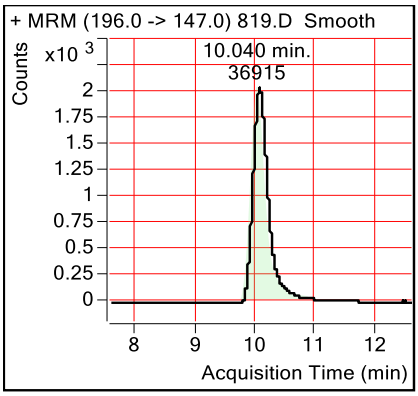
ISTD Compound *3MCPD-D5*

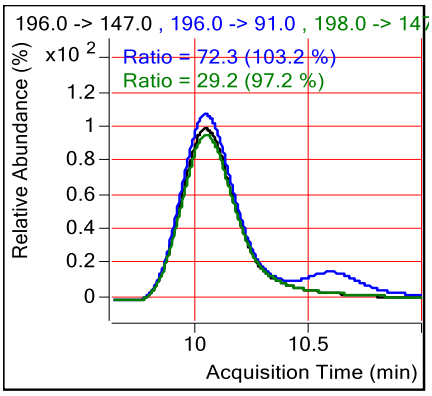


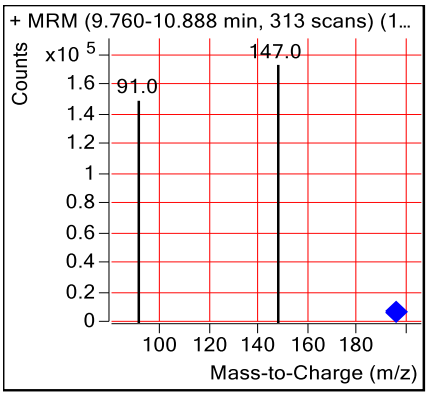




Target Compound *3MCPD*







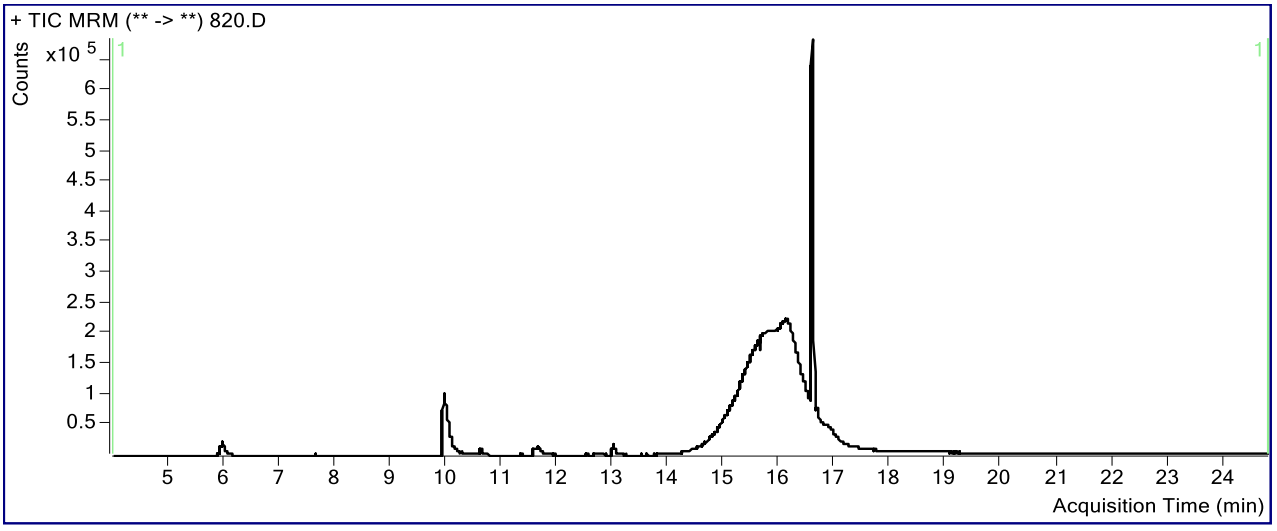
Cromatograma Amostra de Referência FAPAS ROTA B arquivo 820

Analysis Time	8/14/2018 8:16 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/14/2018 8:42 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/14/2018 8:16 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-08-05 17:24	**Data File**	820.D
Position	82	**Sample Name**	FAPAS 2649 Rota B-1 - dia 6
Dilution	1	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Acq Method File**	Cd 29c-13 - 2017
Sample Type	Sample	**Comment**	

Sample Chromatogram

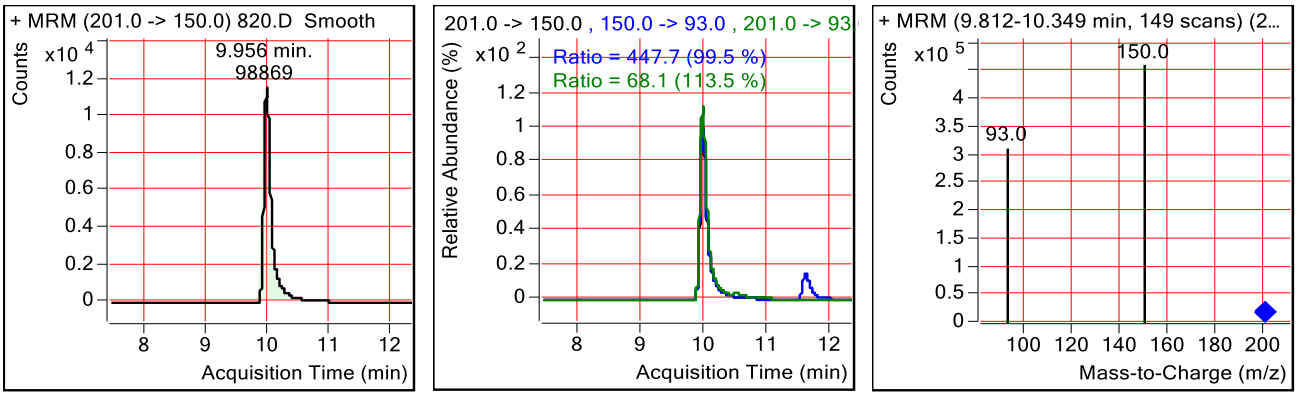


Quantitation Results

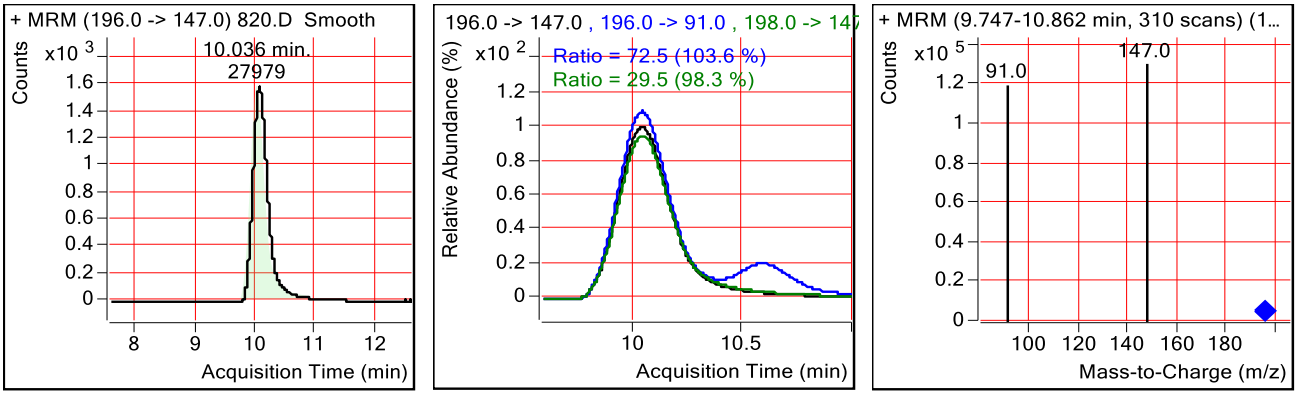
Compound	ISTD	RT	Response	ISTD Resp	RR	Conc
3MCPD	3MCPD-D5	10.036	27979	98869	0.2830	1.6307

Compound Graphics

ISTD Compound *3MCPD-D5*



Target Compound *3MCPD*



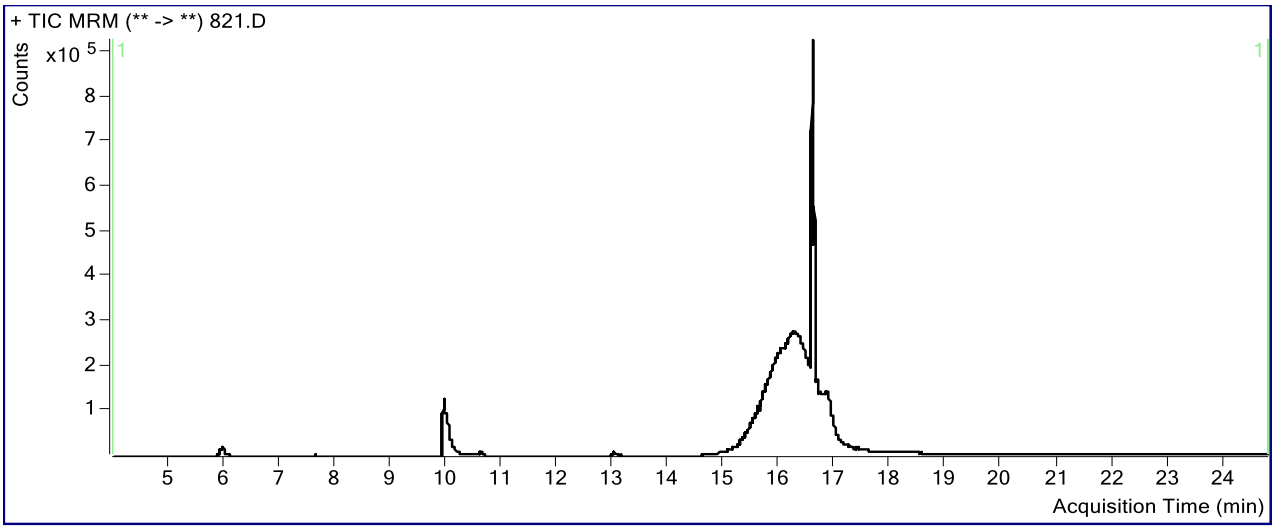
Cromatograma Amostra de Referência FAPAS ROTA A arquivo 821 dia 6

Analysis Time	8/14/2018 8:16 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/14/2018 8:42 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/14/2018 8:16 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-08-05 18:00	**Data File**	821.D
Position	83	**Sample Name**	FAPAS 2649 Rota A-2 - dia 6
Dilution	1	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Acq Method File**	Cd 29c-13 - 2017
Sample Type	Sample	**Comment**	

Sample Chromatogram

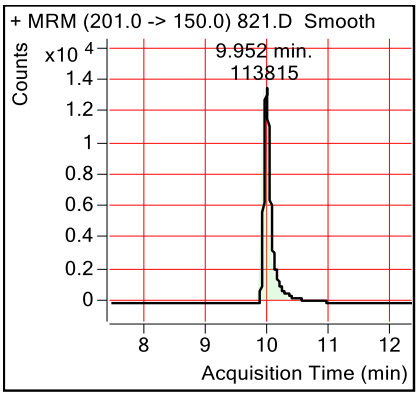


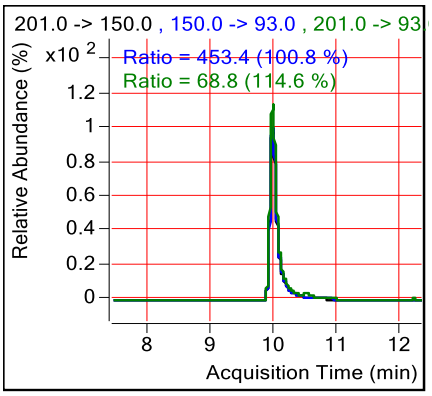
Quantitation Results

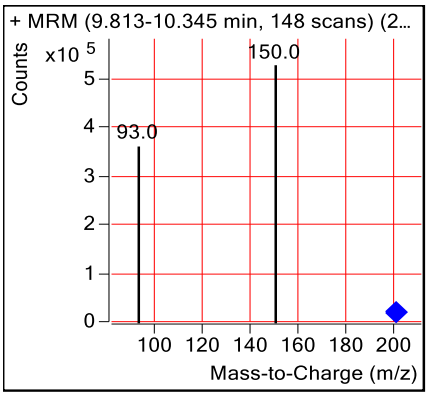
Compound	ISTD	RT	Response	ISTD Resp	RR	Conc
3MCPD	3MCPD-D5	10.037	40925	113815	0.3596	2.0733

Compound Graphics

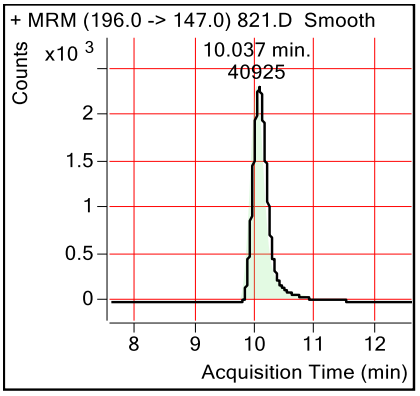
ISTD Compound *3MCPD-D5*

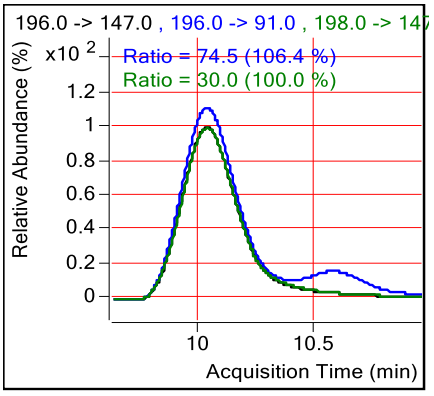


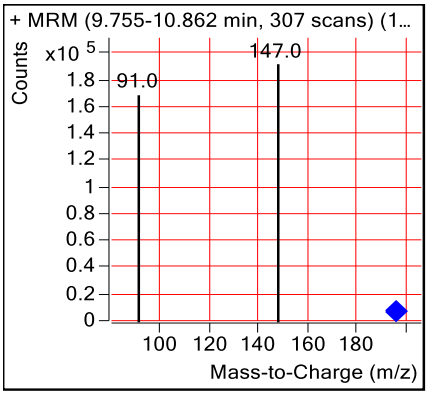




Target Compound *3MCPD*







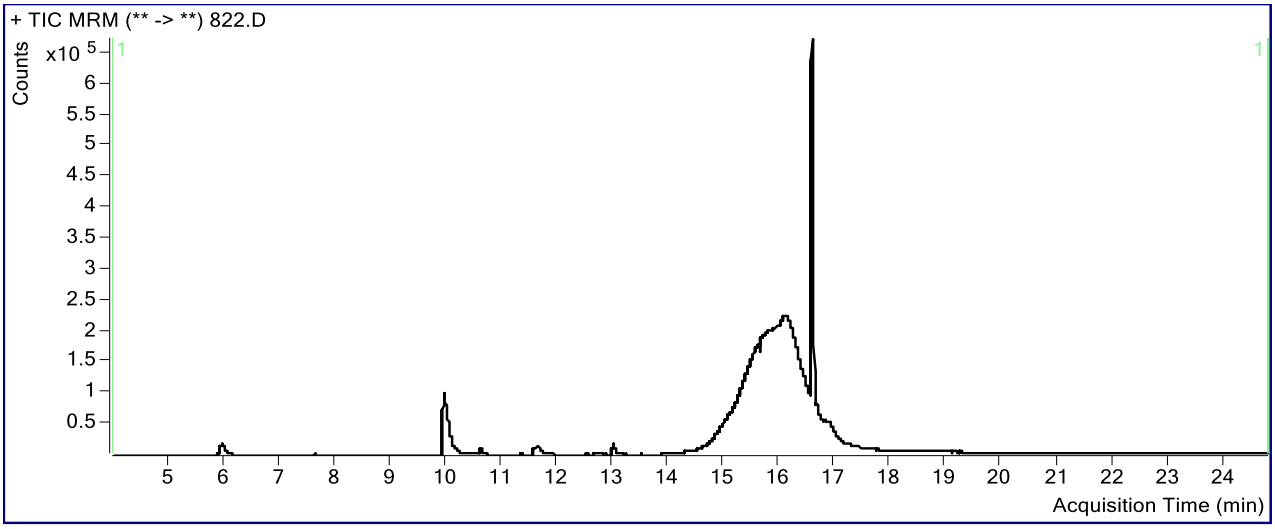
Cromatograma Amostra de Referência FAPAS ROTA B dia 06

Analysis Time	8/14/2018 8:16 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/14/2018 8:42 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/14/2018 8:16 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-08-05 18:37	**Data File**	822.D
Position	84	**Sample Name**	FAPAS 2649 Rota B-2 - dia 6
Dilution	1	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Acq Method File**	Cd 29c-13 - 2017
Sample Type	Sample	**Comment**	

Sample Chromatogram

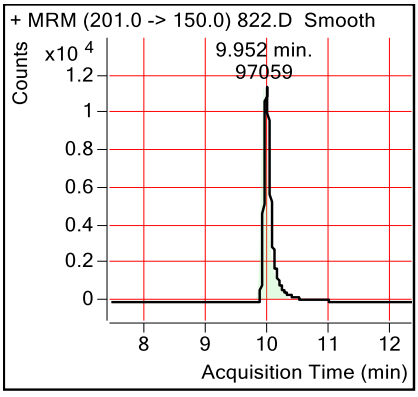


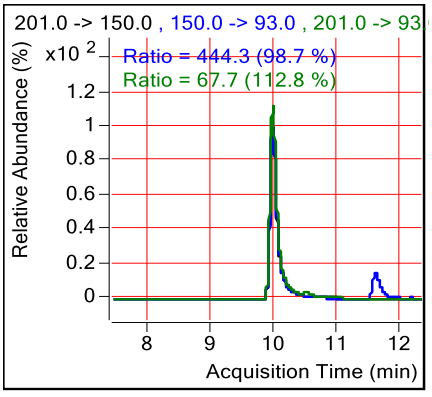
Quantitation Results

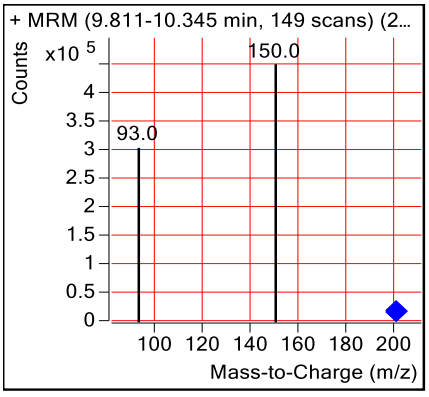
Compound	ISTD	RT	Response	ISTD Resp	RR	Conc	A
3MCPD	3MCPD-D5	10.037	27084	97059	0.2790	1.6079	

Compound Graphics

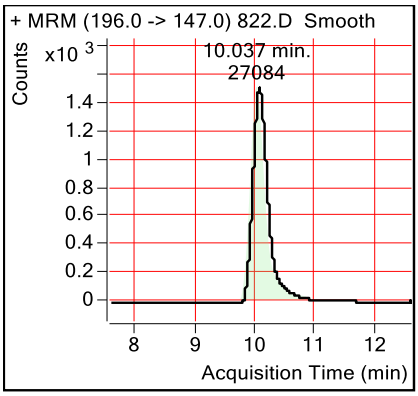
ISTD Compound *3MCPD-D5*

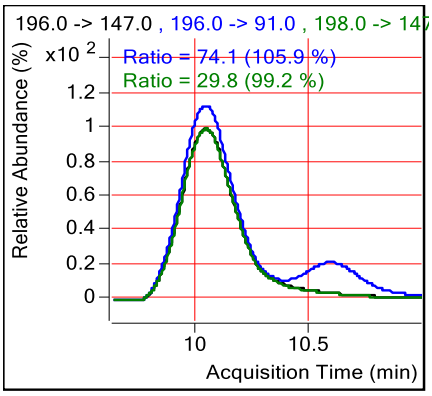


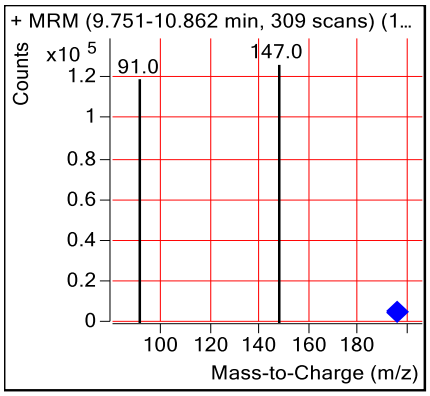




Target Compound *3MCPD*







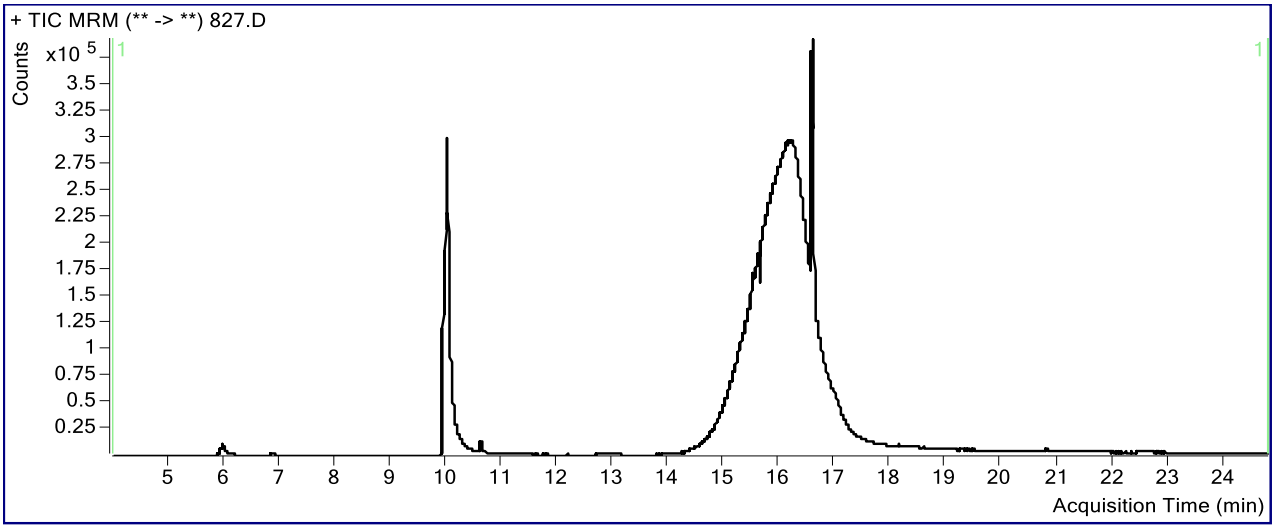
Cromatograma do Nível Alto 5000 µg/kg Dia 6 rota B arquivo 827

Analysis Time	8/14/2018 8:16 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/14/2018 8:42 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/14/2018 8:16 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-08-05 21:37	**Data File**	827.D
Position	89	**Sample Name**	Ponto Alto
Dilution	1	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Acq Method File**	Cd 29c-13
Sample Type	Sample	**Comment**	

Sample Chromatogram

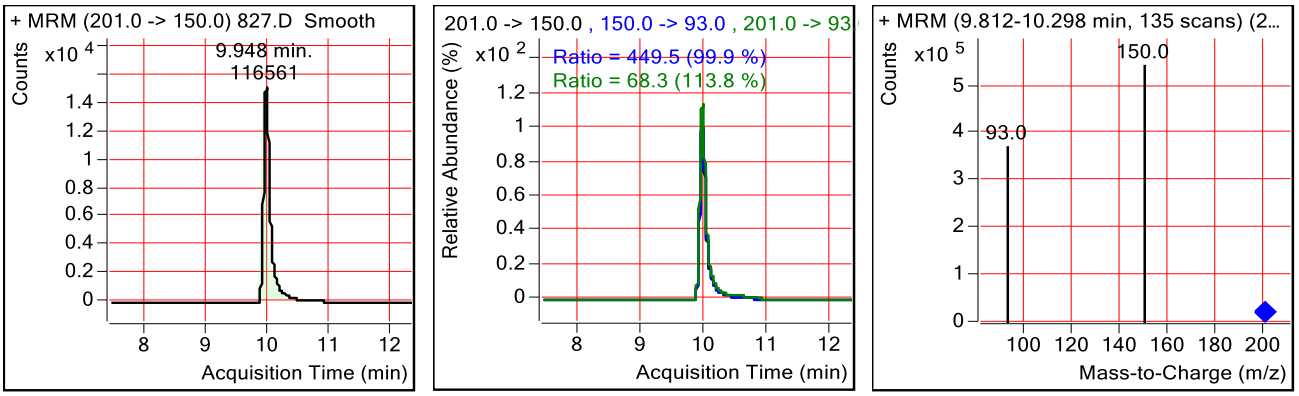


Quantitation Results

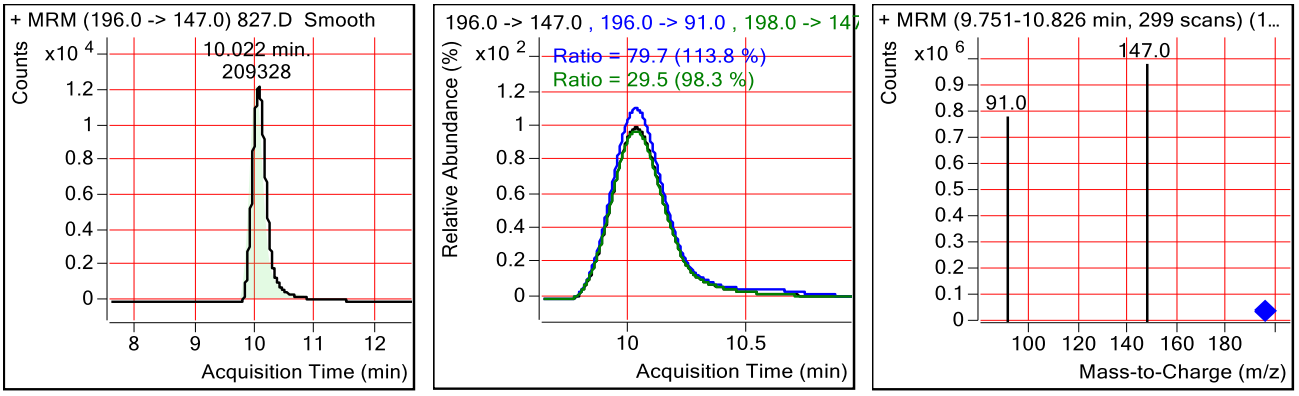
Compound	ISTD	RT	Re
3MCPD	3MCPD-D5	10.022	

Compound Graphics

ISTD Compound *3MCPD-D5*



Target Compound *3MCPD*



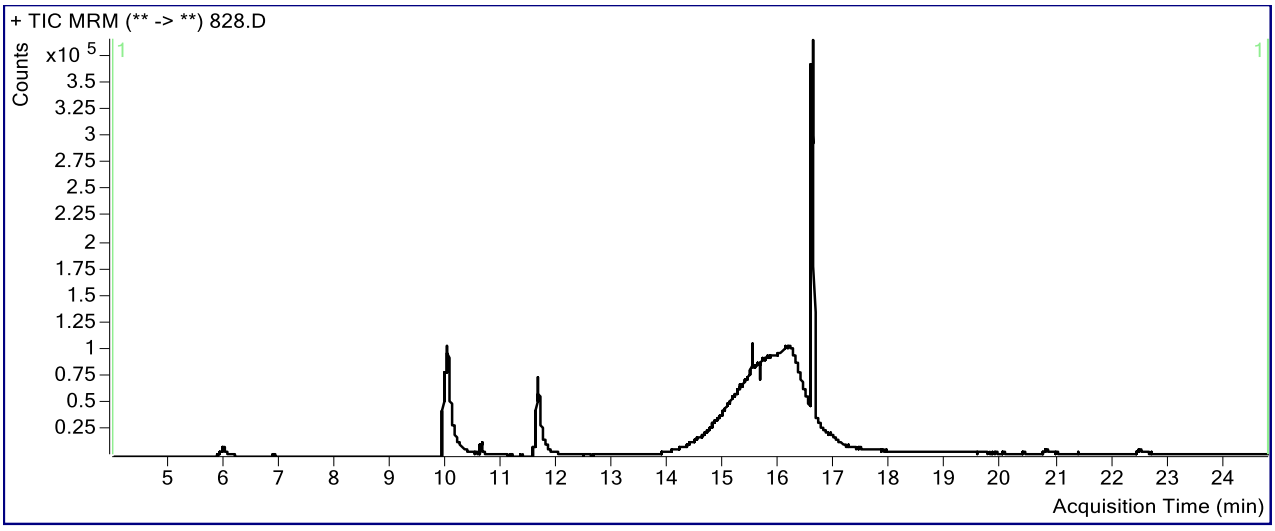
Cromatograma do Nível Alto 5000 µg/kg Dia 6 rota B arquivo 828

Analysis Time	8/14/2018 8:16 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/14/2018 8:42 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/14/2018 8:16 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-08-05 22:14	**Data File**	828.D
Position	90	**Sample Name**	Ponto Alto 5000 ppb B-1 - dia 6
Dilution	1	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Acq Method File**	Cd 29c-13 - 2017
Sample Type	Sample	**Comment**	

Sample Chromatogram

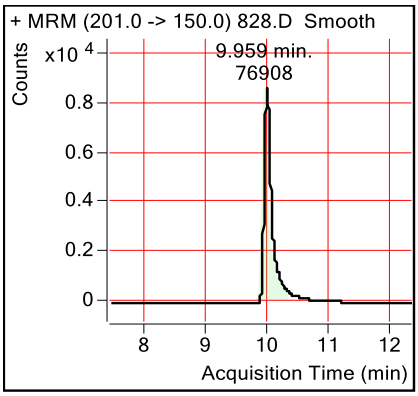


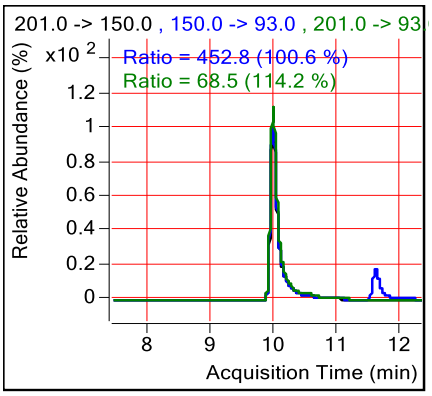
Quantitation Results

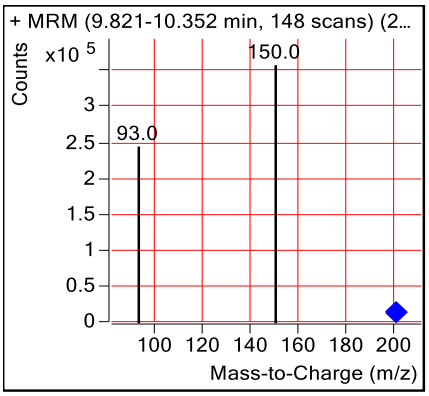
Compound	ISTD	RT	Response	ISTD Resp	RR	Conc
3MCPD	3MCPD-D5	10.040	79976	76908	1.0399	6.0050

Compound Graphics

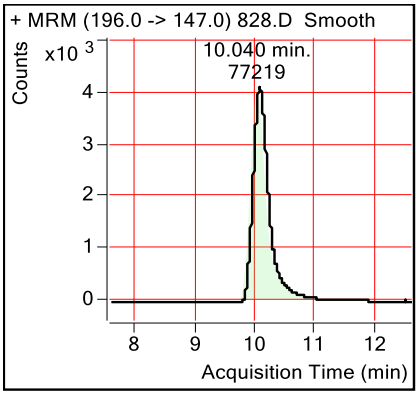
ISTD Compound *3MCPD-D5*

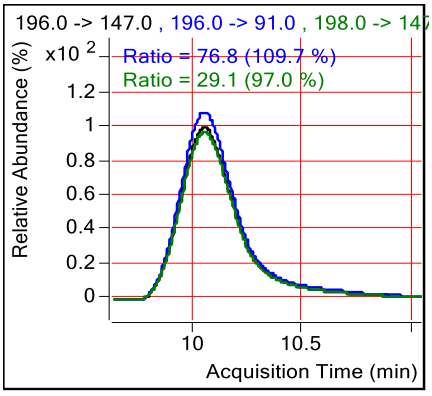


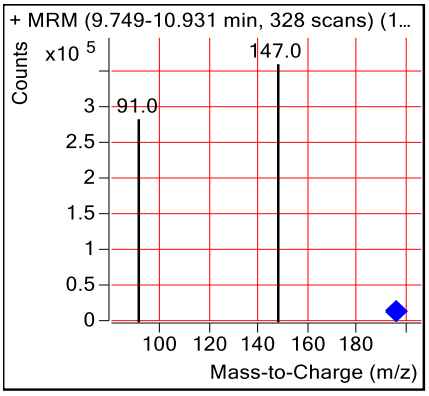




Target Compound *3MCPD*







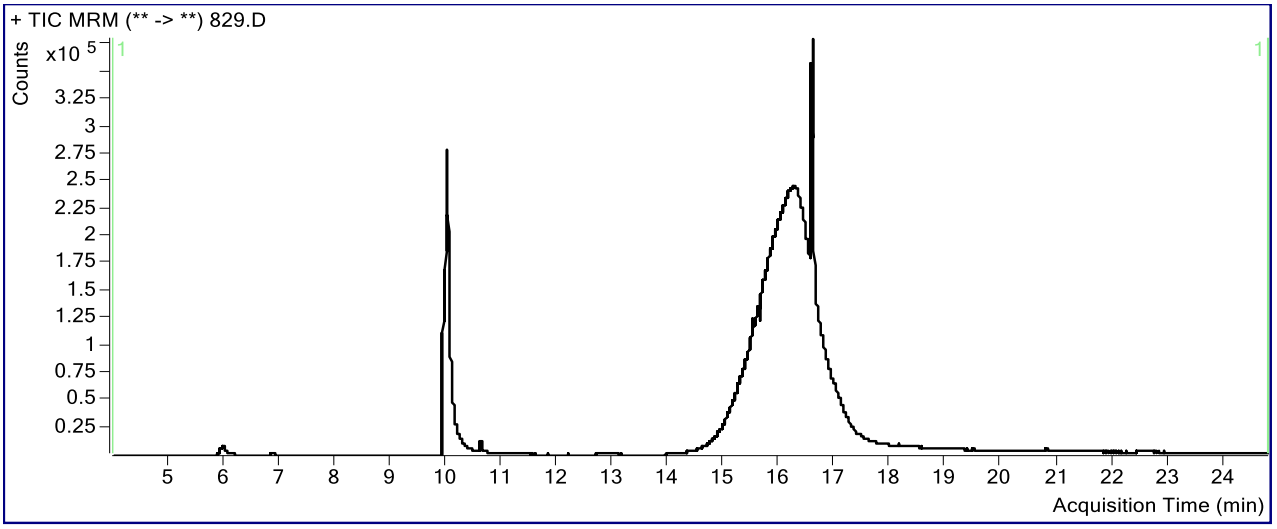
Cromatograma do Nível Alto 5000 µg/kg Dia 6 rota A arquivo 829

Analysis Time	8/14/2018 8:16 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/14/2018 8:42 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/14/2018 8:16 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-08-05 22:50	**Data File**	829.D
Position	91	**Sample Name**	Ponto Alto 5000 ppb A-2 - dia 6
Dilution	1	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Acq Method File**	Cd 29c-13 - 2017
Sample Type	Sample	**Comment**	

Sample Chromatogram

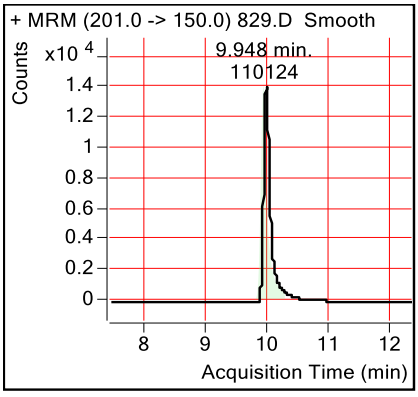


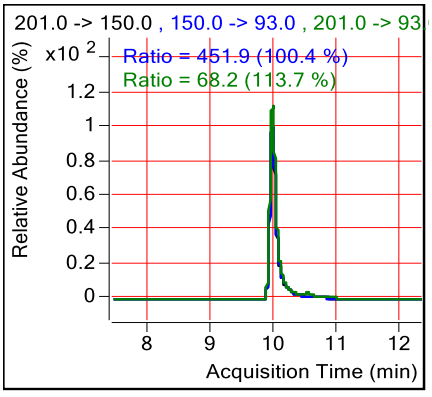
Quantitation Results

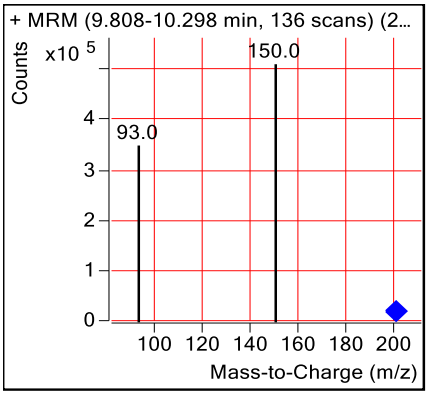
Compound	ISTD	RT	Response	ISTD Resp	RR	Conc
3MCPD	3MCPD-D5	10.022	236105	110124	2.1440	12.3850

Compound Graphics

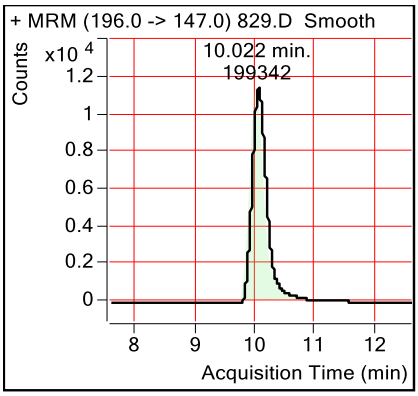
ISTD Compound *3MCPD-D5*

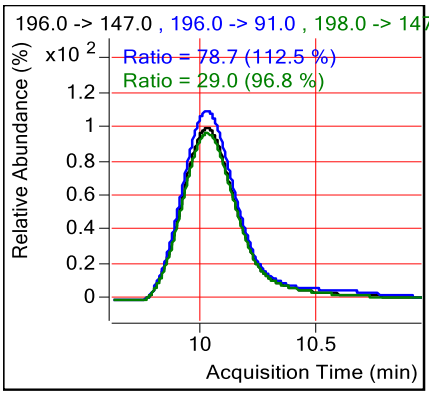


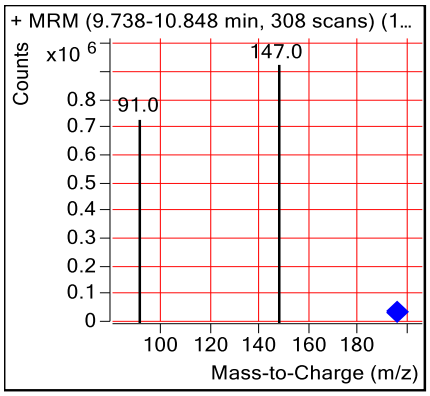




Target Compound *3MCPD*







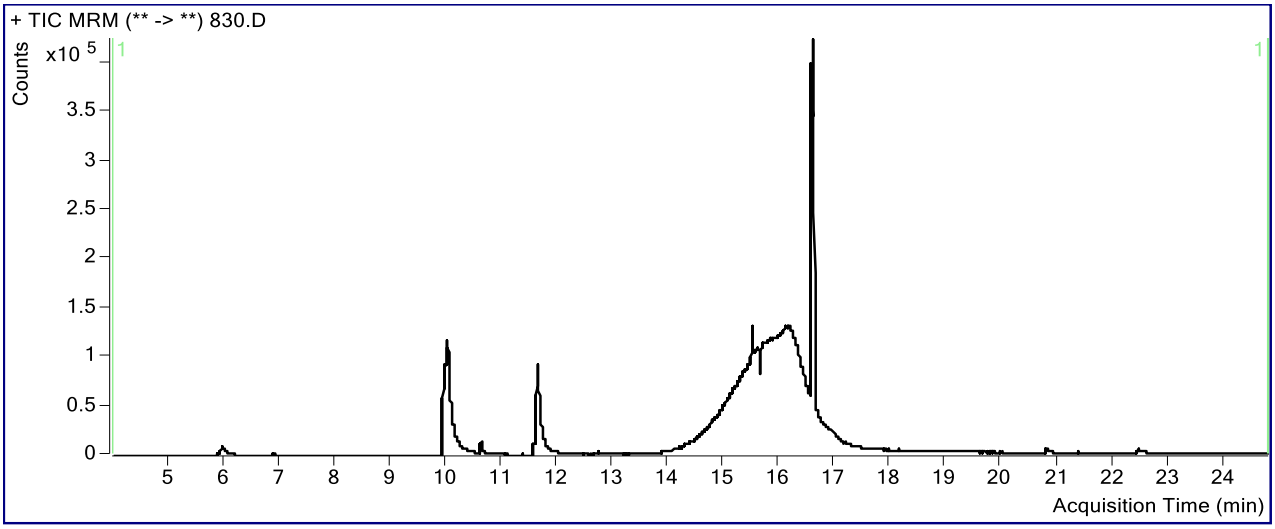
Cromatograma do Nível Alto 5000 µg/kg Dia 6 rota B arquivo 830

Analysis Time	8/14/2018 8:16 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/14/2018 8:42 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/14/2018 8:16 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-08-05 23:26	**Data File**	830.D
Position	92	**Sample Name**	Ponto Alto 5000 ppb B-2 - dia 6
Dilution	1	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Acq Method File**	Cd 29c-13 - 2017
Sample Type	Sample	**Comment**	

Sample Chromatogram

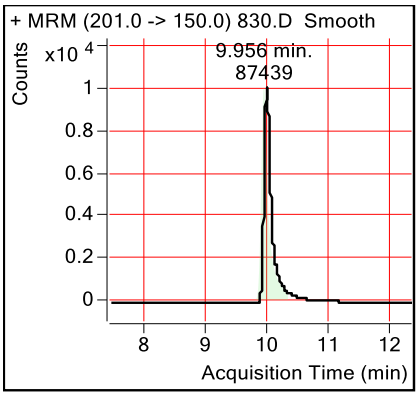


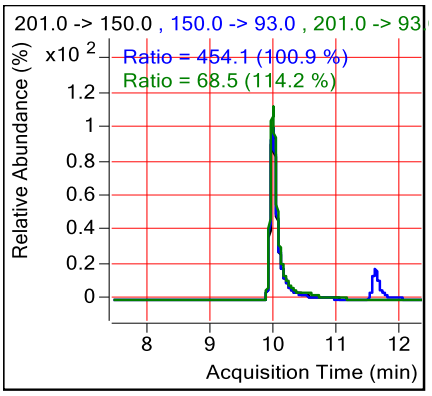
Quantitation Results

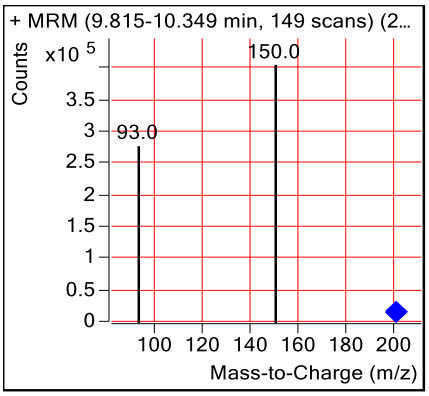
Compound	ISTD	RT	Response	ISTD Resp	RR	Conc
3MCPD	3MCPD-D5	10.037	96209	87439	1.1003	6.3540

Compound Graphics

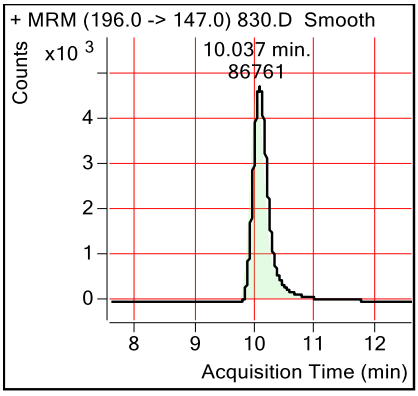
ISTD Compound *3MCPD-D5*

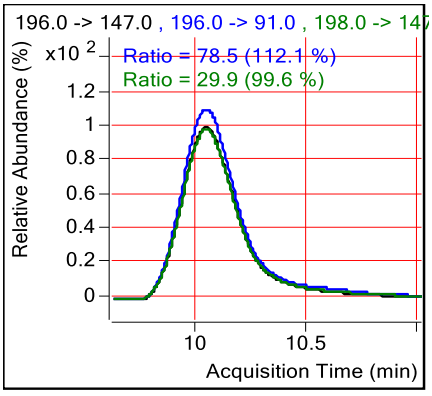


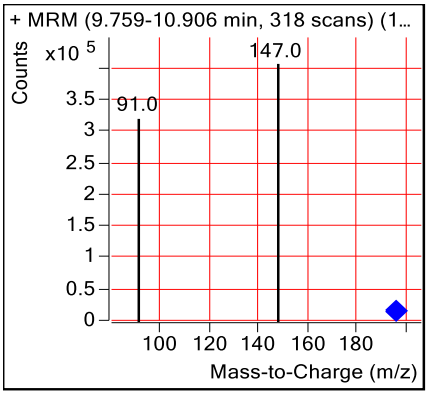




Target Compound *3MCPD*







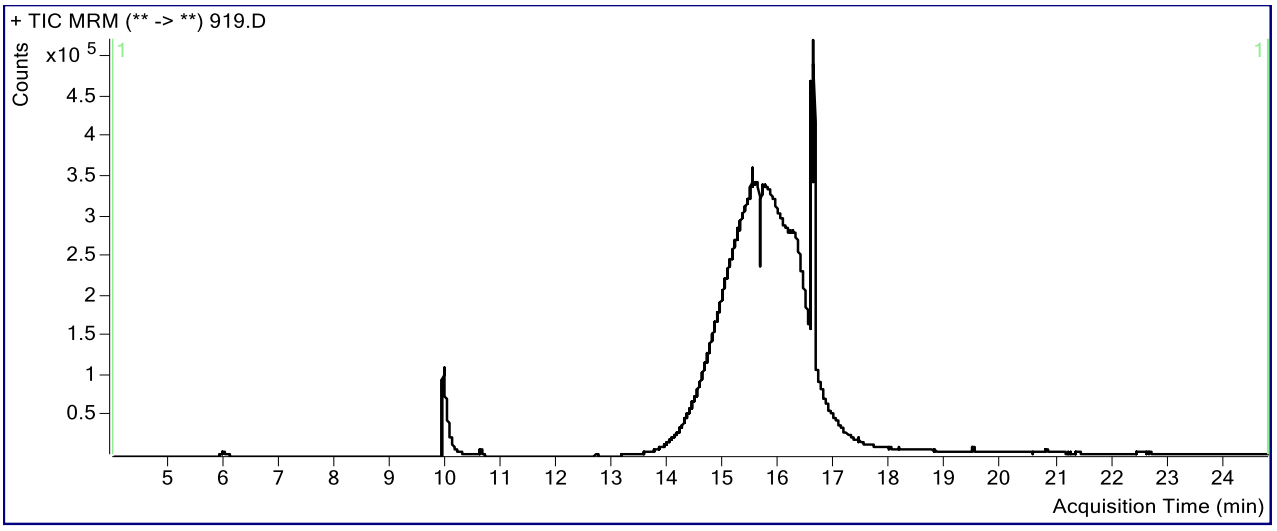
Cromatograma Azeite fortificado 50 µg/kg

Analysis Time	8/14/2018 8:16 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/14/2018 8:42 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/14/2018 8:16 AM	**Batch State**	Processe

Analysis Info

Acq Time	2018-08-09 08:12	**Data File**	919.D
Position	26	**Sample Name**	Azeite Co
Dilution	1	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Acq Method File**	Cd 29c-1
Sample Type	Sample	**Comment**	

Sample Chromatogram

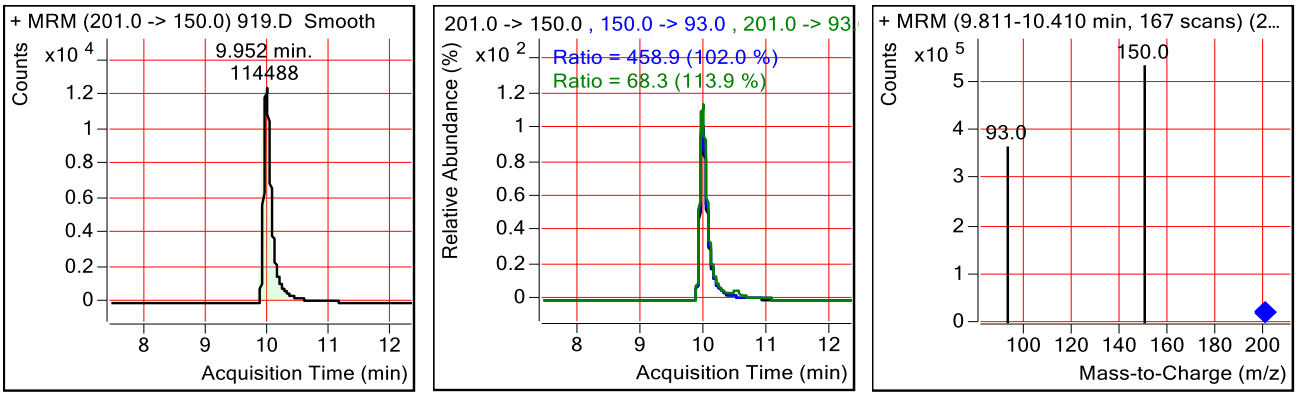


Quantitation Results

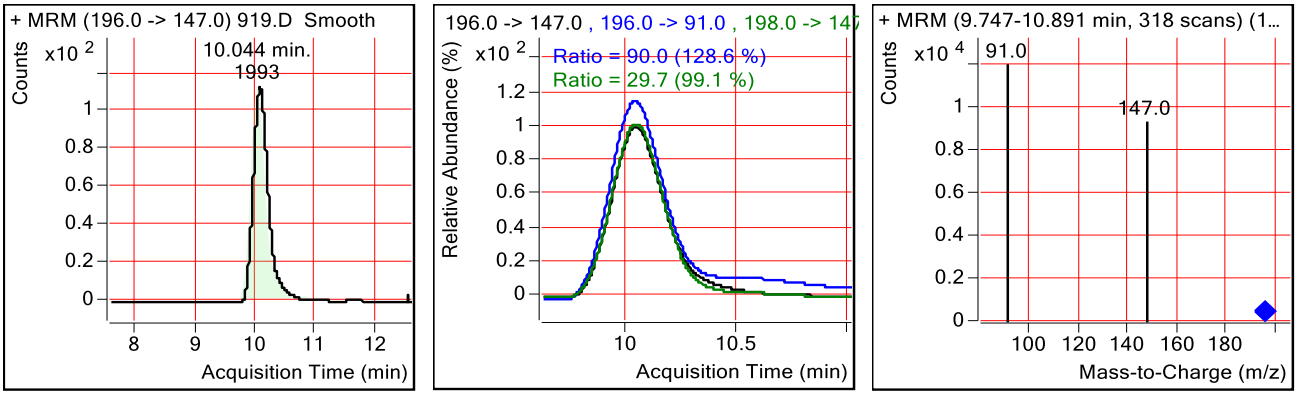
Compound	ISTD	RT	R
3MCPD	3MCPD-D5	10.044	

Compound Graphics

ISTD Compound *3MCPD-D5*



Target Compound *3MCPD*



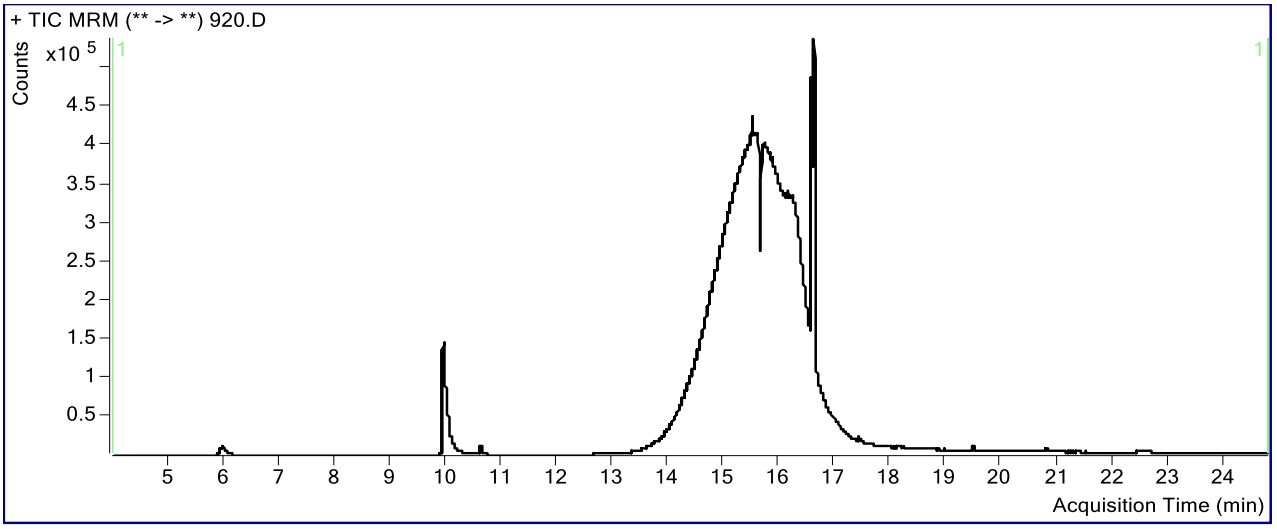
Cromatograma Azeite fortificado 50 µg/kg

Analysis Time	8/14/2018 8:16 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/14/2018 8:42 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/14/2018 8:16 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-08-09 08:48	**Data File**	920.D
Position	27	**Sample Name**	Azeite Contaminado 50 ppb 08/08/18 - ROTA A2
Dilution	1	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Acq Method File**	Cd 29c-13 - 2017
Sample Type	Sample	**Comment**	

Sample Chromatogram

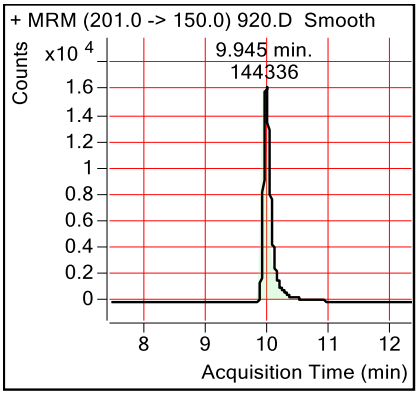


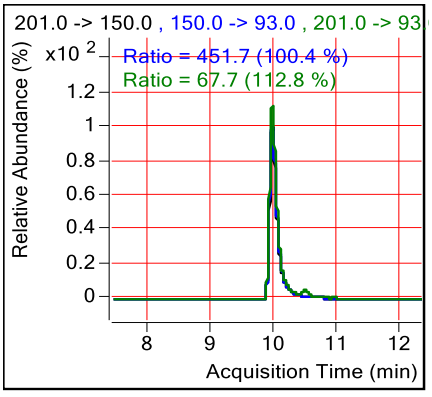
Quantitation Results

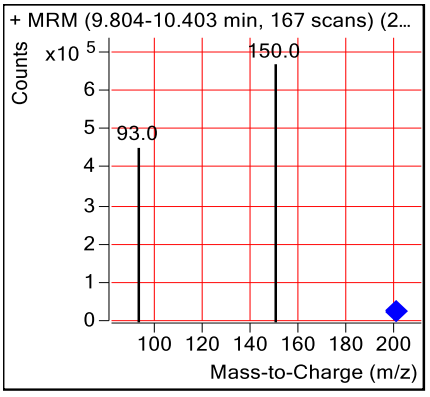
Compound	ISTD	RT	Response	ISTD Resp	RR	Conc
3MCPD	3MCPD-D5	10.033	2454	144336	0.0170	0.0935

Compound Graphics

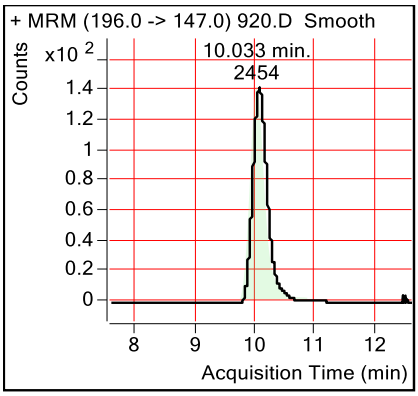
ISTD Compound *3MCPD-D5*

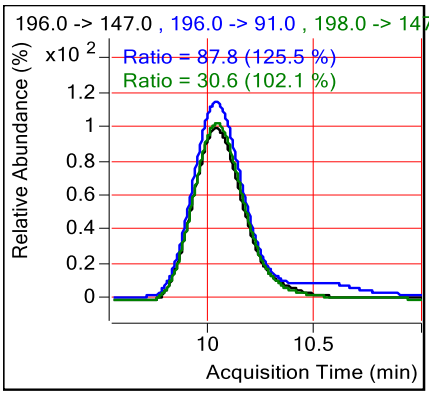


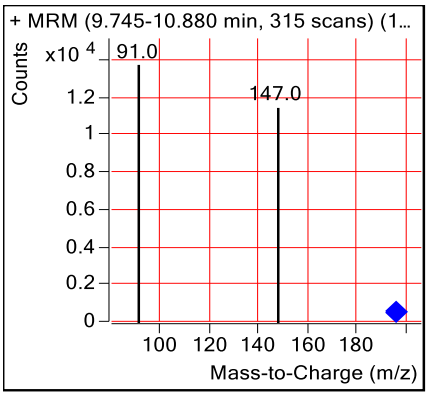




Target Compound *3MCPD*







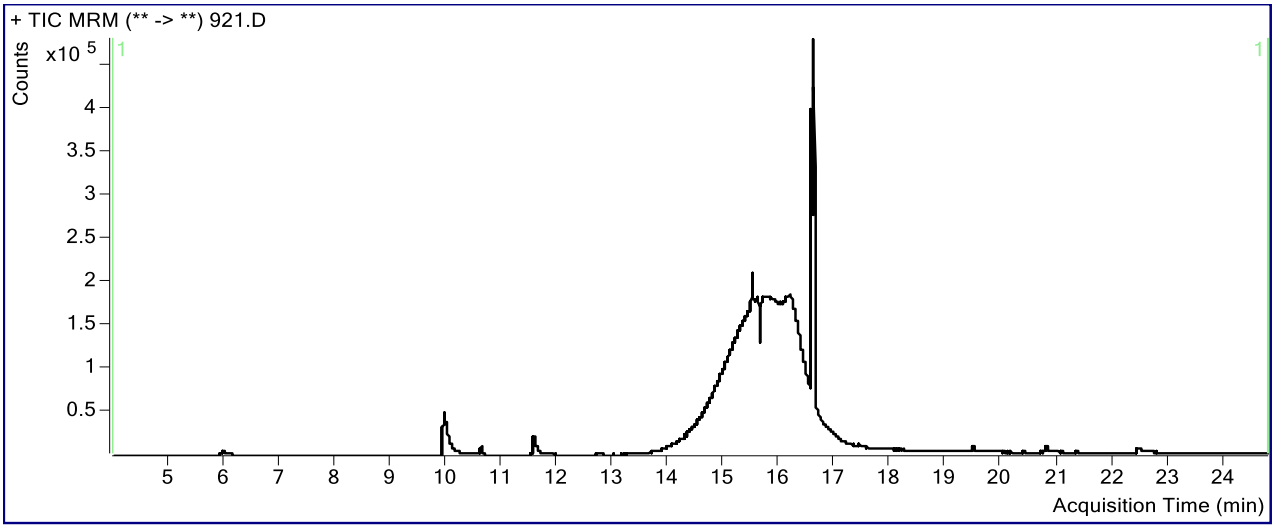
Cromatograma Azeite fortificado 50 µg/kg

Analysis Time	8/14/2018 8:16 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/14/2018 8:42 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/14/2018 8:16 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-08-09 09:24	**Data File**	921.D
Position	28	**Sample Name**	Azeite Contaminado 50 ppb 08/08/18 - ROTA B1
Dilution	1	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Acq Method File**	Cd 29c-13 - 2017
Sample Type	Sample	**Comment**	

Sample Chromatogram

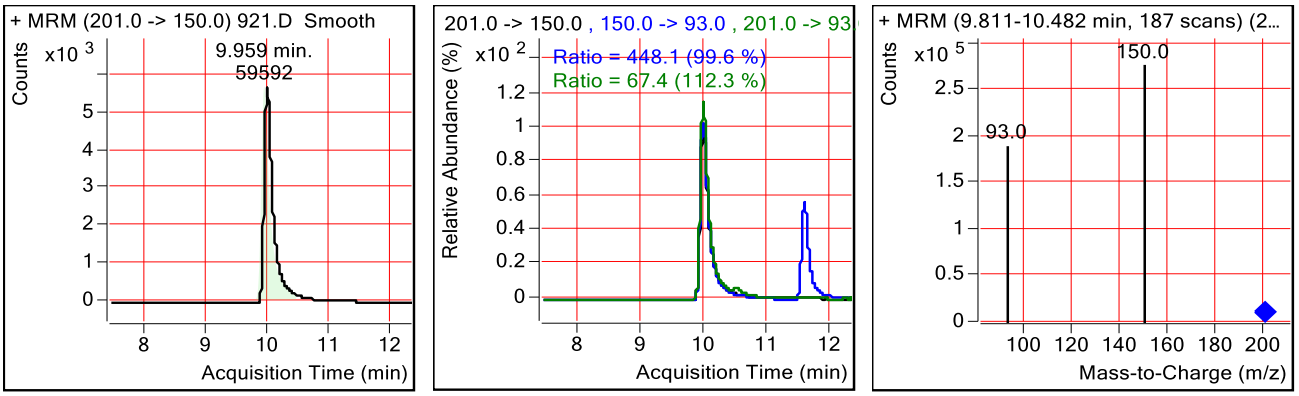


Quantitation Results

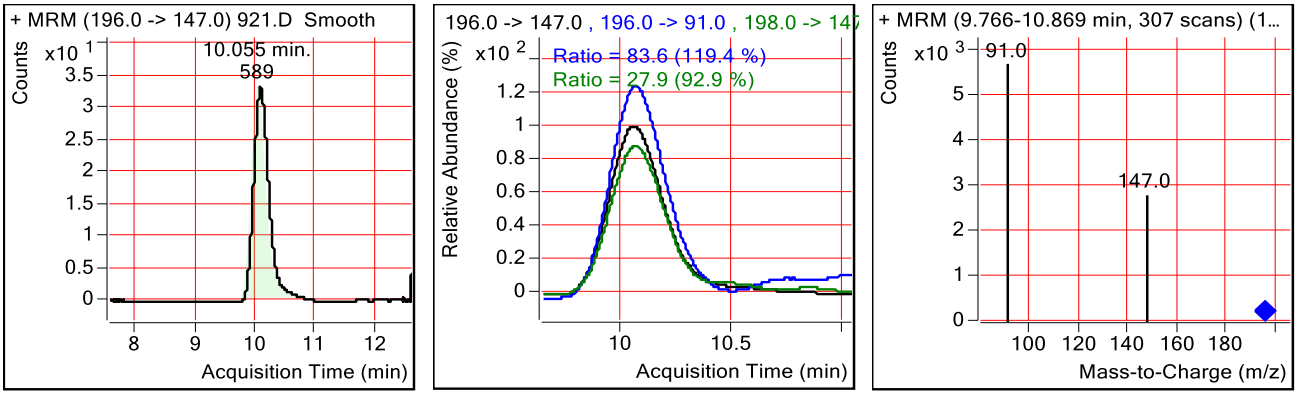
Compound	ISTD	RT	Response	ISTD Resp	RR	Conc
3MCPD	3MCPD-D5	10.055	589	59592	0.0099	0.0523

Compound Graphics

ISTD Compound *3MCPD-D5*



Target Compound *3MCPD*



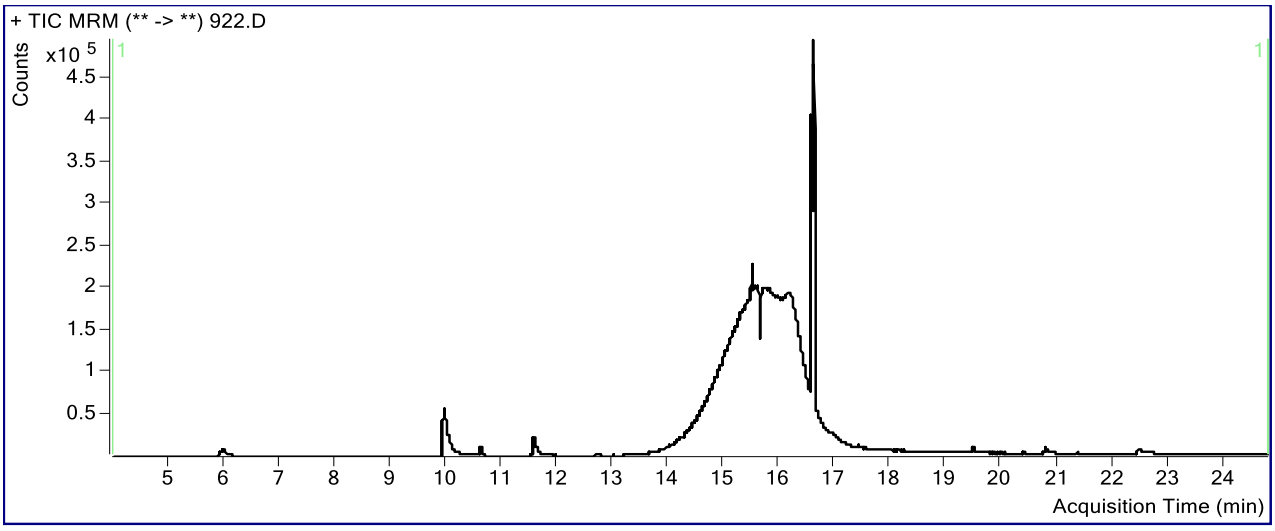
Cromatograma Azeite fortificado 50 µg/kg

Analysis Time	8/14/2018 8:16 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/14/2018 8:42 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/14/2018 8:16 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-08-09 10:00	**Data File**	922.D
Position	29	**Sample Name**	Azeite Contaminado 50 ppb 08/08/18 - ROTA B2
Dilution	1	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Acq Method File**	Cd 29c-13 - 2017
Sample Type	Sample	**Comment**	

Sample Chromatogram

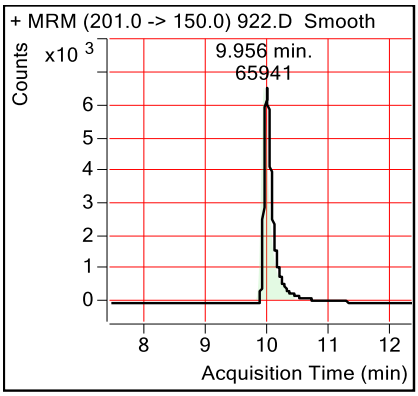


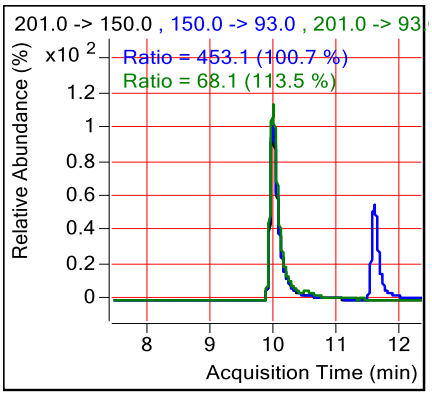
Quantitation Results

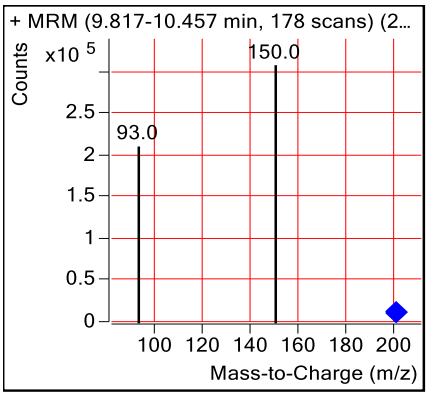
Compound	ISTD	RT	Response	ISTD Resp	RR	Conc	A
3MCPD	3MCPD-D5	10.047	648	65941	0.0098	0.0520	

Compound Graphics

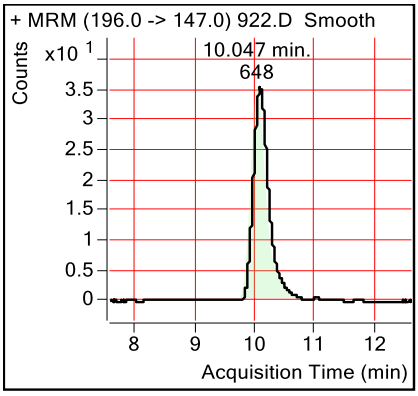
ISTD Compound *3MCPD-D5*

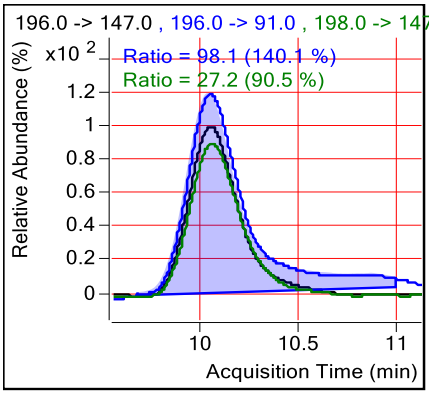


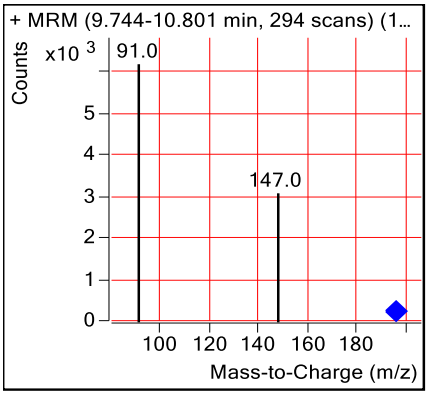




Target Compound *3MCPD*







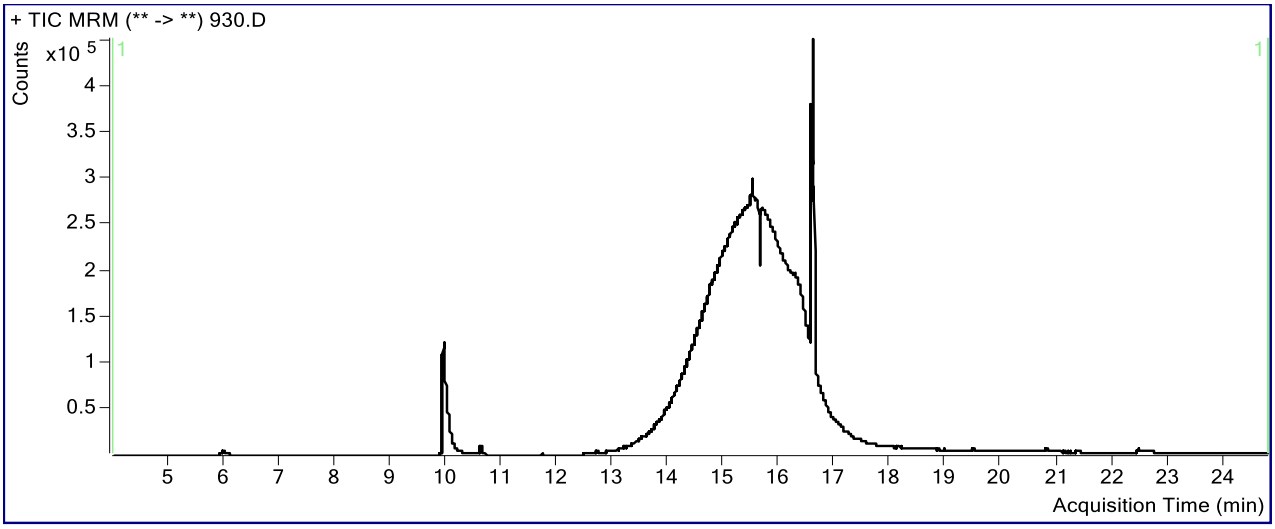
Cromatograma Azeite fortificado 50 µg/kg

Analysis Time	8/14/2018 8:16 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/14/2018 8:42 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/14/2018 8:16 AM	**Batch State**	Proces

Analysis Info

Acq Time	2018-08-09 19:12	**Data File**	930.D
Position	4	**Sample Name**	Azeite C
Dilution	1	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Acq Method File**	Cd 29c-
Sample Type	Sample	**Comment**	

Sample Chromatogram

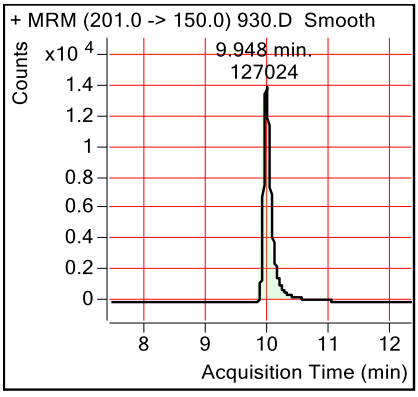


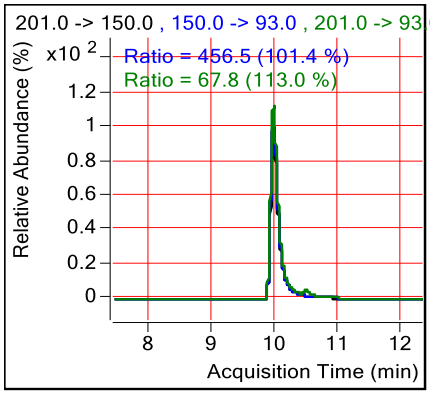
Quantitation Results

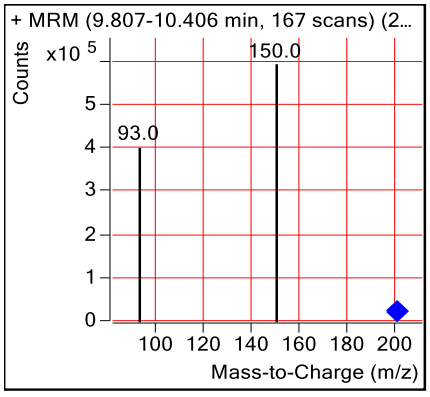
Compound	ISTD	RT
3MCPD	3MCPD-D5	10.036

Compound Graphics

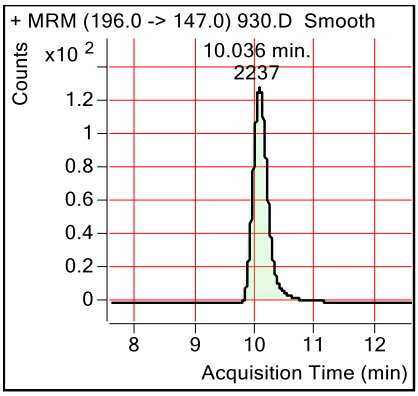
ISTD Compound *3MCPD-D5*

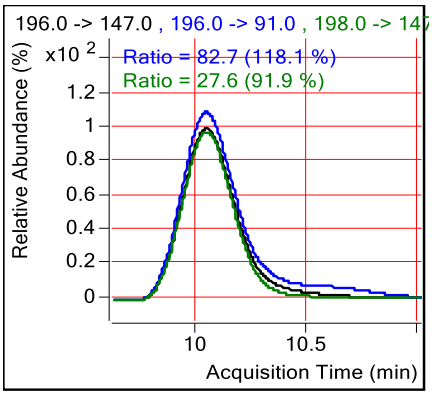


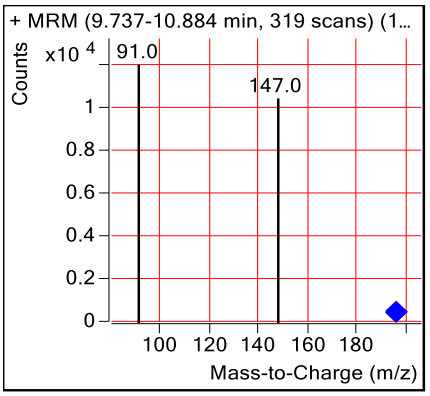




Target Compound *3MCPD*







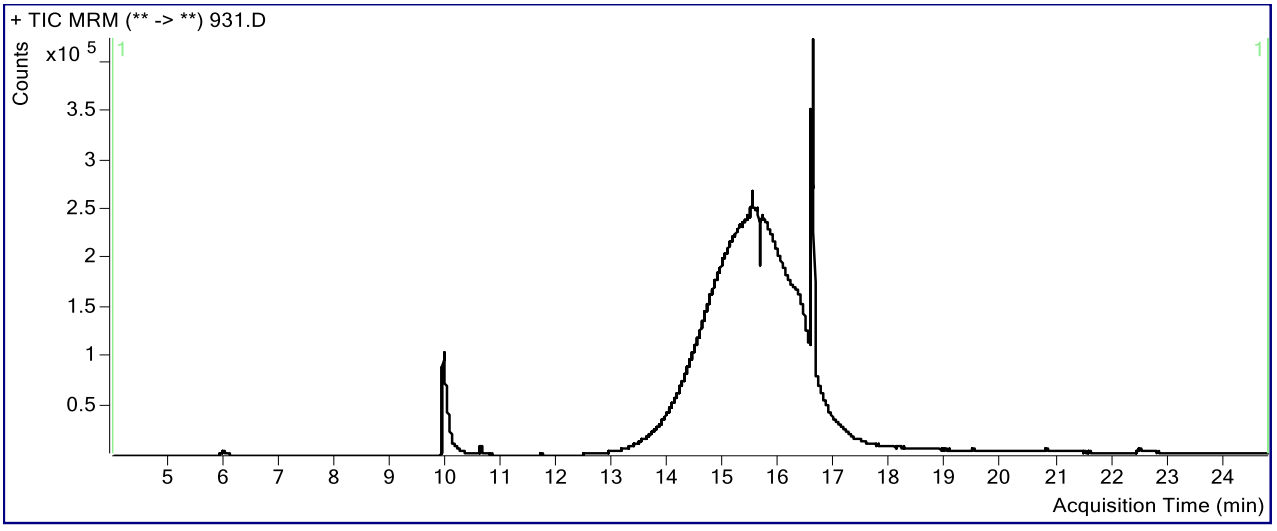
Cromatograma Azeite fortificado 50 µg/kg

Analysis Time	8/14/2018 8:16 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/14/2018 8:42 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/14/2018 8:16 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-08-09 19:48	**Data File**	931.D
Position	5	**Sample Name**	Azeite Contaminado 50 ppb 09/08/18 - ROTA A2
Dilution	1	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Acq Method File**	Cd 29c-13 - 2017
Sample Type	Sample	**Comment**	

Sample Chromatogram

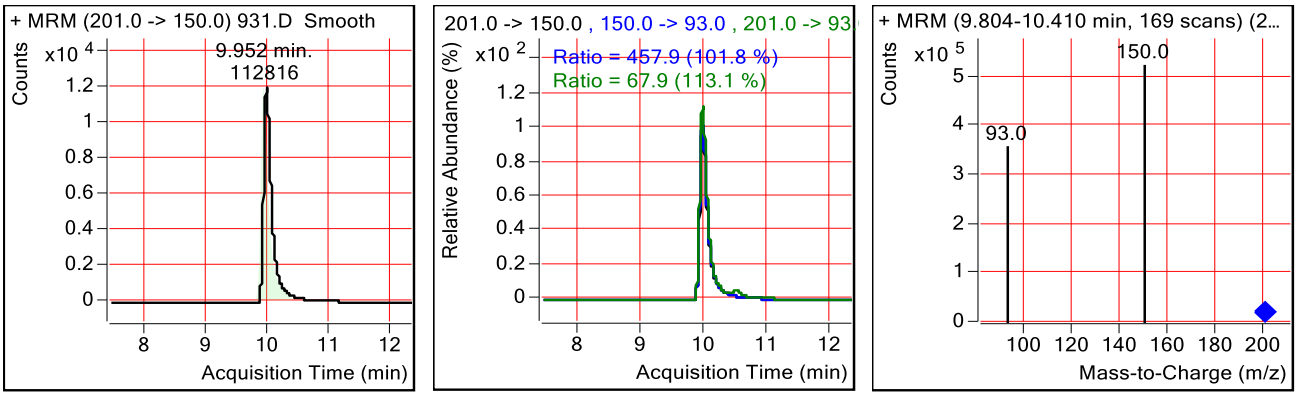


Quantitation Results

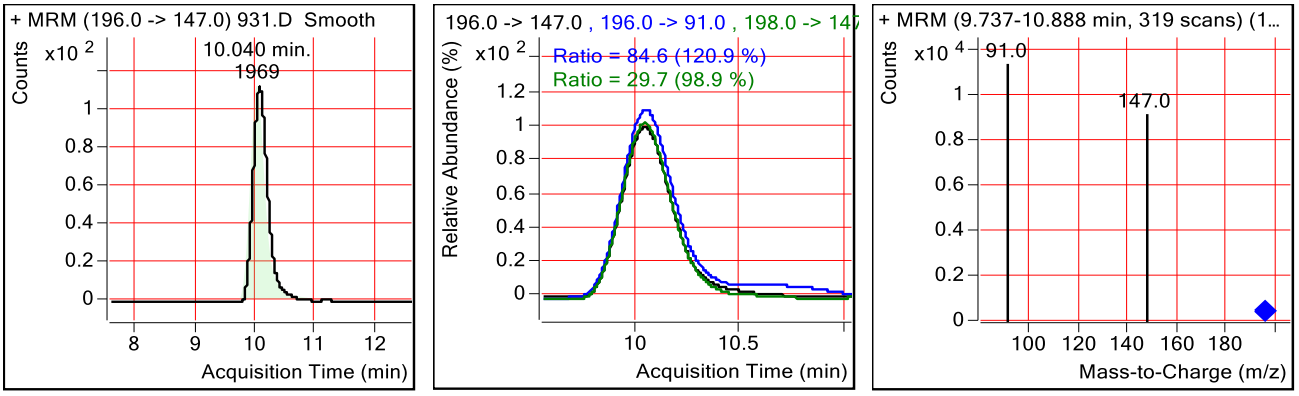
Compound	ISTD	RT	Response	ISTD Resp	RR	Conc
3MCPD	3MCPD-D5	10.040	1969	112816	0.0175	0.0961

Compound Graphics

ISTD Compound *3MCPD-D5*



Target Compound *3MCPD*



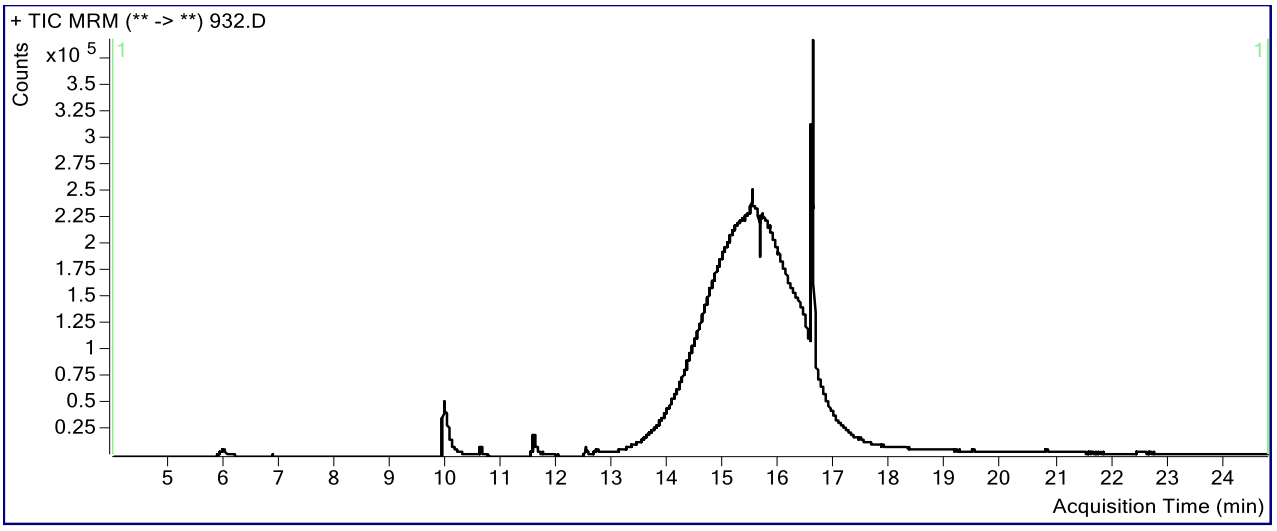
Cromatograma Azeite fortificado 50 µg/kg

Analysis Time	8/14/2018 8:16 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/14/2018 8:42 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/14/2018 8:16 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-08-09 20:24	**Data File**	932.D
Position	6	**Sample Name**	Azeite Contaminado 50 ppb 09/08/18 - ROTA B1
Dilution	1	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Acq Method File**	Cd 29c-13 - 2017
Sample Type	Sample	**Comment**	

Sample Chromatogram

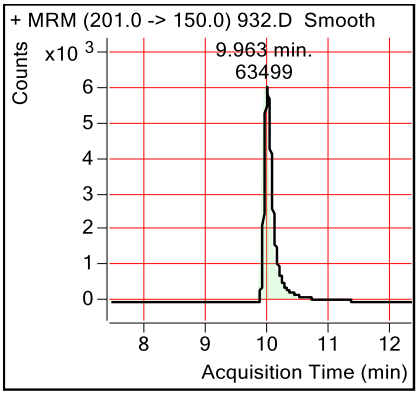


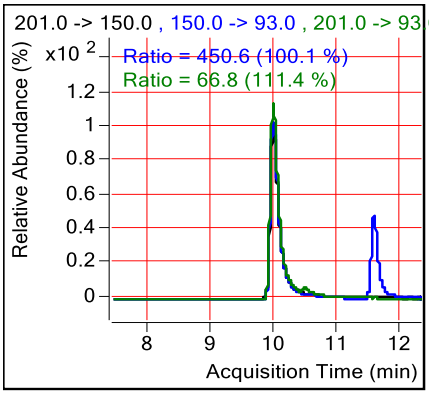
Quantitation Results

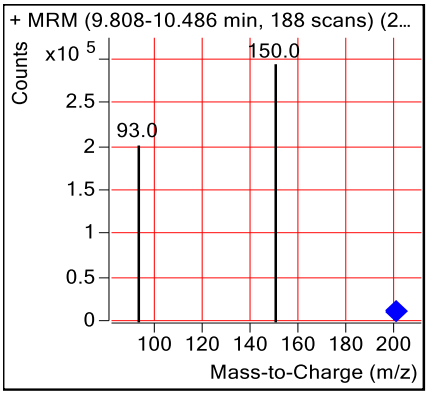
Compound	ISTD	RT	Response	ISTD Resp	RR	Conc
3MCPD	3MCPD-D5	10.051	606	63499	0.0096	0.0504

Compound Graphics

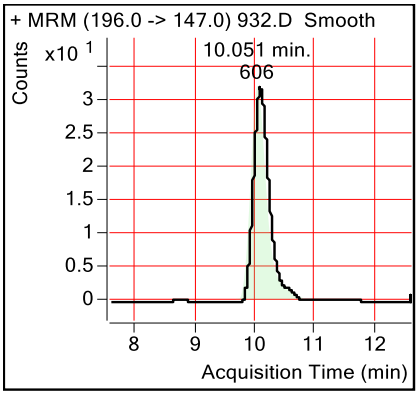
ISTD Compound *3MCPD-D5*

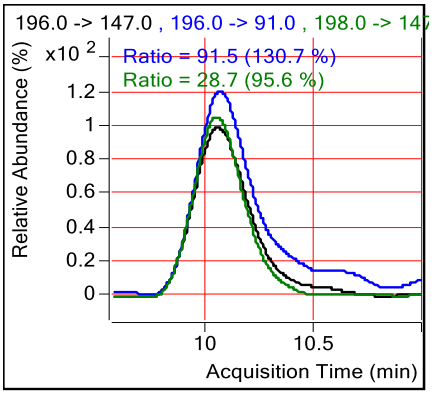


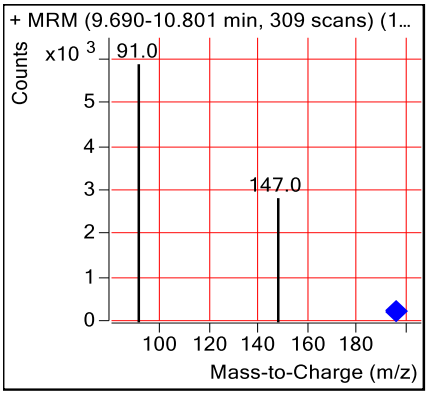




Target Compound *3MCPD*







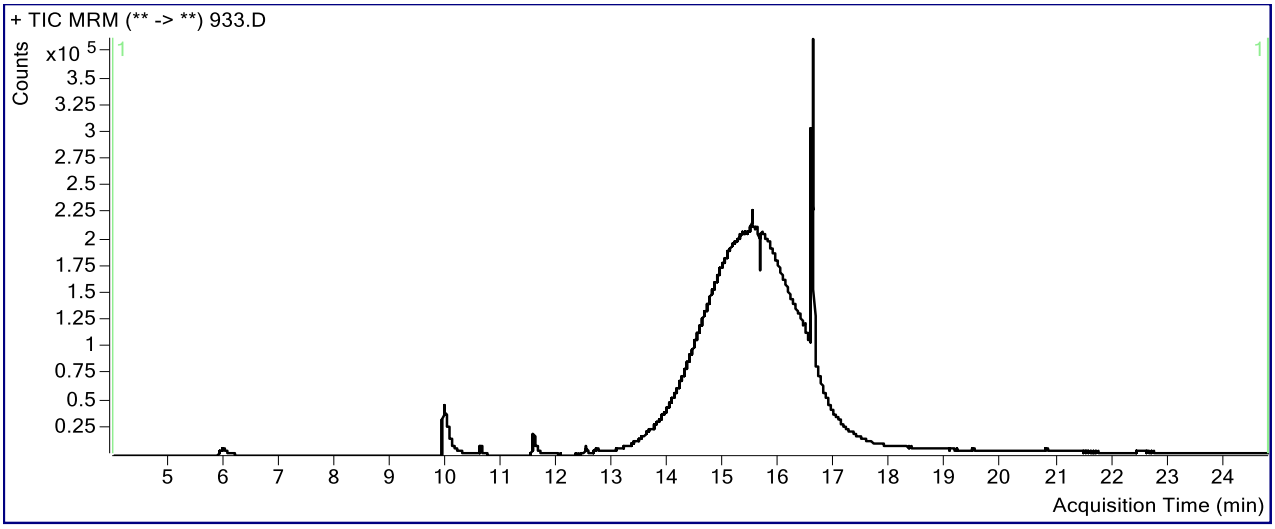
Cromatograma Azeite fortificado 50 µg/kg

Analysis Time	8/14/2018 8:16 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/14/2018 8:42 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/14/2018 8:16 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-08-09 21:01	**Data File**	933.D
Position	7	**Sample Name**	Azeite Contaminado 50 ppb 09/08/18 - ROTA B2
Dilution	1	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Acq Method File**	Cd 29c-13 - 2017
Sample Type	Sample	**Comment**	

Sample Chromatogram

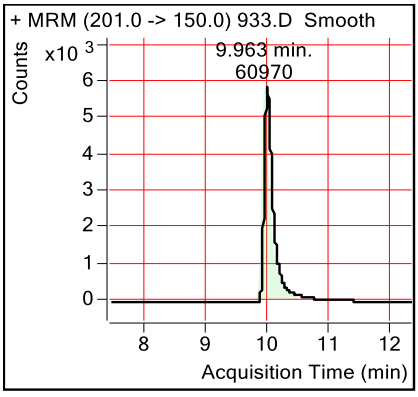


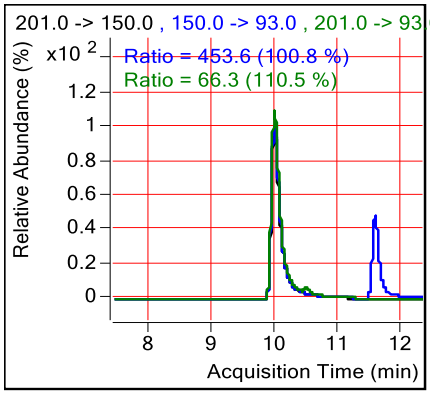
Quantitation Results

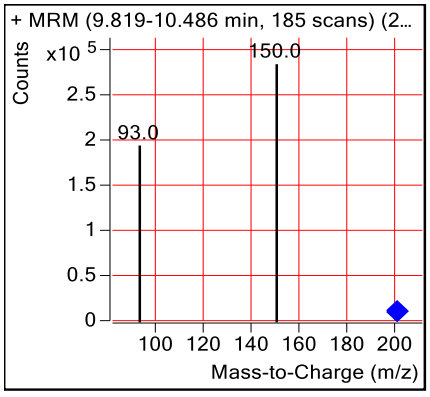
Compound	ISTD	RT	Response	ISTD Resp	RR	Conc	A
3MCPD	3MCPD-D5	10.047	526	60970	0.0086	0.0451	

Compound Graphics

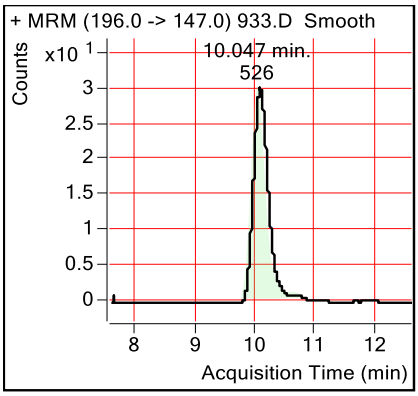
ISTD Compound *3MCPD-D5*

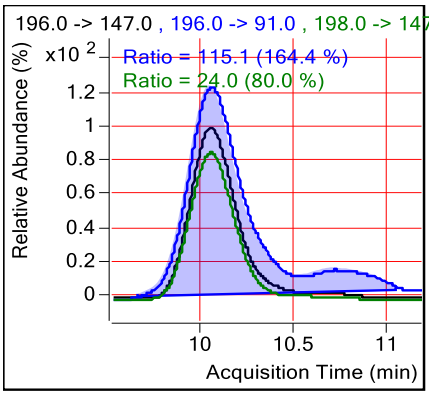


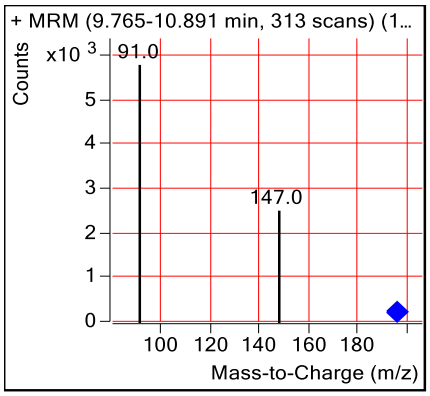




Target Compound *3MCPD*







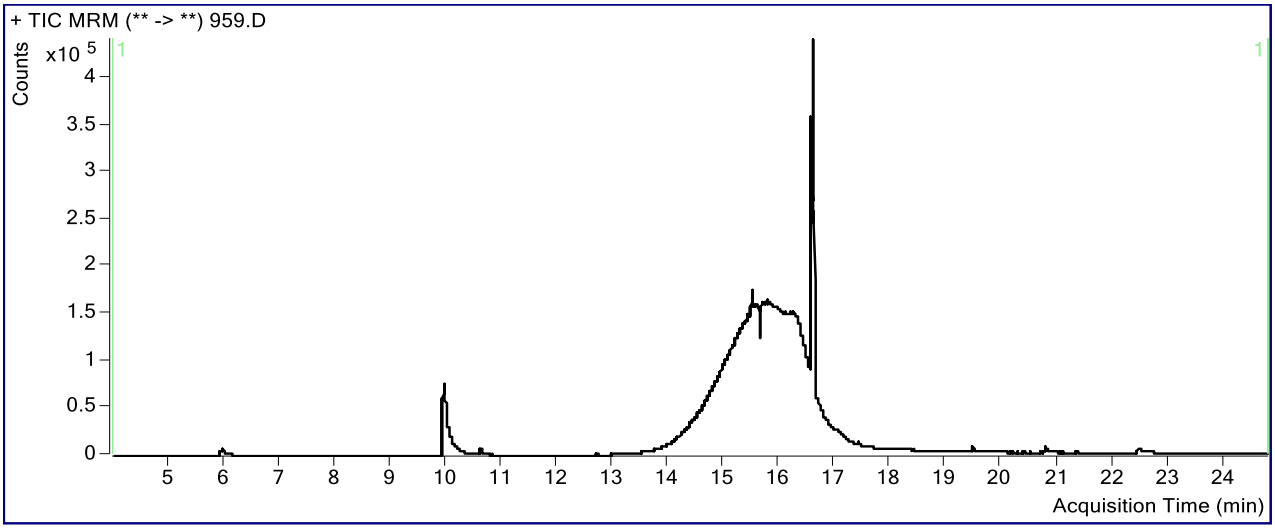
Cromatograma Azeite fortificado 50 µg/kg

Analysis Time	8/14/2018 8:16 AM	**Analyst Name**	admi
Report Time	8/14/2018 8:42 AM	**Reporter Name**	admi
Last Calib Update	8/14/2018 8:16 AM	**Batch State**	Proce

Analysis Info

Acq Time	2018-08-10 14:57	**Data File**	959.D
Position	6	**Sample Name**	Azeite
Dilution	1	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Acq Method File**	Cd 29
Sample Type	Sample	**Comment**	

Sample Chromatogram

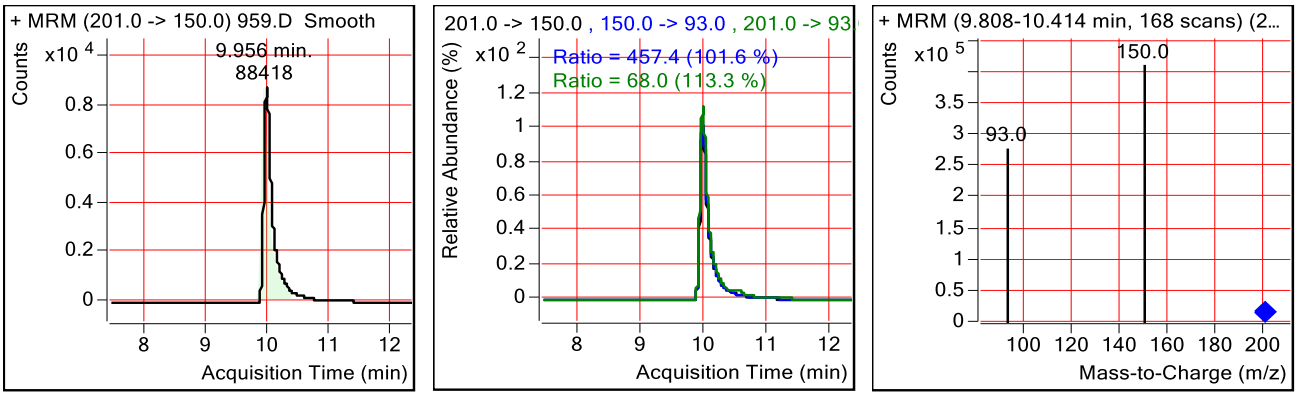


Quantitation Results

Compound	ISTD	RT
3MCPD	3MCPD-D5	10.051

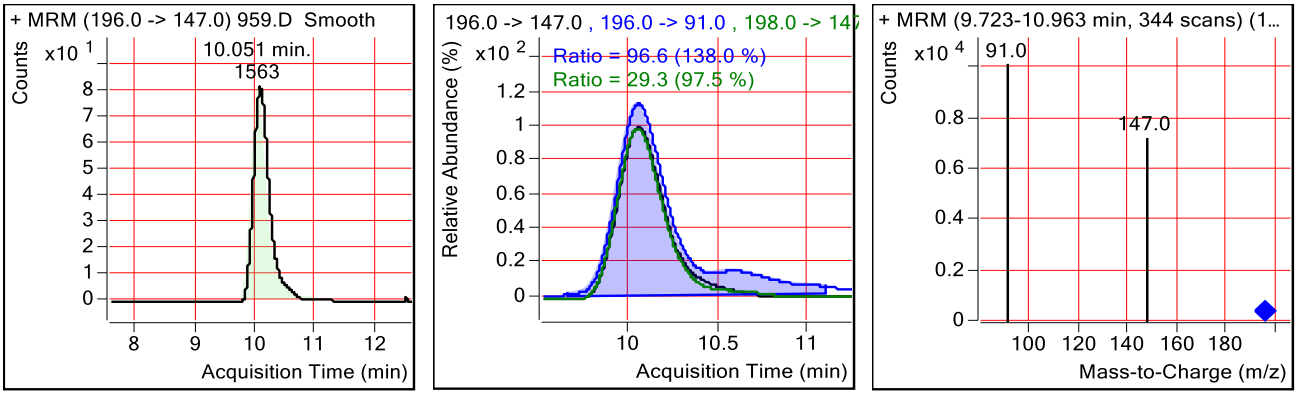
Compound Graphics

ISTD Compound *3MCPD-D5*



Target Compound

3MCPD



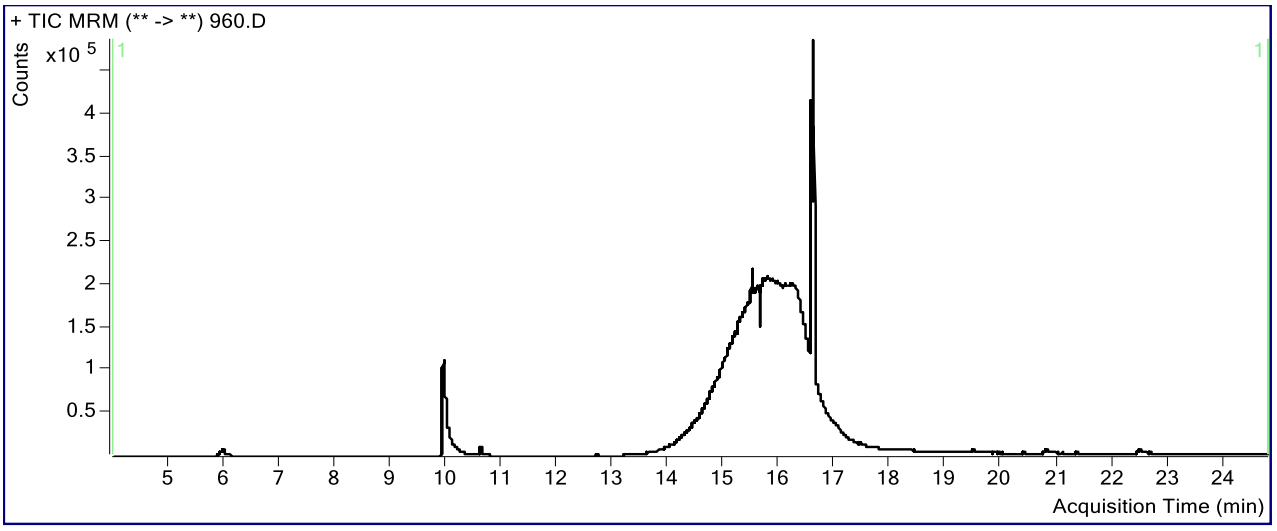
Cromatograma Azeite fortificado 50 µg/kg

Analysis Time	8/14/2018 8:16 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/14/2018 8:42 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/14/2018 8:16 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-08-10 15:33	**Data File**	960.D
Position	7	**Sample Name**	Azeite Contaminado 50 ppb 10/08/18 - ROTA A2
Dilution	1	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Acq Method File**	Cd 29c-13 - 2017
Sample Type	Sample	**Comment**	

Sample Chromatogram

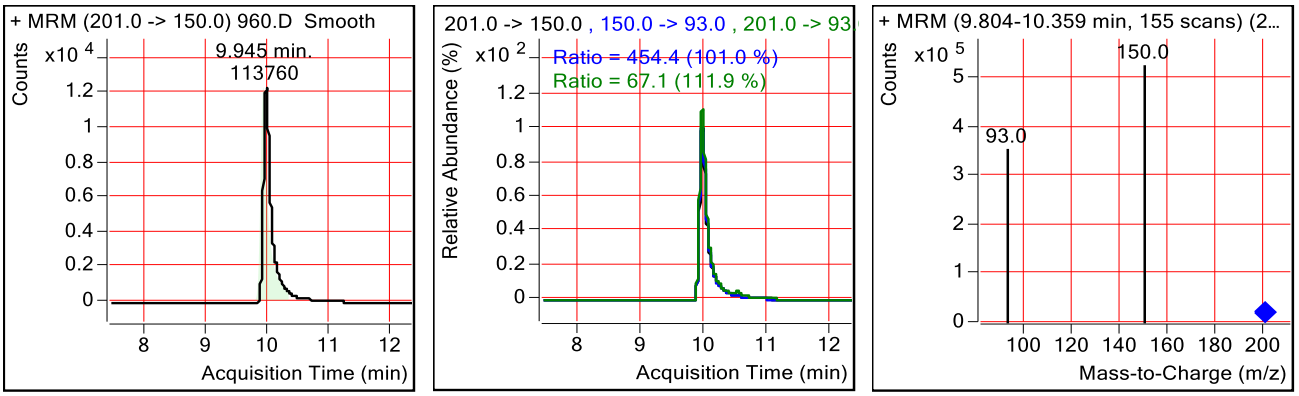


Quantitation Results

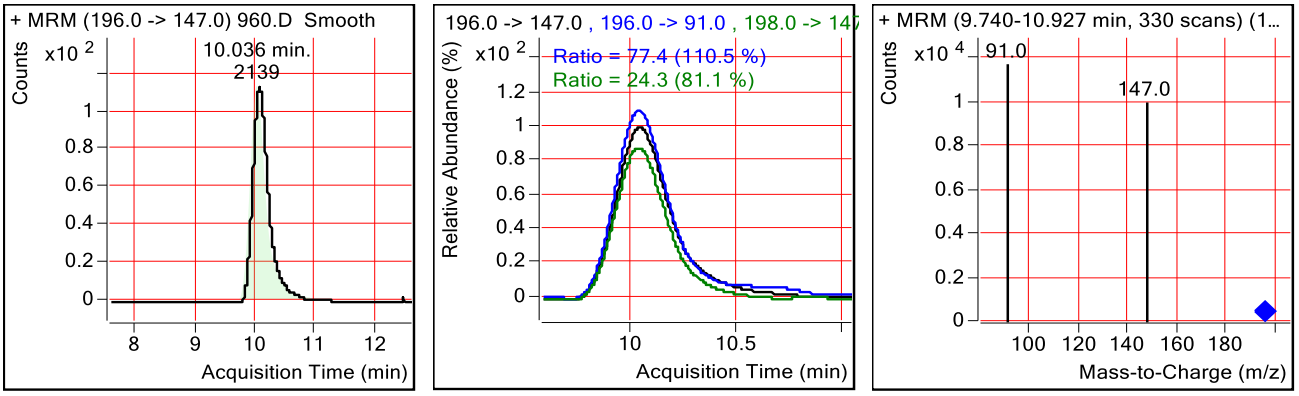
Compound	ISTD	RT	Response	ISTD Resp	RR	Conc
3MCPD	3MCPD-D5	10.036	2139	113760	0.0188	0.1039

Compound Graphics

ISTD Compound *3MCPD-D5*



Target Compound *3MCPD*



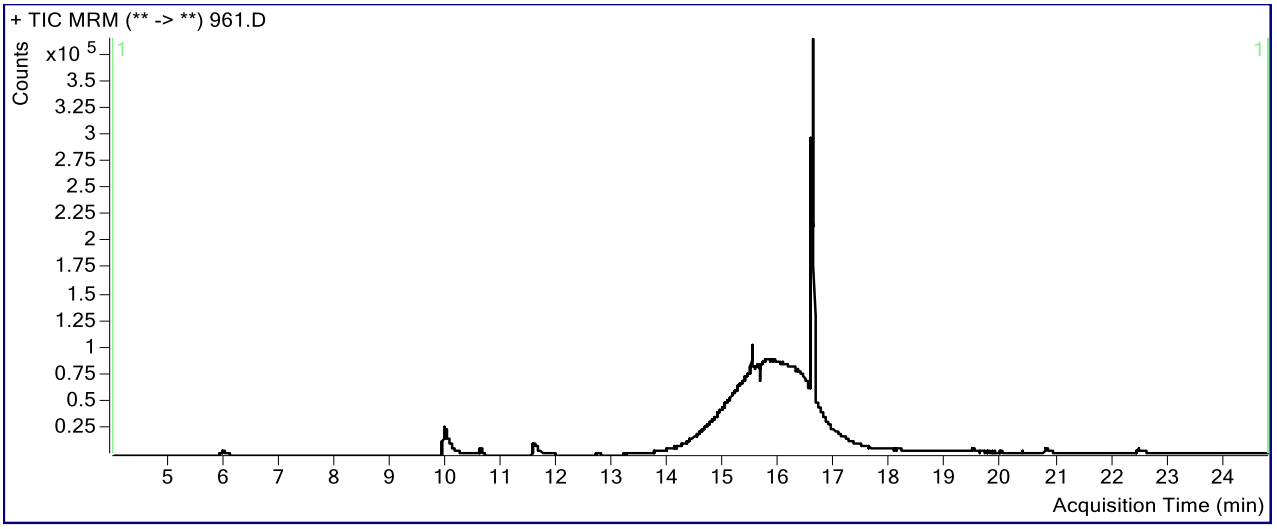
Cromatograma Azeite fortificado 50 µg/kg

Analysis Time	8/14/2018 8:16 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/14/2018 8:42 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/14/2018 8:16 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-08-10 16:09	**Data File**	961.D
Position	8	**Sample Name**	Azeite Contaminado 50 ppb 10/08/18 - ROTA B1
Dilution	1	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Acq Method File**	Cd 29c-13 - 2017
Sample Type	Sample	**Comment**	

Sample Chromatogram

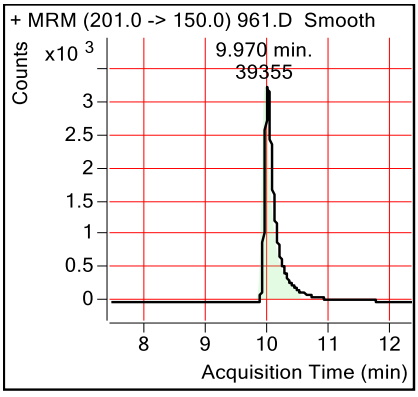


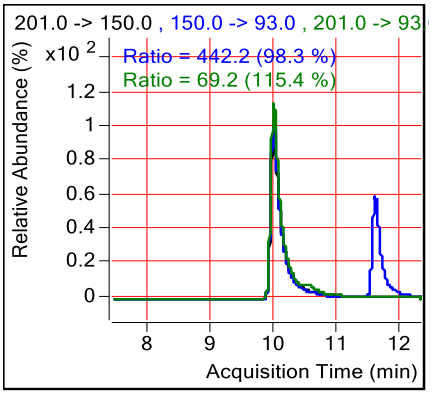
Quantitation Results

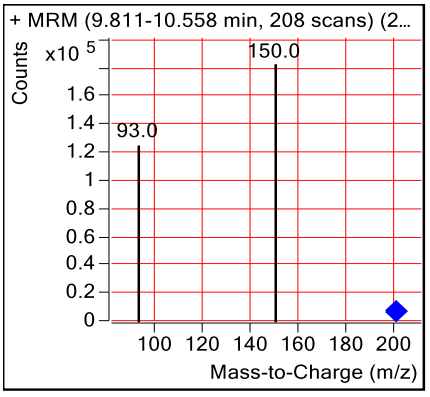
Compound	ISTD	RT	Response	ISTD Resp	RR	Conc
3MCPD	3MCPD-D5	10.073	377	39355	0.0096	0.0506

Compound Graphics

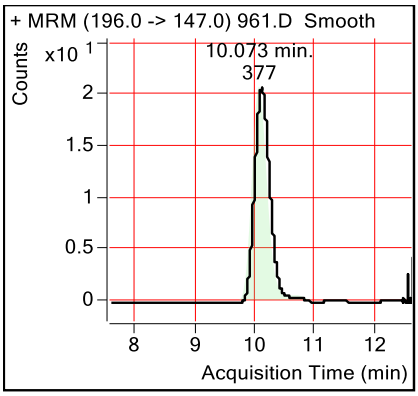
ISTD Compound *3MCPD-D5*

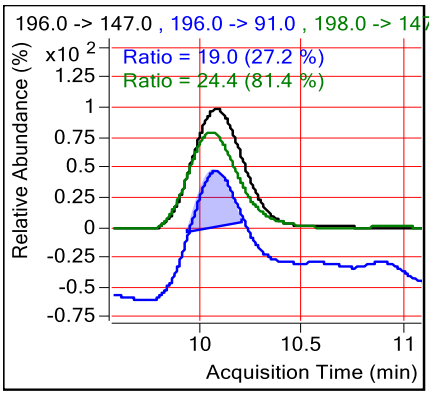


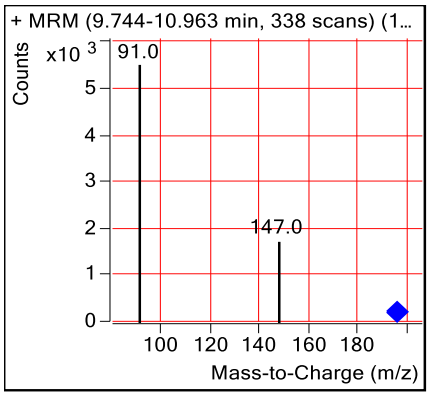




Target Compound *3MCPD*







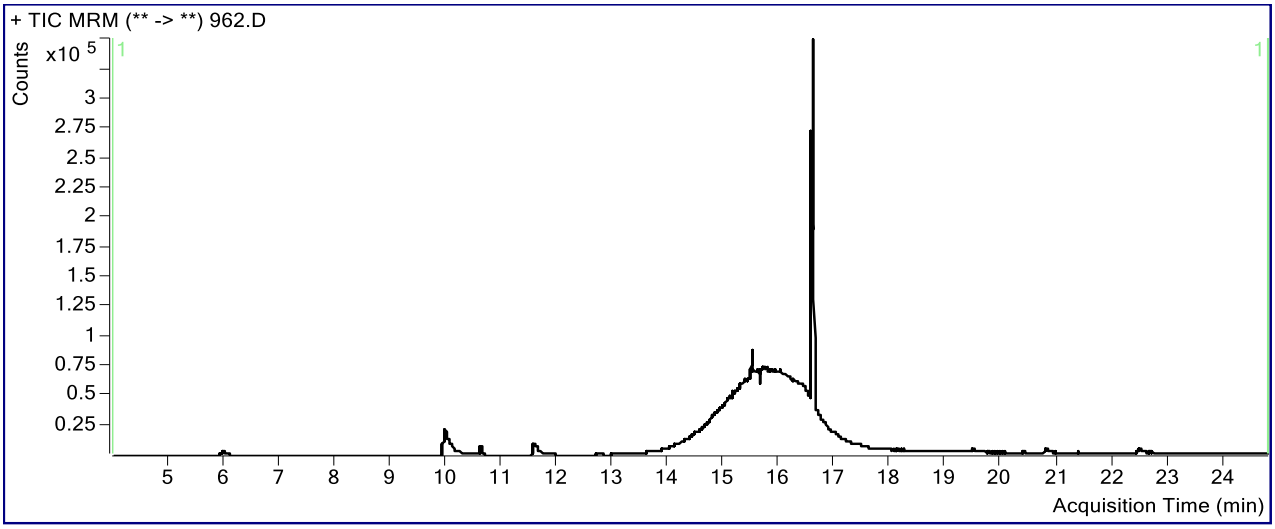
Cromatograma Azeite fortificado 50 µg/kg

Analysis Time	8/14/2018 8:16 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/14/2018 8:42 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/14/2018 8:16 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-08-10 16:46	**Data File**	962.D
Position	9	**Sample Name**	Azeite Contaminado 50 ppb 10/08/18 - ROTA B2
Dilution	1	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Acq Method File**	Cd 29c-13 - 2017
Sample Type	Sample	**Comment**	

Sample Chromatogram

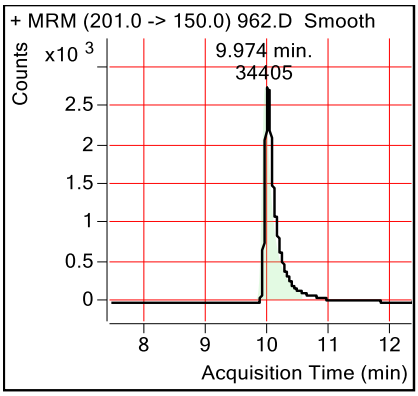


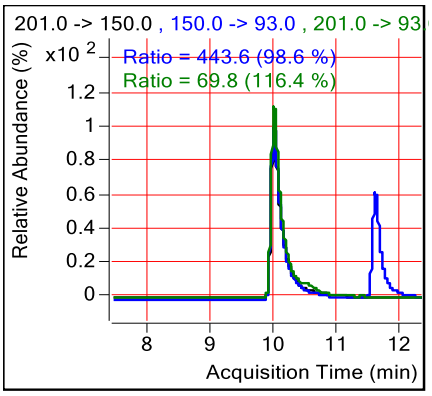
Quantitation Results

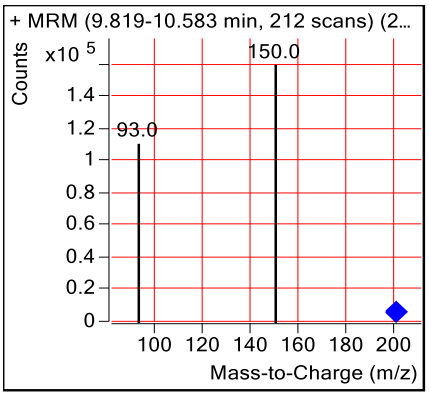
Compound	ISTD	RT	Response	ISTD Resp	RR	Conc	A
3MCPD	3MCPD-D5	10.069	300	34405	0.0087	0.0456	

Compound Graphics

ISTD Compound *3MCPD-D5*

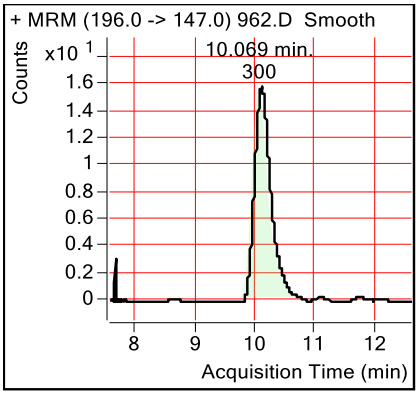


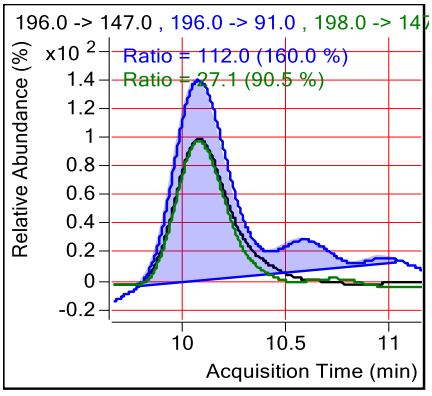


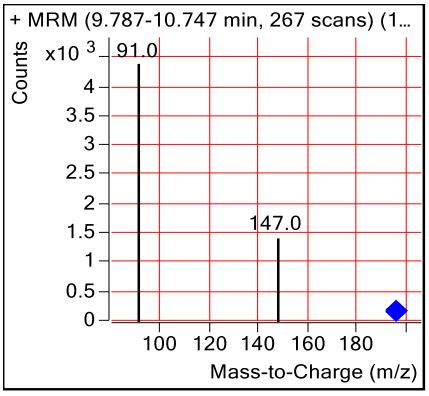


67

Target Compound *3MCPD*







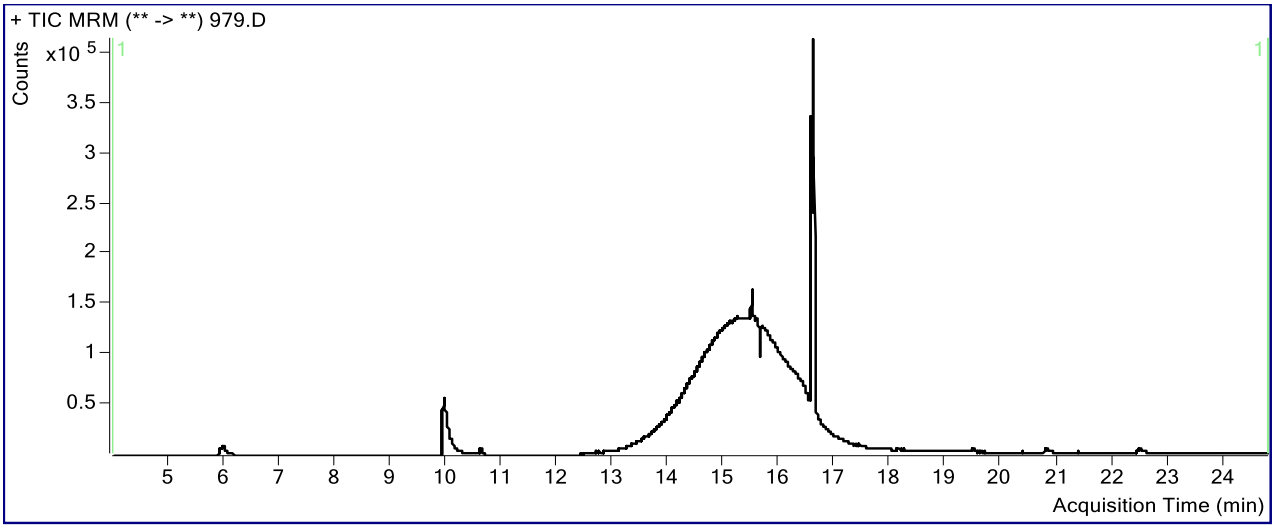
Cromatograma Azeite Contaminado 50 µg/kg

Analysis Time	8/14/2018 8:16 AM	**Analyst Name**	admi
Report Time	8/14/2018 8:42 AM	**Reporter Name**	admi
Last Calib Update	8/14/2018 8:16 AM	**Batch State**	Proce

Analysis Info

Acq Time	2018-08-14 00:05	**Data File**	979.D
Position	17	**Sample Name**	Azeite
Dilution	1	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Acq Method File**	Cd 29
Sample Type	Sample	**Comment**	

Sample Chromatogram

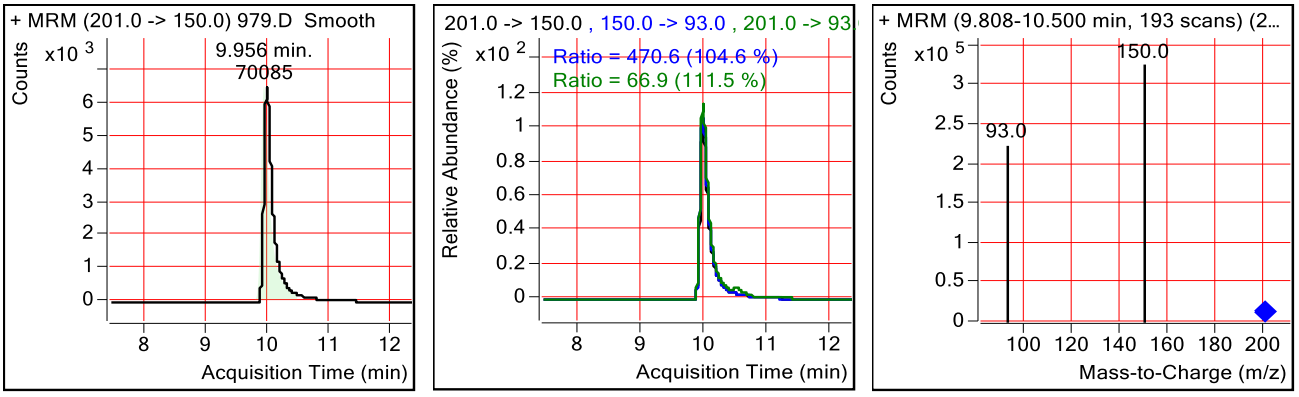


Quantitation Results

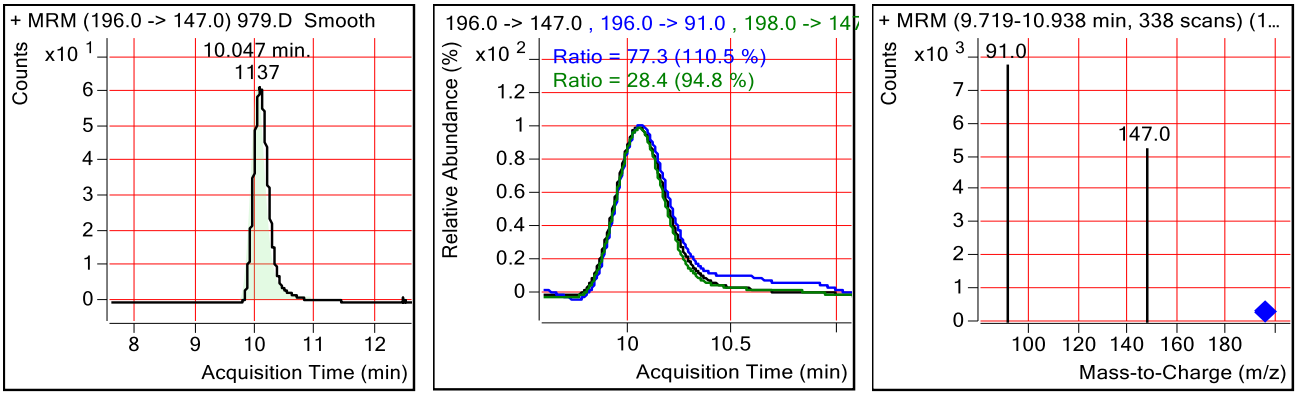
Compound	ISTD	RT
3MCPD	3MCPD-D5	10.047

Compound Graphics

ISTD Compound *3MCPD-D5*



Target Compound *3MCPD*



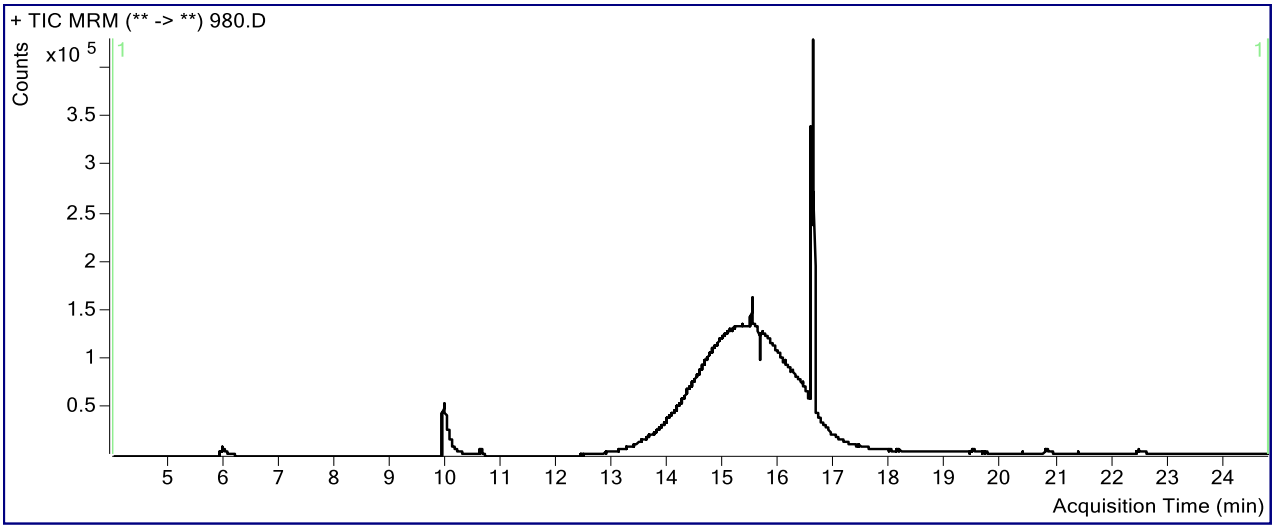
Cromatograma do azeite fortificado com 50 µg/kg

Analysis Time	8/14/2018 8:16 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/14/2018 8:42 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/14/2018 8:16 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-08-14 00:41	**Data File**	980.D
Position	18	**Sample Name**	Azeite Contaminado 50 ppb 13/08/18 - ROTA A2
Dilution	1	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Acq Method File**	Cd 29c-13 - 2017
Sample Type	Sample	**Comment**	

Sample Chromatogram

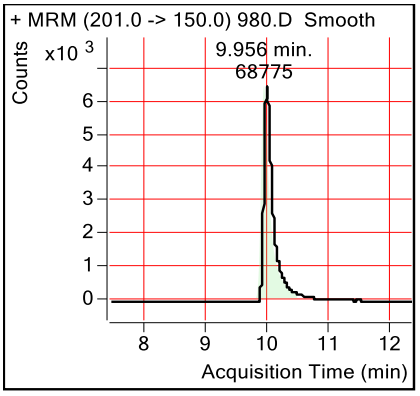


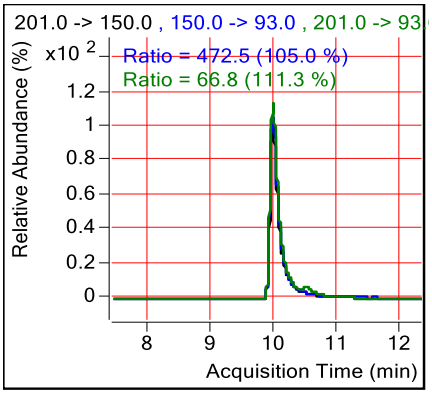
Quantitation Results

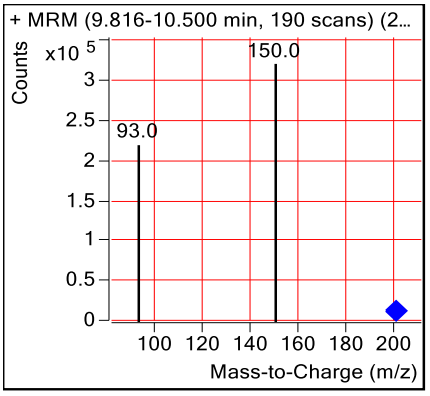
Compound	ISTD	RT	Response	ISTD Resp	RR	Conc
3MCPD	3MCPD-D5	10.047	1185	68775	0.0172	0.0947

Compound Graphics

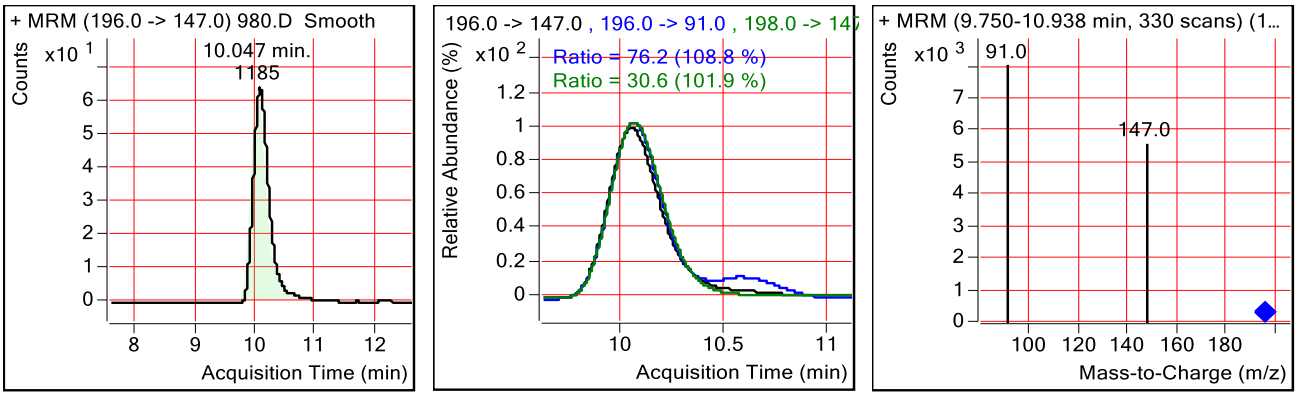
ISTD Compound *3MCPD-D5*







Target Compound *3MCPD*



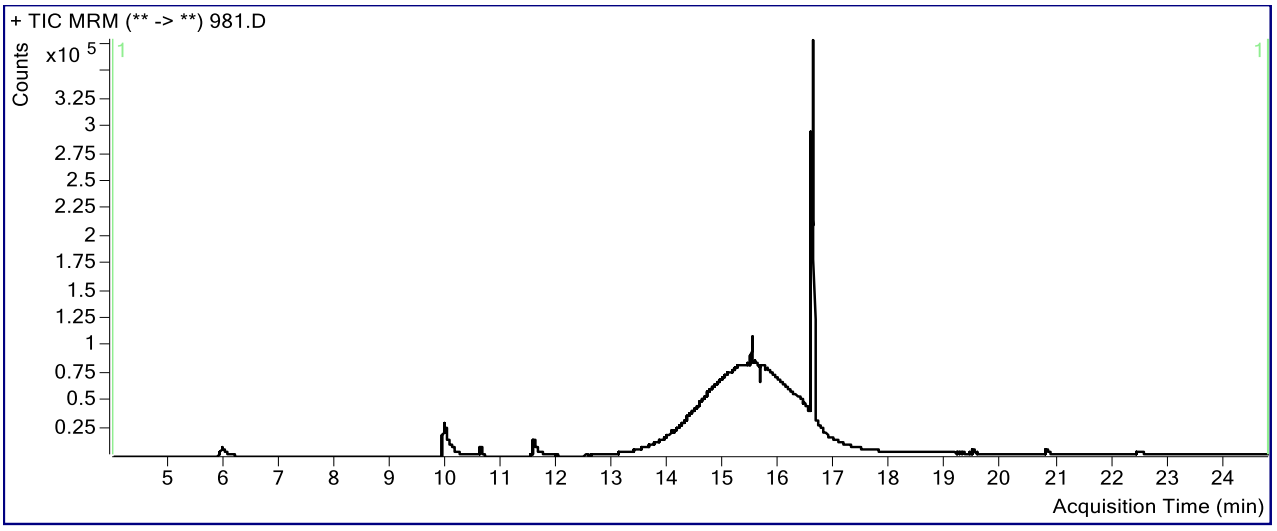
Cromatograma do azeite fortificado com 50 µg/kg

Batch Data Path	D:\3MCPD_2018\06_08_18\QuantResults\060818.batch.bin		
Analysis Time	8/14/2018 8:16 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/14/2018 8:42 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/14/2018 8:16 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-08-14 01:18	**Data File**	981.D
Position	19	**Sample Name**	Azeite Contaminado 50 ppb 13/08/18 - ROTA B1
Dilution	1	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Acq Method File**	Cd 29c-13 - 2017
Sample Type	Sample	**Comment**	

Sample Chromatogram

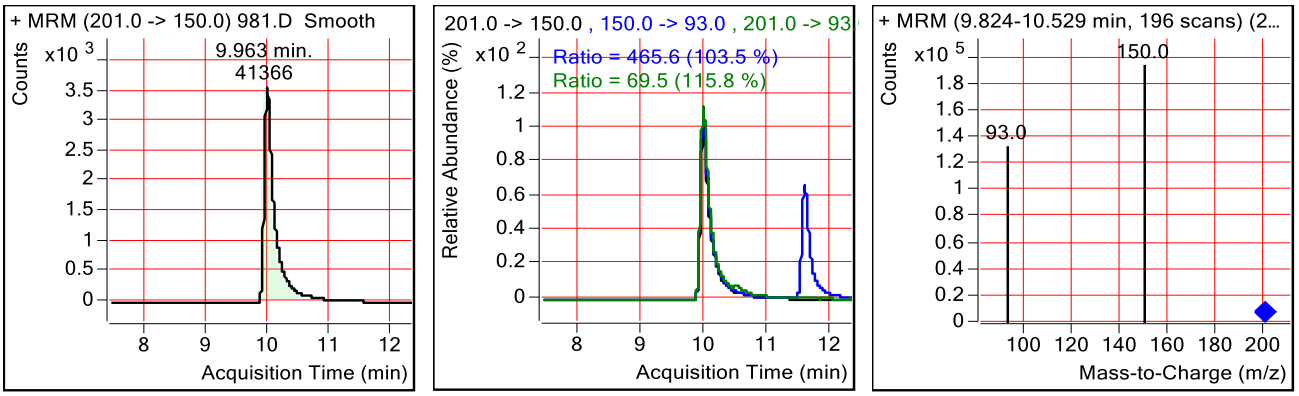


Quantitation Results

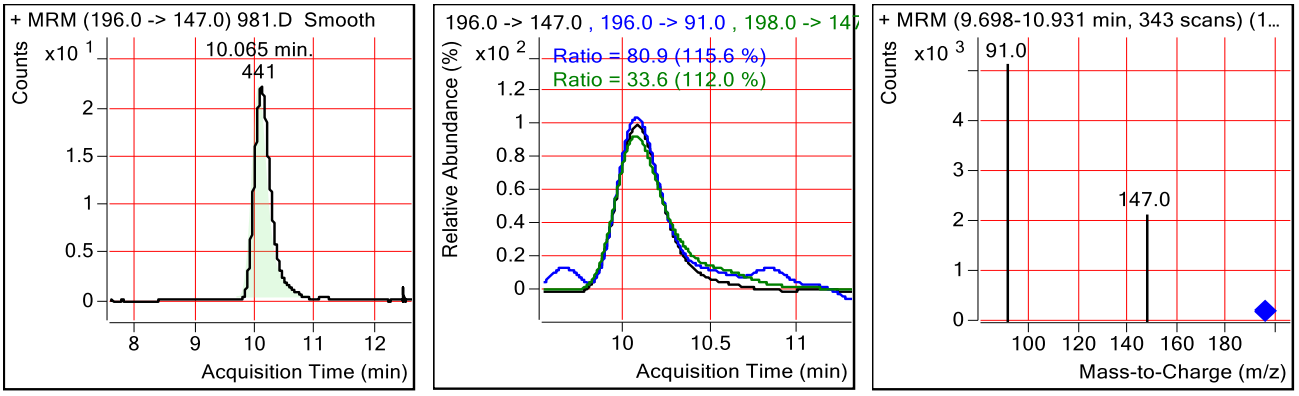
Compound	ISTD	RT	Response	ISTD Resp	RR	Conc
3MCPD	3MCPD-D5	10.065	441	41366	0.0107	0.0568

Compound Graphics

ISTD Compound *3MCPD-D5*



Target Compound *3MCPD*



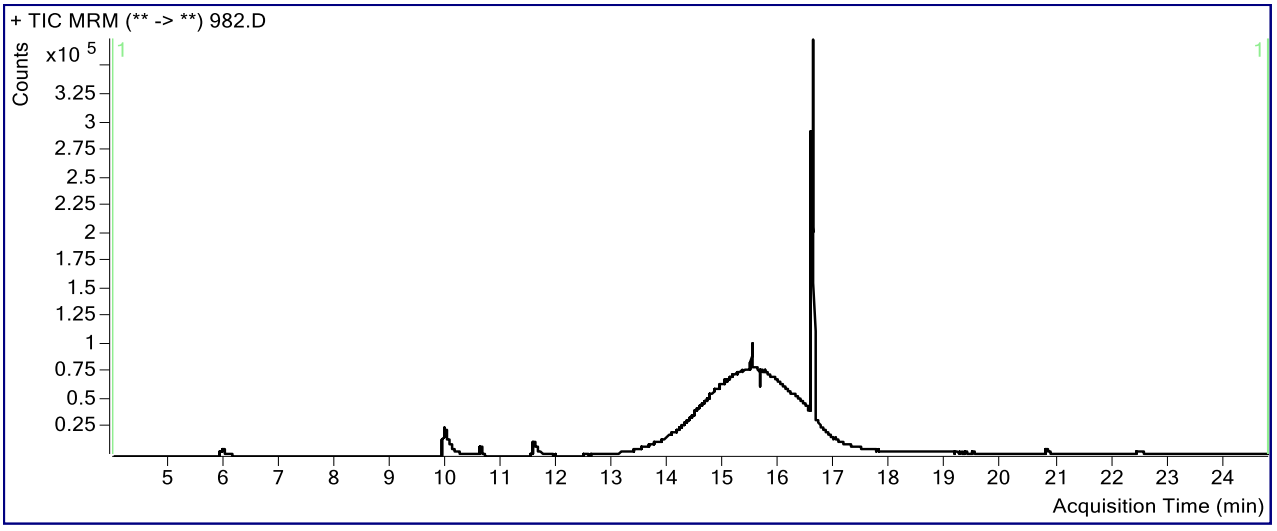
Cromatograma do azeite fortificado com 50 µg/kg

Analysis Time	8/14/2018 8:16 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/14/2018 8:42 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/14/2018 8:16 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

Acq Time	2018-08-14 01:54	**Data File**	982.D
Position	20	**Sample Name**	Azeite Contaminado 50 ppb 13/08/18 - ROTA B2
Dilution	1	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Acq Method File**	Cd 29c-13 - 2017
Sample Type	Sample	**Comment**	

Sample Chromatogram

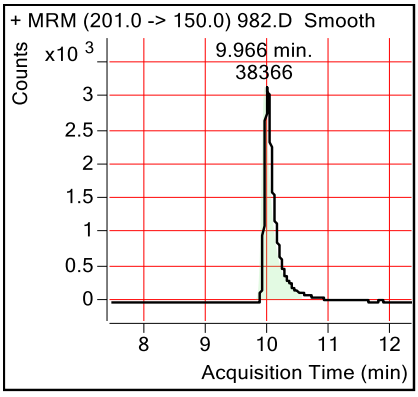


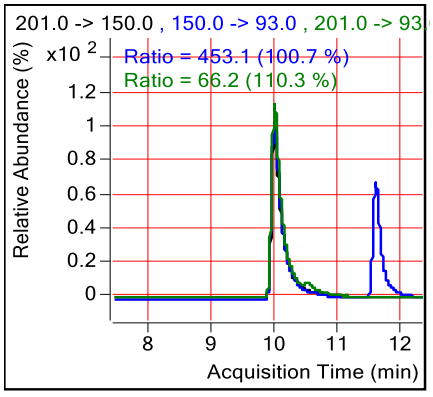
Quantitation Results

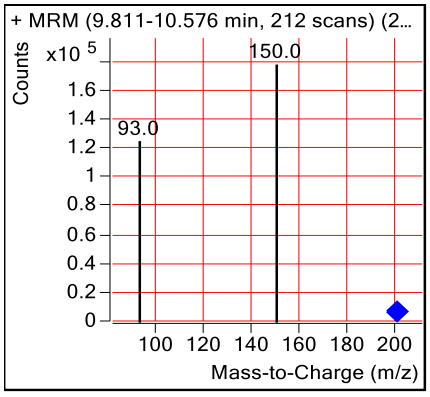
Compound	ISTD	RT	Response	ISTD Resp	RR	Conc	A
3MCPD	3MCPD-D5	10.062	365	38366	0.0095	0.0503	

Compound Graphics

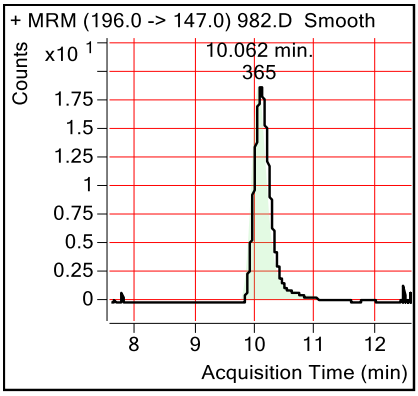
ISTD Compound *3MCPD-D5*

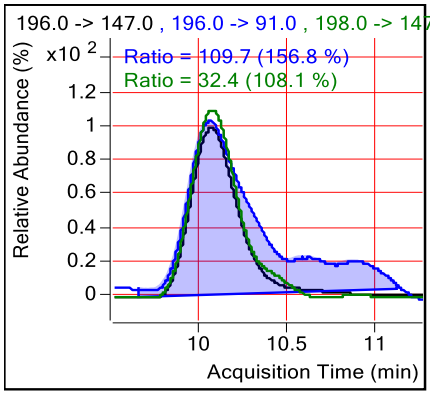


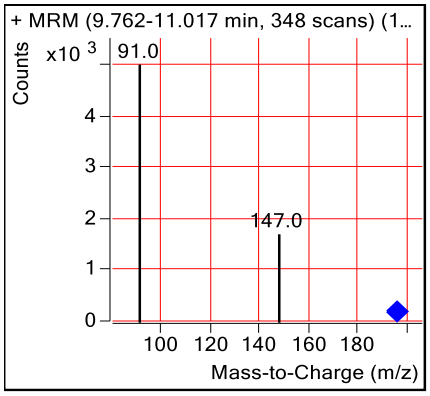




Target Compound *3MCPD*







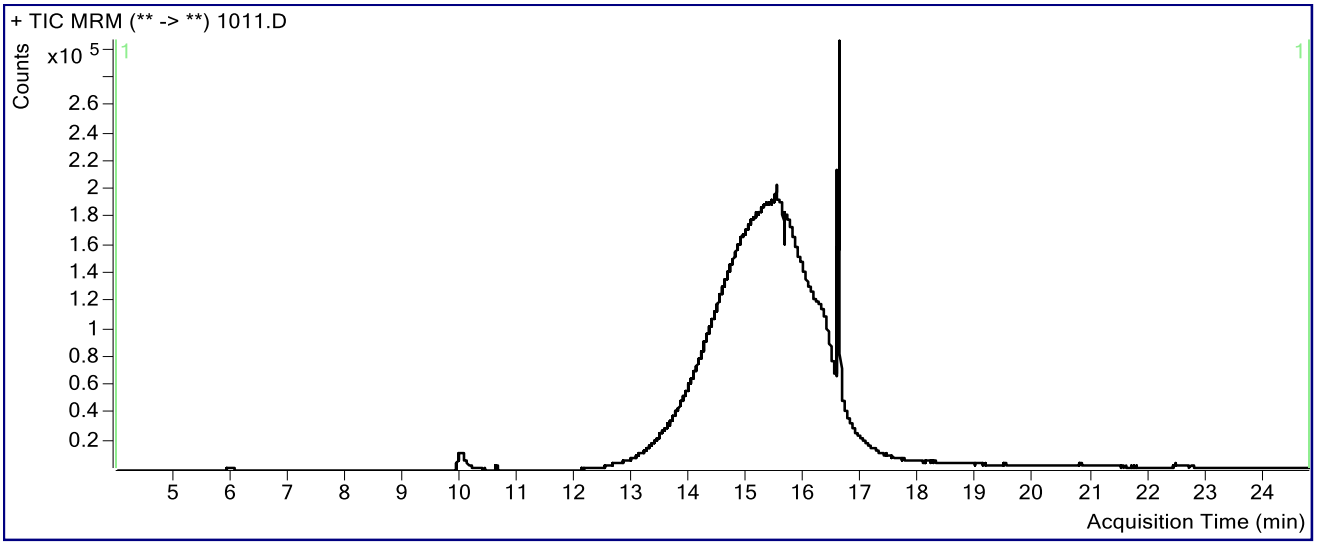
Cromatograma do azeite fortificado com 50 µg/kg

Analysis Time	8/27/2018 11:31 AM	**Analyst Name**	admin
Report Time	8/27/2018 11:41 AM	**Reporter Name**	admin
Last Calib Update	8/27/2018 11:31 AM	**Batch State**	Processed

Analysis Info

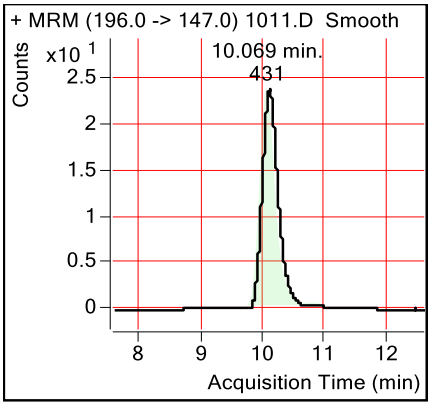
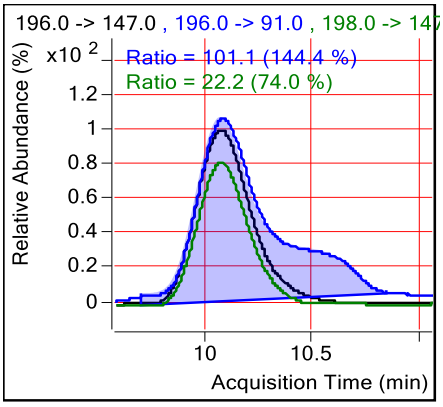
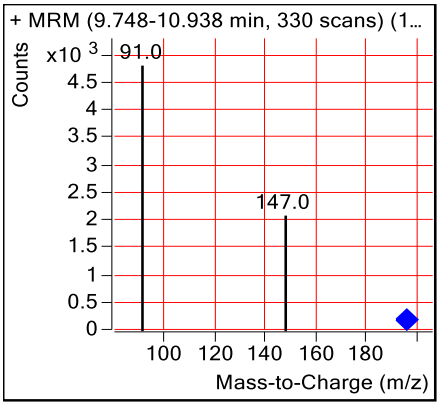
Acq Time	2018-08-15 12:04	**Data File**	1011.D
Sample Type	Sample	**Sample Name**	Azeite Contaminado 50 ppb 1
Dilution	1	**Acq Method**	Cd 29c-13 - 2017
Position	22	**Sample Info**	
Inj Vol	1	**Comment**	

Sample Chromatogram



Quantitation Results

Compound	ISTD Compound	RT	Response	ISTD Re
3MCPD	3MCPD-D5	10.069	431	21876

Compound Graphics

Target Compound *3MCPD*