



# COMPARAÇÃO DA MUTAGENICIDADE DE MATERIAL PARTICULADO (MP<sub>2,5</sub>) EMITIDO DURANTE A COCÇÃO DE ALIMENTOS COM DIFERENTES COMBUSTÍVEIS

**Palavras-Chave:** Emissões Culinárias; HPAs; *Salmonella* Typhimurium; YG1041; *Microplate Agar Protocol*

**Autores:**

**Jessica Camila Miranda Cardoso, FT/UNICAMP**

**Gabriely Fernanda Groto Militão, FT/UNICAMP**

**Daniel Alexandre Morales, FT/UNICAMP**

**Guilherme Martins Pereira, IAG/USP**

**Guilherme de Paula Oliveira, IQ/USP**

**Thayná da Silva Santos, IQ/USP**

**Maria de Fátima Andrade, IAG/USP**

**Pérola de Castro Vasconcellos, IQ/USP**

**Gisela de Aragão Umbuzeiro, FT/UNICAMP**

---

## INTRODUÇÃO

As partículas atmosféricas inaláveis finas (MP<sub>2,5</sub>) são as mais preocupantes para a saúde humana. Elas podem conter compostos com atividade mutagênica, gerados principalmente pela combustão incompleta de matéria orgânica, incluindo a cocção de alimentos. E tais compostos podem ser analisados por caracterização química ou por bioensaios.

O ensaio *Salmonella*/microsoma foi desenvolvido por Ames et al. (1973; 1975) e é muito utilizado para quantificar o potencial mutagênico de amostras, a partir das linhagens geneticamente modificadas da bactéria *Salmonella enterica* serovar Typhimurium. Existem algumas variações deste ensaio, como o método em micro suspensão proposto por Kado et al. (1983) e a versão miniaturizada proposta por Zwarg et al. (2018), também chamado de protocolo de ágar em microplaca (do inglês, *Microplate Agar - MPA*).

O objetivo desta pesquisa foi aplicar o MPA para comparar a mutagenicidade de extratos orgânicos provenientes da queima de três combustíveis utilizados na cocção de alimentos (carvão vegetal com adição de alimento de origem vegetal; GLP e lenha sem adição de alimento).

## METODOLOGIA

Para simular as emissões culinárias, foram utilizadas três fontes térmicas conectadas a chaminés e câmara de diluição, conforme Hildemann et al. (1989) e adaptação de Calvo et al. (2015). As amostras de  $MP_{2,5}$  foram coletadas em filtros de quartzo com amostradores de pequeno volume (fluxo de 5 L/min), extraídas com diclorometano (DCM) e caracterizadas quanto aos hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (HPAs) prioritários, conforme metodologia de Alves et al. (2017). As quantidades equivalentes de  $MP_{2,5}$  presentes nos extratos orgânicos variaram entre 82 e 190  $\mu\text{g}$  (Tabela 1).

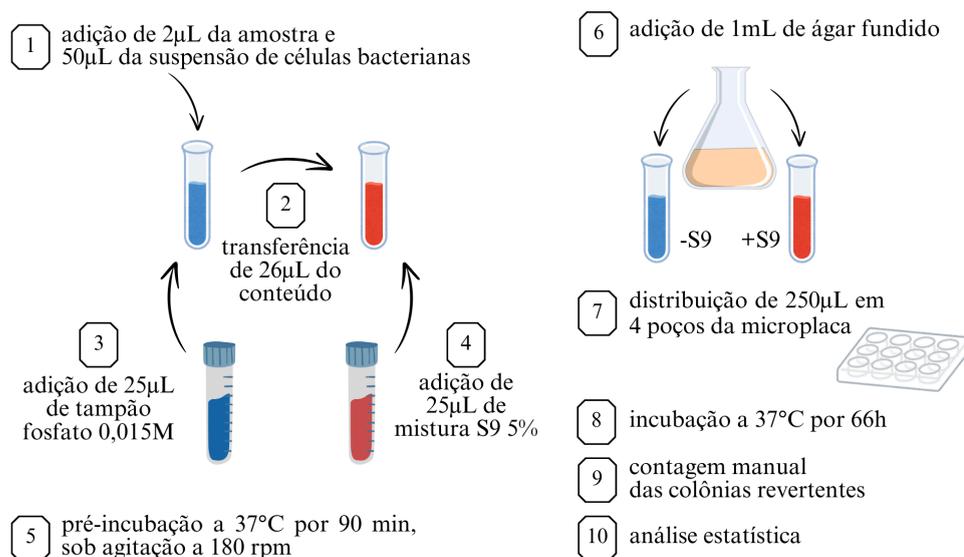
**Tabela 1.** Amostras de extratos orgânicos, concentrações de  $MP_{2,5}$  e HPAs e quantidades de  $MP_{2,5}$  equivalentes.

Emissão culinária	Fonte térmica	Concentração de $MP_{2,5}$ extraído ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	Concentração de HPAs extraídos * ( $\mu\text{g}/\text{m}^3$ )	Quantidade de $MP_{2,5}$ equivalente ( $\mu\text{g}$ )
Combustão de carvão vegetal com adição de alimento de origem vegetal	Churrasqueira	784,86	2,3083	190
Apenas combustão de GLP	Fogão	134,25	0,0255	82
Apenas combustão de lenha	Forno à lenha	8.588,59	14,0553	91

\* HPAs extraídos: fenantreno, antraceno, fluoranteno, pireno, reteno, benzo[a]antraceno, criseno, benzo[b]fluoranteno, benzo[k]fluoranteno, benzo[e]pireno, benzo[a]pireno, perileno, indeno[1,2,3-cd]pireno, dibenzo[a,h]antraceno, benzo[ghi]perileno e coroneno.

A versão miniaturizada do ensaio *Salmonella*/microsoma (*Microplate Agar - MPA*) foi escolhida para avaliar a atividade mutagênica das pequenas quantidades de amostras disponíveis (Figura 1). O ensaio MPA foi conduzido em concentrações-resposta (0,00625 a 0,2  $\mu\text{g}$  de  $MP_{2,5}$  equivalente/ $\mu\text{L}$ ) para cada amostra, sem e com ativação metabólica (5% de S9 de fígado de rato induzido por Phenobarbital/5,6-Benzoflavone, Moltox<sup>®</sup>). Duas linhagens foram selecionadas, a TA98 e a YG1041. O dimetilsulfóxido (DMSO) foi usado para diluição dos extratos orgânicos e como controle negativo.

**Figura 1.** Esquema ilustrativo da versão miniaturizada do ensaio *Salmonella*/microsoma (*Microplate Agar - MPA*).



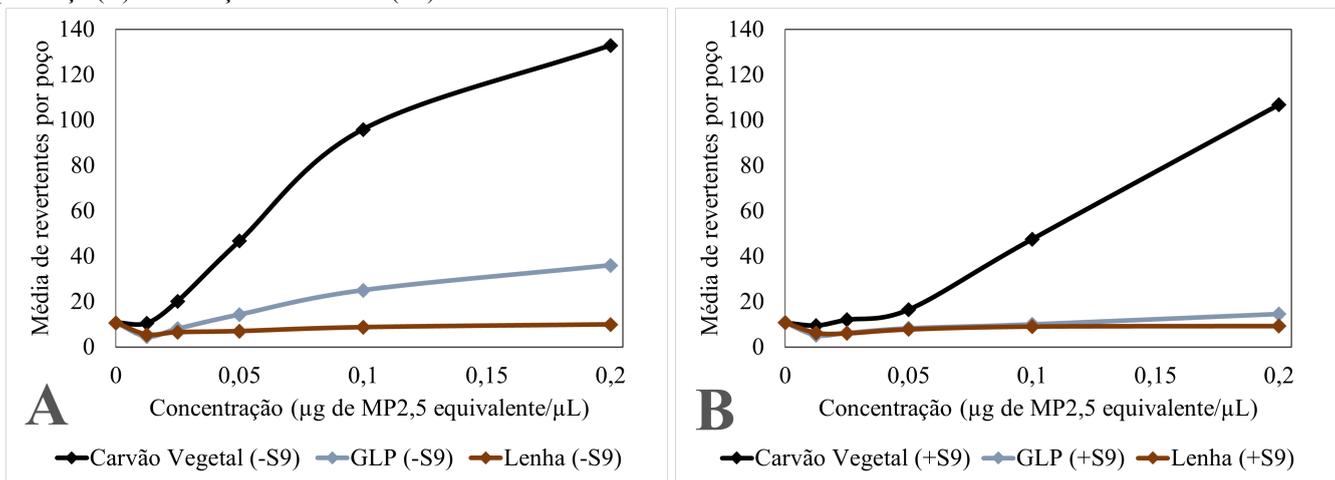
Fonte: Zwarg et al. (2018).

Os dados foram analisados estatisticamente por ANOVA/Tukey, seguido por regressão linear. As amostras foram consideradas positivas quando apresentaram respostas significativas ( $p < 0,05$ ). Os resultados foram expressos em concentração mínima efetiva (CME2) capaz de dobrar o número de revertentes, por  $MP_{2,5}$  equivalente ( $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ ) e por volume de ar ( $\text{m}^3/\mu\text{L}$ ).

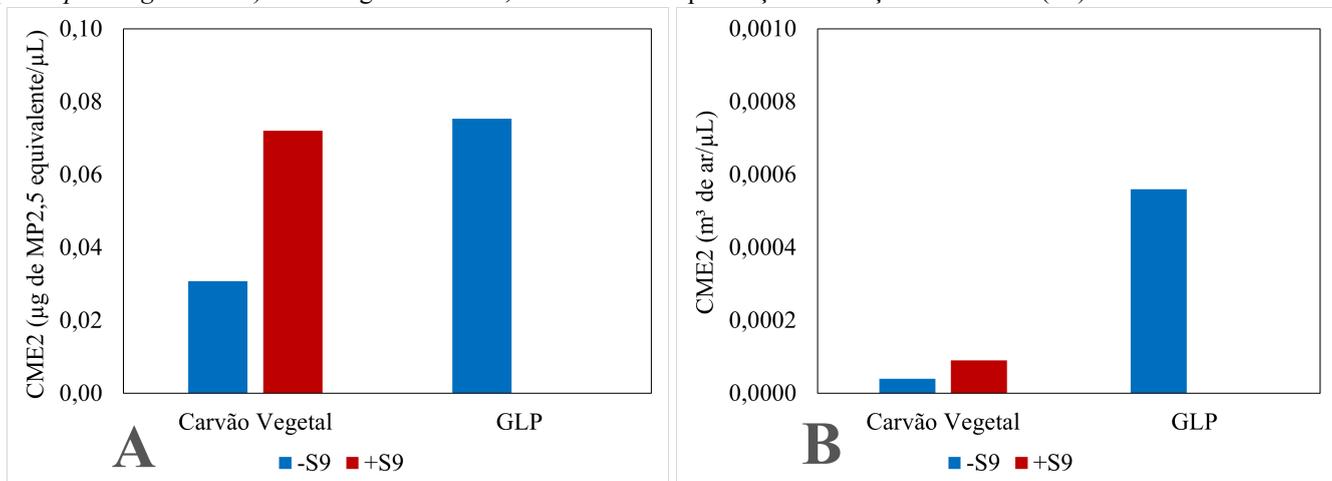
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todas as amostras foram negativas com a linhagem TA98, sem e com ativação metabólica. No entanto, duas das três amostras foram positivas com a linhagem YG1041 (Figura 2). E isso pode ocorrer porque a linhagem YG1041 é uma variante da TA98 e suas modificações genéticas podem aumentar a sensibilidade à detecção de mutagênicos (Hagiwara et al., 1993). Os menores valores de CME2 representaram as maiores potências mutagênicas (Figura 3).

**Figura 2.** Curvas de concentração-resposta de três extratos orgânicos de amostras de emissões culinárias, utilizando a versão miniaturizada do ensaio *Salmonella*/microsoma (*Microplate Agar - MPA*) e a linhagem YG1041, com ausência (A) e presença (B) de ativação metabólica (S9).



**Figura 3.** Comparação da concentração mínima efetiva (CME2), expressa em  $MP_{2,5}$  equivalente (A) e em volume de ar (B), das amostras que apresentaram resultado positivo, utilizando a versão miniaturizada do ensaio *Salmonella*/microsoma (*Microplate Agar - MPA*) e a linhagem YG1041, com ausência e presença de ativação metabólica (S9).



O carvão vegetal apresentou as maiores potências mutagênicas expressas em MP<sub>2,5</sub> equivalente (Figura 3A), sugerindo que tanto os nitroarenos (que são mutagênicos sem ativação metabólica) quanto os compostos que dependem de ativação metabólica para se tornarem mutagênicos (como os HPAs) foram responsáveis pelas atividades detectadas. O GLP foi mutagênico apenas sem ativação metabólica (Figura 2), sugerindo que os nitroarenos são os principais responsáveis por essa atividade. Quando os resultados foram expressos em volume de ar (Figura 3B), o carvão vegetal foi também o mais potente, seguido do GLP.

A maior concentração dos HPAs prioritários foi apresentada pela lenha (14,0553 µg/m<sup>3</sup>), seguida pelo carvão vegetal (2,3083 µg/m<sup>3</sup>) e pelo GLP (0,0255 µg/m<sup>3</sup>). E, quando expressos em µg de HPAs/µg de MP<sub>2,5</sub>, o maior valor foi do carvão vegetal (0,0022 µg/µg), seguido da lenha (0,0012 µg/µg) e do GLP (0,0001 µg/µg). Observou-se que o carvão vegetal apresentou maior relação de HPAs por MP<sub>2,5</sub> e maior potência mutagênica. Entretanto, apesar da lenha ter apresentado a maior concentração de HPAs, sua atividade mutagênica não foi detectada, indicando que maior quantidade desta amostra precisaria ser submetida aos bioensaios para que houvesse a detecção.

## CONCLUSÕES

A utilização da linhagem YG1041 propiciou a detecção da mutagenicidade de duas amostras, mesmo quando baixas quantidades de MP<sub>2,5</sub> estavam disponíveis para teste. As potências mutagênicas das amostras expressa por MP<sub>2,5</sub> equivalente e por volume de ar foram condizentes (carvão vegetal > GLP > lenha, em ambas as situações); porém, houve diferença quando a comparação foi feita com a concentração de HPAs prioritários (lenha > carvão vegetal > GLP) e com o valor de HPAs por MP<sub>2,5</sub> (carvão vegetal > lenha > GLP).

---

## BIBLIOGRAFIA

ALVES, C. A. et al. Polycyclic aromatic hydrocarbons and their derivatives (nitro-PAHs, oxygenated PAHs, and azaarenes) in PM<sub>2.5</sub> from Southern European cities. *Science of the total environment*, v. 595, p. 494-504, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.03.256>. Acesso em: 26 jul. 2024.

AMES, B. N.; LEE, F. D.; DURSTON, W. E. An improved bacterial test system for the detection and classification of mutagens and carcinogens. *Proceedings of National Academy of Sciences USA*, v. 70, p. 782-786, 1973. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.70.3.782>. Acesso em: 26 jul. 2024.

AMES, B. N.; MCCANN, J.; YAMASAKI, E. Methods for detecting carcinogens and mutagens with *Salmonella/mammalian-microsome* mutagenicity test. *Mutation Research*, v. 31, p. 347-364, 1975. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0165-1161\(75\)90046-1](https://doi.org/10.1016/0165-1161(75)90046-1). Acesso em: 26 jul. 2024.

CALVO, A. I. et al. Residential wood combustion in two domestic devices: Relationship of different parameters throughout the combustion cycle. *Atmospheric Environment*, v. 116, p. 72–82, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2015.06.012>. Acesso em: 26 jul. 2024.

HAGIWARA, Y. et al. Specificity and sensitivity of *Salmonella typhimurium* YG1041 and YG1042 strains possessing elevated levels of both nitroreductase and acetyltransferase activity. *Mutation Research / Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, v. 291, ed. 3, p. 171-180, 1993. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0165-1161\(93\)90157-U](https://doi.org/10.1016/0165-1161(93)90157-U). Acesso em: 16 jun. 2024.

HILDEMANN, L. M.; CASS, G. R.; MARKOWSKI, G. R. A dilution stack sampler for collection of organic aerosol emissions: design, characterization and field tests. *Aerosol Science and Technology*, v. 10, n. 1, p. 193–204, 1989. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/02786828908959234>. Acesso em: 26 jul. 2024.

KADO, N.Y.; LANGLEY, D.; EISENSTADT, E. A simple modification of the *Salmonella* liquid-incubation assay – Increased sensitivity for detecting mutagens in human urine. *Mutation Research*, v.121, p.25-32, 1983. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0165-7992\(83\)90082-9](https://doi.org/10.1016/0165-7992(83)90082-9). Acesso em: 26 jul. 2024.

ZWARG, J. R. R. M. et al. Miniaturization of the microsuspension *Salmonella*/microsome assay in agar microplates. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, v. 59, n. 6, p. 488–501, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/em.22195>. Acesso em: 26 jul. 2024.