

DETERMINAÇÃO RÁPIDA E ECONÔMICA DE PESTICIDAS ORGANOCOLORADOS EM LEITE.

Aerovaldo DEL'ACQUA*
Maria Lúcia RIBEIRO*
Ligia Maria Vettorato TREVISAN*
Mirabel CERQUEIRA**

RESUMO: Um método para análise de resíduos de pesticidas organoclorados em leite por cromatografia a gás adequado à realidade técnica e econômica brasileira foi selecionado entre os encontrados na literatura. Ao ser aplicado a catorze amostras de leite com ampla variação no teor de gordura, mostrou ser rápido, econômico, simples e sensível, atingindo o objetivo almejado.

UNITERMOS: Resíduos em alimentos; pesticidas organoclorados; leite; cromatografia a gás.

INTRODUÇÃO

A aplicação de pesticidas organoclorados na agricultura e na pecuária como proteção contra pragas e doenças foi considerada uma prática que traria muitos benefícios, pois teve como meta melhorar e aumentar a produção de alimentos.

Pelo fato de os pesticidas organoclorados e seus metabólitos serem substâncias altamente persistentes, a contaminação dos alimentos é consequência direta ou indireta da exposição das culturas e dos animais a tais compostos. Quando se considera que o homem está localizado no final da cadeia alimentar e que os pesticidas clorados são acumulativos, o interesse científico se torna parte de um problema mais amplo que é a saúde pública. Portanto, se de um lado o emprego de praguicidas pode ser útil ao homem, de outro, o uso indiscriminado e inadequado é comprovadamente prejudicial.

Os praguicidas organoclorados vêm sendo aplicados no Brasil, há três décadas, sendo que um controle mais eficiente passou a ser adotado apenas nos últimos anos. Deve-se ressaltar o trabalho que Waldemar Ferreira de Almeida tem desenvolvido pelo uso correto dos agrotóxicos, quando indispensáveis; este pesquisador tem demonstrado ser tecnicamente possível a substituição de quase todos os pesticidas organoclorados por outros menos persistentes. Entre aqueles, apenas o DDT e o Mirex continuariam a ser empregados no controle da malária e da formiga saúva respectivamente. Entre outras medidas que têm sido tomadas no país para diminuir a presença de resíduos clorados nos alimentos, destaca-se a proibição da fabricação do BHC técnico a partir de 1983, quando será produzido apenas um de seus componentes — o lindano, ou isômero γ do BHC — que é composto res-ponsável pelas propriedades inseticidas da

* Departamento de Química Orgânica - Instituto de Química - UNESP - 14.800 - Araraquara - SP.
** Bolsista CNPq.

mistura conhecida comumente como BHC ou, mais corretamente, HCH.

Considerando-se então todos os problemas que os pesticidas organoclorados podem trazer; considerando-se que, quanto às análises sistêmicas de alimentos, o Brasil ainda se encontra defasado em relação aos países desenvolvidos e, considerando-se finalmente, que esta defasagem pode estar relacionada com o alto custo e o tempo requerido para as análises de resíduos utilizando a metodologia oficial¹, concluiu-se ser interessante encontrar, na vasta literatura disponível sobre o assunto, um método rápido, econômico e sensível aplicável à nossa realidade para determinação de resíduos organoclorados por cromatografia a gás nos principais alimentos consumidos pelos brasileiros.

O primeiro alimento selecionado para ser estudado foi o leite adotando-se os seguintes critérios: é um alimento básico, de ingestão diária, contido na dieta da maior parte da população e é matéria-prima para a produção de uma enorme gama de outros alimentos. Além disso, tem-se constatado o uso indevido de pesticidas organoclorados por parte de criadores de gado leiteiro.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

A cromatografia a gás começou a ser aplicada ao estudo de pesticidas organoclorados em produtos lácteos na década de 60. Já em 1961 MILLS² relatava os resultados de um estudo colaborativo utilizando um método rápido, qualitativo desenvolvido anteriormente pelo autor para detecção de pesticidas organoclorados em leite. O método completo é aplicável a catorze ou quinze daqueles compostos, mas como alguns destes são raramente encontrados no leite, limitou-se o estudo a seis dos mais comumente encontrados neste alimento: DDT, DDD, (TDE), DDE, heptacloroepóxido, BHC e lindano.

Ainda na década de 60 alguns trabalhos foram publicados para determinação de resíduos em leite, onde os autores sempre buscavam uma metodologia mais rápida, como o divulgado por ONLEY³ em 1966 que obteve recuperação de oito pesticidas clorados a nível de 0,005 ppm. MAUNDER *et alii*⁴, no mesmo ano, desenvolveram um procedimento para purificação de extratos de gorduras animais e de laticínios por partição líquido-líquido (acetona-hexano), obtendo recuperação entre 74 e 88% de cinco pesticidas adicionados ao leite.

Uma versão rápida do método oficial foi desenvolvida em 1974 por GABICA *et alii*⁵; trata-se de um método muito útil para efetuar-se triagem de um grande número de amostras de leite.

Todos os esforços até então desenvolvidos para a análise de resíduos organoclorados em leite envolviam partição líquido-líquido, uso de cromatografia em coluna ou uma combinação destas duas técnicas. Outros métodos como saponificação alcalina e co-distilação por arraste também foram propostos e discutidos por VEIEROV *et alii*⁶. O emprego de ácido sulfúrico para purificação de extratos de leite foi pela primeira vez registrado na literatura por SCHECHTER⁷ em 1947.

Em 1980, VEIEROV *et alii*⁶ publicaram um trabalho de detecção de resíduos de pesticidas organoclorados em leite utilizando a propriedade do ácido sulfúrico de solubilizar a maioria dos compostos orgânicos, constituindo exceção os hidrocarbonetos saturados e seus derivados clorados. A eficiência do método é caracterizada pela alta recuperação de dezoito pesticidas e pela identificação e quantificação dos mesmos empregando um único recipiente para as operações de extração e limpeza do extrato e apenas dois produtos químicos, ácido sulfúrico e éter de petróleo, com uma consequente diminuição de possibilidades de contaminação. Como desvantagem constata-se a perda total de

praguicidas oxigenados como endrin e dieldrin.

Um método simplificado para detectar DDT e BHC em produtos lácteos da Índia foi desenvolvido em 1981 por KAPOOR *et alii*⁸, pela combinação do processo de extração de MAUNDER⁴ e da técnica de VEIEROV⁶, sem apresentar, entretanto, vantagens nítidas sobre esta última.

No Brasil, a maioria dos trabalhos descritos na literatura foram desenvolvidos no Instituto Adolfo Lutz, onde ALMEIDA *et alii*⁹ constataram em 1971 a presença de isômeros do BHC no leite consumido em São Paulo, com níveis de BHC total variando de 0,007 a 0,055 ppm. Já em 1979¹⁰ estes valores baixaram respectivamente para 0,001 e 0,016 ppm. Enquanto em 1971 o DDT e seus isômeros não foram detectados, o mesmo não ocorreu em 1979 quando os limites variaram de 0,01 a 0,03 ppm., sempre abaixo do limite permitido na gordura do leite. Deve-se, entretanto, ressaltar que apesar da queda do teor de BHC no intervalo de oito anos, quase 90% das amostras analisadas em 1979 apresentaram níveis acima do permitido no Brasil que é 0,1 ppm. na gordura, o que corresponde a 0,003 ppm. em leite com 3% de gordura.

Uma análise cuidadosa e crítica dos métodos da literatura mostrou claramente ser o de VEIEROV o que preenche os objetivos inicialmente traçados. Para confirmar na prática esta escolha passou-se a aplicar este processo aos diversos tipos de leite disponíveis em Araraquara.

3. MATERIAIS E MÉTODO

3.1. Reagentes

Utilizou-se ácido sulfúrico p.a. (95-97%, $d = 1,84 \text{ g/cm}^3$) de procedência Merck e éter de petróleo grau pesticida (intervalo de ebulição 40-60.°C), Grupo Química.

Para a preparação dos padrões usou-se tolueno comercial, purificado confor-

me VOGEL¹¹, recolhendo-se o líquido destilado a 108.°C. A adequação do solvente para análise de resíduos foi verificada concentrando-se 100 vezes em sistema Kuderna-Danish e submetendo-se 5 microlitros à análise cromatográfica conforme descrito em 3.3.

Os padrões foram fornecidos pela Environmental Protection Agency - EPA, EUA.

3.2. Vidraria

Funil de separação de forma cônica de 500 ml com torneira de Teflon e sistema concentrador Kuderna-Danish de 250 ml. Todo o material de vidro foi lavado seguindo o esquema descrito por ALBERT & REYES¹².

3.3. Equipamento

As análises foram realizadas em cromatógrafo a gás modelo CG-35370, equipado com: detector de captura de elétrons com fonte de trítio, coluna de níquel de 6' x 1/8", empacotada com 1,5% de OV-17 e 1,95% de QF-1 sobre Chromosorb WHP. Condições de operação: coluna a 180°C, injetor a 200°C, detector a 210°C; gás de arraste nitrogênio UP (W. Martins), fluxo 40 ml/min.; sensibilidade 10 x 10⁻⁷ nA; velocidade do papel 0,64 cm/min.

3.4. Amostras

As amostras de leite dos tipos B, C e especial foram adquiridas em diferentes supermercados da cidade, nos meses de agosto e setembro de 1980. O leite "in natura" foi fornecido por produtores da região. A determinação do teor de gordura no leite foi feita pelo método do lactobutímetro de Gerber.

As amostras foram codificadas obedecendo ao seguinte critério: leite tipo B, marca X (A e F); leite tipo C, marca X (B e E); leite tipo especial, marca X (K e L); leite tipo especial, marca Y (C e D); leite "in natura", diversos produtores (G, H, I, J, M e N).

3.5. Procedimento

O procedimento experimental foi realizado seguindo as indicações gerais descritas por VEIEROV e col.⁶ com especial cuidado nas seguintes etapas, além daqueles mencionados pelos autores.

A purificação do extrato etéreo foi efetuada pela adição de pequenas porções de ácido, 1 a 2 ml por vez, promovendo-se o descaramento da fase ácida que passa de rosa a incolor. A obtenção de uma fase orgânica incolor e totalmente límpida mostra o final do processo de purificação. Gasta-se nesta etapa cerca de 10 a 15 ml de ácido sulfúrico.

A perda de solvente por evaporação foi compensada pela adição de pequenos volumes (ca. 5 ml) durante as operações em que este fato venha a ocorrer.

A fase etérea foi então concentrada e um sistema Kuderna-Danish até 5 ml e

alíquotas de 5 µl foram injetadas no cromatograma para a realização das análises qualitativas e quantitativas.

3.6. Análises Qualitativas e Quantitativas

As amostras foram analisadas qualitativamente comparando-se os tempos de retenção dos pesticidas padrões com os tempos de retenção dos pesticidas presentes nas amostras de leite em cromatogramas sucessivos.

Para a análise quantitativa prepararam-se as curvas padrões adequadas às áreas dos picos presentes nos cromatogramas das amostras.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos da aplicação do método em estudo a catorze amostras de leite estão indicados na Tabela a seguir.

TABELA: Resíduos de pesticidas organoclorados expressos em µg/kg, na massa total do leite.

Pesticidas Amostras	α BHC	γ BHC	β BHC	δ BHC	BHC Total	pp' DDE
A	3	2	2	4	10	7
B	6	2	5	1	14	3
C	2	tr	1	—	4	—
D	1	tr	1	4	7	1
E	8	2	2	4	15	3
F	2	2	2	4	9	3
G	3	2	1	4	10	1
H	2	1	2	1	6	—
I	2	1	1	tr	5	7
J	5	tr	tr	2	8	5
K	4	2	3	1	10	3
L	4	2	3	5	13	—
M	1	tr	5	—	7	—
N	tr	—	—	—	tr	—

tr = abaixo de 1 µg/kg

— = não detectado, não aparecimento de pico no cromatograma.

Verifica-se que os resíduos estão distribuídos de modo bastante homogêneo nas amostras analisadas. Constitui exceção a amostra N, obtida pela ordenha de um único animal criado em ambiente livre que pudessem ser confundidos com os

provenientes de pesticidas organoclorados.

Dentre os pesticidas organoclorados foram encontrados os seguintes: α-BHC, β-BHC, γ-BHC, δ-BHC e p,p'-DDE. O isômero α-BHC foi detectado em todas as amostras; os isômeros β-BHC, e γ-BHC em treze delas e o isômero δ-BHC em onze. Em nove das amostras foi constatada a presença de p,p'-DDE. O teor de BHC total variou de 1 a 15 µg/kg de leite e o de p,p'-DDE, quando encontrado variou de 1 a 7 µg/kg.

Apesar de ser o objetivo primordial deste trabalho a eleição de uma metodologia adequada às condições brasileiras, seja quanto aos pesticidas normalmente encontrados no leite, seja quanto às possibilidades técnicas e econômicas de sua aplicação a um número significativo de amostras em todas regiões do País, não podemos deixar de comparar os resultados obtidos com a tolerância legal para os meses.

O limite de resíduo de BHC admitido pela legislação brasileira em leite é de 0,1 mg/kg de gordura do mesmo, ou 100 µg/kg, daí a necessidade de se conhecer seu conteúdo de gordura. O teor de gordura dos diversos tipos de leite tem variado de 2,8 a 4,5% da seguinte maneira: os do tipo C e especial, 3% ± 0,2; os do tipo B e natural, 4% ± 0,5, o que permite afirmar que todas as amostras analisadas, com exceção da N, apresentam resíduos de BHC acima do permitido, pois a amostra que apresentou apenas 1 µg/kg do leite mesmo que contivesse o máximo de gordura estaria com 0,22 mg/kg do pesticida em termos desta.

As amostras E, G e J, tomadas ao acaso, apresentaram respectivamente 3,0, 2,8 e 3,0% de gordura, o que leva aos seguintes valores de BHC total em termos de gordura do leite: 0,50, 0,36 e 0,27 mg/kg.

Com relação ao p,p'-DDE a situação é menos crítica, além de os níveis encontrados serem menores, o limite estabelecido é maior: 0,05 mg/kg de DDT, DDD e DDE, isoladamente ou associados, na massa total do leite. Este limite esteve muito longe de ser alcançado por qualquer das amostras analisadas.

O fato de este método, como qualquer outro que coloque dieltrin e endrin em contato com ácido sulfúrico concentrado, não permitir a detecção destes pesticidas não constitui inconveniente à sua aplicação, sobretudo como método de triagem. Isto porque o principal contaminante do leite conforme os resultados encontrados e os únicos trabalhos até agora divulgados^{9,10} é o BHC (quatro dos seus isômeros). Além deste apenas DDT foi encontrado, em qualidades bem menores e representado sobretudo por p,p'-DDE enquanto p,p'-DDD, o,p'-DDT e p,p'-DDT, quando presentes, ocorrem a nível de traço.

A metodologia aqui testada mostrou-se, portanto, estar entre as mais rápidas, sensíveis e econômicas até agora divulgadas, sendo sua execução bastante simples, desde que sejam seguidas as recomendações de seus autores e ainda as incluídas no item 3.5 que esclarecem algumas etapas da técnica.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq — Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico — pela concessão de bolsa de Iniciação Científica a Mirabel Cerqueira e de Pesquisador a Aerovaldo Del'Acqua.

A U.S. Environmental Protection Agency-EPA, Health Effects Research Laboratory pelo fornecimento de padrões de pesticidas.

DEL'ACQUA, A. *et alii.* — Rapid and economical determination of organochlorine pesticides in milk. *Ecl. Quím.*, São Paulo, 7: 49-54, 1982.

ABSTRACT: A method for the analysis of residues of organochlorine pesticides in milk by means of gas chromatography which would be adequate for technique and economy reality of Brazil, was chosen from among those found in the literature. This method was applied using fourteen samples of milk with a wide variation of fat level and proved to be fast, economical, simple and sensitive in attaining the desired objective.

KEY—WORDS: Residues in food; organochlorine pesticide; milk; gas chromatography.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS — *Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists*, 12nd ed. Washington, A.O.A.C., 1975, p. 523.
2. MILLS, P.A. — *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 1961, 44, 171.
3. ONLEY, J.H. — *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 1964, 47, 317.
4. MAUNDER, M.J.F.; EGAN, H.; GODLY, E.W.; HAMMOND, E.W.; ROBURN, J.; THONSON, J. *Analyst*, 1964, 89, 168.
5. GABICA, J.; WATSON, M.; BENSOM, W.W. — *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 1974, 57, 173.
6. VEIEROV, D.; AHARONZON, N. — *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 1980, 63, 532.
7. SCHECHTER, M.S.; POGORELSKIN, M.A.; HALLER, H.L. — *Ind. Eng. Chem. Anal. Ed.*, 1947, 19, 51.
8. KAPOOR, S.K.; CHAWLA, R.P.; KALRA, R.L. — *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, 1981, 64, 14.
9. ALMEIDA, M.E.W.; BARRETO, H.H.C. — *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 1971, 31, 13.
10. LARA, W.H.; BARRETO, H.H.C.; INOMATA, O.N.K. — *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 1980, 40, 65.
11. VOGEL'S *Textbook of practical organic chemistry*, 4th ed., Longman, London and New York, 1978, p. 267.
12. ALBERT, L.; REYES, R. — *Rev. Soc. Quím. Mex.* 1978, 22, 65.