

PESQUISA DE RESÍDUOS DE PESTICIDAS ORGANOCORADOS NO LEITE
DISTRIBUÍDO À POPULAÇÃO DE FORTALEZA(CE.).

LÚCIA DE FÁTIMA PEREIRA ARAÚJO

DISSERTAÇÃO SUBMETIDA À COORDENAÇÃO DO
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, COMO
REQUISITO PARCIAL PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE
UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

Fortaleza, 1984

Esta dissertação foi submetida como parte dos requisitos necessários à obtenção do Grau de Mestre em Tecnologia de Alimentos, outorgado pela Universidade Federal do Ceará, e encontra-se à disposição dos interessados na Biblioteca Central da referida Universidade.

A citação de qualquer trecho desta dissertação é permitida, desde que seja feita de conformidade com as normas da ética científica.

LÚCIA DE FÁTIMA PEREIRA ARAÚJO

DISSERTAÇÃO APROVADA EM

29 / 08 / 84

Prof. Jorge Fernando Fuentes Zapata, PH.D.
Orientador

MEMBROS DO COMITÊ

Prof. Geraldo Arraes Maia

Ph.D.

Prof. Maria Angela Thomaz Barroso

Ph.D.

Prof. Carlos Brunet Martins

Ph.D.

Prof. Afrânio Anagão Craveiro

Ph.D.

Ao

PAULO,

FELIPE,

DEBORAH e

ELAINE

D E D I C O

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais pela base de todo o meu trabalho.

À todos da família pela compreensão nas horas troubadas do nosso feliz convívio.

Ao professor JORGE FERNANDO FUENTES ZAPATA, pelo estímulo, confiança e orientação.

À Superintendência do Desenvolvimento do Estado do Ceará (SUDEC), e em particular ao professor ANTÔNIO RENATO LIMA ARAGÃO - Diretor do Departamento de Recursos Naturais da SUDEC, pela oportunidade e ajuda oferecida.

À Coordenação do Curso de Mestrado em Tecnologia de Alimentos, na pessoa do professor GERALDO ARRAES MAIA, pelo apoio amigo.

Ao professor CARLOS BRUNET MARTINS, pelo estímulo e amizade.

Ao professor AFRÂNIO ARAGÃO CRAVEIRO, pelas valiosas críticas que contribuíram para elevar o nível deste trabalho.

À professora MARIA ÂNGELA THOMAZ BARROSO, pela ajuda oferecida.

Aos professores, colegas e pessoal administrativo do Departamento de Tecnologia de Alimentos da U.F.C., pela amizade e valiosa colaboração.

Aos amigos do Laboratório de Análises Químicas do Departamento de Tecnologia de Alimentos, pela ajuda e alegre convívio.

À Coordenação de Aperfeiçoamento do Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

À Equipe do Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas do Instituto Adolfo Lutz, pelos ensinamentos im prescindíveis à realização deste trabalho.

À U.S. Environmental Protection Agency pelo fornecimento gratuito dos padrões.

Aos colegas do Laboratório de Análises de Água da SUDEC, pelo apoio.

Ao colega ANTONIO JOSÉ DUARTE DE MENEZES, pela ajuda na organização deste trabalho.

À todos aqueles que direta ou indiretamente colaboraram para o êxito de nosso esforço durante o curso

SUMÁRIO

	Página
<u>LISTA DE TABELAS</u>	viii
<u>LISTA DE FIGURAS</u>	ix
<u>RESUMO</u>	xi
<u>ABSTRACT</u>	xii
1 - <u>INTRODUÇÃO</u>	1
2 - <u>REVISÃO DE LITERATURA</u>	3
2.1 - <u>Histórico do uso de pesticidas</u>	3
2.2 - <u>Importância e periculosidade dos pesticidas</u>	4
2.3 - <u>Classificação dos pesticidas</u>	7
2.4 - <u>Estrutura e propriedades dos pesticidas organo clorados</u>	8
2.5 - <u>Metabolismo dos pesticidas</u>	12
2.6 - <u>Contaminação com pesticidas</u>	16
2.7 - <u>Importância dos resíduos de pesticidas em ali mentos</u>	20
2.8 - <u>Métodos analíticos para determinação de resi duos de pesticidas</u>	26
3 - <u>MATERIAL E MÉTODO</u>	30
3.1 - <u>Amostras</u>	30
3.2 - <u>Método</u>	30
3.2.1 - <u>Padronização das condições analíticas</u>	31
3.2.1.1 - <u>Descontaminação da vidraria</u>	31
3.2.1.2 - <u>Tratamento dado aos reagentes</u>	31
3.2.1.3 - <u>Otimização das variáveis cromatográficas</u>	32
3.2.2 - <u>Análise de resíduos de pesticidas organoclo rados em leite</u>	34
4 - <u>RESULTADOS</u>	38

	Página
4.1 - <u>Padronização das condições analíticas</u>	38
4.1.1 - Tratamento dado aos reagentes	38
4.1.2 - Curva de calibração do rotâmetro	38
4.1.3 - Linearidade do detector	38
4.2 - <u>Resultados da determinação de resíduos de pes- tícid_{as} na gordura do leite</u>	44
5 - <u>DISCUSSÃO</u>	46
6 - <u>CONCLUSÕES</u>	53
7 - <u>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</u>	54
8 - <u>ANEXOS</u>	62

LISTA DE TABELAS

TABELA		PÁGINA
1	Valores médios de resíduos de HCH total encontrados em alimentos.....	21
2	Tolerância máxima em ppm para resíduos de pesticidas em alguns alimentos, segundo o Codex Alimentarius, a E.P.A. e a Câmara Técnica de Alimentos.....	23
3	Recuperação obtida para alguns pesticidas na coluna de Florisil.....	40
4	Níveis residuais de pesticidas organoclorados, no período de setembro de 1983 a janeiro de 1984, no leite das usinas estudadas em Fortaleza(Ce.), expressos em mg/kg de gordura do leite.....	44

LISTA DE FIGURAS

FIGURA		PÁGINA
1	Quantidade estimada de DDT (ppm) no ambiente.....	10
2	Configuração estrutural de alguns pesticidas organoclorados.....	11
3	Alguns metabólitos do DDT.....	14
4	Possíveis vias de distribuição em mamíferos, dos pesticidas ingeridos como resíduos em alimentos.....	17
5	Cromatograma obtido da alíquota de n-hexano concentrado na razão de 300:3.....	39
6	Cromatograma obtido da água utilizada neste estudo (linha pontilhada) e cromatograma de uma mistura de padrões (linha cheia).	41
7	Curva de calibração do rotâmetro.....	42
8	Curva de linearidade do detector obtida para alguns pesticidas organoclorados....	43
9	Cromatograma de três PCB's (Aroclor 1221, 1232 e 1242) em coluna de 1,5% de OV-17/1,95% QF-1, nas seguintes condições: Temperatura da coluna: 200°C; fluxo do gás de arraste: 60ml/min; detector ³ H; atenuação 10x16. A linha pontilhada mostra uma	

FIGURA

PÁGINA

	mistura de pesticidas organoclorados em concentrações de acordo com a figura	47
10	Cromatograma obtido do branco da análise (linha pontilhada) e cromatograma de uma mistura de padrões (linha cheia)	49
11	Cromatograma obtido para o aldrin	63
12	Cromatograma obtido para uma mistura de seis padrões	64
13	Cromatograma obtido para uma mistura de padrões, δ -HCH, dieldrin e endrin, nas mesmas condições descritas na FIGURA 12 ..	65

RESUMO

A pesquisa de resíduos de pesticidas organoclorados no leite distribuído à população de Fortaleza, deveu-se à falta de quaisquer dados relativos a este tipo de contaminação nos nossos alimentos e em especial no leite.

Foram coletadas cinco amostras das quatro usinas leiteiras distribuidoras em Fortaleza, no período de setembro de 1983 a janeiro de 1984, perfazendo um total de vinte amostras.

O método de análise empregado foi aquele descrito no AOAC, com algumas modificações e que constou de: extração da gordura do leite; extração dos pesticidas da gordura; purificação e concentração dos extratos.

A identificação foi feita em cromatógrafo de gás e equipado com detector de captura de elétrons com fonte de ^{63}Ni , com auxílio de padrões fornecidos pela Environmental Protection Agency dos Estados Unidos. A confirmação dos resultados foi obtida pela utilização de duas colunas diferentes.

O nível de contaminação por resíduos de pesticidas organoclorados no leite distribuído à população de Fortaleza (Ce), no período deste estudo, em geral, mostrou-se baixo. Este resultado pode dever-se ao prolongado período de estiaagem e seca no nordeste, que caracterizou os últimos anos, ocasionando uma diminuição do uso de pesticidas nas lavouras.

No início do período de amostragem, o HCH apresentou níveis residuais no leite, ao redor do limite de tolerância, tendo sido observado um declínio na sua concentração através do período de análise. O DDT e dieldrin, mostraram valores abaixo do limite, durante toda a época de amostragem.

ABSTRACT

This study was to measure organochlorine pesticide residues in bovine milk in Fortaleza, Ce., in Northeast Brazil.

The material analyzed was fresh, pasteurized, 3.2% fat milk, purchased in one liter polyethylene containers in a local food market. Milk samples were collected once a month from september, 1983 to january, 1984 from four different dairy plants.

BHC, DDT and dieldrin residues were analyzed as described in A.O.A.C. (1980), with slight modifications to meet local laboratory conditions. Pesticide identification and quantitation were by a gas-liquid chromatograph equipped with an electron capture detector. Two different columns for organochlorine substances were used for both the samples and the standards. Pesticide standards were provided by the U.S. Environmental Protection Agency.

Organochlorine residue levels in the milk samples were relatively low. DDT and dieldrin levels were below maximum acceptable limits for this type of food. BHC showed levels near the limit at the beginning of the experimental period. However, these values decreased near the end of the sampling period.

The results suggest that the low level of pesticide contamination might be associated with reduced agricultural activities in the region provoked by a five-year drought from about 1979 to 1984.

1 - INTRODUÇÃO

Pesticida é toda substância ou mistura de substâncias destinada a prevenir a ação ou destruir direta ou indiretamente, insetos, ácaros, roedores, fungos, nematóides, ervas daninhas, bactérias e outras formas de vida animal ou vegetal, prejudiciais à lavoura, à pecuária, seus produtos e outras matérias primas alimentares⁵².

A descoberta de um grande número de pesticidas e a sua aplicação na agricultura, tem sido benéfica, pois tem proporcionado uma melhoria na qualidade e um aumento na produção de alimentos. Por outro lado, o uso indiscriminado e inadequado dessas substâncias químicas, tem trazido sérios problemas de contaminação de alimentos principalmente pelos organoclorados, que na sua maioria são persistentes e acumulativos. Uma vez aplicados na lavoura, há a deposição em folhas, frutos e grãos onde, por ação de fatores climáticos, ocorre a formação de resíduos. Estes, presentes nas forragens e rações, são veiculados para a carne, leite, ovos, constituindo os chamados "resíduos não intencionais" presentes nos alimentos.

"Resíduo de Pesticida" refere-se não só a qualquer remanescente de um ou mais pesticidas, mas também de seus derivados. Um derivado ou metabólito é uma molécula de pesticida alterada, que pode ser mais tóxica ou menos tóxica do que o composto original e que resulta de reações metabólicas na planta ou no animal, ou de reações de decomposição (por luz ultravioleta, oxidação e outros fatores).

Uma vez que no organismo animal, os pesticidas organoclorados se acumulam no tecido adiposo, o homem contamina-se gradativamente ao se alimentar de produtos contendo estas substâncias, podendo o efeito destas, surgir na geração seguinte, transmitido pelo leite materno.

Nos últimos anos, o controle do nível residual de

pesticidas nos alimentos, tem merecido uma atenção especial por parte de pesquisadores e legisladores.

No Nordeste Brasileiro, assolado por grandes estiagens, são bastante utilizados para a alimentação do gado leiteiro, concentrados à base de torta de algodão, restos de cultura, como palha de arroz, de milho, cana-de-açúcar e a própria capoeira do algodão. Em todas essas culturas ainda há a utilização legal de alguns pesticidas organoclorados⁵².

Por ocasião da 1ª Reunião do Grupo Estadual de Defensivos Agrícolas (GEDA/CE), foi demonstrada uma preocupação por parte dos componentes do grupo, quanto a utilização de Endrex em culturas de milho e algodão, pelo fato das mesmas servirem de pastagem na alimentação do gado bovino¹³.

A carência de quaisquer dados relativos à presença de resíduos de pesticidas organoclorados nos nossos alimentos em especial no leite, nos levou à necessidade desta investigação.

O presente trabalho teve como objetivos principais: 1) Detectar a presença de resíduos de pesticidas organoclorados no leite pasteurizado distribuído à população de Fortaleza; 2) Relacionar os níveis de resíduos encontrados, com a época de produção e a procedência do leite; 3) Verificar a periculosidade dos níveis encontrados, dando enfoque à proteção do consumidor e, por fim, iniciar este tipo de pesquisa no nosso estado, até então completamente carente de quaisquer informação nesta área.

2 - REVISÃO DE LITERATURA

2.1 - Histórico do Uso de Pesticidas

O costume de usar substâncias químicas para controlar insetos e assim aumentar a produção agrícola, tem sido praticado pelo homem desde os tempos mais antigos. Os chineses já usavam arsênico para controle de insetos, cerca de 900 A. D.. Entretanto, o mundo ocidental só veio a utilizá-lo por volta do ano de 1660. Na mesma época, o Novo Mundo descobriu as propriedades tóxicas da nicotina, utilizando o tabaco no controle de insetos⁵⁶.

No período pós-guerra a indústria de pesticidas organossintéticos desenvolveu-se em ritmo acelerado.

A descoberta das propriedades inseticidas do DDT (diclorodifeniltricloroetano), levou Paul Muller, pesquisador da companhia suíça Geigy, a ser laureado com o Prêmio Nobel de fisiologia e medicina, em 1948, tal foi o impacto inicial causado por estes produtos, tanto na agricultura, como na saúde pública⁴⁵.

PASCHOAL⁴⁵, divide o uso de pesticidas no mundo, inclusive o Brasil em dois períodos: o período pré-guerra (antes de 1939) e o período pós-guerra (após 1939).

Antes de 1939, a maioria dos inseticidas usados nas lavouras, era constituída de compostos inorgânicos e de algumas substâncias extraídas de plantas.

O ano de 1939 marcou uma brusca transição na metodologia do controle de pragas, com o início da utilização dos compostos organossintéticos.

Em 1941 e 1942, pesquisadores franceses e ingleses descobriram quase que simultaneamente, as propriedades inseticidas do HCH (hexaclorociclohexano).

No final da década de 40, os alemães introduziram os

compostos organofosforados e em meados de 1956, foram lançados no mercado, os carbamatos⁴⁵.

No Brasil, o início da era dos compostos organossintéticos, pode ser fixada em fins de 1943, quando o Instituto Biológico, da Secretaria de Agricultura do Estado de São Paulo, recebeu as primeiras amostras de DDT, com o nome comercial de Gesarol⁴⁵.

2.2 - Importância e Periculosidade dos Pesticidas

O homem na constante busca de um melhor padrão de vida, tem sido praticamente obrigado a conviver com os pesticidas, uma vez que tais substâncias químicas protegem as culturas, diminuindo as perdas e aumentando a oferta de alimentos. Elas controlam doenças e proporcionam um ambiente agradável evitando os mosquitos pestilentos e dando um maior valor estético com relvas e arbustos bem cuidados.

As pragas destroem mais de um quinto do alimento humano durante o crescimento, colheita e armazenamento dos produtos agrícolas. As perdas são bem maiores para os países em desenvolvimento. Na América Latina, por exemplo, tais perdas podem atingir 40% de tudo que é produzido²⁷.

GIANNOTTI et al.²², registraram dados de perdas para pragas de diferentes culturas no Brasil. A broca do café, chegou a causar prejuízos no período de 1947 e 1948. Os mesmos autores citaram que o pulgão do algodoeiro, podia produzir quebras de até 43% na produção; a lagarta da espiga do milho, de 17%; o pulgão da batatinha, de 32%; o tripses do prateamento do amendoim, de 30%; a broca da figueira, de 20 a 30% e o caruncho do milho de 62%.

PASCHOAL⁴⁵, afirmou que se fosse abolido o uso de todos os inseticidas, herbicidas, fungicidas, rodenticidas, etc., na agricultura, as perdas devidas à pragas e patógenos seriam muito grandes, a ponto de agravar o problema da fome e da subnutrição no mundo.

De acordo com PASCHOAL⁴⁵, os insetos causam prejuízos em escala global da ordem de 21 bilhões de dólares anualmente. Ratos, insetos e fungos, destroem anualmente 33 milhões de toneladas de alimentos em todo o mundo, o suficiente para alimentar mais de 100 milhões de pessoas.

No Brasil, as condições climáticas exigem o emprego mais constante de uma série de pesticidas. Cerca de trezentos milhões de formigueiros ativos, têm que ser combatidos diariamente, afóra uma série de pragas não comuns em países de clima temperado⁵⁰.

A introdução do DDT, durante a 2ª Guerra Mundial, para o controle de insetos e aracnídeos, vetores de doenças infecciosas, tornou possível o controle de doenças que até então desafiavam todos os esforços práticos do homem¹⁷.

Dados da OMS (Organização Mundial de Saúde), indicam que o controle de muitos dos mais importantes vetores de doenças humanas é ainda, quase que inteiramente, dependente de inseticidas¹⁷.

A malária já afetou mais de 100 milhões de pessoas em todo o mundo. Com o uso de pesticidas a média anual de mortes pela malária, foi reduzida de 6 milhões em 1939 para 2,5 milhões nos dias de hoje. Progressos semelhantes foram feitos no controle de outras doenças, como a febre amarela, doença do sono, doença de Chagas, etc.²⁷.

No nosso país, os órgãos de saúde pública permitem o uso de produtos como o DDT (contra mosquitos da malária), o HCH (contra o percevejo da doença de Chagas) e mais recentemente o malathion contra o mosquito da "encefalite"⁸.

Outros benefícios que acompanham o uso dos pesticidas, têm refletido na economia nacional, na forma de uma diminuição do prejuízo sofrido, devido à pragas e doenças nas culturas alimentares e pela redução do custo em mão-de-obra, uma vez que o uso de pesticidas pode substituir o trabalho manual de muitos homens.

Entretanto, estes pesticidas como venenos que são, utilizados para combater seres vivos, também são danosos para o homem, acarretando problemas de contaminação ambiental,

de saúde ocupacional e de resíduos em alimentos.

ASTOLFI⁸, tem definido tais produtos como "Venenos Úteis". "Venenos" naquilo que representam em maior ou menor grau, um risco de saúde; "úteis", pelo serviço que prestam ao homem na luta contra as pragas perniciosas para a saúde e para a agricultura, na dupla tarefa de controlar enfermidades endêmicas vetorizadas por animais transmissores ou de predadores e com seu efeito de assegurar uma produção maior e melhor de alimentos, e outros produtos em benefícios da sobrevivência e bem estar das populações.

A aplicação dos pesticidas na agricultura, pode acarretar problemas de intoxicações agudas nos trabalhadores rurais que manipulam estas substâncias tóxicas, e que em geral não acompanham as recomendações contidas nos rótulos dos produtos. Esse tipo de utilização tem representado também a maior fonte do problema de poluição ambiental por pesticidas. O grupo dos organoclorados, tem sido em sua maioria o principal responsável por este tipo de contaminação³.

Testes em várias espécies de animais de laboratório sugeriram que o DDT, pode ser um carcinogênico potencial e mostraram que a exposição ao DDT, clordane e outros pesticidas organoclorados, estimulou a atividade de enzimas metabolizantes de drogas localizadas nos microsossomos do fígado. Experimentalmente este efeito foi mostrado por um encurtamento do tempo de efeito de barbitúricos, em resposta a uma dosagem padrão¹⁷.

Para BARNES¹¹, a possibilidade de que resíduos de pesticidas presentes em alimentos possam aumentar o risco de aparecimento de tumores malignos no homem, tem sido sugerida, devido a alguns pesticidas como aramita, aminotriazol, tiuréia, DDT e dieldrin, sob determinadas circunstâncias terem acarretado o aparecimento de tumores em animais de laboratório. Assim é necessário estudar detalhadamente o modo de ação dos pesticidas e verificar com precisão, a presença ou ausência de riscos carcinogênicos. Entretanto, BARNES¹¹ declara ainda que a segurança para o homem não melhora com manutenção apenas de suspeitas remotas de ação cancero

rígida direta ou indireta de alguns produtos altamente valiosos como os defensivos agrícolas.

Os alimentos têm sido contaminados por via direta, através de pulverizações durante qualquer fase de produção, transporte ou armazenamento, ou por via indireta através de forragens e rações contaminadas e ingeridas pelos animais, afetando a carne, leite, gorduras, manteiga, patês, queijos, etc. O arraste dos pesticidas pelas chuvas, contaminando os animais aquáticos, principalmente os peixes; a rotação de culturas em que o solo contendo o remanescente de uma aplicação anterior passa o mesmo para as novas culturas; o uso inadequado ou a contaminação ambiental, são outras fontes de contaminação dos alimentos por estes compostos^{32,19,38,27}.

ALMEIDA³, analisando os aspectos toxicológicos dos pesticidas, afirmou que a venda livre de todos os pesticidas agrícolas, qualquer que seja sua toxicidade permitia a aquisição de produtos altamente tóxicos ou persistentes e seu uso indevido, desnecessário e excessivo. Como consequência, podiam ocorrer casos graves de envenenamentos humanos ou de animais domésticos, ou contaminação ambiental desnecessária, ou ainda persistência de resíduos em alimentos acima dos limites de tolerância.

Atualmente, o Brasil procura disciplinar o uso de pesticidas, através do Receituário Agrônomo, criado pela Portaria nº 007/81 da Secretaria de Defesa Sanitária Vegetal do Ministério da Agricultura. Por ela, todos os pesticidas classificados como altamente tóxicos (Classe I) e medianamente tóxicos (Classe II), serão comercializados mediante receita do agrônomo, bem como o uso de substâncias controladas como o DDT, aldrin, lindane e heptacloro⁵⁰.

2.3 - Classificação dos Pesticidas

São vários os critérios utilizados para classificar os pesticidas; substâncias que abrangem um grande número

ro de compostos. São cerca de 900 substâncias, denominadas princípios ativos, que são comercializados em cerca de 4.000 formulações diferentes^{32,27}.

Levando-se em consideração a ação desejada, eles são classificados como inseticidas, fungicidas, herbicidas, nematocidas, etc. Se considerarmos a Dose Letal 50 (DL50), os princípios ativos com suas diferentes formulações podem ser classificados em: altamente tóxico (Classe I); medianamente tóxicos (Classe II); pouco tóxicos (Classe III) e praticamente não tóxicos (Classe IV)⁵⁰.

Quanto à estrutura química, os pesticidas têm sido classificados em organoclorados, organofosforados, carbamatos, formamidas, tiocianatos, nitrofenóis, diazinas, triazinas, etc.

A maioria dos pesticidas responsáveis pela poluição ambiental, pertence ao grupo dos organoclorados, enquanto que os relacionados com os acidentes fatais, são principalmente os organofosforados e os arsenicais³.

LARA et al.³⁶, se referem aos programas específicos sobre contaminação de alimentos, organizados a nível internacional. Nestes programas foram selecionados três grupos de contaminantes a serem pesquisados nos alimentos periodicamente: pesticidas, metais (cádmio e chumbo) e aflatoxinas. Entre os pesticidas foi recomendada a investigação dos resíduos de organoclorados, dado a sua persistência e seu uso continuado.

2.4 - Estruturas e Propriedades dos Pesticidas Organoclorados

Os organoclorados merecem atenção especial, dada a sua difícil degradação e efeitos acumulativos.

São hidrocarbonetos clorados com características associadas às poucas possibilidades de reação que podem sofrer, pois a eliminação do cloro e oxidação só se realizam a nível enzimático. Daí serem persistentes e tal propriedade os tor

na poluentes ambientais^{32,27}.

São poucos solúveis em água. Entretanto, apresentam alta solubilidade em gorduras, o que determina a sua tendência de se acumular nos tecidos adiposos dos peixes, aves e mamíferos.

O homem como último integrante na cadeia biológica, tenderá a receber as maiores quantidades de resíduos acumulados a partir dos organismos planctônicos e larvas, como pode ser observado através da FIGURA 1⁶⁰.

SPENCER⁵¹, afirmou que os inseticidas organoclorados constituem uma família de compostos do ponto de vista químico, pois eles apresentam toxicidade e comportamento no meio ambiente, diferentes.

Por exemplo: o endrin é 100 vezes mais tóxico para os mamíferos, que o metoxicloro. Os mesmos peixes que no prazo de 30 dias, metabolizam apenas 50% do DDT ingerido, conseguem eliminar ou metabolizar totalmente o lindane (γ-HCH) em dois dias, e o dieldrin em duas semanas.

Entre os fatores que influenciam o armazenamento dos inseticidas organoclorados, no organismo animal, destacam-se: as características estruturais do próprio composto, a intensidade e a duração da exposição, a eficiência da absorção, a espécie animal, a idade, o sexo, o estado de nutrição e a integridade dos órgãos, especialmente do fígado e dos rins⁴.

São organoclorados os compostos do tipo DDT - diclorodifeniltricloroetano, do HCH - hexaclorociclohexano e dos ciclodienos clorados como o aldrin, dieldrin e endrin (FIGURA 2)⁵⁴.

O HCH também conhecido como BHC, é uma mistura de isômeros e o primeiro pesquisador a reconhecer a existência de dois isômeros do HCH, foi Meunier. Posteriormente Van der Linden, em 1912, provou a existência de mais dois, assim sendo, esses isômeros foram denominados de alfa, beta, gama e delta, na ordem de suas descobertas. A descoberta das propriedades inseticidas do HCH, foi feita independentemente na França e Inglaterra em 1942, quando foi demonstrado o

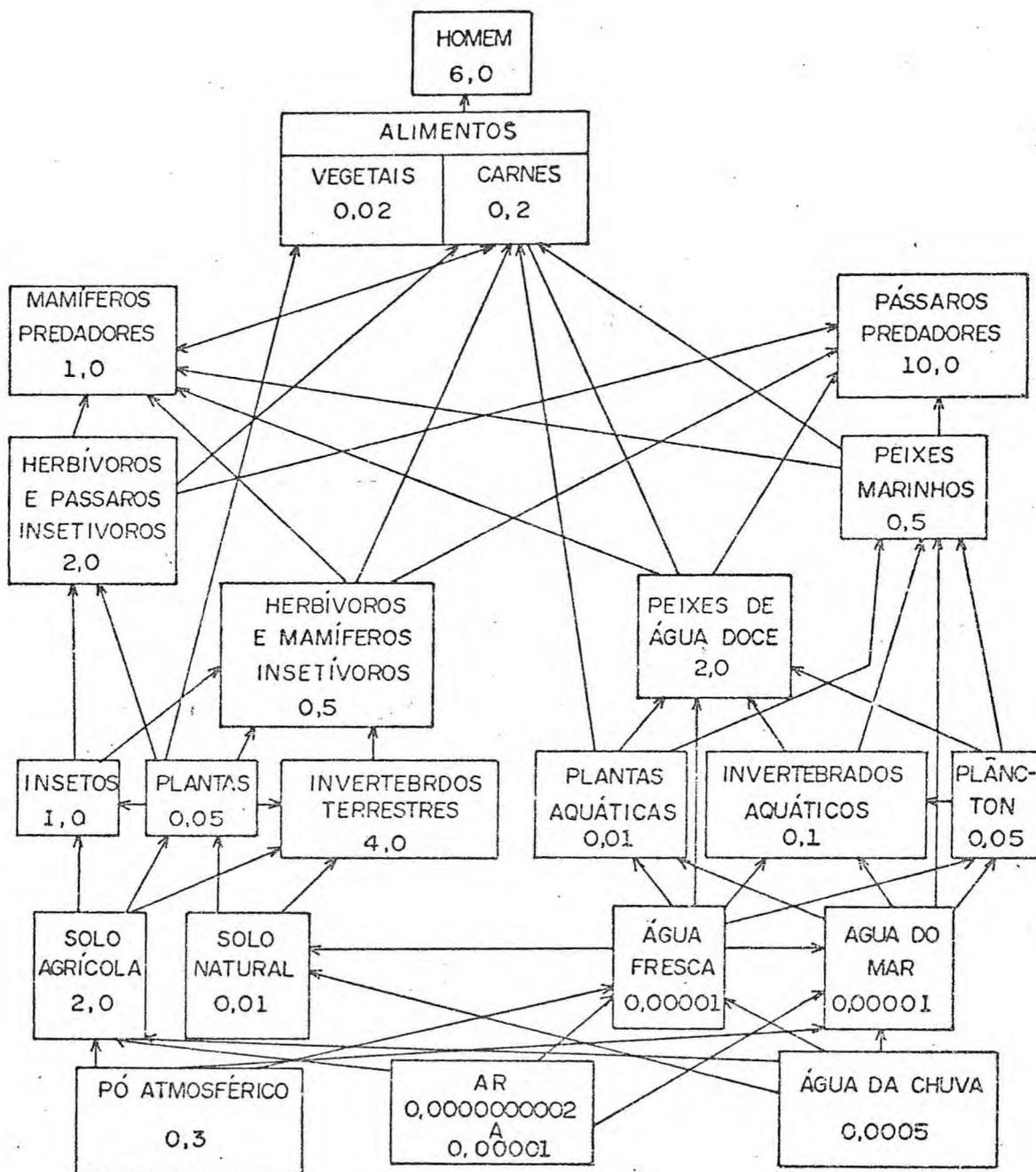
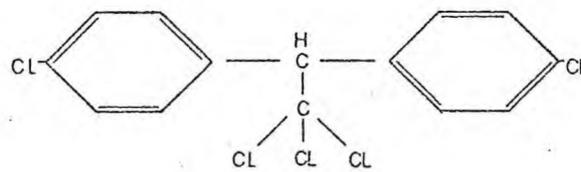
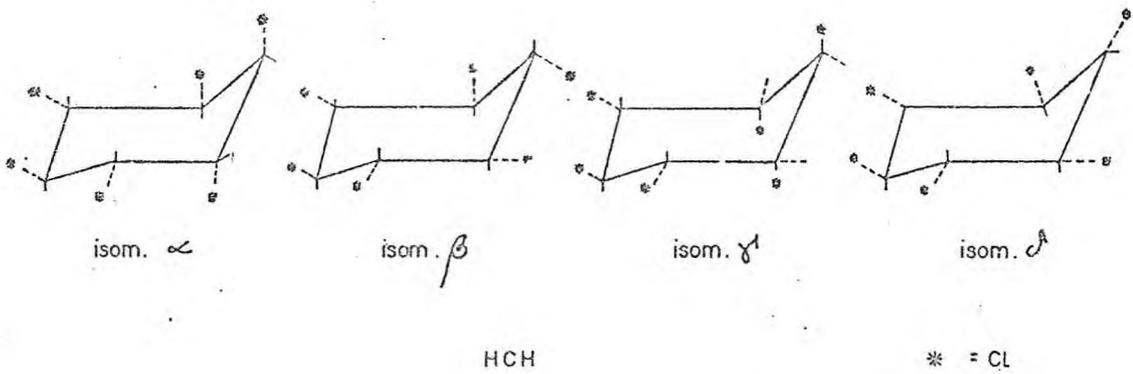
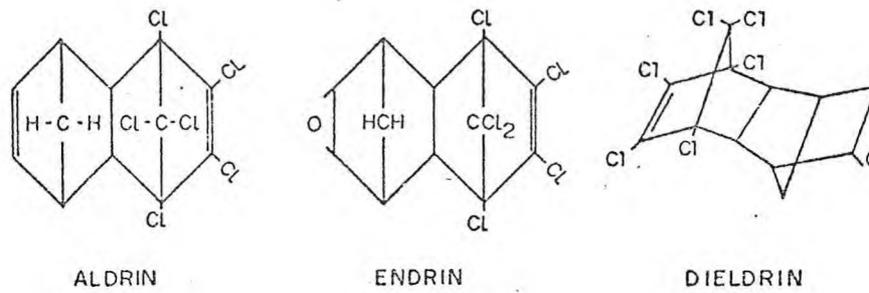


FIGURA 1 - Quantidade estimada de DDT (ppm) no ambiente⁶⁰.



pp'-DDT.

FIGURA 2 - Configuração estrutural de alguns pesticidas organoclorados.

poder ativo do isômero gama. Este isômero tornou-se importante inseticida e recebeu o nome de lindane, numa homenagem a Van der Linden, que foi seu descobridor².

Os isômeros do HCH são estáveis à luz, calor, ar e ácidos fortes, porém, na presença de álcalis, são rapidamente dehidrohalogenados².

o dieldrin é a forma "epoxi" do aldrin, não é volátil e tem uma ação residual maior do que o aldrin²².

2.5 - Metabolismo dos Pesticidas

Segundo FINLAYSON & MAC CARTHY¹⁹, o ideal seria que um inseticida depois de aplicado se degradasse completamente a produtos não tóxicos, após um intervalo razoável de tempo. A realidade, entretanto, é que o inseticida, como é aplicado na planta, desaparece dentro de poucas horas, mas seus metabólitos tóxicos podem persistir por semanas ou até meses.

BANN et al.¹⁰, estudando o destino do aldrin e dieldrin no animal, verificaram que a conversão de aldrin para dieldrin, ocorre prontamente no organismo animal e é praticamente completa. O aldrin é transformado em dieldrin e como tal é estocado nos tecidos gordurosos, independente da maneira como entrou no corpo, se por via oral ou dérmica.

Lehman citado por BANN et al.¹⁰, estimou que o lindane era estocado no organismo em um nível aproximadamente igual à concentração do consumo da dieta.

RUNSEY et al.⁴⁸, estudando a transferência do DDT através da placenta de diversos grupos de bovinos alimentados com diferentes tipos de rações, contendo resíduos de DDT, verificaram que a concentração total dos resíduos nos depósitos gordurosos dos bezerros natimortos, era semelhante à concentração encontrada nos tecidos gordurosos da mãe, mas os filhotes continham uma proporção mais alta do metabólito DDE e mais baixa de DDT.

Ainda RUNSEY et al.⁴⁸, utilizando-se do DDT marca do com ¹⁴C, verificaram que um longo período de exposição, por parte da mãe, aos resíduos de DDT promove uma igualdade dos níveis de resíduos, nos tecidos gordurosos, maternal e fetal, enquanto no caso de uma dose única, o rápido movimento do DDT no sangue para os depósitos gordurosos da mãe, evita que uma grande quantidade desta dose, atravesse a barreira placentária.

O pp'-DDT, substância ativa de ação inseticida, apresentando baixa reatividade biológica, degrada lentamente, passando a pp'-DDD e pp'-DDE, sendo este último seu principal metabólito de armazenamento no homem⁴. A FIGURA 3 apresenta alguns metabólitos do DDT.

MENZIE⁴², estudando o efeito dos pesticidas no meio ambiente, declarou que a degradação do DDT a pp'-DDE em mamíferos, já está bem estabelecida. Em pássaros esta transformação aumenta o metabolismo do estradiol, altera o metabolismo da vitamina D e causa o "fenômeno da casca fina do ovo", o que tem provocado o declínio de inúmeras espécies de aves. A análise dos tecidos e ovos dessas aves, mostrou consistentemente a presença de DDE e DDD, metabólitos do DDT.

Resíduos de DDT têm sido implicados também na falta de reprodutividade de peixes⁴².

A velocidade de degradação dos diversos pesticidas depende de muitos fatores. Condições anaeróbicas aceleram apreciavelmente a biodegradação do DDT. Temperatura e alcalinidade elevadas têm também, um marcado efeito sobre a degradação de organoclorados⁵¹.

As diferentes espécies animais variam quanto a capacidade de absorver os pesticidas, como também ao tempo de se livrar deles. Um rato comum, por exemplo, leva quatro dias e meio apenas, para se livrar dos resíduos de DDT adquiridos; um pombo requer 28 dias e entretanto, espécies de peixes, pássaros e mamíferos, demonstraram que não podem eliminar o DDT⁵¹.

O leite é a principal rota de excreção de compostos organoclorados nos mamíferos^{15,57}.

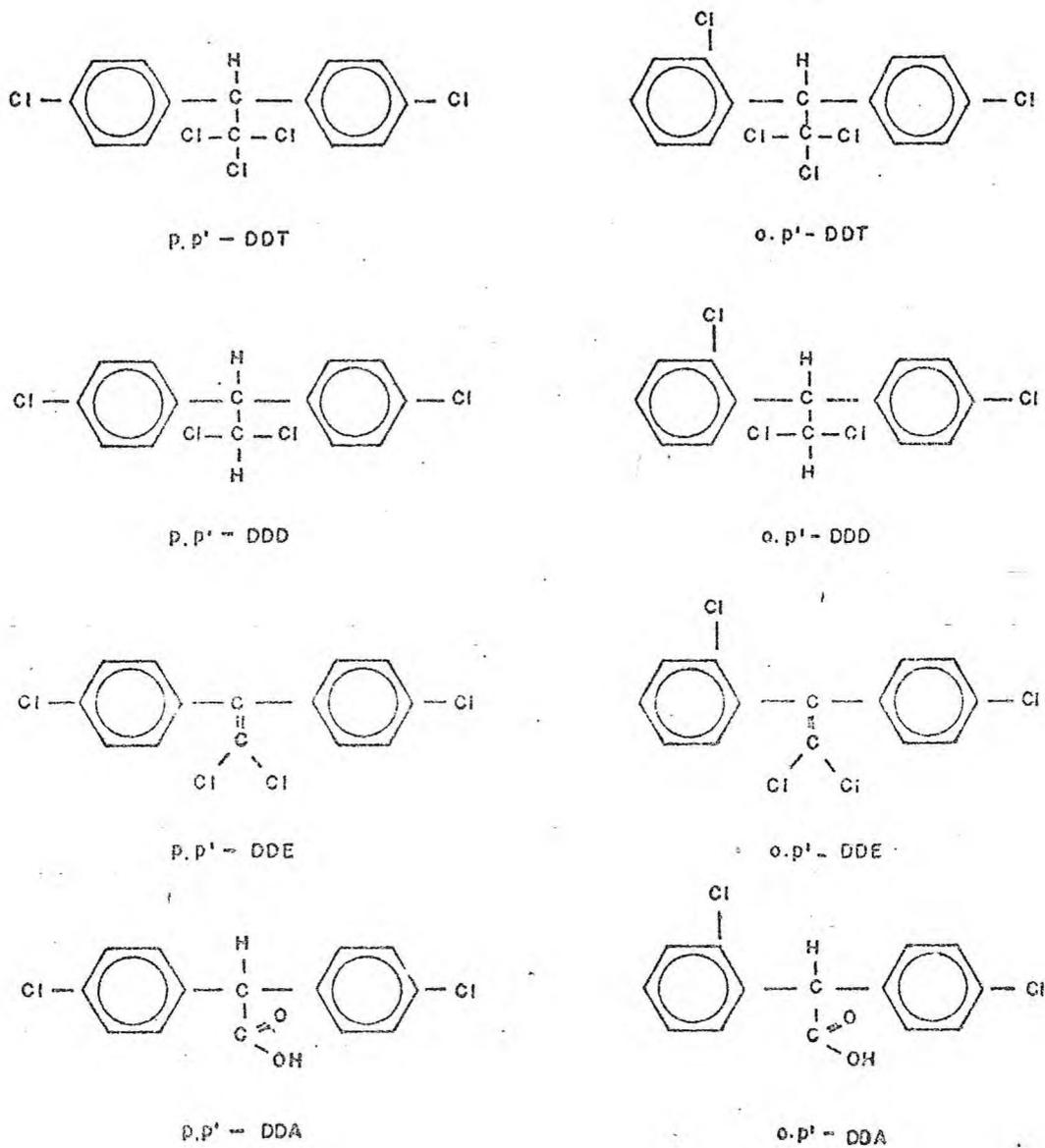


FIGURA 3 - Alguns metabólitos do DDT⁴.

WHITING et al.⁵⁷, estudando as variações da razão: dose de DDT na alimentação da vaca para concentração do pesticida no leite, observaram em todos os casos que a concentração do pesticida no leite era maior do que a prevista pela quantidade adicionada na ração, e que o principal metabólito excretado foi o DDE ou 2,2-bis(p-clorofenil-1,1-dicloroetileno) com pequenas quantidades de DDT e DDD.

PERFIRA⁴⁶, citou vários trabalhos sobre a transferência de inseticidas clorados da ração para os tecidos de aves, realizados com vários inseticidas e todos mostraram que os resíduos nos tecidos foram maiores do que os existentes na ração, indicando um acúmulo dos inseticidas no tecido gorduroso.

LICHTENSTEIN et al.³⁸, apresentaram dados relativos à persistência e metabolismo dos resíduos de DDT, lindane e aldrin, dez e quinze anos após uma simples aplicação no solo. Foi constatado uma taxa relativamente baixa de degradação de tais produtos e o cultivo neste solo foi um dos fatores que afetaram o desaparecimento destes inseticidas. Quinze anos após o tratamento, ainda persistia 10,6% de DDT; 5,8 de dieldrin (como produto de conversão do aldrin) e 0,2% do lindane. Dos metabólitos do DDT que foram detectados, o pp'-DDE foi o predominante.

Quando em contacto com o tecido vegetal, os inseticidas sofrem alterações metabólicas cujas principais vias são: oxidação, hidrólise, desidrocloração e deshalogenação redutiva, além de outras menores⁴².

Os microorganismos do rumen de bovinos degradam op'-DDT e pp'-DDT, isômeros presentes no DDT técnico, a seus correspondentes análogos DDD em taxas semelhantes às observadas "in vitro", observando-se que os compostos -op' são excretados no leite de vaca, em menor quantidade^{20,31}.

WHITING et al.⁵⁸, avaliando os resíduos de DDT e seus metabólitos em tecidos de bézerros cujas mães foram submetidas a uma baixa ingestão de DDT adicionado à ração, por longo tempo, também verificaram que o DDE foi o metabólito mais concentrado no rim, fígado e gordura renal.

Segundo SPENCER⁵¹, o DDE não é tóxico para insetos, é duas a três vezes menos tóxico para pássaros e cinco a dez vezes menos tóxico para mamíferos que o DDT, composto original. Por outro lado, o DDE degrada mais lentamente que o DDT e pode, de alguma forma, ter diferentes efeitos sobre o animal que transporta o resíduo.

Os metabólitos são formados durante a estocagem e processamento de alimentos e rações. Os resíduos de organoclorados no feno, podem ser significativamente reduzidos por secagem do produto em fornos⁵¹.

Vários experimentos têm sido conduzidos para verificar o efeito do processamento e estocagem dos produtos, na redução dos resíduos de pesticidas organoclorados.

Pouca ou nenhuma mudança foi observada nos níveis de resíduos de pesticidas organoclorados, durante o processamento e estocagem de vários produtos do leite, exceto durante a produção de leite em pó^{6,30}.

A irradiação ultravioleta pode degradar certos hidrocarbonetos clorados no leite³⁰.

ARCHER⁶, verificou através de estudos sobre a estabilidade do DDT em alimentos e rações, que o calor, os efeitos catalíticos, pH e outras influências físico-químicas, produzem mudanças nos resíduos de DDT. Assim, o pesticida é removido por volatilização, lavagem, descascamento, ou é degradado para substâncias inócuas ou menos tóxicas.

Diversos autores citam o efeito do ferro e outros metais, na decomposição do DDT e de outros pesticidas¹⁸.

MAIA & BRANT⁴⁰, citam as possíveis vias de distribuição em mamíferos, dos pesticidas ingeridos como resíduos em alimentos, FIGURA 4.

2.6 - Contaminação com Pesticidas

São várias as maneiras de introduzir os pesticidas no meio ambiente, quer por via direta ou indireta. A contami

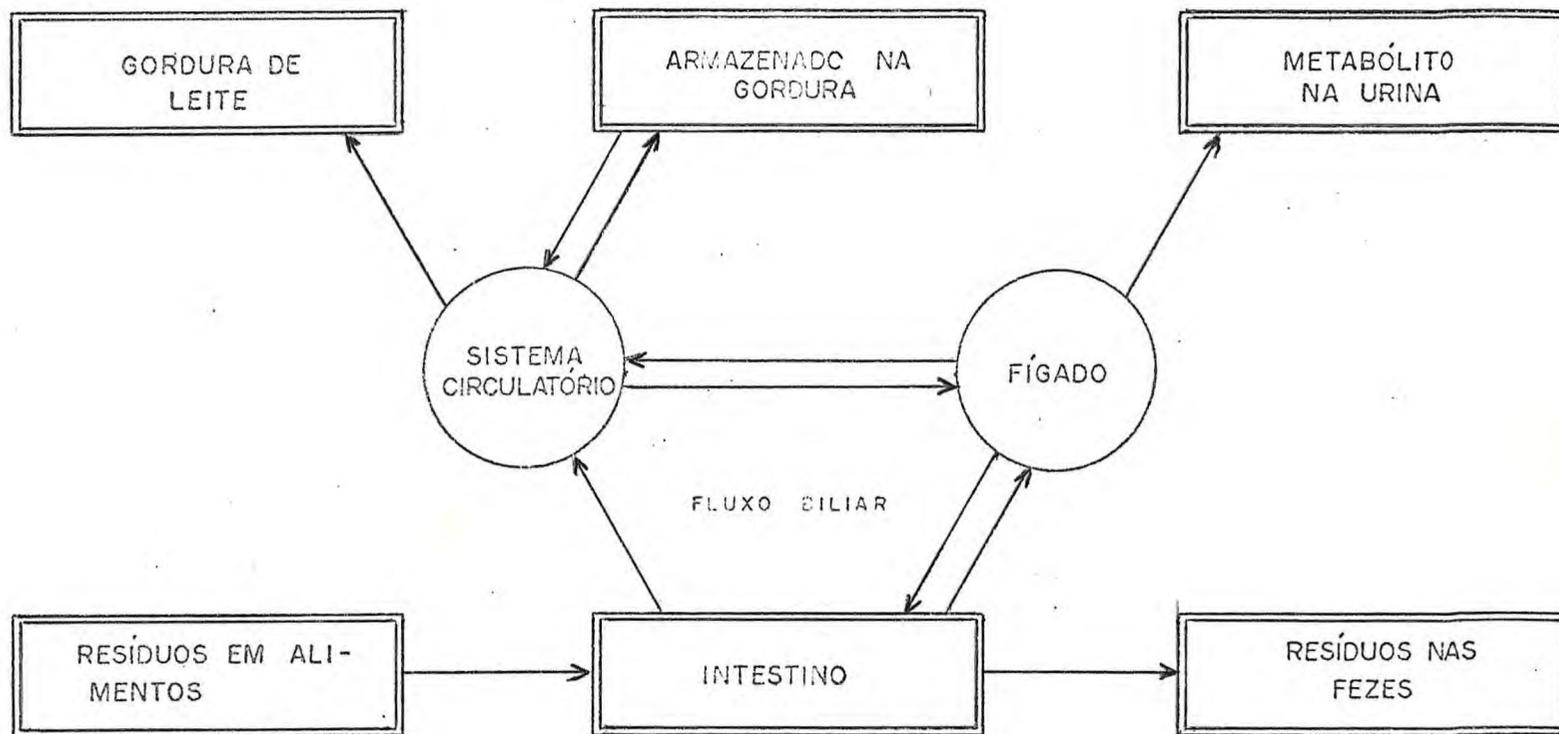


FIGURA 4 - Possíveis vias de distribuição em mamíferos dos pesticidas ingeridos como resíduos em alimentos⁴⁰.

nação direta é devida principalmente ao uso de pesticidas para combater pragas na agricultura. Desta maneira o controle de pragas florestais, de pastagens, de animais domésticos e de importância médica, aplicações no solo para controlar pragas subterrâneas, aplicações na água para combater moluscos, mosquitos, etc., são fontes diretas de contaminação ambiental.

A contaminação indireta, provém de resíduos industriais, de águas de enxurradas, correntes aéreas que podem transportar os pesticidas a consideráveis distâncias, banheiros carrapaticidas, descartes de sobra de pesticidas, lavagem de aplicadores nas águas de lagos e rios, etc.

Segundo PASCHOAL⁴⁵, não há parte da Terra onde não existam pelo menos algumas moléculas dessas substâncias tóxicas em plantas, animais, solo, água e ar.

Os pesticidas transportados por organismos vivos e plantas, escapam ao nosso controle. Por este motivo as normas regulamentadoras que estabelecem níveis de resíduos aceitáveis, cobrem estes resíduos não intencionais em leite, peixe, etc.⁵¹.

Os animais selvagens, incluindo insetos, peixes, pássaros e mamíferos que estão expostos aos defensivos agrícolas na área tratada, transportam os resíduos adquiridos para outras regiões. Um urso polar, por exemplo, pode adquirir resíduos de DDT, simplesmente se alimentando de uma foca ou um salmão que tenha viajado muitas milhas e que continha resíduo em seu corpo. Da mesma maneira, aves aquáticas que representam cerca de 80% ou mais das presas dos falcões, aninham-se no ártico, transportando resíduos do complexo DDT, adquirido no inverno ao longo do Golfo do México⁵¹.

LARA et al.³⁷, afirmaram que a principal causa da contaminação do homem por pesticidas, é a sua manipulação inadequada ou abusiva, e nesse caso, os problemas de toxicidade aguda devem recair, mais acentuada e rapidamente, sobre os encarregados da sua produção, formulação ou aplicação. Isto tem sido observado mais frequentemente em países em vias de desenvolvimento, onde as normas de controle de uso desses

compostos são menos rígidas e menos efetivas e as pessoas que os manipulam não têm informações suficientes ou adequadas.

ALMEIDA⁴, encontrou teores relativamente altos de DDT, no soro sanguíneo de pessoas sem exposição profissional a inseticidas, indicando que o DDT deveria estar sendo usado de modo excessivo ou indevido no Brasil. Por este motivo, achou de grande interesse elucidar as origens dessa contaminação, uma vez que a utilização do DDT em saúde pública, com aplicações diretas nas paredes internas dos domicílios, não parecia ser a responsável por essa contaminação.

SAXENA & SIDDIQUI⁴⁹, revelaram que os indianos transportam a mais alta carga corporal de pesticidas, embora o uso, por hectare na Índia, seja de 330g contra 1.490 no Japão. Os mesmos autores estudando resíduos de pesticidas organoclorados em leite de búfalo, de cabra e leite humano na Índia, observaram uma contaminação consideravelmente maior em leite humano, seguido pelo leite de búfalo e a menor concentração foi encontrada no leite de cabra.

O uso de inseticidas para o controle de ectoparasitas em vacas leiteiras, representa um perigo para a saúde pública, uma vez que muitos inseticidas são secretados no leite, após uma aplicação dérmica^{28,29}.

Em 1981, foram analisadas 154 amostras de leite materno em Quebec, Canadá. Foi verificado que 30% das amostras analisadas excediam o valor de 1,25mg/kg de DDT na gordura do leite, limite estabelecido pela Comissão do Codex Alimentarius para leite de vaca³⁵.

Inúmeros estudos têm sido feitos em todo o mundo, investigando os níveis de resíduos de pesticidas organoclorados em leite humano, e isto vem servindo como indicador da contaminação do meio ambiente por estas substâncias químicas^{35,49}.

O uso inadequado tem sido na maioria dos casos, a causa fundamental dos resíduos encontrados em níveis acima da tolerância estabelecida¹⁶.

Níveis tóxicos de pesticidas têm sido um problema

crescente na indústria de laticínios, devido principalmente à crescente evolução da agricultura e da tecnologia industrial⁵⁶. O leite e seus derivados, quando comparados com outros alimentos, têm a sua tolerância mais restrita para resíduos. Desta maneira um pesticida que é utilizado numa área de pasto para gado de corte, pode ser inaceitável numa área de gado leiteiro. Assim, todos os produtos utilizados em regiões próximas ao pasto de animais leiteiros, devem ser altamente controlados⁵¹.

2.7 - Importância dos Resíduos de Pesticidas em Alimentos

As propriedades indesejáveis de vários pesticidas organoclorados, como persistência, potencial carcinogênico, indução de enzimas metabolizantes de drogas, são problemas para a saúde humana e para o meio ambiente, que justificam o grande número de pesquisas, sobre o assunto, encontrado na literatura científica^{17,45}.

Estudos realizados sobre o consumo diário de pesticidas, calculado a partir da dieta total, revelaram uma distribuição que consistia de 70 - 85% de resíduos de inseticidas organoclorados, seguidos pelos organofosforados, numa faixa de 5 - 20%, 5-10% dos carbamatos e menos que 5% de herbicidas¹⁶.

Os alimentos de origem animal, que compreendem a proximadamente 25% da dieta, são as principais fontes de resíduos de pesticidas organoclorados. Na maioria dos casos, esses resíduos não provêm do uso legal ou direto, mas de exposição indireta ou do meio ambiente^{16,33,60}, (TABELA 1).

O nível de resíduos de pesticidas nos alimentos varia com a natureza do pesticida empregado, as características da planta ou animal, o tempo de aplicação, o intervalo entre esta e a colheita e o processamento³³.

O Organização Mundial de Saúde, preocupada com a presença acidental de resíduos em diversos produtos alimentí

TABELA 1 - Valores médios de resíduos de BHC total encontrados em alimentos³³.

Alimento	BHC total (ppm)
Água	0,002
Arroz	0,009
Feijão	0,035
Farinha de mandioca	0,038
Fubá	0,017
Hortaliças	0,024
Óleos	0,253
Ovos (gema)	0,025
Leite	0,032
Carne (gordura)	0,390
Queijo (gordura)	1,579

cios, recomenda aos governos membros, que procurem descobrir a fonte destas contaminações e sempre que possível, eliminá-las, substituindo os pesticidas persistentes usados, por outros de menor ação residual¹².

Muitos países desenvolvidos têm acompanhado estas recomendações substituindo os pesticidas persistentes por organofosforados e carbamatos, que melhor se enquadram na definição de "Boa Prática Agrícola", ou seja, são produtos cujo emprego correto e eficaz, considerados os riscos toxicológicos envolvidos em sua aplicação, vão produzir resíduos os menores possíveis e toxicologicamente admissíveis^{12,50,52}.

Organizações norte-americanas, como a Environmental Protection Agency (EPA) e Food and Drug Administration (FDA), internacionais, como o Codex Alimentarius (Comissão Mista FAO/OMS) e nacionais como a Câmara Técnica de Alimentos do Conselho Nacional de Saúde, têm procurado uma uniformização e um consenso científico sobre o problema de resíduos de pesticidas em alimentos, estabelecendo limite toleráveis em par

tes por milhão (ppm) para cada uma destas substâncias e para determinados tipos ou grupos de alimentos^{12,59}, (TABELA 2).

O problema chega a ser complexo, porque uma legislação internacional vigente, tem implicações tanto no aspecto de saúde pública, como também na economia do país, uma vez que poderá ameaçar o comércio internacional de matéria prima e alimentos processados.

A presença de resíduos de pesticidas organoclorados em alimentos, tem sido refletida pelos níveis plasmáticos dos mesmos nas várias populações estudadas por ALMEIDA⁴.

LARA *et al.*³⁴, estudando os níveis de HCH e DDT em peixes, camarões e ostras do litoral de Santos, Estado de São Paulo, detectaram isômeros de HCH em 84% das amostras e isômeros e metabólitos de DDT em 8% das amostras, mesmo não sendo agrícola a região escolhida para amostragem.

PEREIRA⁴⁶, estudando os níveis de inseticidas organoclorados em frangos de corte no Rio de Janeiro, alertou para os altos níveis destes pesticidas encontrados, tanto em frangos como na ração proveniente do Estado de São Paulo. Neste caso, foram sugeridas medidas sanitárias urgentes, com o fim de proteger o consumidor interno e também para adequar o produto a futuras exportações, uma vez que a maioria dos países importadores de carne, observa uma legislação com tolerâncias para resíduos de pesticidas.

Para o cálculo do teor de resíduos de um pesticida que poderá ser tolerado em alimentos, é indispensável conhecer de que se alimenta a população da região ou do país. São fundamentais as informações sobre a quantidade que um indivíduo ingere diariamente de cada substância alimentícia ou de cada grupo de alimentos. Para o cálculo desse fator, em vez de se utilizar os valores médios, é preferível que se faça uma análise estatística dos dados obtidos de um inquérito alimentar, para que se obtenha valores que representem a ingestão de alimentos de cerca de 85% da população²⁷.

Tolerância é definida como sendo a quantidade máxima de resíduo de pesticida tolerado no alimento, como decorrência de sua aplicação adequada, numa fase específica desde

TABELA 2 - Tolerância máxima em ppm para resíduos de pesticidas em alguns alimentos segundo o Codex Alimentarius, a EPA e a Câmara Técnica de Alimentos⁵⁹.

Pesticidas	Alimentos	Codex Alimentarius	EPA	Câmara Técnica de Alimentos
Aldrin	Cereais(mat.-prima)	0,02	-	zero
	Leite	0,15/gordura		
	Produtos lácteos	0,15/gordura		
	Carne	0,20/gordura		
	Frutas cítricas	0,05	0,05	
	Frutas frescas	-	-	0,10
	Milho(grão)	-	zero	-
	Amendoim	-	zero	-
	Soja	-	zero	-
	Hortaliça(tomate)	-	-	0,10
Dieldrin	Cereais	-	-	zero
	Tomate	-	0,10	-
	Hortaliças	-	-	0,10
	Milho(grão)	-	zero	-
	Soja	-	zero	-

TABELA 2 - (Continuação)

	Hortaliça	-	-	5,00
	Leite	1,25/gordura	0,05	zero
	Produtos lácteos	1,25/gordura	-	-
DDT	Carne/gordura bovina	-	7,00	5,00
	Carne/gordura suína	-	7,00	5,00
	Frutas cítricas	-	3,50	5,00
	Algodão(semente)	-	4,00	-
	Soja(forma seca)	-	1,50	-
	Amendoim	-	1,00	-
Endrin	Todos	zero	zero	zero
	Tomate	-	2,00	-
	Carne/gordura bovina	-	0,20	-
Endosulfan I e II	Carne/gordura ovina	-	0,20	-
	Carne/gordura suína	-	0,20	-
	Carne/gordura caprina	-	0,20	-
	Carne/gordura equina	-	0,20	-
	Algodão (semente)	-	1,00	1,00

TABELA 2 - (Continuação)

	Leite	0,20/gordura	-	-
	Produtos lácteos	0,20/gordura	-	-
	Carne de boi	2,00	7,00	
Lindane (γ-HCH)	Carne de porco	2,00	4,00	-
	Gordura de porco	-	4,00	
	Cereais(mat.-prima)	0,50		
	Frutas frescas	3,00	-	10,00
	Tomate	-	-	10,00
Tiabendazole (TB ₂)	Frutas cítricas	10,00	2,00	-
	Leite	-	0,10	-
	Cereais(mat.-prima)	8,00	-	-
	Frutas cítricas	4,00	-	-
	Tomate	3,00	-	18,00
Malathion	Frutas frescas	-	-	18,00
	Grãos armazenados	-	-	4,00
	Carne/gordura animal	-	4,00	4,00

a sua produção até o consumo, expressa em partes (em peso) do pesticida e/ou seus derivados por um milhão de partes (em peso) do alimento (ppm)⁵².

Cada país tem sua legislação própria e, muitas vezes as tolerâncias especificadas e para cada produto alimentício diferem de um país para outro, como também as culturas nas quais os pesticidas são aplicados²⁷.

As tolerâncias internacionais são estabelecidas pelo Codex Alimentarius Mundial, um organismo Internacional coordenado pela FAO/OMS, através do seu Comitê de Resíduos de Pesticidas em Alimentos (CCPR). Dentro deste Comitê, cada país procura defender certos níveis de tolerância de resíduos em alimentos, com base nas culturas existentes e no uso indispensável de determinados pesticidas para combater pragas locais²⁷.

A importância do estabelecimento de tolerâncias internacionais, reside em facilitar o comércio internacional de gêneros alimentícios, formando uma uniformidade de conceitos e assim, evitando as dificuldades oriundas das diferentes legislações de cada país.

2.8 - Métodos Analíticos para Determinação de Resíduos de Pesticidas.

Segundo BORGES¹², em 1955 um grupo de pesquisadores da Universidade da Califórnia, publicou o primeiro tratado sobre os procedimentos analíticos para análise de resíduos de pesticidas. Em 1962 foi iniciada a publicação do "Residue Reviews", onde numa série de monografias, foram destacados os aspectos toxicológicos, ecológicos, econômicos e outros, relacionados aos problemas e consequências do emprego de pesticidas na agricultura.

A metodologia para análise de resíduos tem se desenvolvido intensamente nos últimos anos e de acordo com ALMEIDA & ALMEIDA⁵, é quase impossível ao químico analista man

ter-se informado dos últimos avanços e ler as numerosas publicações, sendo indispensável manter um fichário atualizado .

A baixa concentração dos pesticidas nos alimentos requer métodos especiais de análise, envolvendo processos de extração do pesticida, purificação dos extratos, identificação e quantificação.

Os métodos mais antigos usavam provas biológicas (ação sobre larvas de insetos ou sobre a colinesterase) ou cromatografia em papel e em camada delgada⁵.

A cromatografia gás-líquido ou cromatografia gasosa trouxe grandes progressos para as análises de resíduos de pesticidas. Sendo uma técnica de detecção múltipla, é capaz de identificar e determinar quantitativamente resíduos de diversos pesticidas em uma só amostra.

Existe uma série de detectores utilizados em cromatografia de gás e a introdução de novos detectores vai aumentando a capacidade de detecção e sensibilidade do método⁵. Alguns detectores são universais em resposta, enquanto outros são seletivos, ou seja, respondem somente a uma classe de compostos^{14,23}.

Os detectores seletivos são os mais comumente empregados nas análises de resíduos de pesticidas. Estes detectores incluem: o detector de captura de elétrons (DCE) e o detector de ionização de chama alcalina (DICA), também chamado detector de fósforo e detector termoiônico, que são os mais largamente usados. O detector fotométrico de chama (DFC) é também um detector seletivo, bastante utilizado na análise de pesticidas²³.

A escolha correta e uma operação adequada do detector do cromatógrafo de gás, são pré-requisitos em muitos tipos de análises de resíduos de pesticidas⁹.

O detector de captura de elétrons mostra alta sensibilidade na faixa de partes por bilhão (ppb), principalmente para compostos halogenados, respondendo também a aldeídos conjugados, nitrilas, nitratos e organometálicos¹⁴. AUE⁹, afirma que apesar de ser óbvia a importância do DCE, em ou

tras áreas analíticas, este detector se sobressai e é quase sinônimo de análise de resíduos de inseticidas organoclorados.

Segundo COOK & WILSON¹⁵, as leis dos Estados Unidos, não permitiam resíduos de pesticidas organoclorados em leite, mas na maioria dos casos o que acontecia era que os resíduos não eram detectados até que a FDA, empregou a cromatografia de gás com detector de captura de elétrons. Como os resíduos passaram a ser detectados numa sensibilidade de 10^{-12} gramas, o conceito de tolerância "zero" deixou de ser prático.

A cromatografia em papel e a cromatografia em camada delgada, podem ser empregadas para a determinação semiquantitativa de resíduos, quando estes se encontram em quantidades mais elevadas.

A identificação do pesticida em cromatografia gasosa é feita com a determinação do tempo de retenção em comparação a um padrão. A utilização de colunas diferentes para a mesma amostra é um método de confirmação muito utilizado, uma vez que diferentes pesticidas podem ter o mesmo tempo de retenção na mesma coluna.

A identificação mais completa é efetuada em equipamentos de cromatografia de gás acoplado ao espectrômetro de massa. Entretanto, a utilização rotineira dessa combinação em um laboratório, é dificultada pelo elevado custo⁵.

A derivatização é um recurso que pode ser empregado quando o composto de interesse é termo-lábil ou não é volátil. Desse modo, provoca-se uma transformação química no composto desejado, fazendo com que seu derivado tenha propriedades cromatográficas desejáveis. Com a derivatização, pode-se conseguir que um determinado composto dê resposta a detectores seletivos²⁴.

De acordo com HERMANN & SEIBER²⁴, as colunas empacotadas, normalmente usadas nos cromatógrafos de gás, têm suas limitações, uma vez que podem fornecer insuficiente resolução para misturas complexas frequentemente encontradas em amostras do meio ambiente, resultando muitas vezes em atribui

buições incorretas ou superestimação dos resíduos de pesti
cidas. Estes autores afirmam que o problema pode ser supera
do com o uso de colunas capilares de alta resolução, uma
técnica pouco usada na análise de resíduos de pesticida, até
poucos anos atrás.

3 - MATERIAL E MÉTODOS

3.1 - Amostras

As amostras constaram de leite pasteurizado, comercializados em Fortaleza e oriundos de quatro usinas diferentes, que aqui foram discriminadas como usinas A, B, C e D. De cada usina foram analisadas cinco amostras coletadas em cinco meses consecutivos no período de setembro de 1983 a janeiro de 1984. As amostras de leite foram transportadas imediatamente aos laboratórios do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Ceará, onde foram prontamente analisadas.

3.2 - Método

O método de análise empregado foi aquele descrito no AOAC (Association of Official Agricultural Chemists)⁷, com algumas modificações. Neste estudo o éter de petróleo utilizado na técnica original, foi substituído por n-hexano, de acordo ao proposto por LARA et al.³⁶.

Inicialmente foi feita uma padronização das condições analíticas, para depois proceder-se a análise propriamente dita que constou de: extração da gordura do leite; extração dos pesticidas da gordura, através de uma partição com acetonitrila; purificação dos extratos em coluna de Florisil; concentração dos extratos; identificação e quantificação dos resíduos encontrados.

A identificação foi feita através da comparação dos tempos de retenção do pico de amostra com o pico do padrão, utilizando-se para isto, duas colunas diferentes.

3.2.1 - Padronização das Condições Analíticas

3.2.1.1 - Descontaminação da Vidraria

Para cada análise a limpeza da vidraria consistiu das seguintes etapas:

- Imersão de toda vidraria em solução de detergente. Para esta operação foi utilizado o detergente Extran MA-01 alcalino da Merck.

- Imersão em solução sulfocrômica para a remoção de traços orgânicos. Nesta etapa, a vidraria era mantida em contato com o agente oxidante, por algumas horas.

- Lavagem em água corrente.

- Lavagem com água destilada.

- Lavagem final com acetona.

- Secagem e armazenamento cuidadoso do material descontaminado.

3.2.1.2 - Tratamento Dado aos Reagentes

No presente trabalho, grande parte dos solventes empregados foi de grau de pureza específico para análise de resíduos de pesticidas. Particularizou-se o teste de pureza somente para n-hexano e éter etílico, verificando-se o grau de pureza dos outros reagentes empregados na análise através da preparação de um branco da amostra.

- n-hexano - Colocou-se 300ml de n-hexano Merck para a análise de resíduos, em um concentrador Kuderna-Danish e concentrou-se a 3ml, ajustando-se o volume final com evaporação sob corrente de nitrogênio. Retirou-se uma alíquota de 3µl e injetou-se no cromatógrafo nas seguintes condições:

Coluna: 1,5% OV-17 + 1,95% QF-1 em Chromosorb WHP (100 - 120mesh).

Temperatura Coluna: 192°C.
Temperatura Detector: 242°C.
Temperatura Injetor: 230°C.
Fluxo: 45ml/min.
Sensibilidade: 1×10^{-9} .
Detector de Captura de Elétrons com fonte de ^{63}Ni .
O cromatograma registrou-se com velocidade do papel de 0,2pol/min.

- Éter Etílico - Testou-se a presença de peróxido, agitando-se 10ml de éter com 1ml de uma solução acidulada, recentemente preparada, de Iodeto de Potássio a 10%. As soluções de éter etílico em hexano a serem utilizadas na análise de pesticidas foram então preparadas, misturando-se éter etílico isento de peróxido e contendo 2% de álcool etílico, com hexano em concentração de 6% e 15%.

- Florisil - Ativou-se o Florisil em mufla regulada entre 600 - 650°C por 12 horas. Colocou-se em dessecador dentro de um frasco escuro e reaqueceu-se a 130°C por cinco horas a cada dois dias. Testou-se a recuperação com padrões de concentração conhecida.

- Água - A água usada nas análises foi destilada e deionizada. Realizou-se o teste de pureza, extraíndo-se as possíveis impurezas da água em funil de separação de 2.000 ml com torneira de teflon, com 300 ml de n-hexano. Desprezou-se a fase aquosa e concentrou-se o n-hexano em concentrador Kuderna-Danish até um volume de 3 ml. Tomou-se uma alíquota de 3µl do hexano concentrado e injetou-se no cromatógrafo, nas condições citadas para o teste do n-hexano. A qualidade da água foi considerada satisfatória quando o cromatograma obtido não apresentou resposta na faixa de interesse para a determinação dos pesticidas.

3.2.1.3 - Otimização das Variáveis Cromatográficas

O aparelho utilizado neste estudo foi um cromatôgrafo de gás CG (Instrumentos Científicos C.G. Ltda., São Paulo, S.P.) modelo CG-270; equipado com detector de captura de elétrons com fonte de ^{63}Ni . As colunas usadas para a separação dos pesticidas organoclorados, adquiridas já confeccionadas, eram todas da marca CG, de vidro, com dimensões de 1,8m de comprimento e 1/8 pol. de diâmetro interno, contendo como fase estacionária 1,5% OV-17 + 1,95 QF-1 sobre chromosorb WHP de 100 - 120 mesh ou 4% SE-30 + 6% QF-1 sobre chromosorb WHP 80 -100 mesh.

O gás de arraste foi o nitrogênio ultra-puro (White Martins, S.A. Fortaleza-Ce.). Um filtro com recheio para retenção de água, CO_2 , hidrocarbonetos, etc., foi também usado na linha de entrada do gás de arraste ao cromatôgrafo.

As colunas foram estabilizadas pela passagem de uma alta vazão de gás de arraste (aproximadamente 100ml/min) durante 24 horas numa temperatura que foi aumentada gradativamente até atingir a temperatura máxima de operação.

A corrente de fundo para a fonte de ^{63}Ni foi considerada normal para valores entre 0,8 e 1,5 nanoampères. Este parâmetro foi testado periodicamente antes de se iniciar as injeções no cromatôgrafo. Leituras abaixo destes níveis foram consideradas indicativos de contaminação do detector. Em tal caso procedeu-se da seguinte maneira:

- Retirada do isolamento, desconectando-se o tubo que liga o detector à saída da coluna e à fonte de corrente.
- Retirada da tampa.
- Injeção de 10 - 20ml de tolueno pelo tubo.
- Retirada da tampa de teflon interna.
- Imersão de todo o sistema num bequer com tolueno (P.A.), mantendo-o durante 24 horas a cerca de 100°C , trocando-se o tolueno duas vezes.
- Lavagem com benzeno P.A.
- Secagem durante no mínimo quatro horas a 150°C .
- Reinstalação do conjunto, tomando-se o máximo de cuidado com a limpeza das mãos a fim de evitar contaminações.

- Curva de Calibração do Rotâmetro.

Conectou-se o medidor de bolhas graduado de 0-20ml, na saída da coluna e com o auxílio de um cronômetro foi medido o tempo em segundos para que a bolha produzida pelo fluxo de nitrogênio, percorresse o espaço delimitado entre 0 e 20.

A relação entre a escala do rotâmetro e o valor do fluxo do gás de arraste, foi feita através da fórmula abaixo:

$$F = 20/t/60, \text{ onde:}$$

F = fluxo.

20 = volume do bolhometro.

t/60 = transformação do tempo de segundos para minuto.

t = média de três leituras feita no cronômetro para cada posição do rotâmetro.

- Linearidade do Detector.

A determinação da linearidade do detector efetuou-se, injetando-se quantidades crescentes dos padrões de pesticidas e medindo a resposta do detector.

Quando algum pico de interesse na análise, caía fora do limite máximo de linearidade traçado, a amostra era diluída de maneira a colocar o pico obtido na curva estabelecida.

3.2.2 - Análise de Resíduos de Pesticidas Organoclorados em Leite.

- Extração da Gordura - o método empregado foi o des

crita pela AOAC⁷ e também adotado pelo Instituto Adolfo Lutz²⁶.

Em uma proveta de 1.000ml com rolha esmerilhada adicionou-se 100ml de leite, 100ml de metanol, um grama de oxalato de sódio e 50 ml de éter etílico e agitou-se vigorosamente durante um minuto. Adicionou-se 50ml de hexano e novamente agitou-se durante um minuto. Distribuiu-se o conteúdo da proveta em oito tubos de centrífuga de 50ml e centrifugou-se a 1.500r.p.m. por 15 minutos. Retirou-se a camada de solvente com auxílio de uma seringa hipodérmica de vidro, e colocou-se em um funil de separação de 1.000ml contendo 500 - 600ml de água e 30ml de solução saturada de cloreto de sódio. Reextraiu-se a camada aquosa dos frascos de centrífuga com uma porção de 50ml de éter etílico e hexano (1+1), centrifugando-se e retirando-se a camada de solventes para o funil de separação, após a extração.

Desprezou-se a camada aquosa e lavou-se a camada de solventes com duas porções de 200ml de água, desprezando-se a camada aquosa. Passou-se a solução dos solventes em um funil contendo sulfato de sódio anidro e coletou-se o eluato em um bequer de 400ml. Lavou-se o sulfato com pequenas porções de hexano, que foram combinadas num bequer de 400ml. Evaporou-se em banho-maria sob uma corrente de nitrogênio, para obtenção da gordura do leite.

- Partição com Acetonitrila - Transferiu-se quantitativamente a gordura obtida na extração para um funil de separação de 125ml, com auxílio de hexano (sem exceder o volume de 15ml). Adicionou-se 25ml de acetonitrila saturada com hexano. Agitou-se vigorosamente durante um minuto. Deixou-se separar as camadas. Transferiu-se a camada de acetonitrila para um funil de separação de 1.000ml contendo 650ml de água, 40ml de solução saturada de cloreto de sódio e 100ml de hexano. Reextraiu-se a solução de hexano, no funil de 125ml, com mais três porções de 30ml de acetonitrila saturado com hexano, agitando-se vigorosamente um minuto, cada vez. Reuniu-se todos os extratos no funil de separação de 1.000 ml e em posição horizontal agitou-se por 30-45 segundos. Deixou-se sepa

rar as camadas e transferiu-se a camada aquosa para um segundo funil de separação de 1.000ml. Adicionou-se 100ml de hexano ao segundo funil e agitou-se vigorosamente por 15 segundos. Deixou-se separar as camadas. Desprezou-se a camada aquosa e transferiu-se a camada de hexano ao primeiro funil. Lavou-se com duas porções de 100ml de água, desprezando-se as camadas aquosas. Transferiu-se a camada de hexano através de um funil contendo sulfato de sódio anidro, para o concentrador Kuderna-Danish. Lavou-se o funil de separação e o funil analítico contendo sulfato, com três porções de 10ml de hexano. Reuniu-se ao hexano no concentrador e evaporou-se até cerca de 5ml.

Todas as transferências foram feitas quantitativamente, lavando-se cada recipiente com pequenas porções de solvente em questão.

- Purificação do Extrato em Coluna de Florisil - Preparou-se uma coluna de vidro de 22mm de diâmetro interno com Florisil ativado, de modo a ter cerca de 10cm de altura após sedimentar. Colocou-se cerca de 1cm de sulfato de sódio anidro granulado sobre o Florisil. Umedeceu-se a coluna com 40 - 50ml de hexano, mantendo a torneira aberta. Transferiu-se o concentrado (obtido na partição com acetonitrila) para a coluna, ajustando-se o fluxo para 5ml por minuto e recebendo em concentrador Kuderna-Danish. Eluiu-se com 200ml de uma solução a 6% de éter etílico, contendo 2% de etanol, em hexano. Eluiu-se novamente, desta vez, com 200ml de solução a 15% de éter etílico, contendo 2% de etanol, em hexano, recebendo-se o eluato em outro concentrador Kuderna-Danish.

Concentrou-se cada um dos eluatos em concentrador Kuderna-Danish acoplado a uma coluna Vigreux, reduzindo-se o volume para aproximadamente 5ml.

Para a concentração, foi utilizado o aquecimento em banho-maria. E o ajuste de volume foi feito removendo-se o tubo do concentrador e evaporando-se sob corrente de nitrogênio.

- Identificação e Quantificação - Com as variáveis cromatográficas otimizadas na forma descrita anteriormente, injetou-se no cromatógrafo uma alíquota conveniente (3 a 5 microlitros) de cada eluato concentrado.

Para identificação foi feita uma comparação dos tempos de retenção dos picos das amostras com os tempos de retenção dos picos dos padrões.

As substâncias padrões foram mantidas, em seus frascos originais dentro de um dessecador, que foi colocado em freezer sob temperatura de aproximadamente -10°C .

Partindo-se das substâncias puras, foram preparadas as soluções estoques com concentrações da ordem de microgramas por mililitro ($\mu\text{g}/\text{ml}$). Prepararam-se, diluindo cerca de 10mg da substância padrão em aproximadamente 1ml de benzeno e completando-se o volume para 100ml com isooctana. Estas soluções também foram acondicionadas em freezer.

Com auxílio de pipetas graduadas de 0,1ml, foram tomadas quantidades variáveis da solução estoque (0,1; 0,2 ou 0,3ml) que foram diluídas em frascos volumétricos de 10ml, com hexana, para se obter as soluções intermediárias com concentrações da ordem de nanograma por micrograma ($\text{ng}/\mu\text{l}$), que foram conservadas sob refrigeração.

Das soluções intermediárias foram preparadas as soluções de trabalho, diluídas com hexana em concentrações adequadas ao trabalho. Estas soluções foram mantidas sob refrigeração e renovadas a cada três semanas, sempre partindo-se das soluções intermediárias. Em todas as etapas de uso das soluções padrões, foi observado um período de equilíbrio da temperatura, entre a retirada do freezer e a utilização da solução.

Utilizou-se como técnica de confirmação, a injeção da mesma amostra nas duas colunas já descritas.

Para quantificação, cromatografou-se o padrão (ou padrões) imediatamente após cada amostra e sempre procurando-se manter, o mais próximo possível, o tamanho dos picos do padrão e da amostra.

4 - RESULTADOS

4.1 - Padronização das Condições Analíticas

4.1.1 - Tratamento dado aos Reagentes

- n-Hexano - O cromatograma obtido da alíquota de n-hexano concentrado na razão de 300:3 corresponde ao representado na FIGURA 5.

- Éter Etílico - Nenhuma coloração amarela foi observada na fase etérea, o que representa resposta negativa quanto a presença de peróxido⁴⁴.

- Florisil - A TABELA 3 mostra a recuperação obtida para alguns pesticidas na coluna de Florisil.

- Água - O cromatograma obtido corresponde ao representado na FIGURA 6.

4.1.2 - Curva de Calibração do Rotâmetro

A relação obtida entre a calibração do rotâmetro e o fluxo de nitrogênio, é mostrada através do gráfico da FIGURA 7.

4.1.3 - Linearidade do Detector

A curva de linearidade obtida para alguns pesticidas é representada pela FIGURA 8.

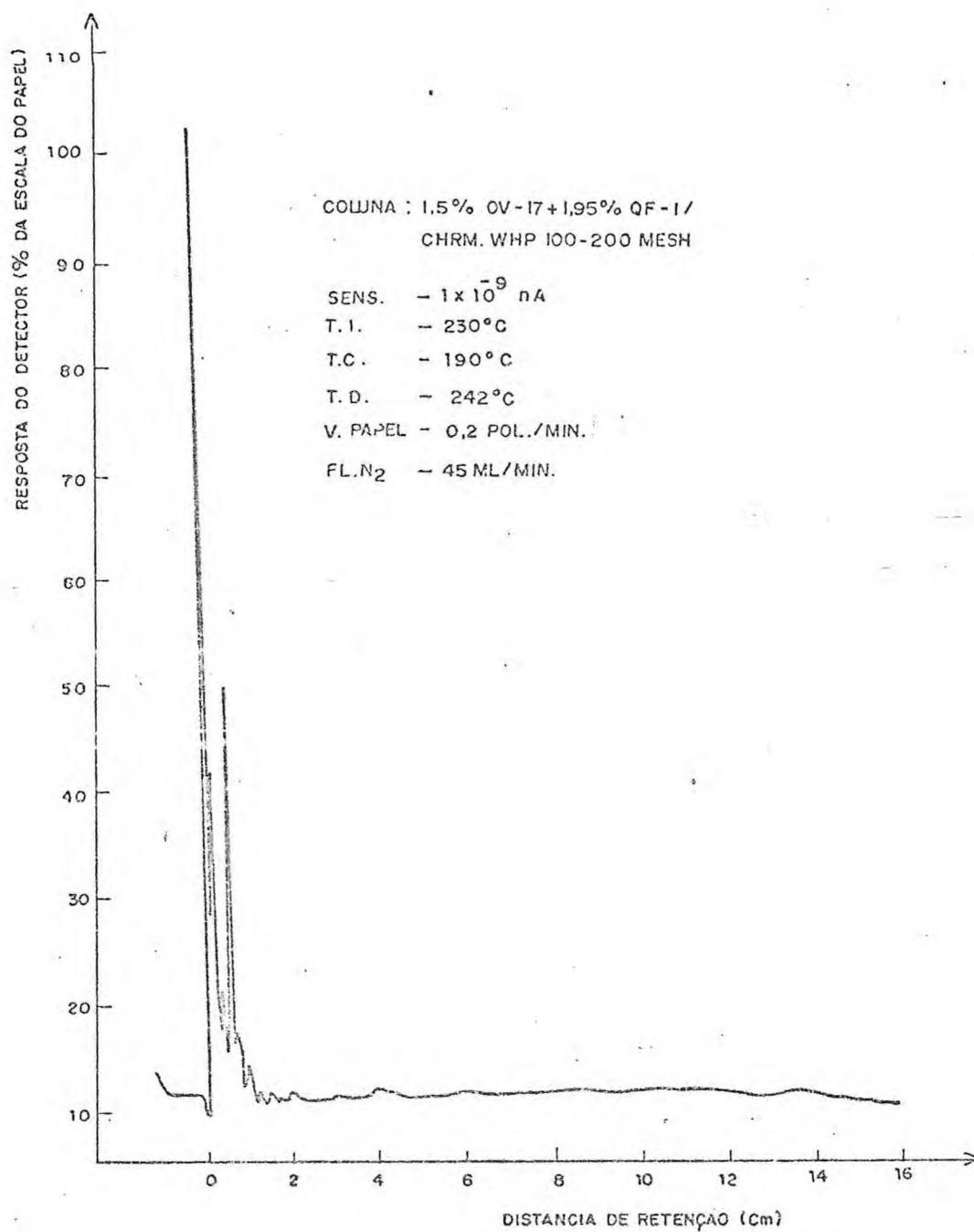


FIGURA 5 - Cromatograma obtido da alíquota de n-hexano concentrado na razão de 300:3.

TABELA 3 - Recuperação obtida para alguns pesticidas na coluna de Florisil.

Pesticida	Aliquota Retirada da Solução Padrão (μ l)	Concentr. do Pesticida na Solução Padrão		Taxa de Recu peração
		ng/ μ l	ng/aliquota retirada	(%)
α - HCH	2	123,9	247,8	50,00
β - HCH	2	123,9	247,8	44,87
γ - HCH	2	280,6	561,2	86,14
δ - HCH	2	227,0	454,0	61,36
Aldrin	5	108,0	540,0	72,70
pp' - DDE	8	177,2	1.417,6	75,03
Dieldrin	5	242,3	1.211,5	66,20

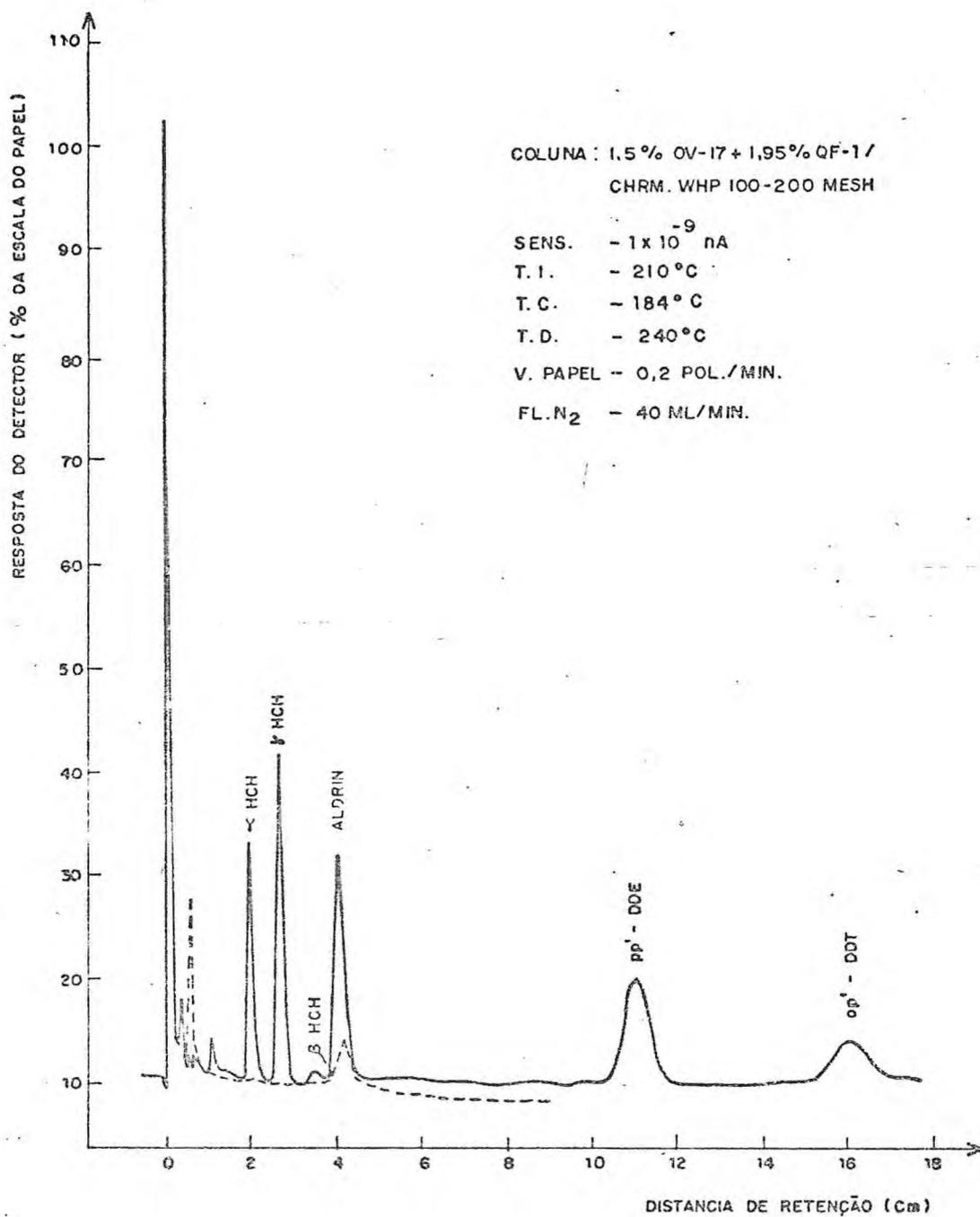


FIGURA 6 - Cromatograma obtido da água utilizada neste estudo (linha pontilhada) e cromatograma de uma mistura de padrões (linha cheia).

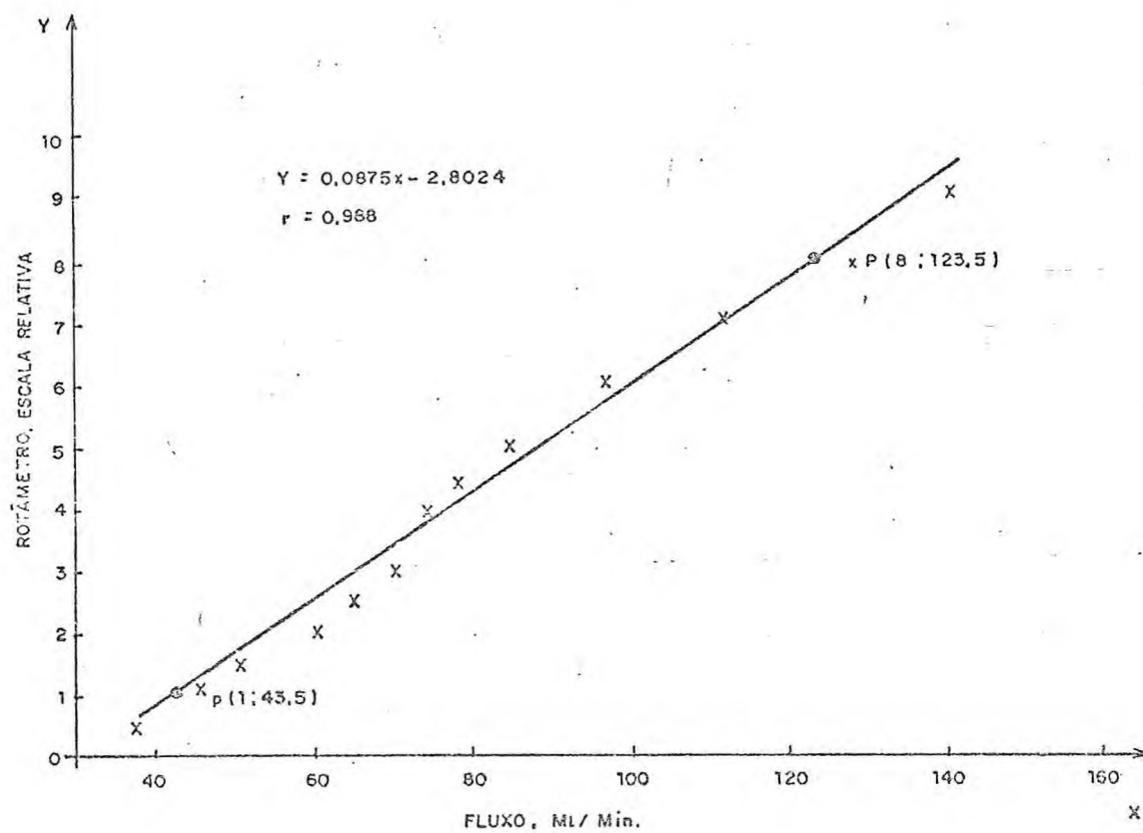


FIGURA 7 - Curva de calibração do rotâmetro.

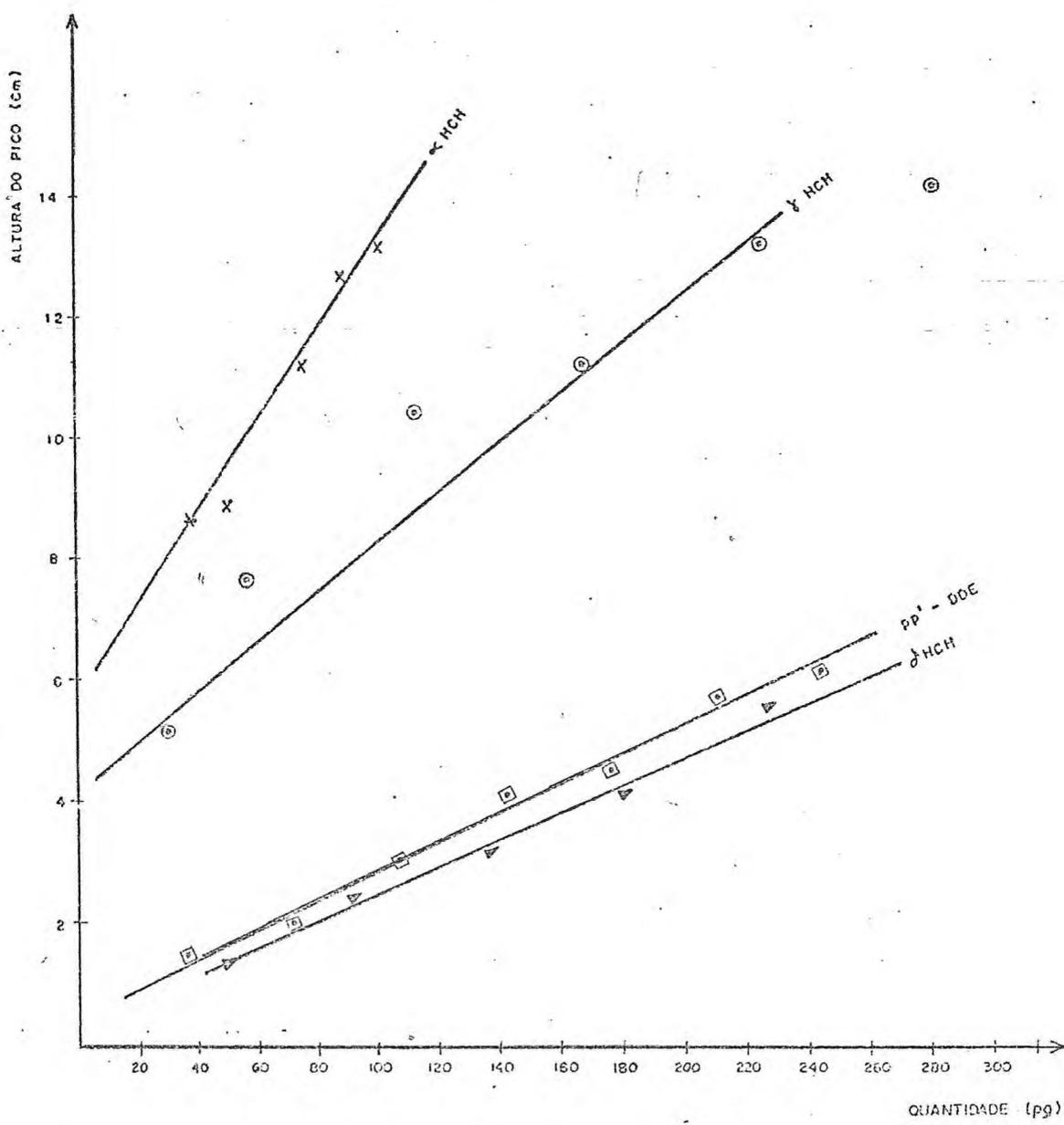


FIGURA 8 - Curva de linearidade do detector obtida para alguns pesticidas organoclorados.

4.2 - Resultados da Determinação de Resíduos de Pesticidas na Gordura do Leite

As análises das amostras coletadas no período de setembro de 1983 a janeiro de 1984, referentes às usinas leiteiras A, B, C e D, mostraram os resultados expressos na TABELA 4.

TABELA 4 - Níveis residuais de pesticidas organoclorados, no período de setembro de 1983 a janeiro de 1984, no leite das usinas estudadas em Fortaleza-Ce., expressos em mg/kg de gordura do leite.

Usina leiteira/mes	Pesticida		
	HCH*	DDT*	Dieldrin
A/set	0,132	0,047	tr
A/out	0,101	0,066	0,153
A/nov	tr	0,044	0,056
A/dez	tr	0,057	tr
A/jan	nd	tr	tr
B/set	0,886	tr	tr
B/out	0,664	tr	nd
B/nov	0,097	0,023	tr
B/dez	0,041	tr	tr
B/jan	nd	tr	tr
C/set	1,535	0,233	0,051

TABELA 4 - (Continuação)

C/out	0,184	0,067	nd
C/nov	0,100	0,126	0,025
C/dez	nd	0,062	0,017
C/jan	nd	0,116	nd
D/set	nd	0,021	tr
D/out	0,191	tr	0,048
D/nov	0,041	0,028	tr
D/dez	nd	0,023	tr
D/jan	nd	0,026	nd

* Soma dos isômeros α -HCH, β -HCH, γ -HCH e δ -HCH.

** Valor correspondente ao metabólito pp'-DDE.

tr= Concentração abaixo de 0,01mg/kg

nd= Não detectável nas condições de trabalho deste estudo.

5 - DISCUSSÃO

Os métodos de análise que se baseiam na detecção de microgramas de uma determinada substância, podem ser interferidos pelas impurezas a nível de traços contaminantes, provenientes de produtos químicos utilizados na marcha analítica. Todos os esforços analíticos para alcançar valores conclusivos, inclusive no intervalo do limite de detecção das substâncias de interesse, mediante técnicas eficazes de extração e purificação, assim como técnicas de detecção de alta sensibilidade, são inúteis se introduzirmos impurezas por intermédio dos reagentes²⁷. E assim, todos os produtos químicos utilizados na análise de resíduos de pesticidas, devem ser de uma pureza especial, principalmente os solventes que são utilizados em maior quantidade.

A alta sensibilidade do detector de captura de elétrons, favorece o aparecimento de picos de impurezas que podem ser confundidos com picos de pesticidas, Daí a necessidade de descontaminação de toda a vidraria antes de ser iniciada a análise propriamente dita⁵³.

Entre as impurezas que mais comumente aparecem numa análise de resíduos, estão aquelas provenientes de contaminação do próprio laboratório como os plastificantes (ftalatos), silicões, graxas, detergentes e especialmente os "Bifenilos Policlorados" (PCB's). No cromatograma dos PCB's (obtido da literatura), verifica-se um elevado número de picos, que em parte, apresentam os mesmos tempos de retenção dos pesticidas à base de hidrocarbonetos clorados e, por este motivo podem ser facilmente confundidos com eles⁵⁵. FIGURA 9.

Os PCB's são substâncias tóxicas, podendo causar lesões bioquímicas em tecidos biológicos. São estimulantes de drogas metabolizantes, de modo mais intenso que o DDT e dieldrin. Acumulam-se nos sistemas biológicos, eletivamente nos tecidos gordurosos, sendo considerados poluentes ambientais³⁹.

COL.: 1.5% OV-17/1.95% QF-1

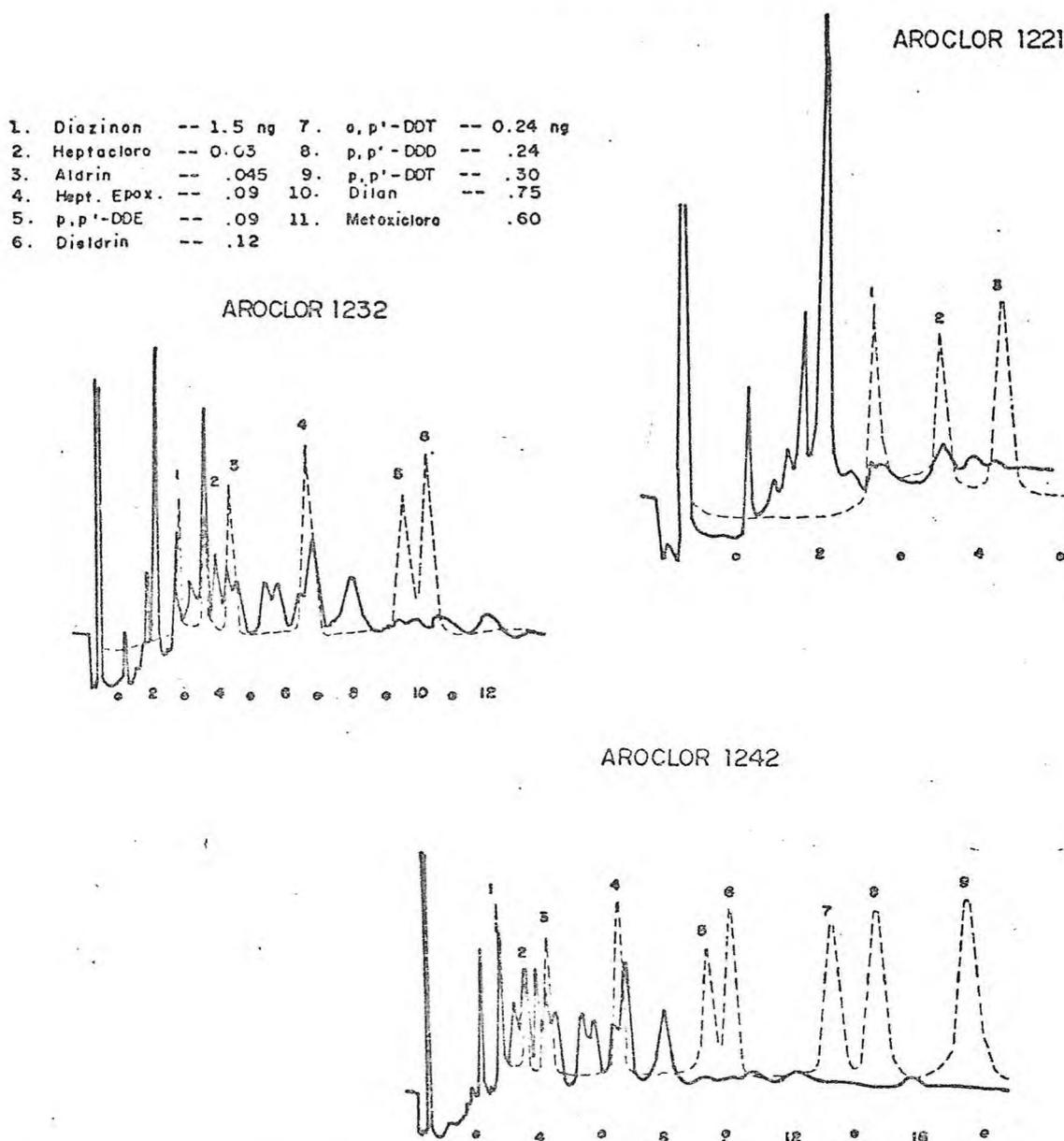


FIGURA 9 - Cromatograma de três PCB's (Aroclor 1221, 1232 e 1242) em coluna de 1,5% de OV-17/1,95% QF-1, nas seguintes condições: Temp. da coluna: 200°C; fluxo do gás de arraste: 60ml/min; detector de ^3H ; atenuação 10x16. A linha pontilhada mostra uma mistura de pesticidas organoclorados em concentrações de acordo com a figura⁵⁵.

Estas substâncias já foram detectadas em organismos marinhos, alimentos de origem animal ou vegetal, na gordura humana e no leite humano^{21,27,39,47}. Pela grande utilização como plastificantes, em pinturas, impregnantes, agentes de vedação, isolantes eletrotécnicos e fluídos hidráulicos; como amaciadores na fabricação de resinas, borracha sintética, ceras, etc., os PCE's estão em toda parte e infelizmente nos laboratórios de análise.

O tratamento dado à vidraria, neste estudo mostrou-se suficiente para a retirada de impurezas, uma vez que o cromatograma obtido do branco da análise, não apresentou picos interferentes na região de interesse. FIGURA 10.

Vários autores têm alertado para o problema da água que participa com um volume de quase um litro em cada análise, e para o qual é sugerido o tratamento da água já destilada com uma solução oxidante ($KMnO_4$), seguida de nova destilação^{12,27,44}. Para o nosso trabalho, a água destilada e deionizada ofereceu, com o teste de pureza um cromatograma satisfatório, que pode ser visto na FIGURA 6.

Os demais reagentes se apresentaram, após o tratamento ou teste de pureza, com condição satisfatória para sua utilização na determinação dos resíduos de organoclorados em leite, o que foi constatado pelo cromatograma do branco, FIGURA 10.

A taxa de recuperação dos pesticidas eluídos em coluna de Florisil, foi maior para os pesticidas α -HCH, pp'-DDE, aldrin e dieldrin do que para δ -HCH, α -HCH e β -HCH. TABELA 3.

Embora o AOAC⁷, considere satisfatória uma recuperação acima de 80%, os resultados encontrados neste estudo se assemelham aos obtidos por BORGES¹², quando no seu trabalho com manteiga de cacau.

A otimização das variáveis cromatográficas assegura uma padronização adequada do método de análise.

A maior preocupação nesse estudo, foi manter uma boa corrente de fundo, uma vez que a mesma está diretamente relacionada com a sensibilidade e dinâmica do detector. Para isto controlou-se alguns parâmetros conhecidos como limitantes

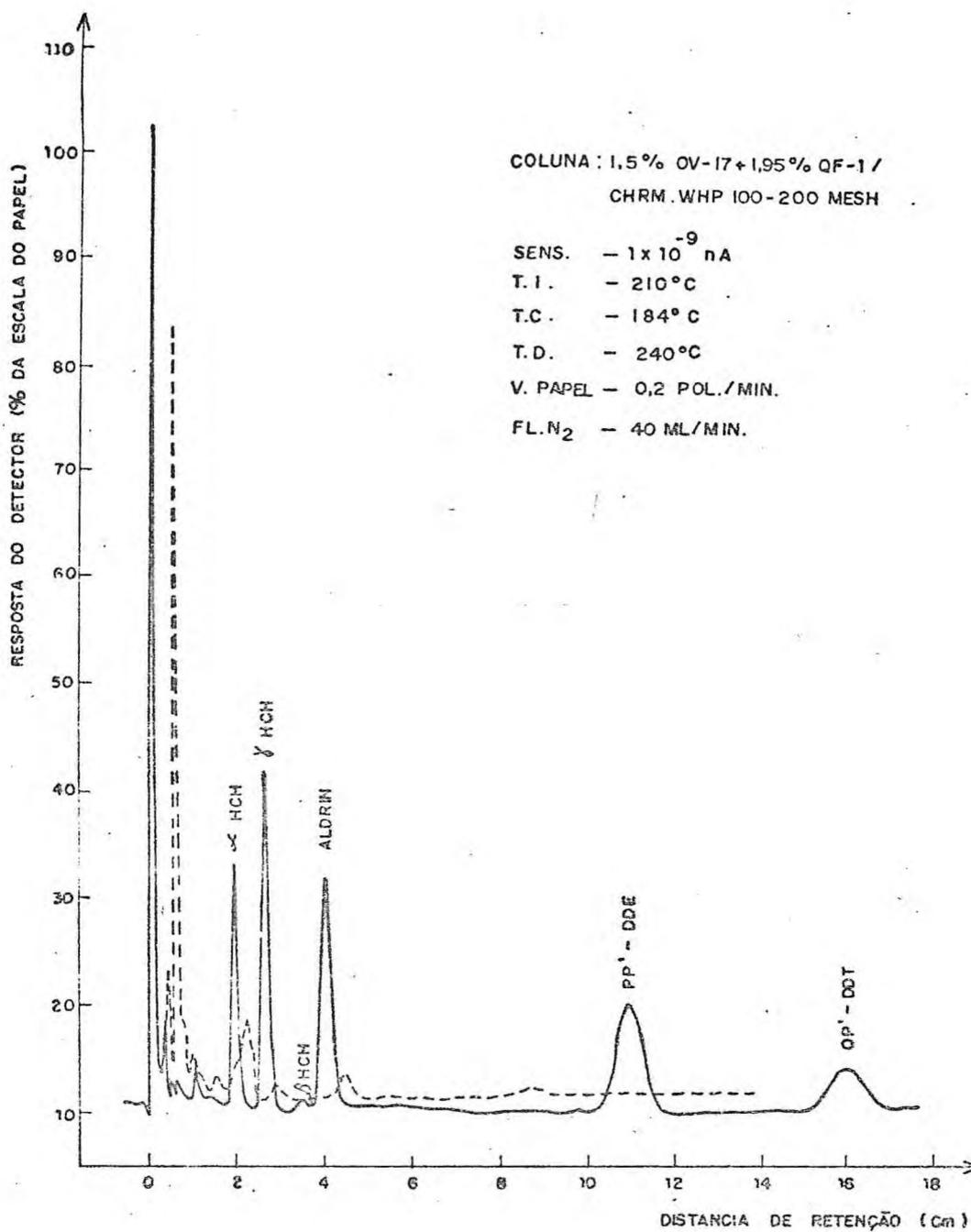


FIGURA 10 - Cromatograma obtido do branco da análise (linha pontilhada) e cromatograma de uma mistura de padrões (linha cheia)

na determinação de uma sensibilidade de trabalho, tais como: pureza e fluxo do gás de arraste (N_2), condicionamento das colunas, temperatura e linearidade do detector.

A análise quantitativa precisa, depende da relação linear entre a concentração e resposta do detector. A "faixa linear" de um detector pode ser definida como a razão de maior e menor concentração dentro da qual a resposta do detector é linear⁴¹. A resposta do detector se manteve linear na faixa de concentração dos resíduos encontrados neste estudo. FIGURA 8.

Uma vez estabelecida a otimização das variáveis cromatográficas, iniciou-se a pesquisa propriamente dita, sempre procurando manter as mesmas condições de trabalho. As figuras 11, 12 e 13 em anexo, mostram o nível de sensibilidade obtido para esta pesquisa.

Os pesticidas organoclorados estão preferencialmente concentrados nas camadas superficiais dos glóbulos de gordura²⁵; o que explica a extração da gordura como ponto de partida para a análise de resíduos de pesticidas em leite.

Durante o processo de partição com acetonitrila, o material gorduroso é dissolvido no solvente orgânico não polar, enquanto que os pesticidas no solvente mais polar. As camadas são separadas e a que contém os resíduos de pesticidas é concentrada e em seguida purificada⁴³.

Na purificação do extrato em coluna de Florisil, alguns compostos orgânicos que não são pesticidas e que persistiram na amostra após a purificação com acetonitrila tais como pigmentos e resíduos de gordura, são extraídos por adsorção em coluna de Florisil.

Seguindo os passos citados, a análise do leite de 3,2% de gordura, distribuído à população de Fortaleza (Ce.), mostrou um teor residual relativamente baixo de pesticidas organoclorados.

Os níveis de DDT e dieldrin, apresentaram-se baixos nas quatro usinas, durante todo o período deste estudo.

O único metabólito do DDT encontrado, foi o pp'-DDE. Sendo este o metabólito mais persistente do DDT, sua presen

ça dá uma indicação de contaminação mais antiga.

É interessante observar que LARA et al.³⁶ pesquisando a variação dos níveis de resíduos de pesticidas organoclorados em leite consumido na cidade de São Paulo em 1979, analisaram quarenta e quatro amostras, verificando a presença de pp'-DDE em 95,4% delas, sendo que em apenas 15,9% das mesmas, ele vinha acompanhado de op'-DDT e pp'-DDt. Os mesmos pesquisadores verificaram que os níveis de DDT foram sempre menores que os níveis de HCH total.

Com relação ao dieldrin, BANN et al.¹⁰ afirmaram que em produtos de origem animal a quantidade desta substância aumenta com o tempo, pela metabolização do aldrin. Quanto maior é a quantidade de dieldrin maior foi a exposição ao aldrin.

Neste estudo, o único resíduo presente no leite em níveis ao redor do limite de tolerância, foi o HCH. Porém esta substância se apresentou em declínio, durante o período de análise deste estudo, sendo que os valores maiores foram obtidos nas amostras coletadas em setembro e os menores naquelas coletadas em janeiro.

LARA et al.³⁶ discutiram a situação dos resíduos de organoclorados no leite da Cidade de São Paulo em 1979, quando os níveis de HCH foram 3 a 7 vezes menores que os níveis de HCH encontrados por ALMEIDA & BARRETO¹, em 1971. Apesar desta redução nos níveis de HCH de 1971 para 1979, os resíduos de DDT encontrados em 1979, não tinham sido detectados em 1971.

MAIA & BRANT⁴⁰, estudando a contaminação da carne bovina por pesticidas organoclorados, nas regiões do Estado de Minas Gerais, também encontraram resíduos não intencionais de HCH, dieldrin e pp'-DDT, com uma média final dentro dos limites de tolerância estabelecidos pela OMS e CNNPA (Comissão Nacional de Normas e Padrões para Alimentos).

Noutros países é mais comum a contaminação pelo DDT e o lindano, que substituiu o HCH ou BHC técnico⁴⁰.

Não houve diferenças marcantes nos níveis de resíduos de pesticidas entre as quatro usinas estudadas neste experimento, porém a usina D, mostrou níveis residuais menores

que as usinas A, B e C.

Os resultados deste estudo sugerem que a análise residual destes pesticidas no leite, deveria ser conduzida durante o ano todo, incluindo épocas de chuvas e estiagem. O declínio do nível de HCH, de setembro a janeiro, poderia ser decorrente de níveis maiores de contaminação do leite nos meses anteriores a setembro.

O prolongado período de estiagem e seca no nordeste, que caracterizou os últimos anos, poderia também ser um fator de importância no nível residual de pesticidas no leite, tendo em vista que a cultura e portanto a aplicação de pesticidas às lavouras, mostraram-se substancialmente diminuídas.

6 - CONCLUSÕES

1. O nível de contaminação por resíduos de pesticidas organoclorados no leite distribuído à população de Fortaleza(Ce), no período de setembro de 1983 a janeiro de 1984, em geral, mostrou-se baixo.

2. O HCH apresentou níveis residuais ao redor do limite de tolerância. Porém esta substância apresentou um declínio durante a época de amostragem, tendo-se observado os maiores valores nas amostras coletadas em setembro e os menores, naquelas coletadas em janeiro.

3. O DDT e dieldrin, mostraram valores abaixo do limite de tolerância, durante toda época de amostragem.

4. O prolongado período de estiagem e seca no nordeste, que caracterizou os últimos anos, deve ser considerado um fator de importância no baixo nível residual encontrado nesste estudo, uma vez que a utilização de pesticidas nas lavouras, foi substancialmente diminuída.

5. É importante que se realizem estudos pesquisando resíduos de pesticidas nos nossos alimentos e em particular no leite, durante épocas sazonais regulares, onde a atividade de agrícola é normal e a utilização dos pesticidas é mais intensa.

7 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - ALMEIDA, M.E.W. & BARRETO, H.H.C. - Resíduos de pesticidas clorados em leite consumido em São Paulo. Revista do Instituto Adolfo Lutz, 31:13-20, 1971.
- 2 - ALMEIDA, N.F.; PIEDADE, J.R.; SOUSA, D.A. - Química dos Pesticidas. Ed. Fundo de Pesquisas do Instituto Biológico de São Paulo, 1962.
- 3 - ALMEIDA, W.F. - Aspectos Toxicológicos dos Praguicidas. Instituto Biológico - São Paulo. 10p. sem outras referências.
- 4 - ALMEIDA, W.F. - Níveis sanguíneos de DDT em indivíduos profissionalmente expostos e em pessoas sem exposição direta a este inseticida no Brasil. São Paulo, 1972/ Tese de Doutorado - Departamento de Epidemiologia da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo.
- 5 - ALMEIDA, W.F. & ALMEIDA, M.E.W - Problemas en el Establecimiento de Laboratórios de Control y Detección de Plaguicidas - Normas mínimas para su Establecimiento. In: Control de las enfermedades de los animales en las Américas. 1977. Organización Panamericana de Salud. - Publicacion Científica, nº 358, 1978.
- 6 - ARCHER, T.E. - Stability of DDT in foos and feeds, transformation in cooking and food processing, removal during food and processing. Residue Reviews, New York, 61:29-36, 1976.
- 7 - ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - A.O.A.C., Official Methods of Analysis. 13^a ed. Washington, 1980, p. 466.

- 8 - ASTOLFI, E.; LANDONI, J.H.; ALMEIDA, E. - Curso Sobre Toxicologia de Defensivos Agrícolas. Curso por correspondência, promovido pela ANDEF (Associação Nacional de Defensivos Agrícolas). São Paulo. 1978.
- 9 - AUE, W.A. - Detectors for Use in GC Analysis of Pesticides. Journal of Chromatographic Science, 13:329-33, 1975.
- 10 - BANN, J.M.; DECINO, I.J.; EARLE, W.W. & SUN, Y.P. - The fate of aldrin and dieldrin in the animal body. J. Agricultural Food Chemistry, 4:937-41, 1956.
- 11 - BARNES, J.M. - Carcinogenic hazards from pesticides residues. Residue Reviews, 13:69-82, 1966.
- 12 - BORGES, E.L. - Análise de resíduos de inseticidas organoclorados em manteiga de cacau. São Paulo, 1977/ Tese de Mestrado - Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.
- 13 - CEARÁ; Reunião do Grupo Estadual de Defensivos Agrícolas - 1ª Reunião, fevereiro, 1982, ATA. 2 pág.
- 14 - CIOLA, R. - Introdução à Cromatografia em Fase Gasosa, São Paulo, Ed. Edgard Blucher, 1973. p. 76-89.
- 15 - COOK, R.M. & WILSON, K.A. - Removal of Pesticide Residues from Dairy Cattle. In: Symposium: Pesticides - Where are we Today?. Journal of Dairy Science, 54(5):712-8, 1971.
- 16 - DUGGAN, R.E. & LIPSCOMB, G.Q. - Regulatory Control of Pesticides Residues in Foods. In: Symposium: Pesticides - Where are we Today?. Journal of Dairy Science, 54(5):695-701. 1971.

- 17 - DURHAM, W.F. - Significance of Pesticide Residues to Human Health. In: Symposium: Pesticides - Where are we Today?. Journal of Dairy Science, 54(5):701-6. 1971.
- 18 - FAIR, J.G.; COLLINS, J.L.; JOHNSTON, M.R. & COFFEY, A.L. - Levels of DDT isomers in turnip greens after blanching and thermal processing. Journal of Food Science, 38(2):189-91. 1973.
- 19 - FINLAYSON, D.G. & Mac CARTHY, H.R. - The movement and persistence of insecticides in plant tissue. Residue Reviews, New York, 9:114-52. 1965.
- 20 - FRIES, G.F.; MARROW, G.S.; GORDON, C.H. - Excretion of op' -DDT in Milk of Cows. Journal of Dairy Science, 54(12):1870-1. 1971.
- 21 - _____ . - Similarity of a Polychlorinated Biphenil (Aroclor 1254) and DDE in Rate of Elimination from Cows. Bulletin of Environmental Contamination & Toxicology, 7(4):252-6.
- 22 - GIANNOTTI, O.; ORLANDO, A.; PUZZI, D.; CAVALCANTE, R.D. & MELLO, E.J.R. - Noções Básicas sobre Praguicidas - Generalidades e Recomendações de Uso na Agricultura do Estado de São Paulo. O Biológico, 38(8-9), p. 223-339. 1972.
- 23 - HAMMARSTRAND, K. - Gas Chromatographic Analysis of Pesticides. USA, Varian Associates, 1976, p. 29-39.
- 24 - HERMANN, B.W. & SEIBER, J.N. - Glass Capillary Gas Chromatography of Pesticides - In: Jennings, W.G. - Application of Glass Capillary Gas Chromatography. Marcel Dekker. Inc. N.Y. and Basel. vol. 15, 1981.

- 25 - HUGUNIN, A.G. & BRADLEY, R.L.JR. - Distribution of Organo
chlorine Pesticides Among Some Milk Components: Journal
of Dairy Science, 54(3), 1971.
- 26 - INSTITUTO ADOLFO LUTZ - Normas Analíticas do Instituto A
dolfo Lutz, São Paulo, 2^a ed., 1976. p. 327-331.
- 27 - ITAL, Instituto de Tecnologia de Alimentos. Curso Sobre
Resíduos de Pesticidas. Campinas, São Paulo, outubro
de 1982.
- 28 - IVEY, M.C.; IVIE, G.W.; COPPOCK, C.E. & CLARK, K.J. - Me
thoxyclor Residues in Milk of Cattle Treated with Mar
late 50 Inseticide as a Dermal Spray. Journal of Dairy
Science, 66(4):943-50. 1983.
- 29 - KAWAR, N.S.; BOSTANIAN, N.J. & BADAWI, S.M. - Inseticide
Residues in Milk of Dairy Cows Treated for Control of
Ectoparasites. Journal of Dairy Science. volume 51(7),
1968.
- 30 - KROGER, M. - Effect of various Physical Treatments on
Certain Organochlorine Hydrocarbon Inseticides Found
in Milk Fat. Journal of Dairy Science, 51(2):196 - 8.
1968.
- 31 - KUTCHES, A.J. & CHURCH, D.C. - DDT - ¹⁴C Metabolism by
Rumen Bacteria and Protozoa in vitro. Journal of Dairy
Science 54(4):540-3, 1971.
- 32 - LARA, W. H. - Pesticidas e Contaminação de Alimentos. In:
Curso Latino Americano de Análises de Resíduos de Pes
ticidas em Alimentos. Instituto Adolfo Lutz, novembro
de 1982. São Paulo.
- 33 - LARA, W.H. & BARRETO, H.H.C. - Resíduos de Pesticidas Clo
rados em Alimentos. Revista do Instituto Adolfo Lutz,

32:89-94. 1972.

- 34 - LARA, W.H.; BARRFOTO, H.H.C. & INOMATA, O.N.K. - Níveis de BHC e DDT em Peixes, Camarões e Ostras do Litoral de Santos, Estado de São Paulo. Revista do Instituto Adolfo Lutz, 40(1):29-33. 1980.
- 35 - _____ . - Resíduos de Pesticidas Organoclorados em Leite Humano, São Paulo, Brasil. 1979-1981. Revista do Instituto Adolfo Lutz 42(1/2):45-52. 1982.
- 36 - _____ . - Variação dos Níveis de Resíduos de Pesticidas Organoclorados em Leite Consumido na Cidade de São Paulo em 1979. Revista do Instituto Adolfo Lutz, 40(1):65-73. 1980.
- 37 - LARA, W.H.; BARRETO, H.H.C. & VARELLA-GARCIA, M. - Níveis de Dieldrin em Sangue de Aplicadores de Aldrin na Região de São José do Rio Preto, São Paulo. Revista do Instituto Adolfo Lutz, 41(1):9-14. 1981.
- 38 - LICHTENSTEIN, E.P.; FUHREMANN, T.W. & SCHULTZ, K.R. - Persistence and Vertical Distribution of DDT, Lindane, and Aldrin Residues, 10 and 15 years after a Single Soil Application. J. Agr. Food Chem., 19:718-21. 1971.
- 39 - MAIA, R. PCB's (Policlorados Bifenílicos). Aspectos Químicos, Biológicos e sua Ação Poluidora. Belo Horizonte, 1976/Seminário apresentado no Curso de Mestrado em Ciências e Tecnologia de Alimentos - Universidade Federal de Minas Gerais. 20p.
- 40 - MAIA, R. & BRANT, P.C. - Estudo Comparativo da Contaminação da Carne Bovina por Resíduos de Pesticidas Organoclorados nas Regiões do Estado de Minas Gerais, Brasil. Revista do Instituto Adolfo Lutz, 40(1):15-21, 1980.

- 41 - Mc NAIR, H.M. & FONELLI, E.J. - Basic Gás Chromatography, 5th ed. California, Consolidated Press, 1969. p. 85 - 90.
- 42 - MENZIE, C.M. - Fate of Pesticide in the Environment. Ann. Rev. Entomol., 17, 199 - 222, 1972.
- 43 - MURI, A.T. & BARRETO, H.H.C. - Operações Unitárias nos Métodos de Análise. In: Curso Latino-Americano de Análise de Resíduos de Pesticidas em Alimentos. Instituto Adolfo Lutz, novembro de 1982 - São Paulo.
- 44 - OLIVEIRA, M.H.M. - Solventes. In: Curso Latino-Americano de Análise de Resíduos de Pesticidas em Alimentos. Instituto Adolfo Lutz, novembro de 1982 - São Paulo.
- 45 - PASCHOAL, A.D. - Pragas, Praguicidas e a Crise Ambiental: Problemas e Soluções - Rio de Janeiro, Fundação Getúlio Vargas, 1979. 102p.
- 46 - PEREIRA, D.A. - Aplicação do Método de Co-destilação por Arraste na Determinação de Resíduos de Inseticidas clorados Orgânicos em Aves de Consumo. Rio de Janeiro, 1977/Tese de Mestrado - Faculdade de Veterinária-CCM, da Universidade Federal Fluminense.
- 47 - PLATONOW, N.S. et al. - Fate of Polychlorinated Biphenyls in Dairy Products Processed from the Milk of Exposed Cows. Journal of Dairy Science 54(9):1305-8. 1971.
- 48 - RUMSEY, T.S.; SAMUELSON, G.; BOVARD, K.P. & PRIODE, B.M. - Placental Transfer of DDT in Beef Cattle. Journal of Animal Science, 37(5):1186-90. 1973.
- 49 - SAXENA, M.C. & SIDDIQUI, M.K.J. - Pesticide Pollution in India: Organochlorine Pesticides in Milk of Woman, Buffalo, and Goat. Journal of Dairy Science, 65:430-4. 1982.

- 50 - SILVA, D.H. - Normas Nacionais de Registro de Pesticidas.
In: Relatório do VI Encontro Nacional de Analistas de Resíduos de Pesticidas - Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, maio, 1982.
- 51 - SPENCER, D.A. - Movement of Chemicals Throught the Envi
ronment. In: Symposium: Pesticides Where are we Today?
Journal of Dairy Science, 54(5):706-12. 1971.
- 52 - STELLFELD, A.M.C.; GONÇALVES, A.L.; ROSS, J.R.; ALMEIDA,
M.E.W. & LARA, W.H. - Resíduos de Pesticidas em Ali
mentos no Brasil. Coordenadoria de Assistência Técni
ca Integral - Campinas, 1981. 239p. (Documento Técni
co, 32).
- 53 - SUSUKI, M. - Limpeza de Materiais para Análise de Resí
duos. In: Curso Latino-Americano de Análise de Resí
duos de Pesticidas em Alimentos. Instituto Adolfo
Lutz, novembro de 1982, São Paulo.
- 54 - U.S. ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY - Analytical Refe
rence Standards and Supplemental Data for Pesticides
and Other Organic Compounds. January, 1981.
- 55 - _____ - Manual of Analyti
cal Methods for the Analysis of Pesticides in Humans
and Environmental Samples. June, 1980.
- 56 - WILLETT, L.B.; SCHANBACHER, F.L. & TESKE, R.H. - Toxico
logy and Dairy Industry: Will Problems Outrun Solu
tion?. Journal of Dairy Science, 64(6):1483-93. 1981.
- 57 - WHITING, F.M.; BROWN, W.H. & STULL, J.W. - Pesticides Re
sidues in Milk and in Tissues Following Long, Low
2,2-bis(p-chlophenyl)-1,1,1-trichloroethane Intake.
Journal of Dairy Science, 56(10):1324-8, 1973.

- 58 - _____ . - Pesticides Residues in Tissues of First-Born Calves from Danes on Long-Time, Low DDT Intake. Journal of Dairy Science, 55(10):1499-501. 1972.
- 59 - YOKOMIZO, Y. - Levantamento da Contaminação de Alimentos Processados por Resíduos de Pesticidas. Boletim do ITAL, 16(1)41-51. 1979.
- 60 - YOKOMIZO, Y.; TEIXEIRA, R.; LEITÃO, M.F.F.; FUJIARA, H. F. - Resíduos de Pesticidas Organoclorados em Peixes de Água Doce no Estado de São Paulo. Síntese, 3, 1982. p. 3-8.

A N E X O

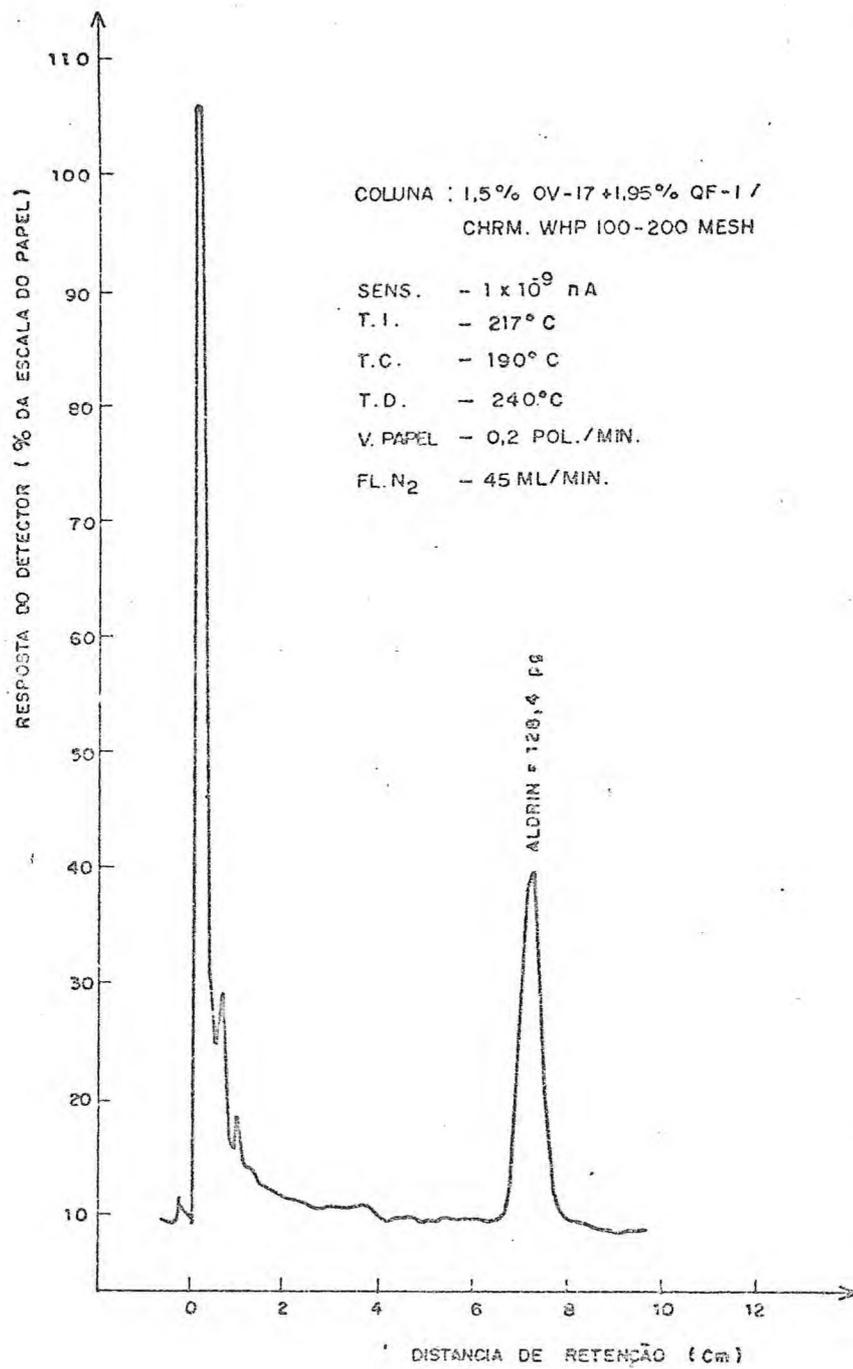


FIGURA 11 - Cromatograma obtido para o aldrin.

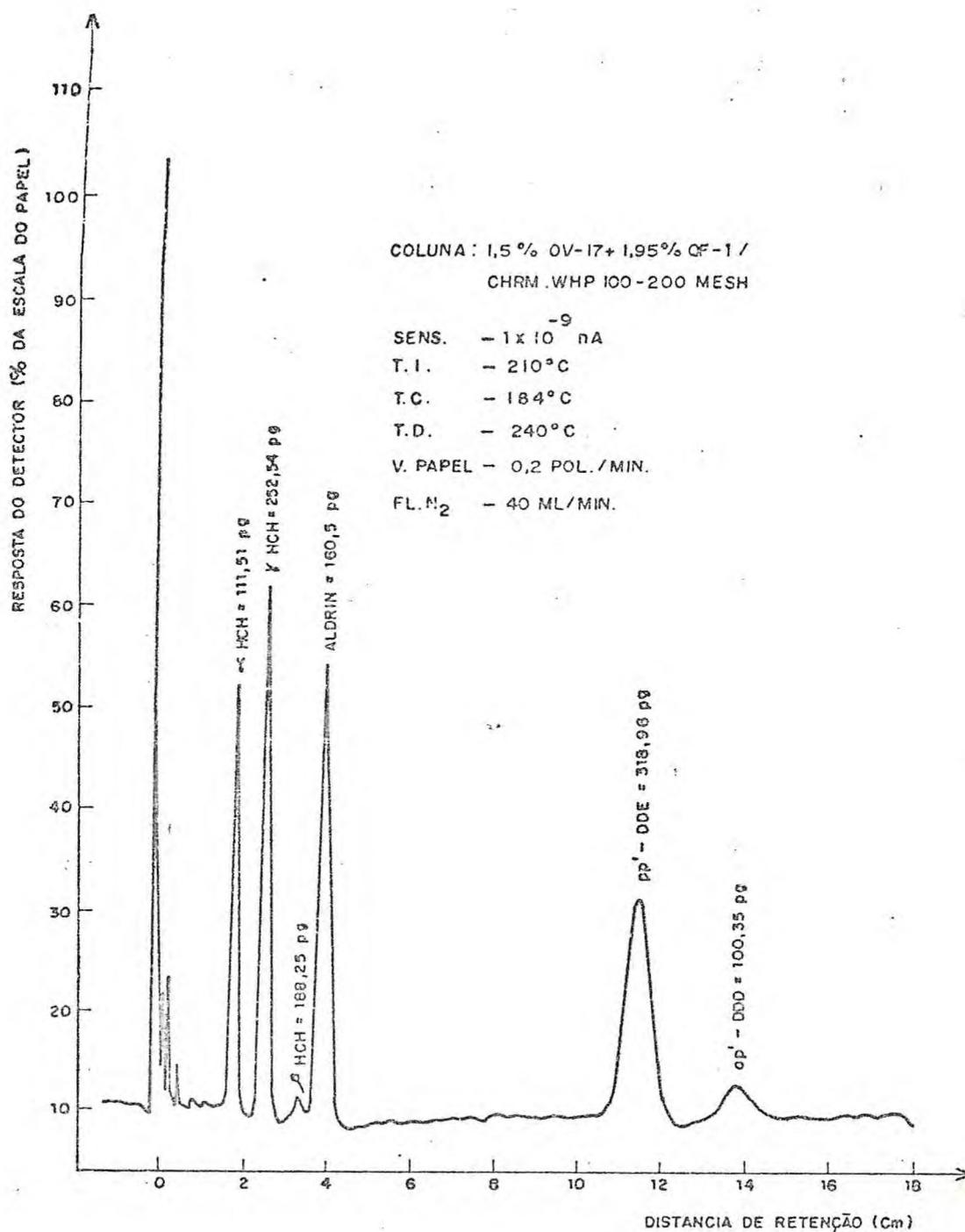


FIGURA 12 - Cromatograma obtido para uma mistura de seis padrões.

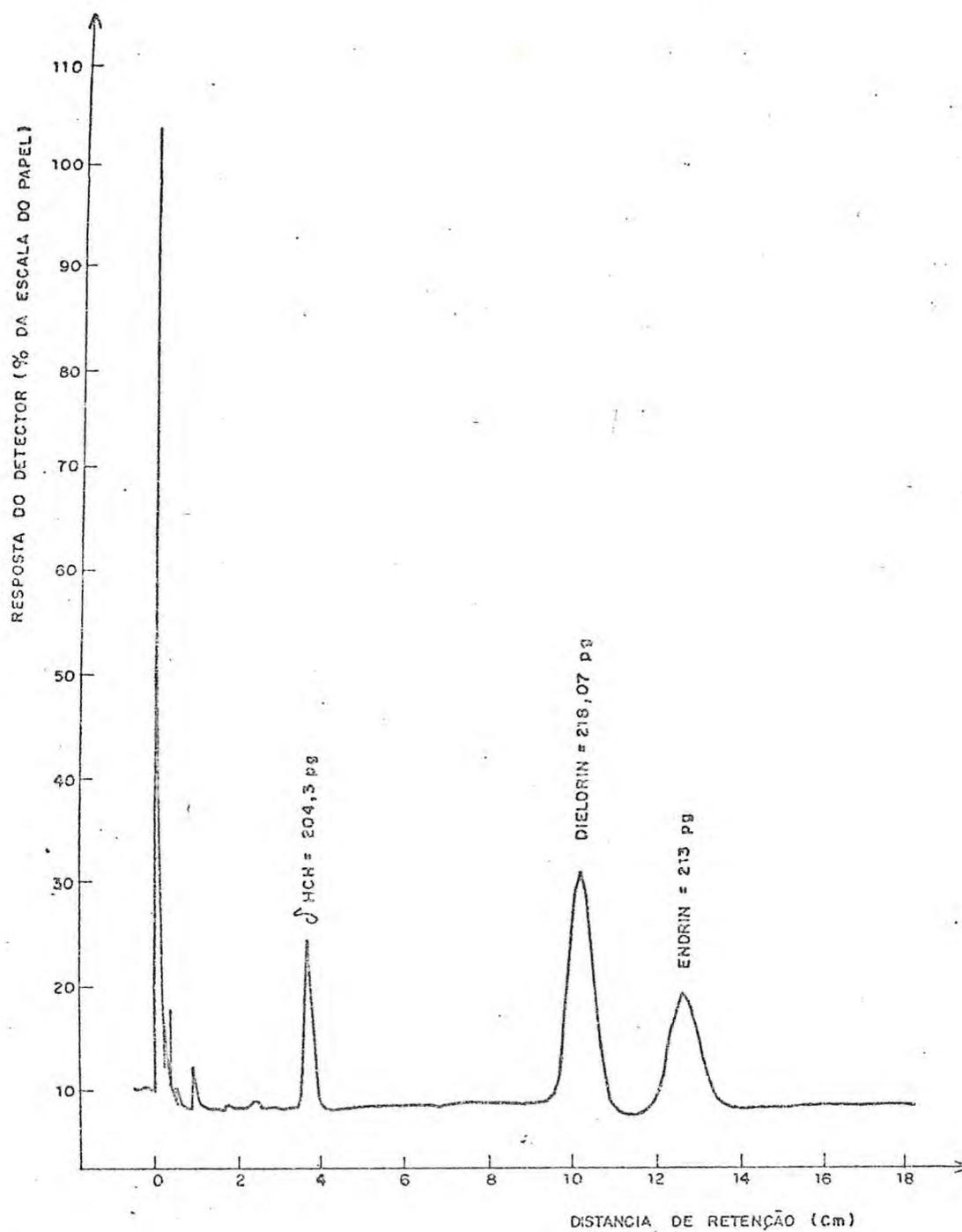


FIGURA 13 - Cromatograma obtido para uma mistura de padrões, δ -HCH, dieldrin e endrin, nas mesmas condições descritas na FIGURA 12.