

RESÍDUOS DE PESTICIDAS ORGANOCOLORADOS: MÉTODOS DE TRIAGEM.

Maria Lúcia RIBEIRO*
Aerovado DEL'ACQUA*
José Luiz MONFARDINI*
Jorge Maurício DAVID**

RESUMO: Este trabalho relata nossa experiência em métodos de triagem para detecção de resíduos de pesticidas organoclorados em derivados de leite e em ração para aves. O método que se mostrou condizente com os objetivos propostos, baseia-se na utilização de ácido sulfúrico para extração e limpeza de produtos ricos em gordura.

UNITERMOS: Pesticidas organoclorados; resíduos de pesticidas; cromatografia gasosa.

1. INTRODUÇÃO

O laboratório de resíduos de pesticidas do Departamento de Química Orgânica do Instituto de Química da UNESP vem se dedicando desde 1976 a estudar metodologias adequadas à realidade brasileira, visando detecção e quantificação de resíduos de pesticidas em alimentos (1). As técnicas utilizadas vão da análise de toque, à cromatografia em fase gasosa passando pela cromatografia em camada delgada. Recorreu-se à análise de toque, na detecção e determinação semiquantitativa de alguns pesticidas, sobretudo dos que apresentam maior reatividade química como carbaril (2,3) e ditiocarbamatos (4,5). Resíduos de pesticidas organoclorados em níveis relativamente elevados foram detectados por cromatografia em camada delgada (6,7,8) e em teores de $\mu\text{g}/\text{kg}$ por cromatografia gasosa (9).

Ao iniciarmos nosso projeto de análise de resíduos de pesticidas organoclorados por cromatografia gasosa, traçamos

nosso objetivo considerando fundamentalmente que o Brasil ainda se encontra defasado em relação aos países desenvolvidos quanto às análises sistemáticas de alimentos, sobretudo no que se refere à instrumentação disponível. Esta defasagem pode estar relacionada além de outros fatores, com o alto custo e o tempo requerido para as análises de resíduos utilizando a metodologia oficial (10).

Em 1980, no V Encontro Nacional de Analistas de Resíduos de Pesticidas, Laszlo (11) também incentivou e fez ver a necessidade de estudos sobre métodos de análises de resíduos de pesticidas em alimentos de execução simples e rápida, baixo custo e eficiência, compatíveis com as condições nacionais.

Entendemos ser a análise de varredura uma das possíveis soluções para enfrentar as dificuldades constatadas. Nesse sentido passamos a selecionar, na literatura, métodos de extração de pesticidas organoclorados e purificação dos extratos que

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

fossem rápidos, simples e econômicos. Diante destas limitações, que caracterizam a metodologia de varredura, ressaltamos que é aceitável sensibilidade em torno de 10 ppb. Segundo estes critérios nos fixamos em duas técnicas de trabalho que se complementam: extração e purificação empregando ácido sulfúrico e outra que utiliza microcolunas de Florisil e Alumina para purificação de extrato numa única etapa.

Desde 1947, é conhecido o emprego de ácido sulfúrico concentrado na purificação de produtos gordurosos (12), para permitir a análise cromatográfica de resíduos de pesticidas organoclorados nos mesmos. O ácido sulfúrico é bom solvente para a maioria das funções orgânicas, entre elas os lipídeos. Não dissolve os hidrocarbonetos saturados e os aromáticos, assim como seus derivados halogenados que incluem os pesticidas organoclorados. Endrin e dieldrin são dissolvidos pelo ácido sulfúrico, o que torna esta técnica inadequada para quantificá-los.

Entre 1978 (13) e 1980 (14,15) Veierov et alii divulgaram os resultados de suas pesquisas em que o ácido sulfúrico é empregado tanto na extração como na purificação de produtos ricos em gordura. A metodologia é bastante simples e rápida, parte de pequena quantidade de amostra, dispensa qualquer tipo de equipamento ou de vidraria especial, ao contrário da técnica de codestilação (16) e requer um mínimo de reagentes e solventes. Na análise de leite (15), foi atingido o máximo de simplicidade que se pode esperar, pois tanto a extração como a purificação são realizadas em seqüência num funil de separação. Os resultados da experiência obtida em nosso laboratório, na análise de leite, foram publicados recentemente (17).

Para a escolha dos alimentos a serem estudados, consideramos que ainda era necessário trabalhar com derivados de leite, tanto para efetuarmos uma comparação dos níveis dos pesticidas detectados

no leite e seus derivados, (18,19) como para avaliar a experiência anteriormente adquirida. No sentido de se obter uma diversificação no tipo de amostra a ser testada e tendo em vista a importância dos ovos e da carne de aves na dieta do brasileiro, incluímos a raça para aves, em nossos planos de trabalho (20).

Apresentaremos a seguir, a descrição detalhada da metodologia desenvolvida, com base na técnica de Veierov, para a análise de resíduos de pesticidas organoclorados.

2. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

2.1. Reagentes: Os reagentes utilizados são:

- Éter de petróleo p.a., faixa de ebulição 35-60°C, procedência Ecibra ou Carlo Erba. Este solvente é purificado obedecendo o esquema experimental descrito em 2.2.
- Ácido sulfúrico p.a., 95-97% (Dens. 1,84 g/cm³), procedência Merck.
- Hidróxido de sódio p.a., procedência Merck.
- Sulfato de sódio anidro, granulado, procedência Merck.

2.2. Purificação do Éter de Petróleo

Tendo como objetivo desenvolver um procedimento para a obtenção mais econômica de solventes de pureza adequada para análises de resíduos de pesticidas, diferentes partidas de éter de petróleo grau p.a. foram testadas em nosso laboratório.

O processo de purificação consiste em refluxar o solvente com lentilhas de hidróxido de sódio (100g/l), durante um tempo mínimo de seis horas e em seguida destilar lentamente em coluna espelhada de fracionamento de 1,20m de altura.

Este tratamento foi estabelecido através do controle cromatográfico do solvente, nas diferentes etapas do processo de purificação (Fig. 1, Fig. 2 e Fig. 3). A comparação destes cromatogramas, com os cromatogramas de soluções padrões de aldrin em concentrações adequadas (Fig. 4 e Fig. 5) permite concluir pela aplicabilidade do método, na obtenção mais econômica de solventes para análises de resíduos de pesticidas.

2.3. Determinação do Teor de Gordura da Amostra

a) Creme de Leite: O teor de gordura da amostra é determinado usando o método do lactobutirômetro de Gerber (21). Com base no teor de gordura encontrado, o creme é diluído com água de modo que a solução resultante (A) contenha cerca de 4% de gordura, o que possibilita a aplica-

ção da técnica desenvolvida por Veierov para leite.

b) Queijo (tipo Parmezão ralado): A gordura de queijo é obtida por extração em Soxhlet com n-hexano durante cerca de 2 1/2 horas, utilizando amostras correspondentes a 20 g de material. Com a finalidade de se conhecer o tempo necessário para a extração total dos lipídeos, foi efetuada uma série de extrações variando-se o tempo, renovando-se o solvente e utilizando em cada uma delas a mesma amostra de queijo. A análise dos resultados indicou 2 1/2 horas, como tempo suficiente para extração de 98% dos lipídeos. O extrato é evaporado em rotavapor e a massa de gordura determinada. Esta é então dissolvida em um volume adequado de éter de petróleo para a obtenção de uma solução contendo 0,1 g de gordura/ml de solução (B).

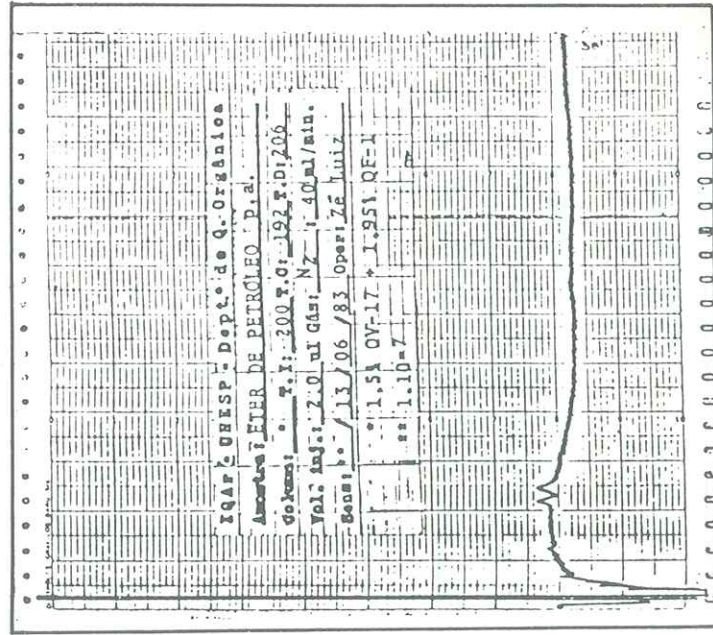


FIG. 1 — Cromatograma do Éter de Petróleo p.a.

c) Ração para Aves Poedeiras: A gordura da ração foi inicialmente extraída, utilizando o mesmo procedimento descrito para o queijo, ou seja, extração em Soxhlet, durante cerca de 2 horas. Este tempo é suficiente para extração de 99% da gordura e foi determinado como indicado em b.

O processo de extração mais rápido (40 minutos) e mais econômico, foi desenvolvido utilizando uma coluna de vidro (2x30cm) com torneira de teflon. Coloca-se algodão na extremidade inferior da coluna que é preenchida com 40 g de ração. Um volume de 20 ml de éter de petróleo é adicionado e escoado após 5 minutos. Esta operação é repetida por mais quatro vezes, usando-se porções de 10 ml de solvente. Concentra-se o extrato gorduroso em rotavapor e determina-se a massa de gordura. Uma a duas gramas de gordura é

dissolvida em 20 ml de éter de petróleo, obtendo-se a solução (C). Tanto o papel utilizado no Soxhlet quanto o algodão usado na coluna, devem ser testados quanto à possível presença de impurezas.

2.4. Extração e Limpeza segundo a Técnica de Veierov

Adicionar à solução A (creme de leite) 10 ml de metanol, agitar manualmente por 5 minutos e transferir para um funil de separação de 500-1000 ml com torneira de vidro soprada ou de teflon. A adição de metanol à amostra de creme de leite é uma modificação que introduzimos na técnica de Veierov, após constatarmos baixa recuperação seguindo o procedimento aplicado originalmente para leite. A adição de um solvente orgânico (etanol ou metanol) contorna este problema, por

romper a membrana dos glóbulos de gordura, nos quais o pesticida está incorporado conforme discutido por Suzuki et alii (22) e Beroza et alii (23).

Ao funil de separação na posição horizontal adicionar lentamente 20 ml de ácido sulfúrico concentrado. Efetuar movimentos de rotação suaves com o funil, mantendo-o na horizontal. Uma agitação vigorosa pode gerar o aparecimento de uma emulsão dificultando a sequência de operações. A agitação suave deve ser feita até que a fase ácida apresente coloração marrom homogênea. Esfriar à temperatura ambiente.

Adicionar 40 ml de éter de petróleo e efetuar suaves movimentos rotatórios durante 3 minutos. Colocar o funil na posição vertical e aguardar a separação das fases (15-30 minutos). Descartar a fase áci-

Adicionar 30 ml de água destilada ao funil, agitar e descartar a fase aquosa. Esta operação elimina vestígios de ácido presente no funil de separação. Transferir a fase orgânica para um sistema Kuderna-Danish, passando-a por um funil contendo sulfato de sódio granulado e concentrar até 5 ml. Concluir a evaporação à temperatura ambiente com corrente de nitrogênio e retomar o resíduo com isooctano em um balão volumétrico de 5 ml. Injetar 5 μ l no cromatógrafo.

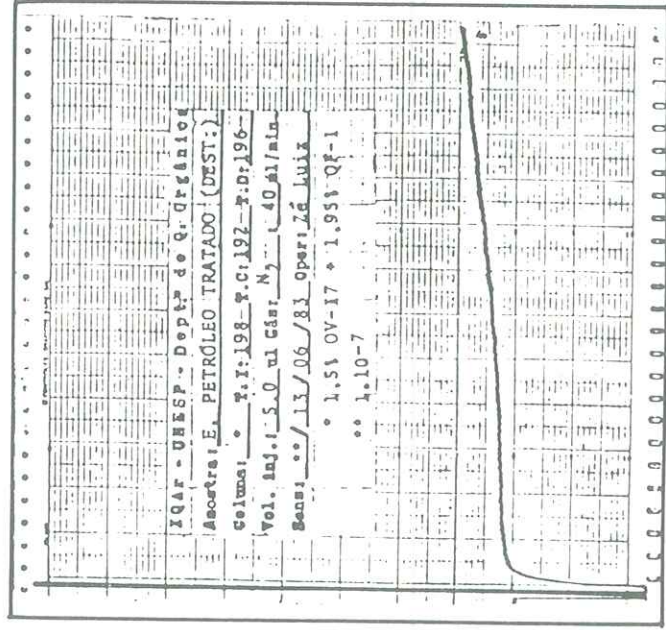


FIG. 2 — Cromatograma do Éter de Petróleo Purificado.

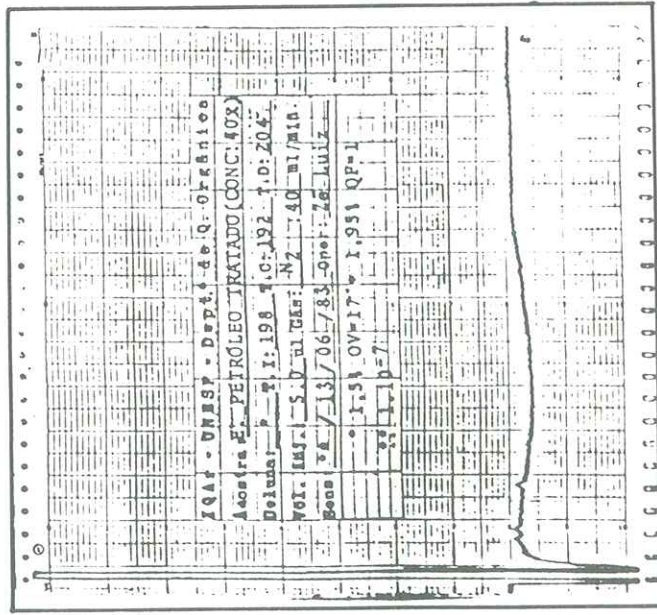


FIG. 3 — Cromatograma do Éter de Petróleo Purificado (Concentrado 40 vezes)

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - pela concessão de bolsa de Iniciação Científica a Jorge Maurício David.

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

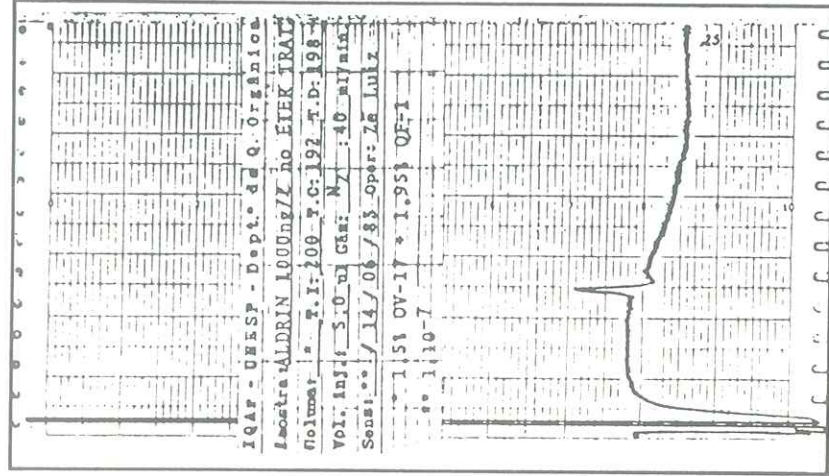


FIG. 4 — Cromatograma da Solução de Aldrin (1000ng/l) em Éter de Petróleo Purificado.

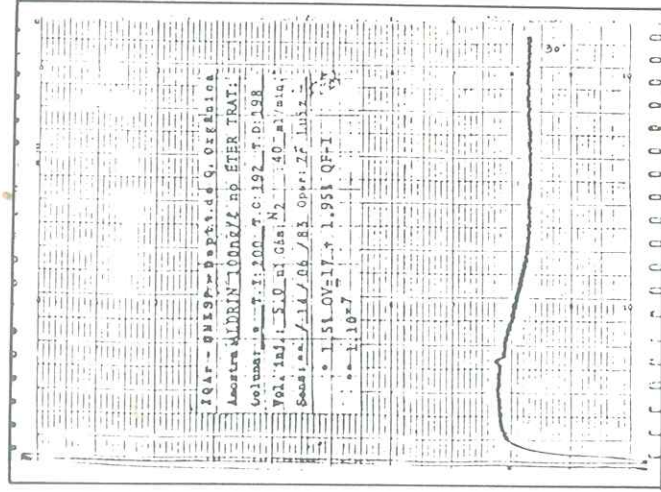


FIG. 5 — Cromatograma da Solução de Aldrin (100ng/l) em Éter de Petróleo Purificado.

RIBEIRO, M.L. et alii - Residuos de pesticidas organoclorados: métodos de triagem. Ecl. Quím., São Paulo, 8:21-27, 1983.

ABSTRACT: This paper relates our experience in research work on screening methods for detection of residues of organochlorine pesticide in dairy products and in chickens feed. The most suitable method is based on use of sulfuric acid for extraction and clean-up of the rich fat samples.

KEY-WORDS: Organochlorine pesticides; pesticide residues; gas-chromatographic.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. DEL'ACQUA, A. et alii — Estudo colaborativo para elaboração de métodos de análise de varredura para alimentos. 2.º Congresso Gaúcho de Farmácia e Bioquímica. Porto Alegre, 1977.
2. DEL'ACQUA, A. et alii — Detecção de resíduos de Sevin em vegetais. 1.º Encontro Nacional de Analistas de Resíduos de Pesticidas. São Paulo, Instituto Adolfo Lutz, 1977.
3. DEL'ACQUA, A. et alii - Ecl. Quím., 1977, 2: 68.
4. DEL'ACQUA, A. et alii — Teste para detecção de ditiocarbamatos e Sevin. 2.º Encontro Nacional de Analistas de Resíduos de Pesticidas. São Paulo, Instituto Adolfo Lutz, 1977.
5. TREVISAN, L.M.V. et alii - Ciência e Cultura, 1978, S30:265.
6. SPIRANDELLI, M.M. et alii - Ciência e Cultura, 1981, S33:238.
7. CANEVAROLO, E.T. et alii - Métodos para detecção de pesticidas organoclorados: triagem. 3.º Encontro Regional de Química (SBQ). Ribeirão Preto, 1981.
8. DEL'ACQUA, A. et alii - Ciência e Cultura, 1982, S34:535.
9. DEL'ACQUA, A. et alii - Extração rápida e econômica de pesticidas organoclorados em leite. 2.º Encontro Regional de Química Araraquara, 1980.
10. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - Official methods of analysis of the Association of official Analytical Chemists. 12. ed. Washington, 1975. p. 523.
11. LASZLO, H. et alii - Determinação de resíduos de inseticidas organoclorados em derivados de carne. 5.º Encontro Nacional de Analistas de Resíduos de Pesticidas. São Paulo, Instituto Adolfo Lutz, 1980.
12. SCHECHTER, M.S. et alii - Anal. Chem., 1947, 19: 51.
13. VEIEROV, D. & AHARONSON, N. — J. Assoc. Off. Anal. Chem., 1978, 61: 253.
14. VEIEROV, D. & AHARONSON, N. — J. Assoc. Off. Anal. Chem., 1980, 63: 202.
15. VEIEROV, D. & AHARONSON, N. — J. Assoc. Off. Anal. Chem., 1980, 63: 532.
16. STORHERR, R.W. et alii - J. Assoc. Off. Anal. Chem., 1967, 50: 605-615.
17. DEL'ACQUA, A. et alii - Ecl. Quím., 1982, 7: 49-54.
18. RIBEIRO, M.L. et alii - Ciência e Cultura, 1982, S34: 534.
19. MONFARDINI, J.L. et alii - Análise de resíduos e pesticidas organoclorados em produtos lácteos. 4.º Encontro Regional de Química QA-8, São Carlos, 1982.
20. DAVID, J.M. et alii — Determinação de resíduos de pesticidas organoclorados em ração para aves. 4.º Encontro Regional de Química, Qa-A, São Carlos, 1982.
21. INSTITUTO ADOLFO LUTZ — Normas analíticas. São Paulo, 1976. v. 1., p. 175.
22. SUZUKI, T. et alii — J. Assoc. Off. An. Chem., 1979, 62: 681.
23. BEROZA, M. & BOWMAN, M.C. - J. Assoc. Off. Anal. Chem., 1966, 49: 1007.

Recebido em 04.05.83.