

## ESTUDO COMPARATIVO DE MÉTODOS PARA DETERMINAÇÃO DE PESTICIDAS ORGANOCLORADOS\*

Heloisa H. C. BARRETTO\*\*  
Odete N. K. INOMATA\*\*  
Vera R. R. LEMES\*\*

RIALA6/712

BARRETTO, H.H.C.; INOMATA, O.N.K.; LEMES, V.R.R. — Estudo comparativo de métodos para determinação de resíduos de pesticidas organoclorados. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 51 (1/2):69-74 — 1991.

**RESUMO:** O desenvolvimento de métodos analíticos para detectar resíduos de pesticidas em alimentos dá ênfase à técnicas para análise de multirresíduos devido aos inúmeros princípios ativos à disposição no mercado. A técnica do A.O.A.C. utilizada pelo laboratório de análise de resíduos do Instituto Adolfo Lutz-São Paulo desde as suas primeiras pesquisas na área, é hoje praticamente inviável devido ao seu alto custo. Para contornar o problema foi necessário estabelecer nova metodologia que satisfizesse requisitos como: facilidade e rapidez de execução, reprodutibilidade, sensibilidade e baixo custo. Dos métodos estudados o que mais se adequou às necessidades laboratoriais foi o de Steiwandter. Para avaliação deste método frente ao A.O.A.C. foi feito um estudo comparativo, mostrando resultados plenamente satisfatórios.

**DESCRITORES:** alimentos, determinação de resíduos de pesticidas organoclorados leite, manteiga, ovos, resíduos, determinação, métodos, estudo comparativo.

### INTRODUÇÃO

No Brasil, os dados de resíduos de pesticidas em alimentos são escassos embora haja trabalhos publicados desde 1971<sup>1,5</sup>.

Apesar da proibição dos organoclorados<sup>3</sup> continuamos a detectá-los, principalmente em produtos gordurosos de origem animal, devido a sua persistência e lipossolubilidade.

A análise de pesticida a nível de traços requer um ou mais procedimentos de extração e purificação, dependendo do tipo da amostra, da sensibilidade e seletividade dos métodos de detecção disponíveis<sup>8</sup>.

Nos últimos anos, diferentes procedimentos de extração e purificação de amostras gordurosas para determinação de multirresíduos de pesticidas organoclorados tem sido objeto de muitos estudos.

O método que vinha sendo utilizado desde 1969 no Instituto Adolfo Lutz era o da A.O.A.C.<sup>2</sup> que consiste de várias etapas analíticas: extração da gordura partição com três solventes e cromatografia de adsorção com floristil. O uso desta metodologia requer um gasto maior de tempo, grande quantidade de solventes e, como consequência o custo da análise se torna mais alto.

Procurando métodos onde a extração e purificação fossem feitas em uma única etapa, viabilizando condições para maior controle de resíduos de pesticidas nos alimentos foi feito um estudo comparativo entre o método de Steiwandter H.<sup>7</sup> e o método oficial da A.O.A.C. em amostras de manteiga, leite e ovos.

O método de Steiwandter foi usado pelo laboratório do Instituto Adolfo Lutz nas análises das amostras de óleo e manteiga enviadas pelo Programa de Controle de Qualidade Analítica coordenado

\* Realizado na Seção de Aditivos e Pesticidas Residuais do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP. Apresentado no XII Encontro de Analistas de Resíduos de Pesticidas, São Paulo, 1988.

\*\* Do Instituto Adolfo Lutz.

pelo Joint FAO/WHO Food Contamination Monitoring Programme Analytical Quality Assurance<sup>6</sup> e também pelo Grupo de Analistas de Resíduos de Pesticidas-Brasil. Os resultados nos dois programas foram amplamente satisfatórios.

## MATERIAIS E MÉTODOS

### *Amostras:*

O estudo comparativo dos métodos propostos foi feito através da análise de cinco amostras de manteiga, cinco de leite pasteurizado tipo B e cinco de ovos de galinha comercializados na cidade de São Paulo.

### *a) Método de Steiwandter*

#### Material

Estufa

Rotavapor

Coluna cromatográfica com torneira de Teflon e placa porosa, de 20 mm de diâmetro interno, 300 mm de comprimento com reservatório de 200 ml.

### *Almofariz com pistilo*

Cromatógrafo C.G. 370 com detector de captura de elétrons, fonte de tritium, equipado com coluna espiralada de vidro de 6 pés de comprimento por 1/8 de polegada de diâmetro interno, com fase estacionária, 1,5% OV 17 + 1,95% OV 210 em Chorosorb Q II 100/120 mesh, nas seguintes condições: temperatura da coluna, 206°C; temperatura do injetor, 216°C; temperatura do detector, 225°C; fluxo de Nitrogenio, 40 ml/min. A sensibilidade do aparelho foi ajustada de forma a conseguir uma deflexão de aproximadamente 60% da escala do papel do registrador com 40 pg de Aldrin.

### *Reagentes*

Hexano grau residuo

Silica gel 60, tamanho de partícula 0,063-0,200 mm (70-230 mesh ASTM)

Sulfato de Sódio anidro granulado

Ativação da silica gel — aquecida a 130°C por uma noite e estocada em dessecador.

Silica gel a 10% — e parcialmente desativada com 10% de água desmineralizada.

Eluente — Hexano: Diclorometano na proporção 4:1 em volume.

### *Procedimento*

#### Manteiga

Extrair a gordura através de refluxo em Soxhlet com hexano. Pesar 1 g da gordura e diluir com Hexano em balão volumétrico de 25 ml. Transferir uma alíquota de 10 ml da solução obtida, equivalente a 0,4 g para uma coluna cromatográfica, con-

tendo 15 g de silica gel parcialmente desativada 13,5 g de silica + 1,5 g de água desmineralizada). Eluir os pesticidas organoclorados com 200 ml do eluente.

#### Leite

Homogeinizar 10 g da amostra de leite com 15 g de silica gel em almofariz. Transferir o pó resultante da mistura para coluna cromatográfica contendo 15 g de silica gel desativada e eluir com o eluente.

#### Ovo

Homogeinizar as claras e as gemas. Tomar 5 g de mistura e adicionar 5 g de água. Adicionar 15 g de silica gel. Misturar em um almofariz. Transferir o pó resultante da mistura para coluna cromatográfica contendo 15 g de silica gel desativada e eluir com o eluente.

Concentrar os eluatos em rotavapor a aproximadamente 2 ml. Adicionar aproximadamente 5 ml de Hexano. Concentrar novamente para eliminação do Diclorometano. Completar o volume e injetar no cromatógrafo.

### *b) Método do A.O.A.C.*

A extração dos pesticidas e a purificação dos extratos foi feita conforme A.O.A.C. As condições cromatográficas foram as mesmas usadas no método de Steiwandter, sendo que a sensibilidade foi ajustada de forma a obter uma deflexão de aproximadamente 60% da escala do registrador com 150 pg de Aldrin para amostras de manteiga e leite, e com 40 pg de Aldrin para amostras de ovos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de recuperação feito apenas com padrões dos diferentes princípios ativos dos pesticidas organoclorados em dois níveis de concentração encontram-se nas tabelas 1 e 2. Foi utilizada uma mistura de padrões adequada a cada método, variando de 50 à 900 ng para o da A.O.A.C. e de 10 a 90 ng para o de Steiwandter.

A recuperação média obtida pelos dois métodos estão dentro dos limites aceitáveis, mostrando equivalência entre eles.

As tabelas 3, 4 e 5 mostram os resultados obtidos na análise de parte das amostras homogeinizadas de manteiga, leite e ovos. Nelas foram detectados resíduos de alfa HCH, gama HCH, p-p'DDE, o-p'DDT, p-p'DDT e Dieldrin.

Das 120 determinações de pesticidas organoclorados efetuados 53,33% foram iguais nos dois métodos, 43,33% diferiram em até 100% e 3,33% apresentaram uma diferença maior que 100%. Entretanto, quando se trabalha com valores na ordem de 0,01 mg/kg(ppm) de resíduos de pesticidas orga-

noclorados em alimentos o erro é plenamente aceitável<sup>4</sup>.

A tabela 6 mostra a porcentagem de recuperação para cada pesticida nos níveis de adição de 20-80 ng/g à outra parte das amostras e de acordo com a sensibilidade do método.

Devido aos resultados das recuperações e das amostras estudadas serem considerados satisfatórios, foi introduzido na Seção de Aditivos e Pesti-

cidas Residuais do Instituto Adolfo Lutz, o método de Steinwandter para amostras gordurosas.

#### AGRADECIMENTOS

Agradecemos a Walkyria H. Lara que foi chefe da Seção de Aditivos e Pesticidas Residuais por ter intermediado o estágio de Heloisa H. B. de Toledo nos laboratórios do G. T. Z./Alemanha que utiliza o método de Steiwandter.

RIALA6/712

BARRETTO, H.H.C.; INOMATA, O.N.K.; LEMES, V.R.R. — Comparative study of methods to determination of chlorinated pesticide residues. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 51 (1/2): 69-74, 1991.

**ABSTRACT:** Development of analytical methods for pesticide residues determination in food require multiresidues methodology due many active ingredient. The technic mentioned by A.O.A.C. has being used in laboratory of "Instituto Adolfo Lutz. São Paulo" since its firsts researches and occasioned higt expenses turning almost impossible its realization. In order to resolv the problem it was necessary studying a new methodology wich according the requisites: facilitate, quickly of execution, reprodutibilite, sensibilite and lower expense. Between the methods studied the most suitable for our necessites it was Steiwandter, H. and it is being used since than. For evaluatin the methodology it was make a comparation with the method of the A.O.A.C. giving satisfactory results.

**DESCRIPTORS:** food, chlorinated pesticide residues determination in, chlorinated pesticide in milk, butter, egg, residues, determination, methods, comparative study.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALMEIDA, M.E.W.; BARRETO, H.H.C. — Resíduos de pesticidas clorados em leite consumido em São Paulo. Rev. Inst. Adolfo Lutz 31, 13-20, 1971.
2. ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS — Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists 12th ed. Washington, A.O.A.C., 1984, p. 536-8 seção 29.011 e, 29.012 b, 29.012 c, 29.014, 29.015.
3. BRASIL. Leis, decretos, etc. — Portaria n° 329, de 02 de setembro de 1985 do Ministério da Agricultura. Diário Oficial. Brasília, 03 de setembro de 1985. Seção I, pt. I, p. 12941. Proíbe em todo o território nacional, a comercialização, uso e distribuição dos produtos organoclorados destinados a agropecuária.
4. CARL, M. — Internal laboratory quality control in the routine determination of chlorinated pesticide residues. In INTERNATIONAL CONGRESS OF PESTICIDE CHEMISTRY. 4°, Zurich, 1978. Papers; ed. H. Geissbuhler. Oxford, Pergamon Press, 1979, p. 660-3.
5. LARA, W.H.; BARRETTO, H.H.C.; TAKAHASHI, M.Y. — Resíduos de pesticidas clorados em conservas de carne bovina. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 31, 63-70, 1971.
6. SLORACH, S.A. & VAZ, R. — Report of the fourth analytical quality assurance: exercise on organochlorine compounds. In: JOINT UNEP/FAO/WHO FOOD CONTAMINATION MONITORING PROGRAMME. — Analytical quality assurance studies, 1985-1987. Geneva, WHO, 1988.
7. STEIWANDTER, H. — Contributions to silica gel application in pesticide residue analysis. III. An on-line Method for Extracting and Isolating Chlorinated Hydrocarbon Pesticides and Polychlorinated Biphenyls (PCB's) from milk and dairy products. Fresenius Z. Anal. Chem., 312:342-5, 1982.
8. WALTERS, S. M. — Cleanup of samples. In ZWEIG, G & SHERMA, J., ed. — Analytical methods for pesticides and plant growth regulators. Orlando, Academic Press, 1986, v. 15, p. 67, 80.

Recebido para publicação em 05 de fevereiro de 1991.

TABELA 1  
*Recuperação de pesticidas organoclorados pelo método da A.O.A.C.*

	ng ADICIONADOS	% DE RECUPERAÇÃO	% MÉDIA
HCB	300	75	85,0
	50	95	
alfa HCH	300	90	87,5
	50	85	
gama HCH	300	90	87,5
	50	85	
beta HCH	600	80	80,0
	100	80	
Aldrin	600	80	82,5
	100	85	
Dieldrin	600	75	77,5
	100	80	
Endrin	600	75	85,0
	100	95	
Heptaclor	600	85	80,0
	100	75	
Heptaclor Epoxi	600	95	92,5
	100	90	
p-p' DDE	600	95	95,0
	100	95	
o-p' DDT	900	90	92,5
	200	95	
p-p' DDT	900	90	92,5
	200	95	
p-p' DDD	900	85	90,0
	200	95	
Mirex	900	75	82,5
	200	90	

TABELA 2

*Recuperação de pesticidas organoclorados pelo método de Steiwandter, H.*

	ng ADICIONADOS	% DE RECUPERAÇÃO	% MÉDIA
HCB	30	85	90,0
	10	95	
alfa HCH	30	90	92,5
	10	95	
gama HCH	30	90	92,5
	10	95	
beta HCH	60	75	80,0
	20	85	
Aldrin	60	90	85,0
	20	80	
Dieldrin	60	85	87,5
	20	90	
Endrin	60	80	85,0
	20	90	
Heptaclor	60	95	92,5
	10	90	
Heptaclor Epóxi	60	90	90,0
	20	90	
p-p' DDE	60	95	95,0
	20	95	
o-p' DDT	90	95	92,5
	40	90	
p-p' DDT	90	95	92,5
	40	90	
p-p' DDD	90	95	92,5
	40	90	
Mirex	90	95	90,0
	40	85	

TABELA 3

*Níveis de resíduos de pesticidas organoclorados na gordura da manteiga ppm(mg/kg)*

Amostras	% de gordura	Métodos	alfa HCH	gama HCH	beta HCH	p-p' DDE	o-p' DDT	p-p' DDD	p-p' DDT	Dieldrin
A	81,3	AOAC	0,01	< 0,01	< 0,01	0,01	< 0,01	< 0,01	0,01	0,01
		Steiwandter	0,01	0,01	0,01	0,02	< 0,01	< 0,01	0,02	< 0,01
B	81,3	AOAC	0,01	< 0,01	0,01	0,01	< 0,01	< 0,01	0,01	0,01
		Steiwandter	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	< 0,01	0,02	< 0,01
C	82,0	AOAC	0,01	0,01	0,01	0,04	< 0,01	< 0,01	0,01	0,01
		Steiwandter	0,01	0,01	0,02	0,04	0,01	< 0,01	0,01	0,01
D	84,0	AOAC	0,01	0,01	0,01	0,04	< 0,01	< 0,01	0,01	0,01
		Steiwandter	0,01	0,01	0,01	0,03	0,02	< 0,01	0,02	0,02
E	83,3	AOAC	0,01	0,01	0,01	0,03	< 0,01	< 0,01	0,01	0,01
		Steiwandter	0,01	0,02	0,01	0,02	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,01

TABELA 4

*Níveis de resíduos de pesticidas organoclorados na gordura do leite ppm(mg/kg)*

Amostras	% de gordura	Métodos	alfa HCH	gama HCH	beta HCH	p-p' DDE	o-p' DDT	p-p' DDD	p-p' DDT	Dieldrin
A	3,6	AOAC	0,01	< 0,01	0,01	0,02	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,01
		Steiwandter	0,01	0,01	< 0,01	0,02	0,01	< 0,01	0,01	0,02
B	3,6	AOAC	0,01	< 0,01	0,02	0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,01
		Steiwandter	0,01	0,02	< 0,01	0,01	0,01	< 0,01	0,01	0,01
C	3,4	AOAC	0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,01
		Steiwandter	0,01	< 0,01	0,01	0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,02
D	3,6	AOAC	0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,01
		Steiwandter	0,01	< 0,01	0,01	0,01	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,02
E	3,8	AOAC	0,02	< 0,01	0,01	0,03	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,01
		Steiwandter	0,01	< 0,01	0,01	0,04	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,02

TABELA 5

*Níveis de resíduos de pesticidas organoclorados na gordura do ovo ppm(mg/kg)*

Amostras	% de gordura	Métodos	alfa HCH	gama HCH	beta HCH	p-p' DDE	o-p' DDT	p-p' DDD	p-p' DDT	Dieldrin
A	10,1	AOAC	0,01	< 0,01	0,01	0,01	0,01	< 0,01	0,01	< 0,01
		Steiwandter	< 0,01	0,01	< 0,01	0,01	0,01	< 0,01	0,02	0,01
B	8,3	AOAC	0,01	< 0,01	0,01	< 0,01	0,01	< 0,01	0,03	< 0,01
		Steiwandter	< 0,01	< 0,01	0,01	0,01	0,01	< 0,01	0,02	< 0,01
C	9,2	AOAC	0,01	0,01	0,01	< 0,01	0,02	< 0,01	0,02	< 0,01
		Steiwandter	< 0,01	< 0,01	< 0,01	0,01	< 0,01	< 0,01	0,01	< 0,01
D	9,7	AOAC	0,01	< 0,01	0,01	< 0,01	0,01	< 0,01	0,03	< 0,01
		Steiwandter	< 0,01	< 0,01	0,01	0,01	0,01	< 0,01	0,02	< 0,01
E	8,1	AOAC	0,01	< 0,01	0,01	0,01	0,01	< 0,01	0,04	0,01
		Steiwandter	< 0,01	< 0,01	0,01	0,01	0,01	< 0,01	0,02	0,01

TABELA 6

*Recuperação de pesticidas organoclorados adicionados nas amostras*

	concentração adicionada ng/g	MANTEIGA		LEITE		OVO	
		AOAC	Steiwandter	AOAC	Steiwandter	AOAC	Steiwandter
		%	%	%	%	%	%
HCB	20	80	84	70	83	86	87
alfa HCH	20	84	83	80	80	87	98
gama HCH	20	96	96	85	91	85	81
beta HCH	40	84	88	93	83	83	88
Aldrin	40	82	94	84	78	82	89
Dieldrin	40	94	100	78	88	96	94
Endrin	40	97	100	100	95	100	93
Heptaclor	40	84	88	93	83	83	88
Heptaclor Epoxi	40	102	93	94	97	97	94
p-p' DDE	40	92	85	100	103	82	90
o-p' DDT	80	94	100	97	107	96	96
p-p' DDT	80	100	107	106	105	91	94
p-p' DDD	80	103	103	100	100	100	94
Mirex	80	77	100	76	105	82	94