

# DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS ORGANOCLORADOS EM HORTALIÇAS\*

MARIA TERESA PLATA OVIEDO \*\*

MARIA CECÍLIA DE FIGUEIREDO TOLEDO \*\*\*

EDUARDO VICENTE \*\*\*\*

Foram analisados resíduos de Clorotalonil, Aldrin, Dieldrin, Heptacloro, Heptacloro epóxido, Endosulfan alfa, Endosulfan beta e Sulfato de Endosulfan nas seguintes hortaliças: alface, acelga, chicória, repolho, tomate, chuchu, batata, cenoura, mandioca e mandioquinha. As amostras foram coletadas no restaurante da Universidade Estadual de Campinas, no período de abril/1998 a abril/2001 e nas Centrais de Abastecimento de Campinas, no período de abril a agosto/2001. Os resíduos dos agrotóxicos organoclorados foram determinados por cromatografia a gás com detector de captura de elétrons (CG-DCE- <sup>63</sup>Ni). Os limites de detecção (LD) encontrados para Clorotalonil, Aldrin, Dieldrin, Heptacloro, Heptacloro epóxido, Endosulfan alfa, Endosulfan beta e Sulfato de Endosulfan foram 0,0006, 0,0006, 0,0008, 0,0006, 0,0007, 0,0008, 0,0009 e 0,0016 mg/kg, e os limites de quantificação 0,002, 0,002, 0,003, 0,002, 0,003, 0,003, 0,003 e 0,005 mg/kg, respectivamente. A recuperação média dos agrotóxicos analisados variou de 76,0 a 97,0% em repolho, de 90,0 a 103,0% em tomate e de 81,0 a 106,0% em batata. Em todas as amostras de hortaliças analisadas (n=151), os níveis residuais de agrotóxicos apresentaram-se abaixo dos limites de detecção (LD) do método validado.

*PALAVRAS-CHAVE: RESÍDUOS; AGROTÓXICOS-ORGANOCLORADOS; HORTALIÇAS.*

## 1 INTRODUÇÃO

Os agrotóxicos são produtos químicos destinados a prevenir ou controlar pragas, incluindo vetores de doenças que causem prejuízo na

\* Parte da Tese de Doutorado do primeiro autor.

\*\* Doutora em Ciência de Alimentos, Faculdade de Engenharia de Alimentos (FEA), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP. (e-mail:matepo@hotmail.com).

\*\*\* Pr.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup> Titular de Toxicologia de Alimentos, Departamento de Ciência de Alimentos, FEA, UNICAMP, Campinas, SP. (e-mail:macecil@fea.unicamp.br).

\*\*\*\* Pesquisador Científico, Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), Campinas, SP. (e-mail: evicente@ital.org.br).

produção, armazenamento, transporte e comercialização dos alimentos. Esses compostos representam grupo polêmico de substâncias. Se por um lado contribuem com o aumento da produção agrícola, por outro podem contaminar os alimentos e o ambiente caso não sejam respeitadas as boas práticas agrícolas. Desta forma, para garantir à população produtos que não representem risco à saúde é de grande importância o monitoramento de resíduos de agrotóxicos em alimentos disponíveis no comércio.

Embora a literatura consultada indique a ausência ou presença em níveis bastante baixos de agrotóxicos organoclorados em algumas hortaliças (UNGARO et al. 1987; ZANDONÁ e ZAPPIA, 1993; BARRETO et al. 1996), o conhecimento de suas propriedades tóxicas, seu caráter acumulativo e a possibilidade de venda ilegal exigem monitoramento contínuo.

A aplicação do fungicida Clorotalonil é autorizada em partes aéreas de culturas de amendoim, arroz, banana, batata, berinjela, café, cenoura, cebola, citros, feijão, fumo, maçã, mamão, melão, melancia, pepino, pimentão, soja, tomate, trigo, uva, seringueira, gramados e plantas ornamentais (ANVISA, 2002a). Os inseticidas Aldrin, Dieldrin, Heptacloro, Heptacloro epóxido, Endosulfan alfa, Endosulfan beta e Sulfato de Endosulfan foram proibidos pela Legislação Brasileira para uso na agropecuária pela Portaria nº 329/85 (BRASIL, 1985). Excepcionalmente, o Endosulfan tem o seu emprego autorizado para aplicação em partes aéreas nas culturas de algodão, cacau, café, soja e cana-de-açúcar (ANVISA, 2002b). Resíduos de organoclorados podem eventualmente estar presentes em outras culturas, devido à aplicação indevida ou contaminação através do meio ambiente.

O objetivo desta pesquisa foi determinar os resíduos do fungicida Clorotalonil e dos inseticidas Aldrin, Dieldrin, Heptacloro, Heptacloro epóxido, Endosulfan alfa, Endosulfan beta e Sulfato de Endosulfan em hortaliças servidas nos restaurantes da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) e comercializadas nas Centrais de Abastecimento de Campinas (CEASA).

## **2 MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 AMOSTRAS, COLETA E ARMAZENAMENTO**

Foram coletadas no restaurante da UNICAMP amostras de 2 kg das seguintes hortaliças *in natura*: alface, acelga, chicória, repolho, tomate e mandioquinha, além de amostras de 5 kg de chuchu, batata,

cenoura e mandioca, cuja procedência foi investigada. A quantidade de amostras coletadas, no período de abril/1998 a abril de 2001, obedeceu critérios adotados por YOKOMIZO et al. (1984) para análise de resíduos de agrotóxicos em vegetais *in natura*. As hortaliças foram acondicionadas em sacos de polietileno e transportadas em caixas de isopor com gelo, devidamente rotuladas e levadas ao laboratório de análises. Após homogeneização, em multiprocessador de alimentos (Walita), as amostras foram acondicionadas em frascos de vidro de 500 mL fechados com tampas envolvidas com papel de alumínio e armazenadas em congelador a  $-18\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  até o momento da análise (realizada em duplicata).

Foram também analisadas hortaliças comercializadas nas Centrais de Abastecimento de Campinas no período de abril a agosto de 2001 (5 coletas mensais consecutivas). O procedimento adotado na coleta das amostras e posterior tratamento foi semelhante ao utilizado para as amostras da UNICAMP.

## 2.2 PADRÕES E REAGENTES

Foram preparados, em acetona grau pesticida (Mallinckrodt), soluções contendo 200 mg/L dos padrões de Clorotalonil com grau de pureza de 99,60%, cedido pela Zeneca do Brasil Ltda, Aldrin (nº49000-U-1), Dieldrin (nº 49024-1), Heptacloro (nº 749041-1), Heptacloro epóxido (nº4-9042) (Supelco, USA, todos com pureza de 99%), Endosulfan alfa (nº05261800ZB99005), Endosulfan beta (nº 05261900ZB99003) e Sulfato de Endosulfan (nº 05132700ZB98003) fornecidos pela Agrevo Hoechst do Brasil, com 99,80%, 99,30% e 97,50% de pureza, respectivamente. A partir destas soluções foram obtidas, por diluição em hexano (p.r. Mallinckrodt), soluções padrão contendo 2,0, 1,5, 1,0, 0,5 e 0,2 mg/L dos agrotóxicos. Os reagentes utilizados foram  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  NaCl e florisil (p.r. Mallinckrodt), tratados previamente em mufla durante 6 horas a 600 °C, peneirados, guardados em frasco âmbar e conservados em dessecador com sílica gel até o momento da análise.

## 2.3 MÉTODOS DE ANÁLISES

A metodologia utilizada consistiu de extração e partição líquido-líquido, conforme o método modificado de LUKE et al. (1975), e limpeza das amostras, realizada em coluna de florisil, de acordo com MILLS et al. (1972).

### 2.3.1 Método modificado de LUKE et al. (1975)

#### *Extração e purificação por partição líquido-líquido*

Aproximadamente 50 gramas de amostra, previamente homogeneizadas durante 30 segundos, foram extraídas com 150 mL de acetona p. r. e agitadas por 1 hora. Filtrou-se o extrato em funil Büchner com papel de filtro Whatman nº41 (tratado com acetona p.a. em Soxhlet durante 8 horas), o qual foi recolhido em kitasato acoplado à bomba de vácuo. Transferiu-se o filtrado para balão volumétrico de 200 mL, sendo o volume completado com acetona p.r. Uma alíquota de 50 mL do extrato foi transferida para funil de separação de 500 mL sendo acrescentados 100 mL de mistura hexano:diclorometano (grau para resíduo 50:50 v/v), tendo-se o cuidado de lavar uma vez o kitasato com a mistura de solventes. A seguir, foram adicionados 4 g de NaCl (tratado previamente em mufla) diluídos em 40 mL de água bidestilada, sendo a mistura agitada vigorosamente durante 5 minutos e então deixada em repouso para separação das fases orgânica e aquosa. Transferiu-se a fase aquosa para funil de separação de 500 mL, sendo adicionados 50 mL de diclorometano p.r. A solução foi então agitada vigorosamente por 5 minutos e deixada decantar por 5 minutos até nova separação de fases. A adição foi repetida por duas vezes. As fases orgânicas foram combinadas e filtradas através de papel de filtro Framex - 15 cm com 5 g de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (tratado previamente em mufla a 600 °C durante 6 horas), utilizando-se funil como suporte. O filtrado foi recolhido em balão de evaporação fundo redondo de 500 mL, concentrado até quase a secura em rotavapor com banho no máximo a 40 °C e seco com fluxo de nitrogênio. Foram adicionados 10 mL de hexano p.r. ao balão de evaporação.

### 2.3.2 Limpeza do extrato em coluna cromatografica (MILLS et al. 1972)

Preparou-se coluna cromatográfica de 2 cm de diâmetro interno e 30 cm de comprimento, empacotada com 10 g de florissil p.r. 100-120 mesh (tratado previamente em mufla a 600 °C durante 6 horas). Adicionou-se no topo da coluna ½ cm de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> sendo a mesma eluída com 50 mL de hexano. Sem deixar a coluna secar transferiu-se, com pipeta de Pasteur, o extrato diluído em 30 mL do eluente I (hexano:diclorometano 99:1 v:v) para dentro da coluna com florissil, tendo-se o cuidado de lavar o balão de 500 mL com mais 70 mL do mesmo eluente. Passou-se o

eluente pela coluna e recolheu-se o eluato em balão volumétrico de 250 mL. A seguir, foram passados pela coluna 100 mL do eluente II (hexano: diclorometano 80:20 v:v), seguidos de 100 mL do eluente III (hexano:diclorometano:acetonitrila 49,25:50,0:0,75 v:v). Os eluatos foram recolhidos separadamente em balões volumétricos de 250 mL. Após concentração em rotavapor, no máximo a 40 °C até quase à secura, e secagem com fluxo de nitrogênio, o extrato foi diluído com 10 mL de hexano. Foram injetados em cromatógrafo a gás 3 µL do extrato diluído.

### 2.3.3 Análise cromatográfica

Utilizou-se cromatógrafo a gás VARIAN, modelo 3400, equipado com detector por captura de elétrons (CG-DCE-<sup>63</sup>Ni), coluna megabore DB-5 (30 m de comprimento, 0,53 mm de diâmetro interno e 1,5 µm de filme, fase estacionária 5% de fenil metil polissiloxano). Utilizou-se como processador de dados a *Workstation 4,51*, monitor e impressora. Foram injetados 3 µL da amostra no modo *on-column*, com programação de temperatura em 170 °C (1 minuto), primeiro gradiente de 5 °C/min até 250 °C (6 minutos), gás de arraste nitrogênio em 40 mL/min, temperatura do injetor em 240 °C e temperatura do detector em 300 °C. O tempo de duração de cada análise cromatográfica foi de 21 minutos. Os tempos de retenção absolutos dos padrões injetados foram: Clorotalonil 7,46 min, Heptacloro 8,85 min, Aldrin 9,94 min, Heptacloro epóxido 11,15 min, Endosulfan alfa 12,34 min, Dieldrin 13,19 min, Endosulfan beta 14,19 min e Sulfato de endosulfan 15,62 min.

A identificação dos organoclorados foi feita pela comparação dos tempos de retenção absolutos dos picos obtidos nas amostras com os respectivos padrões analíticos, e a quantificação pelo método de padronização externa. Curvas padrão analíticas foram construídas relacionando a área do pico versus concentração (mg/L) da mistura de soluções padrões de Clorotalonil, Aldrin, Dieldrin, Heptacloro, Heptacloro epóxido, Endosulfan alfa, Endosulfan beta e Sulfato de endosulfan, preparadas em hexano nas seguintes concentrações: 0,01; 0,02; 0,03; 0,04 e 0,05 mg/L. Os coeficientes de correlação foram 0,9996, 0,9998, 0,9997, 0,9990, 0,9991, 0,9993, 0,9992 e 0,9994, respectivamente.

### 2.3.4 Confirmação da identidade

*Cromatografia a gás com detector de captura de elétrons (CG-DCE -<sup>63</sup>Ni)*

Os testes para confirmação de identidade dos agrotóxicos organoclorados foram realizados no mesmo cromatógrafo a gás VARIAN-3400, acoplado ao detector por captura de elétrons. As condições cromatográficas utilizadas foram: coluna megabore VA-608 (30 m de comprimento x 0,53 mm de diâmetro interno x 0,83 µm de filme). Programação de temperatura em 230 °C (1 minuto), primeiro gradiente de 5 °C/min até 250 °C (10 minutos), gás de arraste nitrogênio em 30 mL/min, temperatura do injetor 240 °C e temperatura do detector em 300 °C. Inicialmente foram injetadas alíquotas de 3 µL da mistura de padrões de interesse na concentração de 0,01 mg/L e em seguida, as amostras foram injetadas. O tempo de duração de cada corrida cromatográfica foi de 22,60 minutos. Os tempos de retenção absolutos dos padrões foram: Heptacloro 10,19 min, Aldrin 10,84 min, Heptacloro epóxido 11,97 min, Endosulfan alfa 12,73 min, Dieldrin 13,48 min, Endosulfan beta 15,15 min e Sulfato de endosulfan 16,97 min.

#### *Cromatografia a gás acoplada ao espectrômetro de massas (CG-EM)*

A confirmação da identidade dos agrotóxicos organoclorados foi realizada também por CG-EM, usando-se cromatógrafo a gás modelo HP 6890, amostrador automático HP 7683 acoplado a detector de massas HP 5973, operando com fonte de elétrons de 70 eV. Utilizou-se coluna capilar de sílica fundida HP5-MS (30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno, 0,25 µm de filme, com 5 % de difenil e 95% de dimetil polissiloxano), hélio como gás de arraste e vazão constante de 1,0 mL/min. As injeções foram feitas no injetor de temperatura programável (PTV), operando no modo *splitless*, mantido a 70 °C por 0,1 minuto e programado até 250 °C com uma razão de 500 °C/min, permanecendo nessa temperatura por 5 minutos. Após 5 minutos da injeção, a válvula de purga do injetor foi aberta por 1 minuto, com vazão de 0,1 µL a 100 mL/min. O volume injetado foi de 1 µL. Manteve-se a temperatura da coluna em 70 °C (1 minuto), com primeiro gradiente de 25 °C/min até 160 °C, segundo gradiente de 50 °C/min até 250 °C (15 minutos), temperatura do detector em 300 °C e tempo da análise de 31 minutos.

Para a identificação dos agrotóxicos nas amostras essas foram injetadas no modo *Single Ion Monitoring* (SIM) para possibilitar maior seletividade dos picos da amostra. A identificação (Tabela 1) ocorreu pela comparação do tempo de retenção absoluto dos padrões, presença dos íons selecionados e a razão entre os íons Qualificador e “*Target*”, que devem ser equivalentes tanto nas amostras quanto nos padrões

(FILLION, et al. 1995).

**TABELA 1- CRITÉRIOS ESTABELECIDOS PARA A IDENTIFICAÇÃO DOS AGROTÓXICOS ORGANOCLORADOS**

Agrotóxicos	Tempo de retenção (min)	Íons selecionados (SIM)*
Clorotalonil	12,42	266, 264, 268
Heptacloro	13,03	272, 372, 274
Aldrin	13,49	263, 265, 362
Heptacloro epóxido	14,02	353, 355, 386
Endosulfan alfa	14,49	195, 207, 241, 404
Dieldrin	14,82	263, 277, 378
Endosulfan beta	15,20	195, 241, 207, 404
Sulfato de Endosulfan	15,74	272, 229, 387, 420

\*Coluna HP5-MS (30 m x 0,25 mm di e 0,25 µm de filme), gás de arraste hélio, com vazão constante de 1,0 mL/min. Espectrômetro de massas operando em modo SIM-70 eV.

\*De acordo com o estabelecido por FILLION et al. (1995).

## 2.4 VALIDAÇÃO DO MÉTODO MODIFICADO DE LUKE et al. (1975)

### 2.4.1 Amostras, coleta e armazenamento

Três amostras de 2 kg de repolho, tomate e batata *in natura*, sem lavar, escolhidas por representarem maior frequência de consumo, foram coletadas no restaurante da UNICAMP. As amostras foram homogeneizadas em multiprocessador de alimentos (Walita), acondicionadas em frascos de vidro e armazenadas em congelador a -18 °C até o momento das análises (realizadas em duplicata).

### 2.4.2 Recuperação do método

Para os testes de recuperação, as amostras de repolho, tomate e batata foram fortificadas com 5 mL da mistura de soluções padrões preparadas em hexano com 5 níveis de fortificação (0,02; 0,05; 0,10; 0,15 e 0,2 mg/kg do fungicida Clorotalonil e dos inseticidas Aldrin, Dieldrin, Heptacloro, Heptacloro epóxido, endosulfan alfa, Endosulfan beta e Sulfato de Endosulfan). Os agrotóxicos foram identificados no cromatograma pela comparação dos tempos de retenção absolutos dos picos obtidos nas amostras fortificadas e não fortificadas com os tempos de retenção absolutos encontrados nos padrões analíticos submetidos às mesmas condições de análise. Calculou-se a porcentagem de recuperação pela diferença entre as áreas dos picos de cada analito com o mesmo tempo de retenção encontrado para amostras fortificada e não fortificada, dividida pela área correspondente ao pico do agrotóxico padrão considerado e

multiplicado por cem. Todas as análises foram realizadas em duplicata.

### 2.4.3 Limites de detecção e quantificação do método

Os limites de detecção do método (LD) foram calculados conforme proposto por LONG e WINEFORDNER (1983) e LEITE (1998), segundo os quais tais limites são calculados a partir de 3 vezes o desvio do sinal da linha de base ou ruído do detector. Os limites de quantificação do método (LQ) foram calculados como 10 vezes o desvio do sinal produzido pela linha de base ou ruído, obtido a partir das curvas de calibração de cada um dos padrões (MILLER e MILLER, 1993).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 2 mostra as concentrações, áreas e a equação da reta, obtidas nas curvas padrões para os agrotóxicos organoclorados.

**TABELA 2 - CONCENTRAÇÕES, ÁREAS E EQUAÇÃO DA RETA DOS AGROTÓXICOS ESTUDADOS**

Agrotóxicos	Concentração (mg/L)	Área	Equação da Reta
Clorotalonil	0,025	3,873164	Y = 54,229x + 2,5017 R <sup>2</sup> = 0,9996
	0,0625	5,870000	
	0,125	9,199877	
	0,1875	12,83678	
	0,25	15,97735	
Aldrin	0,025	3,273892	Y = 45,964x + 2,1530 R <sup>2</sup> = 0,9998
	0,0625	4,985909	
	0,125	7,994889	
	0,1875	10,79959	
	0,25	13,58746	
Dieldrin	0,025	3,863175	Y = 54,311x + 2,4466 R <sup>2</sup> = 0,9997
	0,0625	5,760000	
	0,125	9,197868	
	0,1875	12,73678	
	0,25	15,97744	
Heptacloro	0,025	1,191101	Y = 32,553 x + 1,0179 R <sup>2</sup> = 0,9990
	0,0625	2,975129	
	0,125	4,966266	
	0,1875	7,231443	
	0,25	9,152479	
Heptacloro epóxido	0,025	1,152122	Y = 31,182 x + 1,0099 R <sup>2</sup> = 0,9991
	0,0625	2,865228	
	0,125	4,856255	
	0,1875	6,986123	
	0,25	8,756926	
Endosulfan alfa	0,025	1,035155	Y = 31,036 x + 0,2228 R <sup>2</sup> = 0,9993
	0,0625	2,135094	
	0,125	4,13522	
	0,1875	5,927261	
	0,25	8,054673	
Endosulfan beta	0,025	0,961606	Y = 24,345 x + 0,2859 R <sup>2</sup> = 0,9992
	0,0625	1,706516	
	0,125	3,350014	
	0,1875	4,870219	
	0,25	6,365534	
Sulfato de endosulfan	0,025	1,185034	Y = 29,783 x + 0,3566 R <sup>2</sup> = 0,9994
	0,0625	2,167266	
	0,125	4,027215	
	0,1875	5,895639	
	0,25	7,866724	



### 3.1 LIMITES DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DO MÉTODO

Na Tabela 3 estão apresentados os LD e LQ dos agrotóxicos organoclorados em repolho, tomate e batata. Para efeito de comparação foram também incluídos os limites máximos de resíduos (LMR) desses agrotóxicos autorizados para as diferentes hortaliças. A legislação brasileira estabelece LMR apenas para o Clorotalonil, em tomate e batata, e os limites de quantificação obtidos para esse composto nessas hortaliças foram inferiores aos respectivos limites. Esse resultado evidencia a aplicabilidade do método utilizado para o monitoramento de Clorotalonil nessas culturas.

Para os demais agrotóxicos não é possível estabelecer a mesma comparação em razão de uso não autorizado para as culturas estudadas. Entretanto, os valores mostraram-se baixos e inferiores aos encontrados por UNGARO et al. 1983; BARRETO et al. 1996; OLIVEIRA e TOLEDO, 1995. BARRETO et al. 1996, por exemplo, relataram limites de detecção de 0,01 mg/kg para os mesmos agrotóxicos organoclorados em alface, arroz, batata, cenoura, farinha de trigo, feijão, fubá e tomate.

### 3.2 RECUPERAÇÃO DOS AGROTÓXICOS ORGANOCORADOS

No estudo de recuperação dos agrotóxicos, a coluna cromatográfica recheada com florisil p.r. foi eluída com 3 misturas de solventes percoladas em ordem crescente de polaridade. No eluente I (hexano: diclorometano 99:1 v:v) foram recuperados o Heptacloro e o Aldrin, no eluente II (hexano:diclorometano 80:20 v:v) o Heptacloro epóxido, o Endosulfan alfa e o Dieldrin, e no eluente III (hexano:diclorometano:acetonitrila 49:25:50,0:0,75 v:v) o Clorotalonil, o Endosulfan beta e o Sulfato de Endosulfan.

Os valores de recuperação encontrados nas diferentes hortaliças estão apresentados na Tabela 4. A recuperação média variou de 76,0 a 97,0% em repolho, de 90,0 a 103,0% em tomate e de 81,0 a 106,0% em batata. Esses resultados indicam que os valores de recuperação obtidos nas amostras analisadas, com exceção de Clorotalonil em repolho, enquadraram-se no limite de 80-110% recomendado pelo *Pesticide Analytical Manual* (FDA, 1994) e no intervalo de 70-120%, citado por PARKER (1991). Os coeficientes de variação (CV) oscilaram de 2,3 a 13,2%, atendendo, portanto, ao valor limite de 16% aceito para análises de contaminantes em níveis de mg/kg (HORWITZ, 1980).

**TABELA 3 - LIMITES DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DOS AGROTÓXICOS ORGANOCLORADOS EM REPOLHO, TOMATE E BATATA**

Agrotóxicos	LD (mg/kg)	LQ(mg/kg)	LMR (mg/kg)
Repolho			
Clorotalonil	0,0006	0,002	na
Aldrin	0,0006	0,002	na
Dieldrin	0,0008	0,003	na
Heptacloro	0,0006	0,002	na
Heptacloro epóxido	0,0007	0,003	na
Endosulfan alfa	0,0008	0,003	na
Endosulfan beta	0,0009	0,003	na
Sulfato de Endosulfan	0,0016	0,005	na
Tomate			
Clorotalonil	0,0006	0,002	1,00
Aldrin	0,0006	0,002	na
Dieldrin	0,0008	0,003	na
Heptacloro	0,0006	0,002	na
Heptacloro epóxido	0,0007	0,003	na
Endosulfan alfa	0,0008	0,003	na
Endosulfan beta	0,0009	0,003	na
Sulfato de Endosulfan	0,0016	0,005	na
Batata			
Clorotalonil	0,0006	0,002	0,10
Aldrin	0,0006	0,002	na
Dieldrin	0,0008	0,003	na
Heptacloro	0,0006	0,002	na
Heptacloro epóxido	0,0007	0,003	na
Endosulfan alfa	0,0008	0,003	na
Endosulfan beta	0,0009	0,003	na
Sulfato de Endosulfan	0,0016	0,005	na

LD = Limites de detecção.

LQ = Limites de quantificação.

LMR = Limite Máximo de Resíduo, Legislação Brasileira (1999).

na = não autorizado.

### 3.3 DETERMINAÇÃO DE AGROTÓXICOS ORGANOCLORADOS EM HORTALIÇAS

As Tabelas 5 e 6 mostram os níveis de resíduos dos agrotóxicos estudados em hortaliças servidas nos restaurantes da UNICAMP e coletadas na CEASA de Campinas. Em todas as amostras (n = 151), os níveis dos agrotóxicos mostraram-se inferiores aos respectivos limites

de detecção. Resultados semelhantes foram obtidos no monitoramento de resíduos de agrotóxicos organoclorados conduzido por BARRETO et al. (1996), em 242 amostras de cereais, legumes e vegetais comercializados no Estado de São Paulo, no ano de 1994. Com exceção de uma amostra de tomate, que continha 0,01 mg/kg de Endosulfan, os demais alimentos pesquisados apresentaram níveis de agrotóxicos abaixo do limite de detecção analítica dos organoclorados analisados (0,01 mg/kg). Tais resultados evidenciam o uso inadequado do Endosulfan em tomate e o cumprimento das boas práticas agrícolas e da legislação em vigor para as demais culturas.

**TABELA 4 - RECUPERAÇÃO DOS AGROTÓXICOS ORGANOCORADOS EM REPOLHO, TOMATE E BATATA**

Agrotóxicos	Recuperação* (%)	Estimativa do Desvio Padrão (±)	Coefficiente de Variação (%)
Repolho			
Clorotalonil	76,0	10,0	13,2
Aldrin	82,0	10,0	12,2
Dieldrin	95,0	11,0	11,6
Heptacloro	83,0	8,0	9,6
Heptacloro epóxido	81,0	8,0	9,9
Endosulfan alfa	88,0	9,0	10,2
Endosulfan beta	94,0	10,0	10,6
Sulfato de Endosulfan	97,0	11,0	11,3
Tomate			
Clorotalonil	93,0	12,0	12,9
Aldrin	90,0	4,0	4,4
Dieldrin	99,0	3,0	3,0
Heptacloro	90,0	5,0	5,6
Heptacloro epóxido	95,0	12,0	12,6
Endosulfan alfa	98,0	10,0	10,2
Endosulfan beta	103,0	7,0	6,8
Sulfato de Endosulfan	103,0	9,0	8,7
Batata			
Clorotalonil	85,0	9,0	10,6
Aldrin	81,0	9,0	11,1
Dieldrin	99,0	11,0	11,1
Heptacloro	86,0	2,0	2,3
Heptacloro epóxido	87,0	9,0	10,3
Endosulfan alfa	97,0	11,0	11,3
Endosulfan beta	100,0	9,0	9,0
Sulfato de Endosulfan	106,0	12,0	11,3

\* Médias das recuperações correspondentes aos níveis de fortificação: 0,02; 0,05; 0,10; 0,15 e 0,20 mg/kg (2 repetições).

**TABELA 5 - RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS ORGANOCLORADOS EM HORTALIÇAS  
SERVIDAS NOS RESTAURANTES DA UNICAMP NO PERÍODO DE ABRIL/1998 A  
ABRIL/2001**

Hortalças	n	AGROTÓXICOS (mg/kg)							
		Clorotalonil	Aldrin	Dieldrin	Heptacloro	Heptacloro epóxido	Endosulfan alfa	Endosulfan beta	Sulfato de Endosulfan
Alface	11	< 0,0006	< 0,0006	< 0,0008	< 0,0006	< 0,0007	< 0,0008	< 0,0009	< 0,0016
Acelga	10	< 0,0006	< 0,0006	< 0,0008	< 0,0006	< 0,0007	< 0,0008	< 0,0009	< 0,0016
Chicória	10	< 0,0006	< 0,0006	< 0,0008	< 0,0006	< 0,0007	< 0,0008	< 0,0009	< 0,0016
Repolho	11	< 0,0006	< 0,0006	< 0,0008	< 0,0006	< 0,0007	< 0,0008	< 0,0009	< 0,0016
Tomate	14	< 0,0006	< 0,0006	< 0,0008	< 0,0006	< 0,0007	< 0,0008	< 0,0009	< 0,0016
Chuchu	8	< 0,0006	< 0,0006	< 0,0008	< 0,0006	< 0,0007	< 0,0008	< 0,0009	< 0,0016
Batata	12	< 0,0006	< 0,0006	< 0,0008	< 0,0006	< 0,0007	< 0,0008	< 0,0009	< 0,0016
Cenoura	10	< 0,0006	< 0,0006	< 0,0008	< 0,0006	< 0,0007	< 0,0008	< 0,0009	< 0,0016
Mandioca	7	< 0,0006	< 0,0006	< 0,0008	< 0,0006	< 0,0007	< 0,0008	< 0,0009	< 0,0016
Mandioquinha	8	< 0,0006	< 0,0006	< 0,0008	< 0,0006	< 0,0007	< 0,0008	< 0,0009	< 0,0016

n = número de amostras; Limite de detecção = 0,0006 mg/kg para Clorotalonil, Aldrin e Heptacloro, 0,0008 mg/kg para Dieldrin e Endosulfan alfa, 0,0007 mg/kg para Heptacloro epóxido, 0,0009 mg/kg para Endosulfan beta e 0,0016 mg/kg para Sulfato de Endosulfan. O número de amostras das diferentes matrizes variou conforme as datas de coleta e a oferta de hortaliças.

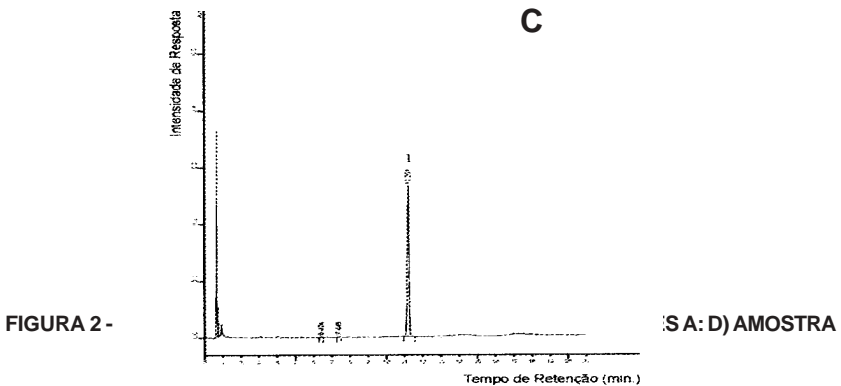
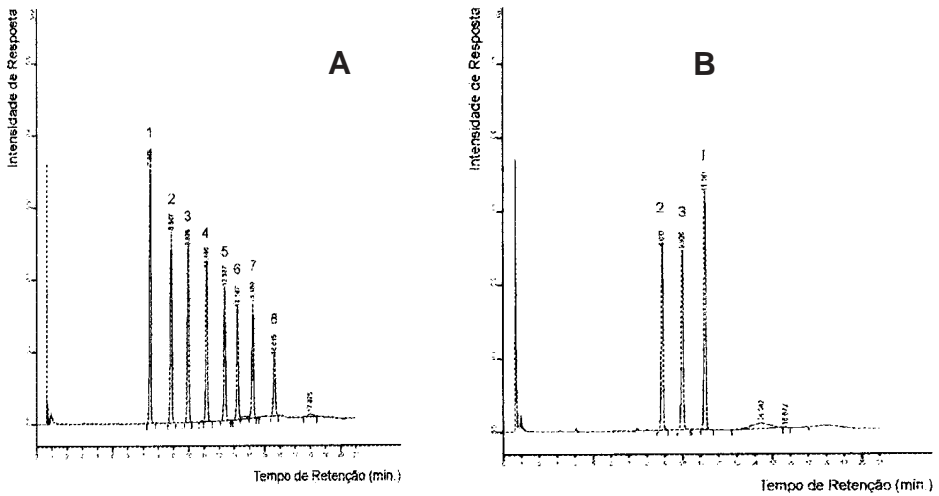
**TABELA 6 - RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS ORGANOCLORADOS EM HORTALIÇAS COLETADAS NAS CENTRAIS DE ABASTECIMENTO DE CAMPINAS (CEASA) NO PERÍODO DE ABRIL A AGOSTO/2001**

Hortaliças	n	AGROTÓXICOS (mg/kg)							
		Clorotalonil	Aldrin	Dieldrin	Heptacloro	Heptacloro epóxido	Endosulfan alfa	Endosulfan beta	Sulfato de Endosulfan
Alface	5	< 0,0006	< 0,0006	< 0,0008	< 0,0006	< 0,0007	< 0,0008	< 0,0009	< 0,0016
Acelga	5	< 0,0006	< 0,0006	< 0,0008	< 0,0006	< 0,0007	< 0,0008	< 0,0009	< 0,0016
Chicória	5	< 0,0006	< 0,0006	< 0,0008	< 0,0006	< 0,0007	< 0,0008	< 0,0009	< 0,0016
Repolho	5	< 0,0006	< 0,0006	< 0,0008	< 0,0006	< 0,0007	< 0,0008	< 0,0009	< 0,0016
Tomate	5	< 0,0006	< 0,0006	< 0,0008	< 0,0006	< 0,0007	< 0,0008	< 0,0009	< 0,0016
Chuchu	5	< 0,0006	< 0,0006	< 0,0008	< 0,0006	< 0,0007	< 0,0008	< 0,0009	< 0,0016
Batata	5	< 0,0006	< 0,0006	< 0,0008	< 0,0006	< 0,0007	< 0,0008	< 0,0009	< 0,0016
Cenoura	5	< 0,0006	< 0,0006	< 0,0008	< 0,0006	< 0,0007	< 0,0008	< 0,0009	< 0,0016
Mandioca	5	< 0,0006	< 0,0006	< 0,0008	< 0,0006	< 0,0007	< 0,0008	< 0,0009	< 0,0016
Mandiocquinha	5	< 0,0006	< 0,0006	< 0,0008	< 0,0006	< 0,0007	< 0,0008	< 0,0009	< 0,0016

n = número de amostras; Limite de detecção = 0,0006 mg/kg para Clorotalonil, Aldrin e Heptacloro, 0,0008 mg/kg para Dieldrin e Endosulfan alfa, 0,0007 mg/kg para Heptacloro epóxido, 0,0009 mg/kg para Endosulfan beta e 0,0016 mg/kg para Sulfato de Endosulfan.

Nas Figuras 1, 2 e 3 são apresentados os cromatogramas referentes aos padrões e amostra de repolho para os três diferentes eluentes.

**FIGURA 1 - CROMATOGRAMAS POR CG-DCE CORRESPONDENTES A: A) MISTURA DE PADRÕES 0,1 mg/L DE CLOROTALONIL (1), HEPTACLOR (2), ALDRIN (3), HEPTACLOR HEPOXI (4), ENDOSULFAN ALFA (5) E DIELDRIN (6), ENDOSULFAN BETA (7), SULFATO DE ENDOSULFAN (8), B) AMOSTRA DE REPOLHO FORTIFICADA COM 5 mL DA MISTURA DE PADRÕES DE CONCENTRAÇÃO 1,0 - 1,3 mg/L. HEPTACLOR (2), ALDRIN (3), C) AMOSTRA DE REPOLHO NÃO FORTIFICADA. ELUENTE I (HEXANO:DICLOROMETANO 99:1 V:V) E I-PICO IDENTIFICADO COMO INTERFERENTE NA MATRIZ DE REPOLHO**



**FIGURA 2 -**

**S A: D) AMOSTRA**

DE REPOLHO NÃO FORTIFICADA, E) AMOSTRA DE REPOLHO FORTIFICADA COM 5 mL DA MISTURA DE PADRÕES DE CONCENTRAÇÃO 1,0 - 1,3 mg/L. HEPTACLORO EPÓXIDO (4), ENDOSULFAN ALFA (5) E DIELDRIN (6). ELUENTE II (HEXANO:DICLOROMETANO 80:20 V:V)

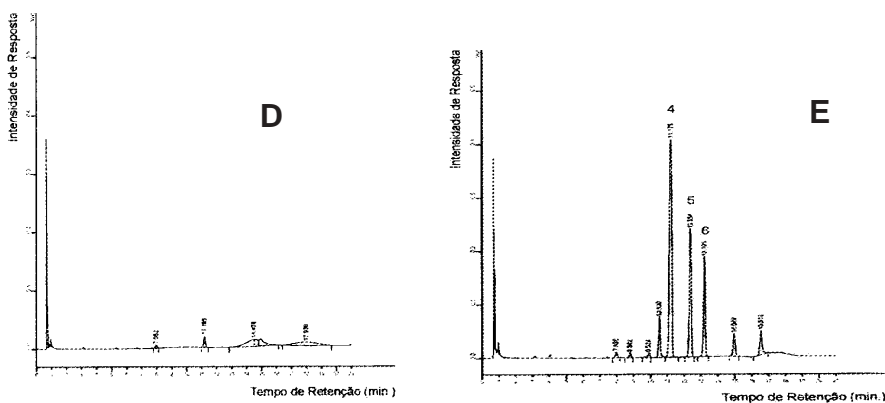
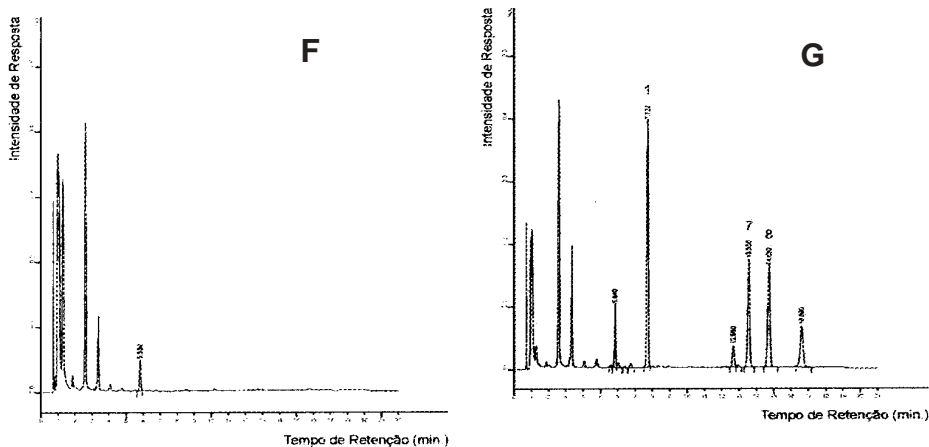


FIGURA 3 - CROMATOGRAMAS POR CG-DCE CORRESPONDENTES A: F) AMOSTRA DE REPOLHO NÃO FORTIFICADA E G) AMOSTRA DE REPOLHO FORTIFICADA COM 5 mL DA MISTURA DE PADRÕES, CONCENTRAÇÃO 1,0 - 1,3 mg/L. CLOROTALONIL (1), ENDOSULFAN BETA (7) E SULFATO DE ENDUSULFAN (8). ELUENTE III (HEXANO:DICLOROMETANO:ACETONITRILA 49,25:50,0:0,75 V/V)



Informações adicionais sobre a origem das hortaliças analisadas foram obtidas com o responsável pelo seu suprimento ao restaurante da UNICAMP. Verificou-se que as hortaliças adquiridas pela Universidade são provenientes de três agricultores estabelecidos nos municípios de Salto, Guapiara e Sousas (pertencentes ao Distrito de Campinas), os quais não utilizam agrotóxicos em suas lavouras. Essa prática foi substituída pela rotação de culturas, sendo tomados cuidados especiais na limpeza das hortas e na aplicação de adubo orgânico, quando necessário.

Não foram detectados resíduos de Clorotalonil, Aldrin, Dieldrin, Heptacloro, Heptacloro epóxido, Endosulfan alfa, Endosulfan beta e sulfato de Endosulfan nas amostras analisadas de alface, acelga, chicória, repolho, tomate, chuchu, batata, cenoura, mandioca e mandioquinha comercializadas nas Centrais de Abastecimento de Campinas (CEASA) e coletadas mensalmente por 5 meses consecutivos. Apenas em uma amostra de cenoura e uma de chuchu obteve-se para o eluente III cromatogramas com perfil diferente, evidenciando um pico no tempo de retenção do Sulfato de Endosulfan. Entretanto, essa suspeita não foi confirmada analiticamente.

Mesmo depois de 6 anos do monitoramento conduzido por BARRETO et al. (1996), os resultados obtidos no presente estudo indicam que a legislação vigente ainda está sendo cumprida e que as boas práticas agrícolas continuam sendo adotadas na região estudada.

## **4 CONCLUSÃO**

O método multirresíduo de Luke apresentou recuperações médias na faixa de 70% a 120%, valores aceitos internacionalmente e precisão  $CV < 16\%$ . Os limites de detecção e quantificação mostraram-se adequados aos níveis dos agrotóxicos avaliados. A linearidade de resposta também foi considerada satisfatória para a faixa de concentração estudada.

Os resultados obtidos permitem afirmar que as hortaliças servidas nos restaurantes Universitários da UNICAMP, no período de abril/1998 a abril/2001, e as comercializadas nas Centrais de Abastecimento de Campinas (CEASA), de abril a agosto de 2001, atenderam à legislação brasileira para resíduos de agrotóxicos organoclorados e que boas práticas agrícolas foram seguidas com relação ao uso dos agrotóxicos analisados.



## Abstract

### **DETERMINATION OF ORGANOCHLORINE PESTICIDES RESIDUES ON VEGETABLES**

Residues of Chlorotalonil, Aldrin, Dieldrin, Heptachlor, Heptachlor epoxide, alpha and beta Endosulfan and Endosulfan sulfate were analysed in the following vegetables: lettuce, swiss chard, chicory, cabbage, tomato, chayote, potato, carrot, cassava and cassava specy. The samples were collected at the restaurant of the University of Campinas, from April/1998 to April/2001 at the "Centrais de Abastecimento de Campinas (CEASA)", from April to August/2001. The organochlorine pesticide residues were determined by gas chromatography with an electron capture detector (ECD-<sup>63</sup>Ni). The detection limits of Chlorotalonil, Aldrin, Dieldrin, Heptachlor, Heptachlor epoxide, alpha and beta Endosulfan and Endosulfan sulfate were 0.0006, 0.0006, 0.0008, 0.0006, 0.0007, 0.0008, 0.0009 and 0.0016 mg/kg respectively, and their quantification limits were 0.002, 0.002, 0.003, 0.002, 0.003, 0.003, 0.003 and 0.005 mg/kg. The average recovery of the pesticides varied between 76.0 and 97.0% for cabbage, 90,0 to 103.0% for tomato and 81.0 to 106.0% for potato. The samples analysed (n=151) showed pesticide levels below the detection limits of the validated method.

**KEY-WORDS:** RESIDUES; PESTICIDES-ORGACHLORINE; VEGETABLES.

## REFERÊNCIAS

- 1 ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **C18-Clorotalonil**. Disponível em: <<http://anvisa.gov.br/alimentos/tox/mono/c18.htm>>. Acesso em 17 jun. 2002a.
- 2 ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **E02-Endosulfan**. Disponível em: <<http://anvisa.gov.br/alimentos/tox/mono/e02.htm>>. Acesso em 17 jun. 2002b.
- 3 BARRETO, H. C. C.; INOMATA, O. N.; LEMES, V. R. R.; KUSSUMI, T. A.; SCORSAFAVA, M. A.; ROCHA, S. O. R. Monitoramento de resíduos de pesticidas em alimentos comercializados no estado de São Paulo em 1994. **Pesticidas:** Revista Técnico Científica, Curitiba, v. 6, p. 1-12, jan./dez., 1996.
- 4 BRASIL. Ministério da Agricultura. Portaria n. 329 de 02 de setembro de 1985. Proíbe em todo o território nacional a comercialização, o uso e a distribuição de produtos agrotóxicos organoclorados destinados á agropecuária. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília,

3 set. 1985. Seção I, p. 12941.

- 5 BRASIL. Ministério da Saúde. **Relação de substâncias para uso domissanitário**: Portarias do Ministério da Saúde. São Paulo: International Life Sciences Institute (ILSI), 1995. Disponível em: <<http://anvs1.saude.gov.br/toxicologia/toxicologia/html%20monografias>>. Acesso em 03 jan. 1999.
- 6 FDA. Food and Drug Administration. **Pesticide analytical manual**: multiresidue methods. 3<sup>rd</sup> ed. Washington, 1994. v. 1, p. 103-302b.
- 7 FILLION, J.; HINDLE, R.; LACROIX, M.; SELWYN, J. Multiresidue determination of pesticides in fruit and vegetables by gas chromatography-mass-selective detection and liquid chromatography with fluorescence detection. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists International**, Arlington, v. 78, n. 5, p. 1252-1266, p. 31-34, Set./Oct. 1995.
- 8 HORWITZ, W.; KAMPS, L. R.; BOYER, K. W. Quality assurance in the analysis of food for trace constituents. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, Arlington, v. 63, n. 6, p. 1344-1345, Nov., 1980.
- 9 LEITE, F. Sensibilidade, seletividade e limites de determinação e detecção. In: LEITE, F. **Validação em análise química**. 3.ed., Campinas: Átomo, 1998. Cap. 13, p.67-69.
- 10 LONG, G. L.; WINEFORDNER, J. D. Limit of detection: a closer look at the IUPAC definition. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 55, p. 712-724A, 1983.
- 11 LUKE, M. A.; FROBERG, J. E.; MASUMOTO, H. T. Extraction and cleanup of organochlorine, organophosphate, organonitrogen and hidrocarbon pesticides in produce for determination by gas-liquid chromatography. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, Washington, v. 58, n. 5, p. 1020-1026, 1975.

- 12 MILLS, P. A.; BONG, B.A.; KAMPS, L.R.; BURKE, J.A. Elution solvent system for florisol column in organochlorine pesticide residue analyses. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, Washington, v. 55, n. 1, p. 39-43, 1972.
- 13 MILLER, J. C.; MILLER, J. N. Error in instrumental analysis; regression and correlation. In: MILLER, J.C.; MILLER, J.N. **Statistic for analytical chemistry**. 3<sup>rd</sup> ed. Chichester: Ellis Horwood, 1993. Chapter 5, p. 101-141.
- 14 OLIVEIRA, J.J.V.; TOLEDO, M.C.F. Resíduos de agrotóxicos em morangos. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 5, p. 95-109, jan./dez., 1995.
- 15 PARKER, G.A. Validation of methods used in the Florida departament of agriculture and consumer services chemical residue laboratory. **Journal of Association of Official Analytical Chemists**, Arlington, v. 74, n. 5, p. 868-871, Sept./ Oct., 1991.
- 16 UNGARO, M.T.S.; PIGATI, P.; GUINDANI, C.M.A.; FERREIRA, M.S.; GEBARA, A.B.; ISHIZAKI, T. Resíduos de inseticidas clorados e fosforados em frutas e hortaliças (II). **Biológico**, São Paulo, v. 49, n. 1, p. 1-8, jan., 1983.
- 17 UNGARO, M.T.S.; GUINDANI, C.M.A.; FERREIRA, M.S.; BAGDONAS, M. Resíduos de inseticidas clorados e fosforados em frutas e hortaliças (II). **Biológico**, São Paulo, v. 52, n. 7/12, p. 51-56, jul./dez., 1987.
- 18 YOKOMIZO, Y.; LARA, W.H.; PUGA, F.; BATISTA, G. C.; CARVALHO, P. R. N.; BARRETO, H. H. C.; MALTONE, C. A.; DOEGE, M. **Resíduos de pesticidas em alimentos**. Campinas: ITAL, 1984. 227 p.
- 19 ZANDONÁ, M.S.; ZAPPIA, V.R.S. Resíduos de agrotóxicos em alimentos: Resultado de cinco anos de monitoramento realizado pela secretaria de saúde do Paraná. **Pesticidas: Revista Técnico Científica**, v. 3, n. 3, jan./dez., p. 49-95, 1993.

## **Agradecimentos**

À FAPESP, pela concessão de bolsa de doutorado no país, Proc.97/09620-7, e reserva técnica correspondente, Proc.97/11887-1. Ao Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL) de Campinas, pelo apoio e suporte técnico.