

# MULTIRRESÍDUO DE ORGANOCORADOS EM CAMARÃO EMPREGANDO A EXTRAÇÃO QUECHERS

LUCIANA C.S. RIBEIRO<sup>1</sup>; VERA L. FERRACINI<sup>2</sup>; SÔNIA C.N QUEIROZ<sup>3</sup>;  
MARIA A. ROSA<sup>4</sup>; JULIO F. QUEIROZ<sup>5</sup>.

N°10405

<sup>1</sup>. Bolsista PIBIC /CNPq: Graduação em Ciências Biológicas, UNIARARAS, Araras -SP,

✉ [lucianaerasmo.ribeiro@ig.com.br](mailto:lucianaerasmo.ribeiro@ig.com.br)

<sup>2</sup>. Orientadora: Pesquisadora, LRC/ Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna - SP

<sup>3</sup>. Orientadora: Pesquisadora, LRC/ Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna - SP

<sup>4</sup>. Colaboradora: Analista, LRC/ Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna - SP

<sup>5</sup>. Colaborador: Pesquisador, LEA/ Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP

## RESUMO

Os compostos organoclorados causam grande impacto na natureza devido a três características básicas: persistência ambiental, bioacumulação e alta toxicidade. Foi otimizado e validado um método multirresíduo analisando doze pesticidas organoclorados: hexaclorobenzeno, lindano, DDE (dicloro-difenil-dicloroetileno), DDT (dicloro-difenil-tricloroetano), clorpirifós, endosulfan sulfato, endosulfan beta, endosulfan alfa, heptacloro, aldrin, endrin e dieldrin, em amostras de camarões, mediante cromatografia a gás equipado com detector de captura de elétrons (CG- $\mu$ ECD). O limite de detecção para todos os compostos foi de 0,0005  $\mu\text{g}.\text{mL}^{-1}$ . O limite de quantificação do método foi estabelecido em 0,005  $\mu\text{g}.\text{g}^{-1}$ . Os ensaios preliminares de recuperação utilizando fortificação no limite de quantificação do método resultaram em valores de recuperação que variaram entre 70 a 120 %.

## ABSTRACT

Organochlorine compounds cause impact on the nature, as a consequence of three basic characteristics: environmental persistence, bioaccumulation, and high toxicity. It was optimized and validated a method multiresidue to analyse 12 pesticides organochlorine: hexachlorobenzeno, lindano, DDE, DDT, chloropyrifos, endosulfan sulfate, endosulfan beta, endosulfan alpha, heptachlor, aldrin, endrin and dieldrin, in sample of shrimp, by gas chromatography electron capture detector (CG- $\mu$ ECD). The limit detection for all the compounds was 0,0005 $\mu\text{g}/\text{mL}^{-1}$ . The limit quantification of the method was established in 0,005 $\mu\text{g}/\text{g}^{-1}$ . The preliminary tests using fortification in the limit quantification resulted in recuperation value between 70 to 120%.

## INTRODUÇÃO

Os compostos organoclorados são hidrocarbonetos clorados sintetizados pelo homem e que portanto não ocorrem naturalmente no ambiente. Eles podem ser divididos em dois grupos: os de baixo e os de alto peso molecular. Os organoclorados de baixo peso molecular são constituídos pelos solventes industriais como dicloroetano, cloreto de vinil e pelos freons, também conhecidos como clorofluorcarbonos (CFCs). Esses compostos são voláteis, possuem baixa acumulação na biota e não são encontrados em grandes concentrações no sistema aquático. Portanto, seu principal impacto direto no ambiente está associado aos seus efeitos sobre a atmosfera. Já entre os organoclorados de alto peso molecular estão alguns pesticidas e bifenilos policlorados que provocam grande impacto no sistema aquático, sendo acumulados na biota, podendo causar efeitos adversos (CLARK, 1992).

Os organoclorados são contaminantes onipresentes no ambiente e, devido à sua lipofilicidade e persistência, acumulam-se na cadeia alimentar. A toxicidade dessa classe de compostos vem do fato de serem estruturalmente diferentes das substâncias normalmente encontradas na natureza e, portanto, os organismos contaminados geralmente não têm capacidade de metabolizá-las o que causando a acumulação (BAIRD, 2002).

Devido a sua lipofilicidade, os bifenilos policlorados e pesticidas organoclorados são absorvidos pelo organismo através da alimentação (membrana do trato gastrointestinal), respiração (brânquias e pulmões) e pele. Após a absorção esses compostos são rapidamente distribuídos para vários tecidos (principalmente aqueles com alto teor de lipídios) (TORDOIR; VAN SITTEERT, 1994).

O equilíbrio ecológico pode sofrer alterações pelo uso inadequado de pesticidas organoclorados, como por exemplo, o desaparecimento da fauna de invertebrados aquáticos, de peixes e algumas espécies de aves (ALMEIDA, 1974).

Alguns destes compostos organoclorados podem persistir por 15 a 20 anos no solo e parte destes serem arrastados pelas chuvas (por lixiviação) para o interior dos cursos de água, que também recebem estes compostos através de efluentes industriais, de esgotos, de sedimentos, da atmosfera e por contaminação direta durante a aplicação. Assim, tanto as águas de mananciais de rios e represas que abastecem as populações, quanto os peixes que se alimentam de materiais retirados do fundo desses locais apresentam concentração de agrotóxicos, mesmo anos após a cessar a aplicação destes em regiões vizinhas (BRANCO, 1988).

Em diversos países, a fabricação destes compostos foi proibida nos anos 70. Assim, foram retirados do mercado norte-americano o DDT em 1972, o Dieldrin em 1974, o BHC (Hexaclobenzeno) em 1978 e o Aldrin em 1987 (BOWLER & CONE, 2001). No Brasil, o uso desse produtos foi proibido na década de 80 porém, ainda são encontrados no ambiente (FLORES *et al.*, 2004).

Desenvolvido por Anastassiades *et al.*(2003) o método QuEChERS original (Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe) é um método rápido, fácil, barato, efetivo, sólido e seguro para se detectar a presença de organoclorados em amostras de tecido animal e é um dos métodos mais utilizados para tal propósito.

O objetivo deste trabalho foi otimizar e validar um método multirresíduo rápido, fácil, econômico, efetivo e seguro, método QuEChERS modificado, para a determinação de doze pesticidas organoclorados (hexaclorobenzeno, lindano, DDE, DDT, clorpirifós, endosulfan sulfato, endosulfan beta, endosulfan alfa, heptacloro, aldrin, endrin e dieldrin), em amostras de camarões.

## **METODOLOGIA**

### **SOLVENTE**

O solvente utilizado foi acetonitrila, grau resíduo (99,5%).

### **EQUIPAMENTO**

Cromatografo gasoso - AGILENT - 6890 Series com detector  $\mu$ -ECD.

## **MÉTODO ANALÍTICO**

A amostra congelada foi processada utilizando um cutter de mesa (robot coupe) por 1 minuto. Pesou - se 10g de amostra em tubo de centrifuga de 50mL e para cada amostra foram adicionados 10mL de acetonitrila e agitação por 30 segundos. Adicionou-se 4,0g de  $MgSO_4$ (sulfato de magnésio), 1,0g de NaCl (cloreto de sódio), 1,0g de  $Na_3$ citrato dihidratado e 0,5g de  $Na_2$ Hcitrato sesquihidratado sempre sob agitação de 1 minuto após a adição de cada reagente. Após a sonificação por 20 minutos no ultrassom, as amostras foram centrifugadas por 5 minutos com temperatura controlada a 10°C e rotação de 3000 rpm (rotação por minuto). Em seguida uma alíquota de 7mL do sobrenadante foi transferida para o tubo concentrador de 10mL , deixando sob refrigeração por 2 horas. Após esse tempo uma alíquota de 5mL foi transferida para outro tubo de centrifuga de 50mL contendo 125mg de PSA e 750mg de  $MgSO_4$ . Agitou-se vigorosamente por 30 segundos no agitador Vortex e repetiu-se o processo de centrifugação por 5 minutos. Uma alíquota de 2mL do sobrenadante foi filtrada em papel de filtro de 0,45 $\mu$ m diretamente para o vial e

injetou-se no cromatógrafo a gás equipado com detector de captura de elétrons (CG- $\mu$ ECD).

Para a validação do método foram utilizadas amostras testemunha e fortificadas com os padrões dos pesticidas. As fortificações das amostras foram feitas aplicando uma certa quantidade do pesticida, com auxílio de uma micropipeta calibrada, espalhando sobre a amostra. Amostras não fortificadas foram analisadas como testemunhas.

As melhores condições cromatográficas obtidas para separação dos compostos foram: coluna capilar tipo DB -5MS 30,0 m x 530  $\mu$ m x 1,50  $\mu$ m, injetor splitless a 250°C. O gradiente de temperatura utilizado na coluna consistiu de temperatura inicial de 190°C mantida por 1 min. Aquecimento até 210°C, a 8°C /min, mantida por 8 min. Aquecimento até 230°C a 8°C /min, mantida por 8 min. Aquecimento até 250°C a 8°C /min, mantida por 8 min. Aquecimento até 270°C a 8°C /min, mantida por 10min, totalizando 45 minutos de corrida.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

O limite de detecção (LOD) encontrado para todos os pesticidas foi de 0,0005 $\mu$ g.mL<sup>-1</sup>. O limite de quantificação (LOQ) do método foi estabelecido em 0,005  $\mu$ g.g<sup>-1</sup>. Os ensaios preliminares de recuperação (exatidão) utilizando fortificação no limite de quantificação do método resultaram em valores que variaram entre 70 e 120 %. A precisão do método foi verificada com repetibilidade no mesmo dia (intra-dia) pelo mesmo analista e em três dias diferentes (inter-dias) com dois níveis de fortificação em triplicata.

**TABELA 1.** Média da recuperação (%) dos pesticidas organoclorados em camarão.

<b>Média triplicata ( % recuperação – 2x LOQ)</b>				
<b>PADRÕES</b>	<b>1º dia</b>	<b>2º dia</b>	<b>3º dia</b>	<b>Média</b>
Hexaclorobenzeno	93,94	92,42	91,33	92,56
Lindano	108,61	108,97	105,82	107,80
Heptacloro clorpirifós	99,99	99,62	97,14	98,92
Aldrin	114,11	109,25	103,18	108,85
Endosulfan alfa	90,49	90,40	87,49	89,46
DDE	93,12	95,05	90,42	92,86
Dieldrin	89,31	89,00	86,49	88,27
Endrin	90,85	91,31	87,93	90,03
Endosulfan beta	94,70	92,80	91,55	93,02
DDT	104,38	102,00	95,70	100,69
Endosulfan sulfato	99,30	95,45	94,16	96,30
	99,02	96,49	98,28	97,93

**TABELA 2.** Média da recuperação (%) dos pesticidas organoclorados em camarão.

<b>Média triplicata ( % recuperação – 5x LOQ)</b>				
<b>PADRÕES</b>	<b>1º dia</b>	<b>2º dia</b>	<b>3º dia</b>	<b>Média</b>
Hexaclorobenzeno	89,68	92,02	86,99	89,56
Lindano	110,60	109,72	105,33	108,55
Heptacloro	101,71	103,16	96,15	100,34
clorpirifós	91,49	83,12	80,56	85,06
Aldrin	93,76	95,54	89,59	92,96
Endosulfan alfa	99,64	99,85	94,37	97,96
DDE	89,95	92,46	86,22	89,54
Dieldrin	95,12	95,57	88,99	93,23
Endrin	97,10	97,98	90,09	95,06
Endosulfan beta	100,44	102,90	96,12	99,82
DDT	95,57	95,68	88,35	93,20
Endosulfan sulfato	98,71	99,17	93,06	96,98

**TABELA 3.** Média da recuperação (%) dos pesticidas organoclorados em camarão.

<b>Média triplicata ( % recuperação – 10x LOQ)</b>				
<b>PADRÕES</b>	<b>1º dia</b>	<b>2º dia</b>	<b>3º dia</b>	<b>Média</b>
Hexaclorobenzeno	77,30	85,57	89,55	84,14
Lindano	100,44	114,32	117,67	110,81
Heptacloro	92,39	105,43	109,04	102,29
clorpirifós	86,42	95,61	101,65	94,56
Aldrin	84,89	95,02	98,63	92,84
Endosulfan alfa	89,18	99,83	102,49	97,17
DDE	81,09	90,87	94,83	88,93
Dieldrin	89,88	101,14	103,42	98,15
Endrin	88,64	99,40	102,11	96,72
Endosulfan beta	91,13	105,56	107,33	101,34
DDT	83,35	96,70	102,18	94,08
Endosulfan sulfato	90,07	99,84	97,27	95,72

Nas TABELAS 1, 2 e 3, pode-se verificar que todos os pesticidas organoclorados foram recuperados.

As amostras foram deixadas sob refrigeração para que a camada de gordura pudesse decantar, não causando interferência na recuperação dos resultados obtidos. Foram feitos testes das amostras sem refrigeração, mas os resultados foram insatisfatórios.

## **CONCLUSÃO**

A extração foi realizada utilizando-se o método QuEChERS modificado que mostrou por meio dos parâmetros de validação, ser simples, rápido, e eficiente na extração dos doze pesticidas organoclorados. A recuperação encontra-se na faixa aceitável de 70 a 120%, estando de acordo com os valores sugeridos na literatura.

Portanto, os objetivos traçados para este trabalho foram completa e satisfatoriamente alcançados.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, W. F. Acúmulo de inseticidas no homem e sua significação epidemiológica. **Biológico**, v. 40, p. 171-83, 1974.

ANASTASSIADES, M.; LEHOTAY, S.; STAJNBAHER, D.; SCHENCK, F. J. [Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and "dispersive solid-phase extraction" for the determination of pesticide residues in produce.](#) **Journal of AOAC International**, v. 86, n. 2, p.412-431, 2003.

BAIRD, C. **Química Ambiental**. 2ª ed. Porto Alegre: Bookman, 2002. 622p.

BRANCO, S. M. **O Meio Ambiente em Debate**. São Paulo: Moderna, 1988.

BOWLER, R. M.; CONE, J. E. **Segredos em medicina do trabalho: respostas necessárias ao dia-a-dia em rounds, na clínica, em exames orais e escritos**. Porto Alegre: Artmed, 2001.

CLARK, R. B. **Marine pollution**. 3ª ed. Oxford: Clarendon Press, 1992. 172p.

FLORES, A. V.; QUEIROZ, M. E. L. R. de; NEVES, A. A.; GOULART, S. M. Extração e análise de organoclorados em sedimentos do Ribeirão São Bartolomeu, Viçosa-MG. **Revista Analytica**, n. 13, p.42-47, 2004.

TORDOIR, W. F.; VAN SITTERT, N. J. Organochlorines. **Toxicology**, v. 91, p. 51-57, 1994.