

OCORRÊNCIA DE RESÍDUOS DE INSETICIDAS ORGANOCLORADOS NO LEITE HUMANO

Anna Beatriz da Silva (PIBIC/CNPq), Giovana Frigo (Co-orientador), Juliana Cristina Castro, Miguel Machinski Junior (Orientador).

E-mail: mmjunior@uem.br

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências da Saúde, Maringá, PR.

Área: Farmácia (40300005) **Subárea:** Análises Toxicológicas(40303004)

Palavras-chave: Organoclorados, leite humano, exposição materno-infantil.

RESUMO

Os inseticidas organoclorados (OCPs) representam um risco significativo à saúde devido à sua persistência ambiental e bioacumulação, particularmente no leite materno. Este estudo teve como objetivo desenvolver e comparar metodologias de extração para análise de OCPs em leite humano, pelas técnicas QuEChERS modificado e QuEChERS com DLLME. A análise por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG/EM) permitiu a identificação dos compostos com base em seus tempos de retenção e espectros de fragmentação. Os resultados demonstraram que o método combinado QuEChERS-DLLME foi mais eficiente na redução de interferentes lipídicos da matriz, os quais podem prejudicar a ionização e a detecção dos analitos. Conclui-se que a abordagem QuEChERS-DLLME mostrou-se promissora para a extração de OCPs nesta matriz, sendo crucial a validação para futuros estudos e aplicação em amostras reais, garantindo a confiabilidade analítica.

INTRODUÇÃO

O contato com os agrotóxicos quer a curto prazo ou ao longo prazo, dependendo das concentrações e tempo de exposição, pode provocar efeitos negativos sobre a saúde humana. Pode modificar seus sistemas e causar danos a diferentes órgãos. Dos sistemas nos quais podem surtir efeitos cita-se o sistema nervoso, endócrino, imunológico, reprodutivo, renal, cardiovascular e respiratório. Estudos de ordem científica apontam principalmente doenças ordem cancerígena e disfuncional (Mostafalou; Abdollahi, 2013).

Por sua natureza lipofílica, os OCPs acumulam-se em tecidos adiposos, sendo o tecido mamário um biomarcador relevante de exposição ambiental. Diante do risco crítico, devido à vulnerabilidade e à limitada capacidade de desintoxicação nessa fase, a ingestão de leite materno contaminado pode expor o recém-nascido a níveis potencialmente tóxicos, o que torna seu monitoramento essencial para a saúde pública. A detecção desses compostos no leite humano, estudada desde a década de 1970, motivou restrições e proibições em diversos países, pois evidencia a transferência direta de contaminantes da mãe para o lactente (Behrooz et al., 2009). Esse estudo teve como objetivo inicial otimizar um método para extração, limpeza, identificação e quantificação de OCPs em leite materno humano por CG/EM.

MATERIAIS E MÉTODOS

Coleta de amostras:

As amostras de leite humano maduro cru serão fornecidas pelo Banco de Leite Humano do Hospital Universitário de Maringá (HUM, Maringá, Paraná, Brasil). Para os testes de otimização da extração e técnica, os mesmos foram obtidos de lactantes voluntárias. Este estudo foi aprovado pelo comitê de ética CAAE nº 81586024.5.0000.0104.

QuEChERS modificado:

A metodologia descrita por Ferronato et al. (2018) consistiu na extração de 6 mL de leite materno com acetonitrila acidificada, seguida da adição de sais (MgSO_4 e NaCl), agitação e centrifugação. O sobrenadante foi limpo com MgSO_4 e C18, novamente centrifugado e evaporado em banho-maria a 60 °C. O extrato foi ressuspensionado em diclorometano e posteriormente analisado.

QuEChERS e DLLME modificado:

A metodologia descrita por Szarka et al. (2020, com modificações), foi realizada pelo método QuEChERS seguido de DLLME. Dez gramas da amostra foram extraídos com 10 mL de acetonitrila, 1 g de NaCl e 4 g de MgSO_4 , com agitação e centrifugação. Em seguida, 5 mL do extrato foi submetido à DLLME com 250 μL de clorofórmio e 20 mL de água, formando suspensão turva, novamente agitada e centrifugada. O sedimento obtido foi coletado e evaporado em banho-maria a 60 °C. O extrato foi ressuspensionado em diclorometano e posteriormente analisado.

Identificação por CG/MS:

A análise cromatográfica foi realizada em coluna capilar Rxi®-5ms (30 m $\times$ 0,25 mm, 0,25 μm). O programa de temperatura do forno teve duração total de 25 min, com atraso de solvente de 3 min. As injeções foram feitas em modo *splitless* (1 μL), com temperatura de fonte de íons de 240 °C, linha de transferência a 280 °C e hélio como gás de arraste (1,0 mL min^{-1}). A aquisição dos dados ocorreu em modo *full scan* (m/z 40–650), conforme metodologia de Ferronato et al. (2018, com modificações).

Os OCPs foram identificados utilizando solução padrão, comparando espectro de fragmentação e tempo de retenção (TR) em minutos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Inicialmente, foi injetado uma solução padrão na concentração de $50 \mu\text{g mL}^{-1}$ para avaliar a separação cromatográfica e os tempos de retenção de cada padrão de OCPs, conforme a corrida, conforme a Figura 01. Os compostos confirmados e tempo de retenção (TR) em minutos foram: Lindano (TR:8,56), Hexaclorobenzeno (TR:9,46), Heptacloro (TR:11,17), Aldrin (TR:12,11), Clordano (TR:13,98), Diclorodifenildicloroetileno (TR:15,09), Dieldrin (TR:15,16), Endrin (TR:15,81), Endossulfan (TR:16,17), Metoxicloro (TR:16,61) e DDT (TR:17,66).

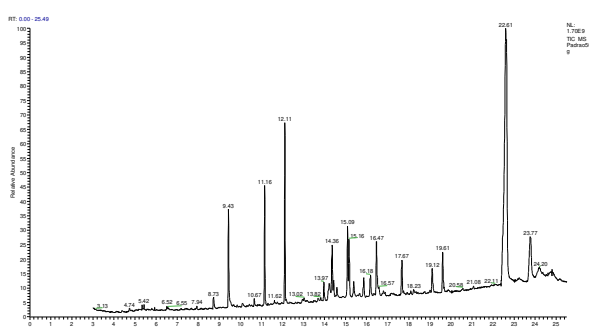


Figura 01 – Cromatograma com a solução padrão de organoclorados ($50 \mu\text{g mL}^{-1}$).

Os OCPs apresentam átomos de cloro que conferem estabilidade e lipofilicidade, permitindo separação cromatográfica eficiente para identificação, detecção e confirmação. A metodologia mostrou-se de baixo custo por ser rápida e redução no consumo do gás de arraste. Sendo assim foi possível avaliar 4 OCPs dos 11 testados, são eles: Lindano, Hexaclorobenzeno, Heptacloro e Aldrin, pois atenderam os critérios estabelecidos pelas diretrizes internacionais de 80 a 120% de recuperação, confirmando a eficiência do método e sua aplicabilidade em leite humano. Para realizar a extração foram adicionadas 1000 μL da solução padrão no leite humano e realizado a extração pelas metodologias descritas.

A análise de compostos no leite materno exige uma extração eficiente devido à complexidade da matriz, composta principalmente por lipídeos e carboidratos. Fatores como tempo de lactação e dieta alteram na concentração do mesmo. Entre as metodologias testadas, a QuEChERS associada à DLLME mostrou melhor remoção de lipídios, pois foi a que conseguiu reduzir significativamente a intensidade dos lipídeos presentes na amostra.

Os compostos analisados obtiveram os seguintes resultados: Lindano (TR: 8,71), Hexaclorobenzeno (TR:9,41), Heptacloro (TR:11,14), Aldrin (TR:12,09). O método analítico otimizado teve a capacidade extrativa suficiente para reduzir os interferentes, preservando os compostos de interesse, considerando sua alta afinidade com a fração lipídica da matriz.

CONCLUSÕES

A análise cromatográfica confirmou a eficiência da separação de 4 OCPs dos 11 avaliados; ou seja, o Lindano, o Hexaclorobenzeno, o Heptacloro e o Aldrin, atribuída a presença de lipídeos que atuam como interferentes analíticos. A metodologia de extração combinando QuEChERS e DLLME demonstrou potencial para reduzir estes interferentes. Os resultados indicam a viabilidade do método, ressaltando, porém, a necessidade de futuros estudos incluírem a validação analítica e a análise das amostras coletadas.

AGRADECIMENTOS

Ao PIBIC/CNPq-Fundação Araucária-UEM e CNPq (Processo nº 313035/2022-9) pelo apoio e financiamento. Agradeço ao CNPq à UEM e ao Laboratório de Toxicologia pela infraestrutura, ao Prof. Dr. Miguel Machinski Junior pela orientação, e a MsC. Giovana Frigo e a Profa. Dra. Juliana Cristina Castro pelo incentivo e contribuições essenciais.

REFERÊNCIAS

Behrooz et al. Organochlorine pesticide and polychlorinated biphenyl residues in human milk from the Southern Coast of Caspian Sea, Iran. **Chemosphere**, v. 74, n. 7, p. 931-937, 2009. Acesso em: 30 jul. 2025.

Ferronato et al. Determination of organochlorine pesticides (OCPs) in breastmilk from Rio Grande do Sul, Brazil, using a modified QuEChERS method and gas chromatography - negative chemical ionisation - mass spectrometry. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 98, n. 11, p. 1005-1016, 2018. Acesso em: 30 jul. 2025.

Mostafalou, S.; Abdollahi, M. Pesticides and human chronic diseases: evidences, mechanisms, and perspectives. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 268, n. 2, p. 157-177, 2013. Acesso em: 30 jul. 2025.

Szarka et al. Development of a multiresidue QuEChERS–DLLME—fast GC–MS method for determination of selected pesticides in yogurt samples. **Food Analytical Methods**, v. 13, n. 10, p. 1829-1841, 2020. Acesso em: 30 jul. 2025.