

# Determinação de fenitrotona em farinha de trigo

## Fenitrothion determination in wheat flour

RIALA6/1114

Thais V. Milanez\*, Viviane E. Nakano, Tereza A. Kussumi, Sonia B. Rocha e Heloísa H. B. Toledo

\*Endereço para correspondência: Instituto Adolfo Lutz, Divisão de Bromatologia e Química, Seção de Resíduos de Pesticidas, Av. Dr. Arnaldo, 355. CEP 01246-902, São Paulo/SP. E-mail: thaismil@ial.sp.gov.br.

Recebido: 13/06/2007 – Aceito para publicação: 30/08/2007

### RESUMO

A fenitrotona é um inseticida organofosforado de toxicidade moderada para mamíferos, usado para o controle de insetos em algumas culturas e em grãos armazenados. No Brasil, seu limite máximo de resíduo (LMR) em trigo estabelecido pela ANVISA/MS é 1,0mg/kg. Com a finalidade de verificar seus resíduos em farinha de trigo branca atendendo o Programa Paulista 2006, foram analisadas 62 amostras coletadas no período de abril a junho de 2006 pela Vigilância Sanitária do Estado de São Paulo, em vários pontos de comércio e padarias do estado. A fenitrotona foi determinada por cromatografia em fase gasosa com detector fotométrico de chama (FPD). Foram realizados estudos de recuperação em dois níveis, 0,05 e 0,50mg/kg, cujos resultados variaram de 93% a 113% e 78% a 91%, respectivamente. O limite de detecção do método foi 0,02mg/kg e o de quantificação foi 0,05mg/kg. Os dados obtidos são inferiores ao LMR vigente para trigo de 1,0mg/kg e corroboram a importância do estabelecimento de LMR para produtos processados, neste caso, a farinha de trigo. Os LMR são a base para o cálculo do consumo diário dos pesticidas, proporcionando dados mais realistas para o cálculo da quantidade de resíduos de pesticidas realmente ingeridos por uma pessoa consumindo uma dieta que lhe é habitual (Ingestão Diária Aceitável).

**Palavras-chave.** fenitrotona, farinha de trigo, cromatografia gasosa, Limite Máximo de Resíduo.

### ABSTRACT

Fenitrothion is an organophosphorus insecticide of moderate toxicity to mammals, which is used in agriculture to control insects on some cultures and on stored grains. ANVISA/ Brazilian Ministry of Health established the fenitrothion maximum limit residue (MLR) of 1.0mg/kg in wheat. The aim of this investigation was to verify this compound residues in white wheat flour to comply the São Paulo State Health Programme "Programa Paulista 2006". For this purpose a survey of fenitrothion residues was carried out in 62 flour samples from varied market sites and bakeries of São Paulo State, collected by Sanitary Surveillance Service from April to June 2006. Fenitrothion residues were determined by means of gas chromatography with flame photometric detection (GC-FPD). Recovery studies were performed at two different levels, 0.05 e 0.50mg/kg, and the mean recoveries on the established levels were between 93% - 113% and 78% - 91%, respectively. The limit of detection was estimated as 0.02mg/kg, and the limit of quantification was 0.05mg/kg. The data showed values of fenitrothion lower than the established MRL to wheat (1.0mg/kg), which corroborate the needs to establish MRL for processed products, such as wheat flour. MRLs are the basis for calculating the daily dietary consumption of pesticides. They also provide factual data for estimating the daily pesticide residue intake by a person that consumes its usual diet (Acceptable Daily Intake).

**Key words.** fenitrothion, wheat flour, gas chromatography, Maximum Residue Limit.

## INTRODUÇÃO

A fenitrotiona é um inseticida da classe dos organofosforados que tem sido usado na agricultura desde 1959<sup>1</sup>. Estudos em animais verificaram que este ativo é rapidamente absorvido por via oral e distribuído a vários tecidos do corpo, rapidamente metabolizado e excretado, não sendo retido no organismo por longo tempo. Incluído na Classe II<sup>1</sup>, tem toxicidade moderada apresentando valor de LD<sub>50</sub> oral para ratos e camundongos variando de 330 a 1416mg/kg peso corpóreo<sup>2</sup>. No Brasil, sua aplicação é permitida em culturas de algodão, cebola, crisântemo, maçã e soja, no controle de formigas, bem como em trigo armazenado<sup>2</sup>.

As principais áreas produtoras mundiais de trigo são China e a União Européia com mais de 100 milhões de toneladas, seguidos por EUA, Índia, Leste Europeu, Rússia e Canadá<sup>3</sup>. O Brasil produziu 4,9 milhões de toneladas nas safras de 2005-2006, o que é insuficiente para suprir o consumo interno. Somente no ano passado, o país importou 6,6 milhões de toneladas de trigo da Argentina, o que corresponde a 95% da importação nacional do produto<sup>4</sup>.

Com relação à farinha de trigo, segundo o IBGE<sup>5</sup>, o consumo per capita anual é de 5,08kg, sendo o quarto alimento mais consumido pela população brasileira e um dos principais ingredientes no preparo de diversos produtos alimentícios da população brasileira. Aproximadamente 54% da produção são destinados ao preparo de pão, 12% para massas, 11% para biscoitos, 10% para uso doméstico e outros 12% para outras aplicações.

Neste estudo, foram levantados os resíduos de fenitrotiona em amostras de farinha de trigo branca coletadas em vários pontos do comércio ou padarias do estado de São Paulo no período de abril a junho de 2006. A fenitrotiona tem sido avaliada sucessivamente desde 1969 por especialistas do JMPR (Joint FAO/WHO Meetings on Pesticide Residues), sendo o limite máximo de resíduo (LMR) de fenitrotiona em farinha de trigo recomendado na avaliação de 1988/1989 como 2mg/kg<sup>6</sup>. Esta recomendação tem sido mantida pelo Comitê do Codex Alimentarius e permanece até hoje<sup>6</sup>. No Brasil, segundo a Resolução RE n°. 165, de 29/08/2004 da Anvisa/Ministério da Saúde, o limite máximo de resíduo (LMR) estabelecido de fenitrotiona para trigo é 1,0mg/kg<sup>2</sup>. Para o produto processado, a Portaria n°. 03 da ANVISA/MS<sup>7</sup> estabelecia o limite máximo de resíduo (LMR) como “taxa igual ou inferior a que estiver fixada para o alimento fresco”. No entanto, esta Portaria foi revogada pela Resolução ANVISA/MS RDC n°. 216 de 15/12/2006<sup>8</sup>. Desta forma, atualmente a legislação brasileira não estabelece LMR para a farinha de trigo.

## MATERIAL E MÉTODO

### Material

Foram analisadas 62 amostras de farinha de trigo, sendo 25 pacotes de 1 kg, provenientes de vários pontos de

comércio destinadas ao uso doméstico e 37 amostradas em padarias. As amostras foram coletadas no período de abril a junho de 2006 pela Vigilância Sanitária do Estado de São Paulo atendendo o Programa Paulista 2006.

### Método

Baseando no método multi-resíduos<sup>9</sup>, foram pesadas 30g de farinha de trigo em frascos de 250mL com tampa de rosca. Foram adicionados 1mL de solução de clorpirifós metílico 3ng/mL (“surrougate”), e, a seguir, 30mL de acetato de etila. A extração foi efetuada em turrax por 30 segundos e subsequentemente foram adicionados 60mL de mistura diclorometano:hexano (1:1). A extração em turrax foi repetida por mais 30 segundos e com posterior centrifugação a 2700rpm por 20 minutos. Do extrato centrifugado, foi retirada uma alíquota de 5mL do sobrenadante para tubo de 10mL. Esta alíquota foi concentrada a 37°C sob fluxo de nitrogênio até quase secura completando o volume para 1mL com a mistura isoctano:tolueno (9:1). O extrato foi homogeneizado em agitador orbital por 30 segundos e a seguir centrifugado a 1000rpm por 10 minutos. Com o auxílio de pipeta Pasteur, cerca de 1mL do sobrenadante do extrato foi transferido para frasco de 2mL. A determinação foi realizada por cromatografia em fase gasosa com detector fotométrico de chama (FPD).

### Equipamento e condições cromatográficas

Cromatógrafo a gás HP6890 com FPD com filtro de fósforo; coluna capilar 14% fenilcianopropil 86% dimetilpolisiloxano (DB 1701), dimensões 30m x 0,25mm x 0,25µm de espessura de filme; temperatura inicial do forno: 80°C; rampa de aquecimento: 80°C-130°C (10°C/min); 130°C-240°C (4°C/min), 240°C (17,5min); temperatura do injetor: 250°C; volume de injeção: 2µL; injeção: splitless; gás: nitrogênio, fluxo: 1mL/min; temperatura do detector: 250°C. Aquisição dos dados: software HPChem. Tempo de retenção da fenitrotiona: 26,9min.

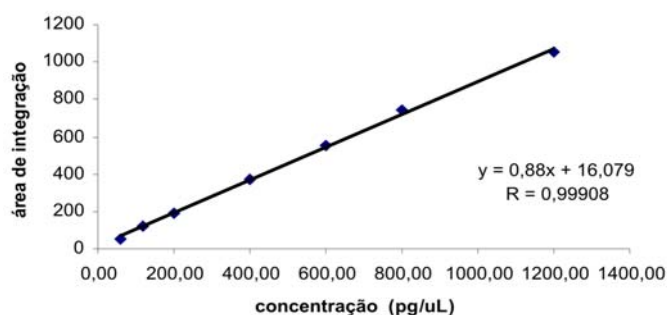
### Validação

Foram realizados estudos de recuperação em dois níveis de concentração, 0,05 e 0,50mg/kg em seis replicatas para cada nível e injetados em duplicatas. Essas concentrações foram usadas nos cálculos dos limites de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), desvio padrão relativo (DPR, repetitividade) e recuperação (exatidão) para o método estudado utilizando-se o método da padronização externa para quantificação da fenitrotiona.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A fenitrotiona foi quantificada utilizando-se o método da padronização externa. A curva analítica, indicada na Figura 1, realizada com matriz, foi linear na faixa de concentração de 60 a 1200pg/µL, equivalente a 0,036 a 0,720mg/kg de

fenitrotiona na amostra, de acordo com os cálculos de análise de variância (e cálculo dos resíduos) e aplicação do Teste F. O coeficiente de correlação da curva analítica foi de 0,99908.



**Figura 1.** Curva analítica de fenitrotiona em farinha de trigo.

Os valores obtidos nos estudos de recuperação em dois níveis de concentração, 0,05 e 0,50mg/kg., descritos na Tabela 1, estão na faixa de recuperação de 70 a 120%, de acordo com o recomendado pelo Codex Alimentarius<sup>10</sup>.

**Tabela 1.** Dados de recuperação em farinha de trigo fortificada com fenitrotiona nas concentrações de 0,05 e 0,50mg/kg.

Concentração (mg/kg)	Concentração recuperada (mg/kg)	Desvio padrão	Recuperação % <sup>a</sup>	Média final %	Desvio padrão relativo (%)
0,050	0,046		93	101	8
	0,055		109		
	0,055		93		
	0,056	0,004	113		
	0,051		102		
	0,050		100		
0,50	0,46		91	88	6
	0,45		90		
	0,39	0,02	78		
	0,45		91		
	0,44		89		
	0,45		91		

A repetitividade do método (DPR), obtida a partir de 6 réplicas para cada, foi de 8% para a concentração de 0,050mg/kg e de 6% para 0,50mg/kg (Tabela 1). Estes valores estão de acordo com o preconizado por Horwitz et al.<sup>11</sup>segundo o qual o DPR intralaboratorial esperado para determinações em nível de mg/kg deve ser no máximo de 16% e também com o estabelecido pelo Codex Alimentarius<sup>10</sup> que é de até 20%.

Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) do método foram calculados a partir das concentrações recuperadas conforme as recomendações estabelecidas pela Associação Grupo de Analistas de Resíduos de Pesticidas<sup>12</sup>. De acordo com estas recomendações um método é aceitável quando o limite de quantificação testado (LQ proposto) for

maior ou igual ao limite de quantificação estatístico (LQ estatístico), sendo este considerado como 10 vezes o valor obtido do desvio padrão das concentrações recuperadas (mg/kg) do nível 0,05mg/kg. Neste caso:

$$\text{LQ estatístico} = 10 \times \text{DP} = 10 \times 0,004 = 0,04$$

$$\text{LQ proposto} = 0,05 \text{ mg/kg}$$

Portanto, LQ proposto (0,05) > LQ estatístico (0,04), sendo 0,05mg/kg estabelecido como limite de quantificação (LQ) do método.

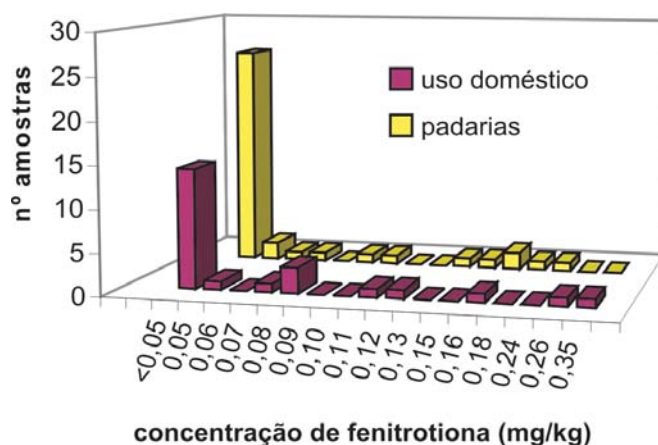
O valor de LD estatístico foi calculado como três vezes o desvio padrão das concentrações recuperadas. Como o LD instrumental é maior que o LD estatístico, então, o valor considerado como limite de detecção do método foi o LD instrumental, 0,02mg/kg:

$$\text{LD estatístico} = 3 \times \text{DP} = 3 \times 0,004 = 0,01$$

$$\text{LD instrumental (menor quantidade cuja relação sinal/ruído fosse 3 vezes)} = 0,02 \text{ mg/kg}$$

Das 37 amostras analisadas obtidas de padarias, 32,4% (12 amostras) estavam acima do LQ (0,05mg/kg), variando de 0,05 a  $0,18 \pm 0,04 \text{ mg/kg}$ , enquanto para as 25 amostras de uso doméstico este valor atingiu 40,0% (10 amostras), variando de 0,05 a  $0,35 \pm 0,07 \text{ mg/kg}$ . A incerteza do método foi calculada como incerteza do tipo A considerando 95% de confiança.

Os resultados de todas as amostras analisadas estão indicados na Figura 2, cuja concentração mediana calculada está abaixo de 0,05mg/kg. Pode-se observar que as amostras provenientes de padarias apresentaram uma menor incidência de fenitrotiona.



**Figura 2.** Resultados dos resíduos de fenitrotiona encontrados nas amostras de farinha de trigo analisadas.

Produtos alimentícios submetidos a várias etapas de processamento como: trituração, lavagem, moagem e refino, frequentemente tem os seus valores de resíduos menores do que apresentam seus produtos de origem (não

processados)<sup>13</sup>. Alguns estudos têm sido conduzidos para determinar e explicar a redução da concentração da fenitrotiona em várias etapas do processamento dos grãos de trigo até o preparo do pão. Segundo o JMPR<sup>13</sup> grande parte da fenitrotiona fica depositada na película do grão que é removida com o farelo no processo de moagem. O mesmo foi observado por Javier<sup>14</sup> que estudou a degradação do ativo nos grãos de trigo e em alguns de seus produtos processados. Observou que a fenitrotiona possui um valor de pressão de vapor de  $1,8 \times 10^{-2}$  Pa que a torna mais volátil e conseqüentemente ocasiona maiores perdas no processamento. A redução da concentração de resíduos de fenitrotiona do trigo pode chegar a 78% até obtenção da farinha de trigo branca e 91% até o preparo do pão<sup>13</sup>. Uygun et al.<sup>15</sup> obtiveram resultados próximos destes; os autores verificaram que do trigo até o preparo de pão branco a redução dos teores deste pesticida atingiu 92%.

No Brasil alguns estudos foram realizados com relação à presença de fenitrotiona em farinha de trigo. Firmino et al.<sup>16</sup> determinaram resíduos de pesticidas em 27 amostras de farinha de trigo e detectaram a presença do ativo em seis delas (22,2%), que variaram de 0,07-0,40mg/kg. No período de janeiro/2003 a maio/2004, Caetano et al.<sup>17</sup> analisaram 46 amostras e encontraram fenitrotiona em 26 delas (56,5%), com concentrações variando de 0,02-0,20mg/kg.

Os valores de fenitrotiona obtidos neste trabalho, cuja mediana está abaixo de 0,05mg/kg, estão de acordo com os estudos levantados e com a recomendação do Comitê do Codex Alimentarius<sup>6</sup> de LMR 2mg/kg para farinha de trigo branca. A legislação brasileira prevê LMR para fenitrotiona em trigo, mas, como visto, resíduos deste pesticida também podem ser encontrados nos produtos derivados. Uma vez que no processamento do trigo pode ocorrer alteração nos níveis de concentração do ativo e que o Brasil necessita importar farinha de trigo para suprir a demanda nacional, torna-se importante o estabelecimento de LMRs específicos para os diversos produtos processados do trigo e com isso garantir a qualidade dos alimentos que o país consome.

## CONCLUSÃO

Os níveis de fenitrotiona obtidos nesta pesquisa são muito inferiores ao valor do LMR vigente para trigo, 1,0mg/kg, e corroboram a importância do estabelecimento de LMR específico para farinha de trigo. Os valores de LMR são a base para o cálculo do consumo diário dos pesticidas, proporcionando dados mais realistas para o cálculo da quantidade de resíduos de pesticidas realmente ingeridos por uma pessoa consumindo uma dieta que lhe é habitual (Ingestão Diária Aceitável).

Estes resultados ressaltam a importância do estabelecimento dos LMRs para produtos processados.

## REFERÊNCIAS

1. World Health Organization. Sekizawa J, Eto M, Miyamoto J, Matsuo M. Environmental Health criteria 133. Fenitrothion. International Programme on Chemical Safety. Published under the joint sponsorship of the United Nations Environment Programme, the International Labour Organisation, and the World Health Organization. World Health Organization Geneva, 1992. <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc133.htm>. Acesso em 20/03/2007.
2. Agência Nacional de Vigilância Sanitária/Ministério da Saúde <http://www.anvisa.gov.br/toxicologia/monografias/f05.pdf>. Acesso em 21/02/2007.
3. Trigo-Brasil. Série Histórica da área plantada. Safras 1976/77 a 2006/07. [www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/TrigoSerieHist.xls](http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/TrigoSerieHist.xls). Acesso em 20/03/2007.
4. Limma Junior. Paraná: Trigo segue indefinido nos Campos Gerais (PR) (16/04/07) [http://www.paginarural.com.br/noticias\\_detalhes.asp?subcategoriaid=12&id=65950](http://www.paginarural.com.br/noticias_detalhes.asp?subcategoriaid=12&id=65950). Acesso em 13/06/07.
5. IBGE <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/condicaodevida/pof/2002/pof2002.pdf> acessado em 22/03/07.
6. Fenitrothion (037). [www.fao.org/ag/agp/agpp/pesticid/JMPR/download/89/fentrothion.pdf](http://www.fao.org/ag/agp/agpp/pesticid/JMPR/download/89/fentrothion.pdf). Acesso em 05/06/07.
7. Agência Nacional de Vigilância Sanitária/Ministério da Saúde, Portaria nº03, item 1.5.4 de 16/01/1992.
8. Resolução ANVISA/MS RDC nº 216 de 15/12/2006 D.O.U. - Diário Oficial da União; Poder Executivo, de 18 de dezembro de 2006.
9. Inspectorate of Health Protection. Analytical methods for pesticide residues in food stuffs. Part I – Multiresidue Method. 6 ed. The Hague/ Rijswijk, The Netherlands: Ministry of Public Health, Welfare and Sports; 1996.
10. *Codex Alimentarius*. Pesticide Residues in Food. Methods of analysis and sampling. Volume 2A. 2 ed., part 1, Roma; 2000.
11. Horwitz W, Kamps LR, Boyer KW. Quality assurance in the analysis of foods for trace constituents. *J Assoc Off Anal Chem*. 1980; 63(6): 1344-54.
12. Toledo HHB et al. Manual de Procedimentos, Estudo dos Resíduos com Plantas. Parte A. Associação GARP; 2002.
13. Holland PT, Hamilton D, Ohlin B, Skidmore MW. Effects of storage and processing on pesticide residues in plant products. 1994; *Pure & Appl Chem* 63: 335-56.
14. Vásquez-Castro JA. Resíduos de fenitrotion e esfenvalerato em grãos de milho e trigo, em alguns de seus produtos processados e sua ação residual sobre

- Sitophilos oryzae* (L.,1763), *Sitophilos zeamas* Motsch.,1855 (Coleóptera: Curculionidae) e *Rhyzopertha dominica* (Fabr.,1792) (Coleóptera: Bostrichidae). 2006; Piracicaba:ESALQ Tese doutorado. 214p.
15. Uygun U, Koxsel H, Atlin A. Residue levels of malathion and its metabolites and fenitrothion in post-harvest treated wheat during storage, milling and baking. 2005; Food Chem 92:643-7.
  16. Firmino A, Baptista GC, Trevizan LRP. Monitoramento de Resíduos de Pesticidas em Farinha de Trigo. Rev Bras Toxicol. 2003; 16(supl1): 34.
  17. Caetano AC, Baptista GC, Trevizan LRP, Cerri F, Jaquier AM. Monitoramento de Resíduos de Pesticidas em Farinha de Trigo. In: XIV Encontro Nacional de Analistas de Alimentos. 2005; Goiânia-GO, CT/RS-12, 128.