

# EFEITO DA INGESTA DIÁRIA DE LEITE NAS CONCENTRAÇÕES DE COMPOSTOS ORGANOCLORADOS NO TECIDO ADIPOSO \*

IJONI COSTABEBER \*\*

JOICE SIFUENTES DOS SANTOS \*\*\*

TATIANA EMANUELLI\*\*\*\*

Os níveis dos pesticidas organoclorados p,p'-DDE,  $\gamma$ -HCH, HCB e Aldrin foram determinados em amostras de tecido adiposo de residentes em Córdoba (Espanha) e relacionados com dados referentes a ingestão diária de leite das doadoras. O consumo médio de leite por parte das mulheres interrogadas foi de aproximadamente 350 mL ao dia. Para relacionar os níveis dos resíduos presentes nas amostras de tecido adiposo ao volume de leite consumido, diariamente, pelas doadoras foi realizado o teste de correlação linear simples. Os resultados obtidos mostraram a inexistência de significação ( $p>0,05$ ) em relação aos valores detectados nas amostras e a quantidade de leite consumida por essas mulheres.

*PALAVRAS-CHAVE: AGROTÓXICOS ORGANOCLORADOS; TECIDO ADIPOSO; LEITE.*

## 1 INTRODUÇÃO

Os compostos organoclorados foram amplamente utilizados na agricultura e no combate a vetores biológicos, como o causador da malária. Devido ao seu uso desordenado tornaram-se contaminantes do meio ambiente, dos alimentos e (no último degrau da cadeia alimentar) do ser humano.

O problema da contaminação ambiental por organoclorados persistentes desperta maior interesse devido à presença de seus resíduos

\* A pesquisa foi desenvolvida no Departamento de Bromatología y Tecnología de los Alimentos, Universidad de Córdoba, España, como parte da Tese de Doutoramento do primeiro autor.

\*\* Doutora em Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Profª Departamento de Morfologia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Maria (RS), Brasil. (e-mail: ihcbeber@fatecnet.ufsm.br). Bolsista PROFIX do CNPq.

\*\*\* Acadêmica do Curso de Farmácia e Bioquímica, opção Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria. Bolsista de Iniciação Científica da FAPERGS.

\*\*\*\* Doutora em Bioquímica, Profª Departamento de Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria (RS), Brasil. (e-mail: tati@ccr.ufsm.br).

no meio ambiente e em tecidos humanos (MUKHERJEE e GOPAL, 1993). Depois de aplicados são translocados e biotransformados ao longo da cadeia alimentar natural, com possíveis efeitos deletérios sobre o organismo funcional (EJOBÍ et al., 1996). Dentre os efeitos deletérios pode-se citar a neurotoxicidade para o homem e demais vertebrados (MÍDIO e MARTINS, 2000). Carcinogenicidade, mutagenicidade, teratogenicidade, irritação e lesão ocular e cutânea são outros efeitos tóxicos atribuídos aos pesticidas organoclorados (LARINI, 1999).

Os organoclorados são altamente lipossolúveis e acumulam-se no tecido adiposo, sendo essa propriedade lipofílica usada como um dos indicadores da exposição humana a esses compostos.

O leite é um dos caminhos pelos quais os pesticidas organoclorados são excretados. Como o leite constitui matéria-prima de vários produtos, esses também podem vir a ser contaminados, especialmente os produtos lácteos, ricos em gordura. O leite e seus produtos derivados desempenham papel importante na dieta humana (BENTABOL e JODRAL, 1995). Segundo AMIOT et al. (1991) o leite é o melhor alimento natural, contendo quantidades consideráveis de mais ou menos 55 nutrientes essenciais para o homem. Dentre esses nutrientes pode-se citar o cálcio, que além de importante para a integridade óssea, participa do controle da excitabilidade nervosa e da contração muscular, da coagulação do sangue e regulação de sistemas enzimáticos como o da tripsina. De acordo com JAMES et al. (1994) a carência de cálcio na dieta, ao longo da vida, associada à idade mais avançada pode causar a osteoporose. Importante doença que atinge mulheres com idade ao redor dos 50 anos. As necessidades médias de cálcio para mulheres na faixa entre 35 e 50 anos de idade têm sido estimadas ao redor de 800 mg ao dia. Já o aporte recomendado para mulheres com idade superior a 50 anos, ao redor de 1400 mg/dia, deve-se ao fato de que parte do cálcio administrado é eliminada pelo metabolismo

Considerando o valor do leite nos hábitos saudáveis da dieta humana, e pelo fato dos organoclorados acumularem-se nos tecidos ricos em gorduras, investigou-se o nível desses resíduos em amostras de tecido adiposo humano. Buscou-se também relacionar esses níveis com a freqüência de consumo de leite por parte das doadoras.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 AMOSTRAS

Utilizaram-se 134 amostras de tecido adiposo humano, obtidas de

mulheres submetidas a processos cirúrgicos no Hospital Universitário "Reina Sofia" de Córdoba, Espanha.

## 2.2 COLETA DE DADOS

Coletaram-se dados referentes à idade e consumo de leite pelas doadoras, mediante questionário.

## 2.3 PADRÕES DE PESTICIDAS ORGANOCLORADOS

Aldrin, Lindano ( $\gamma$ -HCH), Hexaclorobenzeno (HCB) e Diclorodifenil dicloroeteno (p,p'-DDE).

## 2.4 EQUIPAMENTOS

Rotavapor a vácuo (BUCHI, mod. RE), geladeira, freezer, balança analítica e triturador marca HEIDOLPH DIAx 600, cromatógrafo a gás HEWLETT-PACKARD, mod 5890, dotado de detector de captura de elétrons com fonte radioativa de Ni<sup>63</sup>, injetor Split/Splitless, integrador-registrador HEWLETT-PACKARD, mod 3396 série II, coluna capilar HP-1 HEWLETT-PACKARD, (Crosslinked Methyl Silicone Gum) 25 x 0,2 mm x 0,33  $\mu$ m Film Thickness.

## 2.5 REAGENTES

Sulfato de sódio anidro (Panreac Química S.A.), n-hexano (Merck), floril de 60 a 100 mesh (Sigma).

## 2.6 MÉTODOS

Para a limpeza da vidraria, empregada nas diferentes etapas da investigação, usou-se a metodologia de ANGULO et al. (1996). Para a identificação e a quantificação dos compostos em estudo seguiu-se a metodologia de COSTABEBER et al. (2000a). Pesou-se 0,3 g de tecido adiposo, foram adicionados 10 mL de n-hexano e a mistura triturada a 13.500 rpm durante 3 min. Transferiu-se a mistura para coluna cromatográfica, preparada com lâ de vidro e recheada com 15 g de floril e cerca de 1 cm de sulfato de sódio anidro. A amostra foi introduzida na coluna e eluída com 100 mL de n-hexano. O eluído foi recolhido em balão, com funil acoplado contendo lâ de vidro e sulfato de sódio. O extrato foi concentrado até secura em rotavapor e reconstituído com 2 mL de n-hexano. Dessa solução, 3  $\mu$ L foram injetados no cromatógrafo para a análise.

## 2.7 VALIDAÇÃO DO MÉTODO ANALÍTICO

Com os dados obtidos de 10 repetições de padrões estabeleceu-se a porcentagem média da recuperação dos compostos, assim como o coeficiente de variação e o desvio padrão dos resultados (Tabela 1).

**TABELA 1 - RECUPERAÇÃO MÉDIA E DESVIO PADRÃO DOS COMPOSTOS EM ESTUDO \***

Composto	Recupera <sup>a</sup> o Média (%)	Desvio Padr <sup>a</sup> o	Coeficiente De varia <sup>a</sup> o (%)
HCB	101,47	9,63	9,49
$\gamma$ -HCH	88,47	11,86	13,40
Aldrin	97,16	16,85	17,34
p,p'-DDE	102,68	12,79	12,45

\*Dados previamente publicados em COSTABEBER et al. (2000a).

HCB = Hexaclorobenzeno.

$\gamma$ -HCH = Lindano.

p,p'-DDE= Diclorodifenil dicloroeteno.

## 2.8 TESTES ESTATÍSTICOS

Para a validação do método analítico foram efetuadas a média e o desvio padrão dos resultados de recuperação dos analitos. Para definição da faixa de trabalho dos pesticidas organoclorados foram feitos testes estatísticos básicos: média, desvio padrão, mínimos e máximos dos valores encontrados. Foi utilizada análise de correlação linear simples e análise de variância para correlacionar as concentrações dos compostos com a idade das doadoras e o consumo de leite (SOKAL e EARD ROHLF, 1969).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da análise e interpretação dos questionários respondidos pelas doadoras foi construída a Tabela 2.

O consumo médio de leite das 134 doadoras foi de 376,6 mL por dia, cujo grupo apresentou idade média de 51,3 anos. O elevado desvio padrão indica grande discrepância entre os valores fornecidos pelas doadoras em relação ao seu consumo de leite.

Os dados dos questionários foram, ainda, classificados de acordo com as quantidades ingeridas ao dia, conforme os grupos indicados na Tabela 3.

**TABELA 2 - VALOR MÉDIO, DESVIO PADRÃO, VALOR MÍNIMO E MÁXIMO DO CONSUMO DIÁRIO DE LEITE E DA IDADE DAS DOADORAS**

	Valor Médio	Desvio padrão	Valor mínimo	Valor máximo
Consumo de leite (mL/dia)	376,6	315,3	0	1500
Idade (anos)	51,3	16,1	15	87

**TABELA 3 - QUANTIDADE DIÁRIA DE LEITE CONSUMIDA E IDADE MÉDIA DAS DOADORAS**

Quantidade consumida	N	%	Idade média (anos)
Não toma leite	19	14,2	49,8
Menos de 250 mL	48	35,8	49,5
De 250 a 500 mL	39	29,1	52,5
De 500 a 750 mL	13	9,7	57,2
Mais de 750 mL	15	11,2	50,7
Total	134	100,0	51,3

*N* = número de amostras.

Pode-se observar que 35,8% das doadoras declararam consumo inferior a 250 mL de leite por dia. A minoria (9,7%) relatou consumo diário de 500 a 750 mL de leite. Quanto à idade, as mulheres que consomem menos leite apresentaram menor idade média (49,5 anos) quando comparada a idade (57,2 anos) das doadoras que consumem maior quantidade desse alimento. Mulheres até 50 anos deveriam consumir 700 mL\* de leite ao dia para suprir as necessidades de cálcio e mulheres acima dessa idade necessitam de consumo diário de 1200 mL\*. No entanto, raras foram as doadoras que afirmaram consumir tal volume de leite.

Os resultados obtidos nas análises de pesticidas organoclorados em tecido adiposo humano estão descritos na Tabela 4.

O p,p'-DDE, encontrado em todas as amostras analisadas, foi o composto detectado em maior concentração dentre os quatro pesticidas estudados. Esses resultados coincidem com os obtidos em pesquisas anteriores (ARCHIBEQUE-ENGLE, 1997; BURGAZ et al., 1994; BURGAZ et al., 1995; HERNANDEZ et al., 1992).

\* Valor calculado a partir do conteúdo de cálcio presente no leite (114 mg%) (FRANCO, 1982) de acordo com a recomendação diária nas faixas etárias citadas.

**TABELA 4 - CONCENTRAÇÃO MÉDIA, DESVIO PADRÃO, INTERVALOS DE CONCENTRAÇÃO E FREQUÊNCIA DE DETERMINAÇÃO DE PESTICIDAS ORGANOCLORADOS EM AMOSTRAS DE TECIDO ADIPOSO \***

Composto	Concentração média ( $\mu\text{g/g}$ de tecido)	Desvio Padrão	Intervalos de concentrações ( $\mu\text{g/g}$ de tecido)	Freqüência (%)
$\gamma$ -HCH	0,003	0,012	ND 0,110	16
Aldrin	0,006	0,009	ND 0,028	64
HCB	0,236	0,226	ND 1,294	98
p,p'-DDE	1,869	2,148	0,019 17,992	100

\* Dados previamente publicados em COSTABEBER et al. (2000a).

ND = Não detectado.

$\gamma$ -HCH = Lindano.

HCB = Hexaclorobenzeno.

p,p'-DDE = Diclorodifenil dicloroeteno.

Quanto aos níveis dos compostos organoclorados no tecido adiposo e a quantidade diária de leite consumida pelas doadoras observou-se, com exceção do  $\gamma$ -HCH, aumento nas concentrações dos resíduos teciduais com o aumento da quantidade de leite consumida (Figura 1). No entanto, nenhum dos pesticidas estudados apresentou correlação significativa ( $p>0,05$ ) entre o consumo de leite e a concentração do composto.

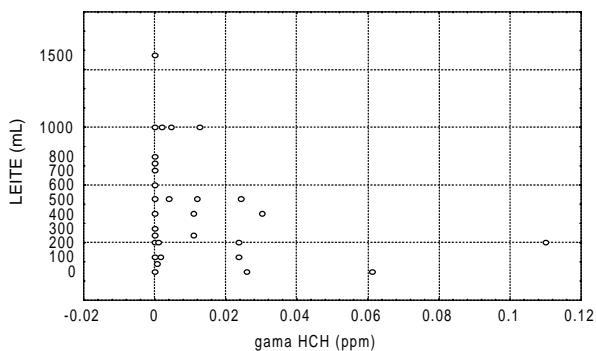
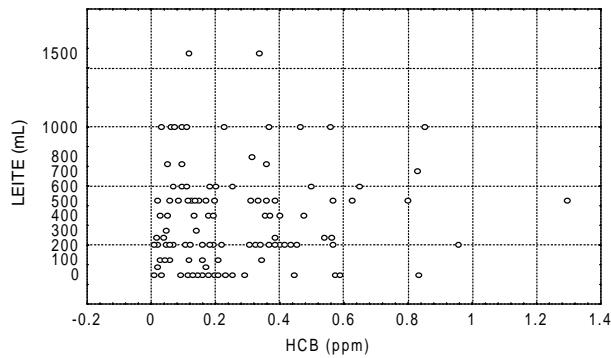
Estudou-se, também, as concentrações dos compostos segundo a classificação do consumo de leite anteriormente estabelecida. Os resultados encontram-se na Tabela 5.

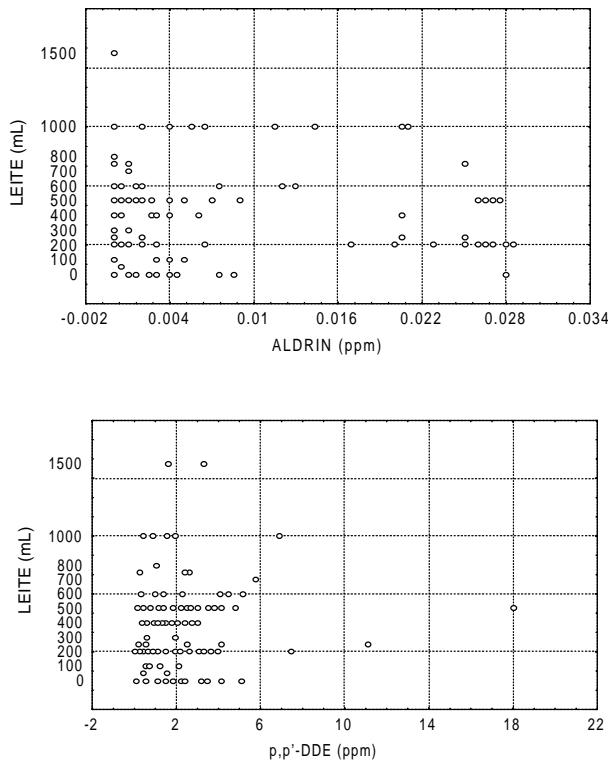
O Lindano e o Aldrin foram detectados em maiores concentrações no tecido adiposo quando as doadoras relataram não consumir leite ou consumir menos de 250 mL ao dia, respectivamente. Já o HCB e o p,p'-DDE foram detectados em níveis elevados nas amostras das mulheres que consomem leite entre 500 e 750 mL ao dia. Observou-se que as doadoras que consomem menos leite são mais jovens que as que ingerem maior quantidade desse alimento. Tal fato pode ter contribuído para os altos níveis de HCB e p,p'-DDE detectados nas amostras de tecido adiposo das doadores que consumiam maior quantidade de leite. Os elevados níveis de p,p'-DDE podem ser explicados por este ser o último e mais estável dos metabólitos do DDT, além de tratar-se de composto com elevada propriedade lipofílica (COSTABEBER et al., 2000b).

Quanto às concentrações dos compostos organoclorados em função da quantidade de leite consumida, a análise de variância revelou a inexistência de alterações significativas ( $p>0,05$ ). Isso pode ser atribuído

ao fato de que alguns autores detectaram pesticidas abaixo do Limite Máximo de Resíduos (LMR) no leite espanhol, como BARCELÓ e PUIGNOU (1987), MARTINES et al. (1997) e LOSADA et al. (1996). No entanto, POZO LORA (1977) e GARRIDO et al. (1994) encontraram pesticidas com valores superiores ao LMR estabelecido pela legislação vigente.

**FIGURA 1 - CONCENTRAÇÕES DOS PESTICIDAS ORGANOCLO-  
RADOS SEGUNDO O CONSUMO DE LEITE PELAS  
DOADORAS**





**TABELA 5 - NÍVEIS DE ORGANOCLORADOS ( $\mu\text{g/g}$  DE TECIDO)  
SEGUNDO A QUANTIDADE DIÁRIA DE LEITE  
CONSUMIDA PELAS DOADORAS**

Quantidade dia/ $\ddagger$ ia	$\gamma$ -HCH (X-DP)	Aldrin (X-DP)	HCB (X-DP)	p,p'-DDE (X-DP)
Nº o toma leite	0 005–0 015	0 003–0 006	0 235–0 225	1 850–1 358
Menos de 250 mL	0 004–0 016	0 007–0 010	0 213–0 204	1 585–1 952
De 250 a 500 mL	0 003–0 007	0 005–0 008	0 250–0 248	2 179–2 841
De 500 a 750 mL	ND	0 005–0 008	0 267–0 247	2 378–1 923
Mais de 750 mL	0 002–0 005	0 006–0 007	0 247–0 235	1 553–1 650

X=média.

DP = desvio padrão.

ND = não detectado.

HCB = hexaclorobenzeno.

$\gamma$ -HCH = lindano.

p,p'-DDE = diclorodifenil dicloroeteno.

WALISZEWSKI et al. (1997) investigaram os níveis de resíduos organoclorados em manteiga (sub-produto do leite) e buscaram correlacionar estes níveis com os encontrados em tecido adiposo humano. Os resultados excluíram a manteiga como fonte importante de pesticidas organoclorados em tecido adiposo.

Mediante os resultados dos testes estatísticos pode-se dizer que o leite constituiu fonte secundária de contaminação do tecido adiposo analisado. No entanto, em outro trabalho (COSTABEBER et al., 2003) foi demonstrado que o consumo de carne representa fonte importante de contaminação, principalmente para o composto p,p'-DDE. A idade (COSTABEBER e EMANUELLI, 2002) e o local de residência (COSTABEBER et al., 2000a) também foram fatores que contribuíram para a carga corporal de pesticidas organoclorados presente nas doadoras.

## 4 CONCLUSÃO

As doadoras que relataram pequeno consumo de leite apresentam idade média por volta de 50 anos, na qual a ingestão desse alimento é importante devido ao seu elevado aporte nutritivo.

De modo geral, as concentrações dos compostos no tecido adiposo aumentaram com o aumento do consumo de leite, exceto para o  $\gamma$ -HCH, que apresentou comportamento contrário. Porém, a diferença nos valores encontrados no tecido adiposo em função do consumo de leite não foi significativa ( $p>0,05$ ), o que indica que o leite não representou importante fonte de contaminação por pesticidas organoclorados nas amostras analisadas.

### Abstract

#### **EFFECT OF DAILY MILK INTAKE IN THE CONCENTRATIONS OF ORGANOCHLORINE COMPOUNDS IN ADIPOSE TISSUE**

The levels of organochlorine pesticides p,p'-DDE,  $\gamma$ -HCH, HCB and Aldrin were determined in samples of adipose tissue from residents in Córdoba (Spain) and related to data on the daily milk intake by the donors. The average milk intake by women interrogated was around 350 mL per day. The levels of residues found in adipose tissue samples were correlated to the average daily milk intake by the donors using a simple linear correlation test. The results obtained showed inexistence of signification ( $p>0,05$ ) in relation to the values detected in samples and the quantification of consumed milk by this women.

**KEY WORDS:** ORGANOCHLORINE PESTICIDES; ADIPOSE TISSUE; MILK.

## REFERÊNCIAS

- 1 AMIOT, J. **Ciencia y tecnología de la leche.** Zaragoza: Acribia, 1991. p. 55-75.
- 2 ANGULO, R.; COSTABEBER, I.; GALLEGOS, M.C. et al. Clean-up distillation: critical points in the organochlorine residue analysis. In: EUROPEAN PESTICIDE RESIDUE WORKSHOP, 1996, Alkmaar, Netherlands. **Abstract Book EPRW96...** Netherlands, 1996. p. 59.
- 3 ARCHIBEQUE-ENGLE, S.L. Comparison of organochlorine pesticide and polychlorinated biphenyl residues in human breast adipose tissue and serum. **Journal of Toxicology and Environmental Health**, v. 52, p. 285-293, 1997.
- 4 BARCELO, D.; PUIGNOU, L.G. Residuos de plaguicidas em leches U.H.T españolas determinados por cromatografía de gases de alta resolución. **Revista Agroquímica de Tecnología de Alimentos**, v. 27, n.4, p. 583-589, 1987.
- 5 BENTABOL, A.; JODRAL, M. Occurrence of organochlorine agrochemical residues in Spanish cheeses. **Pesticides Science**, v. 44, p. 177-182, 1995.
- 6 BURGAZ, S.; AFKHAM, B.L.; KARAKAYA, A.E. Organochlorine pesticide contaminants in human adipose tissue collected in Ankara (Turkey) 1991-1992. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v. 53, p. 501-508, 1994.
- 7 BURGAZ, S.; AFKHAM, B.L.; KARAKAYA, A.E. Organochlorine pesticide contaminants in human adipose tissue collected in Tebriz (Iran). **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v. 54, p. 546-553, 1995.
- 8 COSTABEBER, I.; JODRAL, M.; ANGULO, R.; VALERA, M.; MOLINA, A. Evaluación de niveles de residuos organoclorados en tejido adiposo de residentes en la provincia de Córdoba-España. **Revista Internacional de Contaminação Ambiental**, v. 16, n.3, p. 119-126, 2000a.
- 9 COSTABEBER, I.; TRINDADE, R.; FRIES, L.M. Residuos de DDE, HCB, heptacloro epóxido y lindano en leche UHT comercializada en

- Santa María, R.S. **ILE – Industrias Lacteas Españolas**, Madrid, v. 259, p. 42-47. 2000b.
- 10 COSTABEBER, I.; EMANUELLI, T. Influencia de hábitos alimentarios sobre las concentraciones de pesticidas organoclorados em tejido adiposo. **Revista Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 22, n. 1, p.54-59, 2002.
  - 11 COSTABEBER, I., SANTOS, J.,EMANUELLI, T. Relação entre a frequênciam do consumo de carne e pescado e os níveis de hexaclorobenzeno, lindano , aldrin e 4,4' diclorodifenil 1,1'dicloroetileno, em tecido adiposo. **Revista Ciência Rural**, Santa Maria, v. 33, n.1, 2003. (No prelo).
  - 12 EJOB, F.; KANJA, L.W.; KYULE, M.N.; MÜLLER, P.; KRÜGER, J.; NYEKO, J.H.P.; LATIGO, A.A.R. Organochlorine pesticide residues in cow's milk in Uganda. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v. 56, p. 551-557, 1996.
  - 13 FRANCO, G. **Nutrição**. 6. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 1982. 227 p.
  - 14 HERNANDEZ, L.M.; FERNÁNDEZ, M.A.; JIMÉNEZ, B.; GONZÁLEZ, M.J. Organochlorine insecticides and polychlorinated biphenyls in human adipose tissue in Madrid (Spain). **Toxicological and Environmental Chemistry**, v. 37, p. 125-132, 1992.
  - 15 GARRIDO, F.M.D.; JODRAL, V.M.L.; POZO, L.R. Bifenilos policlorados en leches esterilizados españolas y estudio experimental del efecto de la temperatura sobre estos compuestos. **ILE – Industrias Lacteas Españolas**, Madrid, v. 179, p. 35-40, 1992.
  - 16 GARRIDO, F.M.D.; JODRAL, V.M.L.; POZO, L.R. Organochlorine pesticides in spanish sterilized milk and associated health risks. **Journal of Food Protection**, v. 57, n. 3, p. 249-252, 1994.
  - 17 JAMES, W.P.T.; FERRO-LUZZI, A.; ISAKSSON, B.; SZOSTAK, W.B. **Nutrición saludable**. Barcelona: SG Editores, 1994. 188 p.
  - 18 LARINI, L. **Toxicologia dos praguicidas**. São Paulo: Manole, 1999. p. 9-18.

- 19 LOSADA, A.; FERNÁNDEZ, N.; DIEZ, M.J.; TERÁN, M.T.; GARCÍA, J.J.; SIERRA, M. Organochlorine pesticide residues in bovine milk from León (Spain). **The Science of the Total Environment**, v. 181, p. 133-135, 1996.
- 20 MARTINEZ, M.P., ANGULO, R., POZO, L.R., JODRAL, M. Organochlorine pesticides in pasteurized milk and associated health risks. **Food and Chemical Toxicology**, v. 35, p. 621-624, 1997.
- 21 MÍDIO, A.F.; MARTINS, D.I. **Toxicologia de alimentos**. São Paulo: Varela, 2000. p. 163-252.
- 22 MUKHERJEE, I.; GOPAL, M. Organochlorine pesticide residues in dairy milk in and around Delhi. **Journal of AOAC International**, v. 76, n. 2, p. 283-286, 1993.
- 23 POZO LORA, R. Contaminación por plaguicidas organoclorados de los productos lácteos españoles. **Anales del Colegio Oficial de Veterinários de la provincia de Barcelona**, Barcelona, v. 34, p. 445-472, 1977.
- 24 SOKAL, R.R.; EARD ROHLF, F.J. **Biometry: the principles and practice of statistics in biological research**. San Francisco: W. H. Freeman, 1969. 776 p.
- 25 WALISZEWSKI, S.M.; PARDÍO, V.T.; WALISZEWSKI, K.N.; CHANTIRI, J.N.; INFANZÓN, R.M. Levels of organochlorine pesticides in mexican butter. **Journal of AOAC International**, v. 79, n. 3, p. 784-786, 1996.