

## DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE 2,4D EM AMOSTRAS VEGETAIS

MARILI VILLA NOVA RODRIGUES \*

GIL EDUARDO SERRA \*\*

Adaptou-se metodologia existente para determinação de resíduos do herbicida 2,4D (ácido 2,4 diclorofenoxiacético) em matrizes vegetais. A metodologia proposta foi testada em amostras de cana-de-açúcar, arroz, milho, soja e trigo. O 2,4D foi extraído com diclorometano em meio ácido e derivatizado com pentafluorbenzil brometo. Os derivados foram submetidos ao *cleanup* em minicolunas de florisil, para então serem quantificados por cromatografia gasosa com detetor de captura de elétrons. A recuperação apresentou-se na faixa de 76-94%.

### 1 INTRODUÇÃO

O 2,4 D pertence ao grupo dos herbicidas clorofenoxiacéticos e suas formulações amina e éster têm sido usadas por várias décadas no controle de invasoras de folhas largas (dicotiledôneas) em culturas de cereais, capim e outras.

ALLENDER (1989) recomendou a extração do 2,4D de folhas de plantas ornamentais com acetona e ácido fosfórico e derivatização com pentafluorbenzil brometo a 85°C por 1 hora, para então ser eluído em colunas de florisil e quantificado por cromatografia gasosa com detetor de captura de elétrons usando coluna empacotada contendo 7% OV-210 e 3,5% OV-101.

\* Pesquisadora do Centro Pluridisciplinar de Pesquisas Químicas, Biológicas e Agrícolas - Universidade de Campinas (UNICAMP).

\*\* Professor Doutor do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos - UNICAMP.

SMITH (1984) realizou a extração do 2,4D em meio de NaOH 0,1N, seguida de partição com éter/hexano/bicarbonato de sódio, para então submeter a amostra à etapa de derivatização e limpeza em colunas de florisil.

WALISZEWSKI & SZYMEZYNSKI (3) procederam à extração do 2,4D, de amostras de solo e água, utilizando como solvente diclorometano e ácido sulfúrico e na reação de derivatização trifluoreto de boro. Na seqüência realizaram partições com éter e por último limpeza em colunas de florisil. A quantificação dos derivados do 2,4D foi efetuada por cromatografia gasosa, com detetor de captura de elétrons, utilizando coluna de OV-17 e QF-1.

O objetivo deste trabalho foi o de adaptar técnicas de extração e *cleanup* visando estabelecer metodologia para a determinação do 2,4D na forma amina ou éster em amostras vegetais, uma vez que com os métodos citados anteriormente, não foram obtidas recuperações adequadas dentro da faixa recomendada de 70 a 120%, para as matrizes em estudo.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 MATERIAL

Para condução dos testes e desenvolvimento de metodologia foram utilizados como matrizes, colmos de cana-de-açúcar, grãos de arroz, milho, soja e trigo.

### 2.2 REAGENTES E PADRÕES

O padrão de 2,4D (ácido 2,4 diclorofenoxiacético) foi obtido da Sigma com pureza de 95%. A solução estoque de 2,4D (100 µg/mL) foi preparada em acetona e armazenada sob refrigeração. O padrão diluído (10 µg/mL) foi usado para as fortificações das amostras testemunha.

Utilizou-se Florisil 60-100 mesh Merck grau resíduo e como agente derivatizante o 2,3,4,5,6 pentafluorbenzil brometo - PFB-Br (Sigma), na presença de carbonato de potássio anidro (Carlo Erba).

Os demais solventes utilizados foram de grau analítico ou cromatográfico.

### 2.3 EQUIPAMENTO

Para a quantificação dos derivados de 2,4D foi utilizado um cromatógrafo gasoso da Hewlett Packard modelo 5890 série II com injetor automático, operando com detetor de captura de elétrons  $^{63}\text{Ni}$ , coluna DB-1 (J&W Scientific) de 30 m x 0,53 mm, filme de 1,5 µ e integrador Hewlett Packard 3396 série II.

As condições de operação foram:

- temperatura da coluna: 210°C/10min a 270°C/10min (10°C/min)
- temperatura do injetor: 250°C
- temperatura do detetor: 270°C
- vazão do gás de arraste ( $\text{N}_2$ ): 13 mL/min - *make-up* ( $\text{N}_2$ ): 40 mL/min.

Nessas condições o tempo de retenção do 2,4D derivatizado foi de aproximadamente 11 minutos.

### 2.4 ARMAZENAMENTO E PREPARO DAS AMOSTRAS

As amostras de cana-de-açúcar, arroz, milho, soja e trigo, provenientes da coleta em campo, foram devidamente acondicionadas em sacos plásticos e conservadas desde sua colheita em ambiente a -10°C para então serem trituradas em *blender*.

### 2.5 DESENVOLVIMENTO EXPERIMENTAL

O desenvolvimento da metodologia foi na realização de testes que combinaram e otimizaram as etapas das três metodologias citadas.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A metodologia desenvolvida que apresentou os melhores resultados de recuperação foi a seguinte:

#### 3.1 EXTRAÇÃO

Pesar 10 g de amostra em erlenmeyer de 250 mL, adicionar 100 mL de diclorometano e extrair durante 30 minutos no shaker. Adicionar 10 mL de ácido sulfúrico 25% v/v e extrair por mais 30 minutos no shaker. Filtrar sob sulfato de sódio anidro e lavar a amostra com mais 50 mL de diclorometano. Evaporar parte do diclorometano sob vácuo, com banho a 40°C, e acertar o volume para 100 mL em balão volumétrico com diclorometano.

#### 3.2 DERIVATIZAÇÃO

Retirar uma alíquota de 5 mL para um *vial* de 25 mL e evaporar o solvente sob nitrogênio até *secura*. Adicionar ao resíduo seco 1 mL de PFB-Br 1% v/v em acetona e cerca de 5 mg de carbonato de potássio anidro (previamente seco em estufa e pulverizado em almofariz). Sellar o *vial* e deixar reagir durante 2 horas em banho-maria a 85°C. Retirar do banho e deixar esfriar. Evaporar até *secura* sob nitrogênio.

#### 3.3 CLEAN-UP

Empacotar minicolunas de 114 mm de altura e 9 mm de diâmetro interno, com 1,5 g de florisil e 0,5 g de sulfato de sódio anidro no topo. Desativar a coluna com 10 mL de solução de 30% de éter etílico em hexano, seguido por 10 mL de hexano. Transferir os resíduos derivatizados para as colunas com 3 porções de 1 mL de hexano e eluir com 30 mL de uma solução de 20% de éter etílico em hexano, recolhendo o eluído em balão volumétrico de 50 mL e acertando o volume com hexano.

#### 3.4 QUANTIFICAÇÃO

Injetar 1 µL da solução amostra em hexano no cromatógrafo gasoso, operando nas condições descritas anteriormente.

A curva padrão foi feita partindo-se de 5 mL da solução 10 µg/mL do 2,4D em acetona, evaporando-a até *secura* sob nitrogênio para então ser submetida às etapas de derivatização e *cleanup*, juntamente com as amostras (em duplicata). A partir da solução eluída da coluna de florisil em balão volumétrico de 100 mL, diluições sucessivas em hexano foram feitas de modo a obter concentrações na faixa de 4 a 54 ng/mL.

#### 3.5 RECUPERAÇÕES

O Quadro 1 apresenta as recuperações obtidas para as matrizes em estudo, em três níveis de fortificação.

QUADRO 1 - RECUPERAÇÕES OBTIDAS COM O MÉTODO PROPOSTO, PARA AS MATRIZES EM ESTUDO

Matriz	Fortificação (ppm)	Recuperação (%)	Média de Recuperação (%)	Limite de Quantificação (ppm)
Cana-de-açúcar	0,54	71,9	75,7	0,01
	1,08	77,3		
	5,40	77,8		
Arroz	1,08	84,1	87,4	0,04
	2,16	87,2		
	10,80	90,8		
Trigo	1,08	81,5	77,5	0,04
	3,24	75,2		
	5,40	75,7		
Milho	2,17	79,0	80,1	0,07
	5,40	80,0		
	10,80	81,3		
Soja	2,16	93,4	94,2	0,07
	3,24	100,9		
	5,40	88,3		



#### 4 CONCLUSÃO

A metodologia desenvolvida para extração e *cleanup* apresentou cromatogramas com boa resolução e média de recuperações na faixa de 75,7 a 94,2% para as matrizes em estudo.

O limite de quantificação variou de matriz para matriz porque, devido à maior quantidade ou natureza dos interferentes, mostrou-se necessário o uso de alíquota menor na derivatização, aumentando assim o limite de quantificação para as amostras com mais impurezas.

#### Abstract

The method developed for the quantitative analysis of 2,4 D ( 2,4 dichlorophenoxyacetic acid) in plants is an adaptation of methodologies described by other authors. Tests with these methodologies showed low recoveries (near 20%). The 2,4D extraction was performed with methylene chloride in acid medium, and derivatization with 2,3,4,5,6 pentafluorobenzylbromide. The florisil columns were used for *cleanup* prior to analysis by gas chromatography with ECD detector operated with DB-1 megabore column. The results showed good recoveries, between 76 and 94%.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 ALLENDER, W.J. Determination of chlorophenoxy herbicides in plant material exposed to spray drift. **Journal of Chromatographic Science**, v. 27, p. 193-196, apr. 1989.
- 2 SMITH, A.E. Gas chromatographic method for analysis of 2,4D in wheat: interlaboratory study. **J. Assoc. Off. Anal. Chem.**, v. 67, n. 4, p. 794-798, 1984.
- 3 WALISZEWSKI, S.M., SZYMEZYNSKI, G.A. Modified method for the GC determination of chlorophenoxy acetic herbicides (MCPA and 2,4D) in soil and water. **Fresenius Z. Anal. Chem.**, v. 322, p. 510-511, 1985.