EXTRAÇÃO E "CLEANUP" EM UMA ÚNICA ETAPA PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE PESTICIDAS ORGANOCLORADOS EM LANOLINA*

MEIRE MIDORI HAMAKAMI **

LUCIANA POLESE ***

ELAINE DE FÁTIMA GALATTI JARDIM ****

MARIA LÚCIA RIBEIRO *****

Desenvolveu-se método, em pequena escala, para determinação de resíduos de oito pesticidas organoclorados em lanolina. Realizou-se a extração e purificação em uma única etapa pela transferência de uma solução de lanolina, preparada em n-hexano, para uma coluna cromatográfica. A capacidade de retenção de gordura foi avaliada em colunas empacotadas com alumina, alumina/silica e silica. Os resultados obtidos mostraram a eficiência de silica gel desativada a 10%. Os pesticidas foram eluídos com n-hexano e analisados por cromatografia em fase gasosa com detector de captura de elétrons. Obteve-se valores médios de recuperação entre 73 e 95% e limites de detecção entre 0,01 e 0,08 µg/g. O método proposto mostrou-se simples, rápido e eficiente para a determinação de pesticidas organoclorados em amostras de lanolina.

1 INTRODUÇÃO

A lanolina, obtida à partir de gordura da lã de carneiro, é uma das mais importantes matérias-primas para a preparação de cosméticos e pomadas, especialmente por combinar propriedades emolientes e ativas de superfície (1).

* Trabalho desenvolvido na Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Química, Departamento de Química Orgânica, Araraquara – SP.

** Estudante de iniciação científica da UNESP.

*** Pós-graduando em Química da UNESP.

**** Servidor Técnico-administrativo da UNESP.

***** Professora Doutora da UNESP.

A presença de resíduos de pesticidas em lanolina pode ocorrer devido a aplicação destes compostos no controle de infestações por banhos de imersão de animais, como proteção da lã durante seu armazenamento e pelo controle de insetos nocivos nas pastagens (2). Como consequência, pesticidas organoclorados podem ser fortemente retidos pela lanolina (matriz mais complexa do que gordura animal e óleo vegetal), transferidos para produtos manufaturados e, finalmente para a pele (3, 4, 5). Por este motivo, investigações vêm sendo realizadas para estabelecer níveis máximos de resíduos de pesticidas em lanolina (6), bem como avaliar a possível contaminação de lanolina (2, 3, 4) e de cosméticos (4, 7, 8), especialmente os de uso infantil.

Os métodos propostos para determinação de resíduos de pesticidas em lanolina compreendem de modo geral, a preparação da solução de lanolina em solvente apolar (éter de petróleo, n-hexano), e pelo menos duas etapas de purificação, partição e extração em fase sólida C-18 (3) ou em coluna de Florisil (2). Recentemente, JONES (5) descreveu método multirresíduo por permeação em gel, para determinação de resíduos de clorados, fosforados e piretróides em lanolina e graxa de lã de carneiro, tendo obtido valores de recuperação entre 70 e 108%.

O presente trabalho descreve procedimento analítico em pequena escala para determinação de resíduos de pesticidas organoclorados em lanolina.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 EQUIPAMENTO

Cromatógrafo a gás Varian, modelo 3300, equipado com detetor de captura de elétrons (^{63}Ni), coluna de vidro (200 cm x 2 mm de diâmetro interno) empacotada com 1,5% OV-17/ 1,95% QF-1 sobre Chromosorb WHP (100-120 mesh) e Integrador Varian, modelo 4290. Condições de operação: temperatura do injetor 230°C, temperatura da coluna 200°C, temperatura do detetor 300°C; fluxo do gás de arraste (N_2) 40 mL/min.

2.2 REAGENTES E SOLVENTES

Acetona e n-hexano (nanograde, Mallinckrodt). A sílica gel 60 (70-230 mesh, Merck) foi mantida em estufa a 130°C durante 24 h e desativada a 10%, conforme procedimento previamente descrito por RIBEIRO et al. (9). A lã de vidro (Merck) utilizada como suporte para o adsorvente foi submetida à extração em Soxhlet com acetona e n-hexano por 8 h.

Os padrões dos pesticidas organoclorados foram fornecidos pela U.S. Environmental Protection Agency (EPA), Research Triangle Park, NC, USA. As soluções foram preparadas em n-hexano e armazenadas em freezer (-18°C).

2.3 PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

Amostras de lanolina foram armazenadas sob atmosfera de nitrogênio em frascos fechados e mantidas em freezer. Soluções de lanolina (0,04 g/mL) foram preparadas em n-hexano. A fortificação da amostra foi realizada pela adição de 1,0 mL de solução padrão, de concentração adequada (Tabela 1) a 0,4 g de lanolina. Após homogeneização o volume foi ajustado a 10,0 mL com n-hexano.

TABELA 1 - CONCENTRAÇÃO DAS SOLUÇÕES PADRÃO DE FORTIFICAÇÃO

Pesticidas	Nível de Fortificação ($\mu\text{g/g}$)	Concentração ($\mu\text{g/mL}$)
HCB	0,15	0,060
	0,60	0,24
α - HCH	0,15	0,060
	0,60	0,24
γ - HCH	0,15	0,060
	0,60	0,24
heptacloro	0,20	0,080
	0,80	0,32
aldrin	0,20	0,080
	0,80	0,32
p,p' - DDE	0,24	0,096
	0,95	0,38
p,p' - DDD	0,60	0,24
	2,4	0,96
p,p' - DDT	0,60	0,24
	2,4	0,96

2.4 PROCEDIMENTO ANALÍTICO

Uma alíquota correspondente a 1,0 mL da solução de lanolina preparada em n-hexano foi transferida para coluna cromatográfica (35 x 1 cm d.i.), previamente empacotada com 2,0 g de sílica desativada a 10%. A eluição foi processada com 30 mL de n-hexano sob velocidade controlada (1 mL/min). O eluato foi concentrado (45°C) até aproximadamente 1 mL e o volume ajustado a 5,0 mL com n-hexano. O esquema do procedimento analítico está apresentado na Figura 1.

2.5 ANÁLISES CROMATOGRÁFICAS

Realizou-se as análises qualitativa e quantitativa pela comparação dos dados cromatográficos obtidos das soluções padrão, dos extratos das amostras fortificadas e não fortificadas, analisados sucessivamente por cromatografia em fase gasosa com detector de captura de elétrons (CG/DCE).

2.6 DETERMINAÇÃO DO TEOR DE GORDURA RESIDUAL

Determinou-se o teor de gordura residual por gravimetria no eluato, coletado em placa de cristalização, após aplicação do procedimento analítico.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A determinação dos parâmetros experimentais da metodologia proposta foi realizada considerando a possibilidade de se desenvolver procedimento, cuja extração e purificação fosse realizada em uma única etapa por cromatografia de adsorção. Tendo em vista que os métodos descritos na literatura envolvem tratamento prévio da lanolina, com várias etapas experimentais, em função da natureza desta matriz (graxa), julgou-se que seria importante tentar reduzir tempo e custo de análise.

Avaliou-se a eficiência do procedimento pela capacidade de retenção de gordura pela coluna e pela recuperação dos pesticidas. A seleção do adsorvente adequado foi testada analisando-se o teor de gordura residual dos extratos. Valores elevados foram obtidos com colunas empacotadas com alumina (35-37%), alumina/sílica (21-23%) e sílica (100%). Nos dois primeiros casos a eluição foi processada com n-hexano e no segundo com n-hexano-diclorometano (8:2). A substituição deste sistema de eluição por n-hexano elevou consideravelmente a capacidade de retenção de gordura da coluna empacotada com sílica (99,0 a 99,8%) e permitiu que a recuperação dos pesticidas, nestas condições fosse investigada.

FIGURA 1 - ESQUEMA DO PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

Os resultados das análises de recuperação realizadas com amostras fortificadas em níveis entre 0,15 e 2,4 µg/g, definidos por comparação com dados da literatura, estão apresentados na Tabela 2. Valores médios entre 73 e 95% foram obtidos para os pesticidas estudados, exceto para γ -HCH (68%) no nível de 0,15 µg/g.

A reprodutibilidade e a sensibilidade do método foram avaliadas pelos valores de desvio padrão (1,3 - 15,1%) e pelo limite de detecção (0,01 - 0,08 µg/g) calculados pelo procedimento descrito por THIER e ZEUMER (10). A ausência de compostos interferentes na faixa de tempo de retenção dos pesticidas selecionados indicou a eficiência do método, no que se refere a purificação dos extratos.

Os resultados obtidos neste estudo confirmam a aplicabilidade do procedimento em amostras de lanolina, com vantagens quanto a redução do tempo de análise, quantidade e volume de reagentes e solventes, em relação aos métodos relatados por outros autores (2, 3).

TABELA 2 - PORCENTAGENS DE RECUPERAÇÃO DOS PESTICIDAS ESTUDADOS E LIMITES DE DETECÇÃO DO MÉTODO

Pesticidas	Nível de Fortificação (µg/g)	Intervalo de recuperação ^a (%)	Média ^a ± Desvio Padrão (%)	Limite de Detecção ^b (µg/g)
HCB	0,15	71 - 89	79±7,6	0,04
	0,60	79 - 100	88±8,9	
α - HCH	0,15	78 - 86	82±3,3	0,02
	0,60	78 - 109	88±14,5	
γ - HCH	0,15	66 - 70	68±1,8	0,01
	0,60	70 - 103	81±15,1	
heptacloro	0,20	76 - 81	79±2,9	0,02
	0,80	76 - 84	81±3,6	
aldrin	0,20	72 - 78	74±2,8	0,02
	0,80	73 - 81	77±3,3	
p,p' - DDE	0,24	91 - 99	95±3,9	0,03
	0,95	72 - 81	77±3,8	
p, p' - DDD	0,60	73 - 80	77±3,2	0,07
	2,4	71 - 74	73±1,3	
p,p' - DDT	0,60	81 - 90	85±4,0	0,08
	2,4	71 - 77	74±2,4	

^a n = 4 análises.

^b Valores calculados pelo procedimento descrito por THIER e ZEUMER (10), considerando o menor nível de fortificação.

4 CONCLUSÃO

Um método rápido e eficiente foi desenvolvido para determinação de resíduos de oito pesticidas organoclorados em amostras de lanolina. A principal característica do método é a combinação da extração e da purificação em uma única etapa, resultando em considerável economia de vidraria, reagentes, solventes e tempo de análise, quando comparado com métodos descritos na literatura.

Abstract

A small-scale method for determination of eight organochlorine pesticide residues in lanolin was developed. The extraction and cleanup were carried out in a single step by transferring an n-hexane solution of lanolin to a chromatographic column. Columns prepaced with alumina, alumina plus silica, and silica were tested for their ability to retain fat. Silica gel deactivated to 10% had the greatest capacity for fat retention (99.0 - 99.8%). The pesticide compounds were eluted with n-hexane and analyzed by gas chromatography with electron capture detection. Average recovery ranged from 73 to 95% and the detection limits were between 0.01 and 0.08 µg/g. The proposed method showed itself simple, quick and efficient for determining organochlorine pesticides in lanolin.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- SMITH, W.P., CALVO, L. Cosméticos hoje. *Cosmetics & Toiletries*, v. 3, p. 24-31, 1991.
- MIYAHARA, M., SUZUKI, T., SAITO, Y. Multiresidue method for some pesticides in lanolin by capillary gas chromatography with detection by electron capture, flame photometric, mass spectrometric, and atomic emission techniques. *J. Agric. Food Chem.*, v. 40, n. 1, p. 64-69, 1992.
- DISERENS, H. Simplified extraction and cleanup for multiresidue determination of pesticides in lanolin. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, v. 72, n. 6, p. 991-993, 1989.
- MARIANI, E., BARGAGNA, A., LONGOBARDI, M., BRUSCHI, E., DORATO, S. Gas chromatographic determination of pesticides and PCBs in cosmetics containing plant derivatives. *IL Farmaco*, v. 50, n. 3, p. 193-196, 1995.
- WILLIAN JONES, F. Multiresidue analysis of pesticides in wool wax and lanolin using gel permeation and gas chromatography. *J. Agric. Food Chem.*, v. 44, n. 10, p. 3197-3201, 1996.

- 6 LANOLIN. In: THE UNITED STATES PHARMACOPEIA. **The national formulary**. Rockville : United States Pharmacopeial Convention, 1995. p. 869-872. (USP 23, NF 18).
- 7 MARIANI, E., BARGAGNA, A., LONGOBARDI, M., BRUSCHI, E. Gas chromatographic determination of chlorinated pesticides and PCBs in complex cosmetic matrices. **IL Farmaco**, v. 49, n. 6, p. 441-442, 1994.
- 8 CETINKAYA, M. Gaschromatographische bestimmung von organochlor-organo-phosphorrückständen in dekorativen kosmetika und hautpflegemitteln. **Deutsche Lebensmittel-Rundschau**, v. 84, n. 12, p. 388-391, 1988.
- 9 RIBEIRO, M. L., POLEZE, L., DRAETTA, M. S., MINELLI, E. V., DEL'ACQUA, A. Mixed column application in pesticide residue analysis. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 2, n. 3, p. 102-104, 1991.
- 10 THIER, H. P., ZEUMER, H. **Manual of pesticide residue analysis**. Weinheim, Germany : VCH, 1987. v. 1, p. 37-44.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Marcos Antônio Correia, do Departamento de Cosmetologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas - UNESP - Araraquara - SP, que forneceu as amostras de lanolina.