

LUNA IDÁLIA PINHEIRO*
RENATO JOÃO SOSSELA DE FREITAS*

Adapta e otimiza método analítico para quantificação de resíduo de propargito em maçã, morango e tomate, caracterizadas como amostras aquosas. O método estudado finaliza com a leitura dos resultados através de cromatografia em fase gasosa. Supre necessidades analíticas para resíduo de acaricida propargito, largamente utilizado no Brasil. Valores das tolerâncias aprovadas para o produto podem ser adequadamente avaliados em culturas próprias e adaptados às condições climáticas brasileiras.

1 INTRODUÇÃO

Acaricidas são produtos tóxicos para ácaros. Não se costuma classificar os acaricidas, por serem poucas as substâncias específicas contra ácaros e também pelo fato de sua descoberta e seu estudo não terem o mesmo ritmo de desenvolvimento dos inseticidas (6).

Omite, nome comercial do ingrediente ativo propargito, estudado neste trabalho, é um acaricida específico. Derivado do tipo sulfito (3), é o terceiro na evolução desta categoria de produto, precedido pelo Aramite, cujo uso remonta a 1950, quando gozou de grande popularidade e extenso uso. No entanto, apesar de apresentar baixa toxicidade, sua expansão foi interrompida ao descobrir-se nele certas propriedades cancerígenas (1).

*Professores do Departamento de Tecnologia Química da Universidade Federal do Paraná.

A segunda alternativa foi a síntese do Smit, de constituição similar ao Aramite, que parecia não apresentar os mesmos riscos carcinogênicos, atuando principalmente sobre ovos e larvas primárias, porém sem o efeito de profundidade do Aramite. O Smit entrou em desuso com o aparecimento do Omite, produto de constituição parecida aos anteriores, porém não possuindo cloro em sua molécula. Seu efeito principal é sobre ovos e larvas de ácaros. Os ensaios toxicológicos demonstraram ausência de ação cancerígena, além de baixa toxicidade. É um acaricida de contacto não sistêmico (2, 4), bem tolerado pelas plantas, que não apresenta efeito sobre as abelhas, apesar de muito potente contra ácaros predadores.

O presente trabalho teve por objetivo a adaptação, otimização e aplicação de um método analítico para quantificação de resíduo de propargito em amostras aquosas.

Analisar resíduo de pesticidas em amostras de alimentos é na realidade uma análise de traços, sendo enorme problema o isolamento de micro quantidades de produto de macro quantidades de amostra. Os métodos utilizados envolvem muitas etapas, ou seja, extração com solvente apropriado, partições, limpeza em coluna de "clean up", eluição do pesticida e leitura.

A cromatografia em fase gasosa é um dos métodos mais eficientes na detecção de micro quantidades de substâncias orgânicas. Técnica a cada dia aprimorada com o aparecimento de novos detectores e fases para a confecção das colunas cromatográficas que, acopladas a sistemas de processamento de dados, possibilitam estimar com segurança e exatidão os valores residuais de pesticidas em produtos destinados ao consumo humano e animal.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL

- Propargito.
- Culturas: maçã (variedade Gala); morango (variedade Campineira); tomate (variedade Santa Cruz).
- Acetona G.P. a 4%.

10 Pesticidas R.éc.Cient., Curitiba, v. 2, n. 2, 1992

- Florisil ativado - 60/80 mesh (Merck).

- Hexano G.P.
- Lã de vidro tratada.
- Isopropanol G.P.
- Nitrometano G.P.
- Papel de filtro faixa preta.
- Papel de filtro Whatman nº 01.
- Solução de cloreto de sódio a 3%.
- Sulfato de sódio anidro G.P.
- Tiosulfato de sódio G.P.
- Tolueno G.P.
- Fases estacionárias: SE 30; DC 200; OV 101; OV 17; QF 1; Carbowax 20M.
- Suporte sólido - Chromosorb WHP:
- Agitador mecânico (Stolmann).
- Balança analítica (Mettler).
- Balança digital (Mettler).
- Bomba de vácuo (Unimed).
- Cromatógrafo a gás (CG - modelo 3737).
- Controlador de voltagem (Prodicil).
- Integrador processador (CG - modelo 100).
- Liquidificador com copo de alumínio (Britânia - modelo 51).
- Moimho tipo marconi (Tecnal - modelo TE 090).
- Registrador (CG).
- Rotavapor (Büchi - modelo RE).
- Ar sintético - super seco.
- Nitrogênio - ultra-puro.
- Hidrogênio - alta pureza.

2.2 MÉTODOS

2.2.1 Preparo das amostras

As amostras foram recebidas devidamente acondicionadas em caixas de isopor, refrigeradas com gelo seco, embaladas em saco de polietileno etiquetadas.

Após o recebimento, foram estocadas em "freezer" a temperatura de -20°C, até o momento de sua trituração. Após finamente trituradas, em liquidificador, foram embaladas em sa-

Pesticidas R.éc.Cient., Curitiba, v. 2, n. 2, 1992

cos de polietileno, etiquetadas e estocadas novamente em "freezer" a -20°C, onde aguardaram o momento de serem analisadas.

2.2.2 Método de análise

O procedimento analítico foi baseado no método desenvolvido por DEVINE - SISKEN (3), o qual foi otimizado, testando-se em laboratório colunas cromatográficas diferentes, solvente de menor toxicidade, proporção e volume do solvente de eluição, tempo de extração, comparação entre os métodos de extração por maceração e extração superficial. A avaliação dos resultados cromatográficos foi feita pelo método de padronização externa.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 MÉTODO ANALÍTICO OTIMIZADO

3.1.1 Princípio do método

O método para análise residual de propargito, desenvolvido neste trabalho, teve como base o método de DEVINE - SISKEN (3) modificado, que estabelece procedimento para amostras aquosas. Requer uma trituração prévia da amostra e posterior extração com o solvente adequado, seguida de limpeza em coluna de vidro com recheio específico para amostras consideradas com alto teor de água. Segue-se a concentração do eluato e leitura através de cromatografia com gás, utilizando cromatógrafo equipado com detector fotométrico de chama e filtro específico para enxofre (394 nm).

3.1.2 Extração

Cem gramas de amostra, previamente triturados foram transferidos para garrafa de extração de 1000 ml, adicionando-se 200 ml de hexano - isopropanol (1:1). Agitou-se em velocidade de 80 rpm durante 40 minutos. Filtrou-se o material em Büchner, usando papel de filtro faixa preta como camada filtrante. Transferiu-se para funil de separação de 2000 ml, lavou-se cuidadosamente o filtro e o quitazato com 100 ml de hexano-isopropanol (1:1).

propanol (1:1). Os extratos foram lavados com duas porções de 500 ml de solução de cloreto de sódio a 3%. Agitou-se durante 1 minuto, um cada lavagem. Deixou-se as fases separarem-se nitidamente e descartou-se a fase aquosa. Passou-se o extrato remanescente no funil de separação, por um funil comum contendo 30 g de sulfato de sódio anidro. Lavou-se o funil de separação com 20 ml de hexano por três vezes. Passou-se os extratos de lavagem por 30 g de sulfato de sódio anidro, lavou-se o sulfato de sódio anidro com hexano e juntou-se o filtrado aos demais anteriormente obtidos. Evaporou-se o extrato até 15 ml em evaporador rotatório a vácuo com temperatura de banho não ultrapassando 40°C.

3.1.3 Limpeza

Tomou-se uma coluna de vidro de 60 cm de comprimento e 13 mm de diâmetro interno, colocou-se um plug de lã de vidro, previamente lavada com hexano e seca a 110°C por 2 horas. Sobre o plug, verteu-se 50 ml de tolueno. Empacotou-se a coluna com 12 g de florissil ativado a 130°C por 12 horas (dando-se pequenas batidas na coluna com uma espátula para melhor distribuição do recheio). Escorreu-se o tolueno até o nível do florissil, mantendo-o sempre molhado com tolueno. Verteu-se o extrato concentrado no topo da coluna, com o auxílio de um pequeno funil. Lavou-se o balão que continha o extrato por duas vezes com 20 ml de tolueno e verteu-se na coluna. Adicionou-se mais 100 ml de tolueno e descartou-se lentamente. O tolueno eluiu as impurezas que ainda se mantinham na coluna. Eluiu-se o propargito retido na coluna com 140 ml da mistura acetona 4% em hexano. Essa eluição foi bem lenta para que todo o produto pudesse ser carregado com a mistura de solventes. Evaporou-se o eluato sob corrente de ar até um volume aproximado de 5 ml. Transferiu-se quantitativamente para um balão volumétrico de 10 ml e completou-se o volume com hexano.

3.1.4 Escolha da coluna cromatográfica

Foram testadas cinco colunas cromatográficas com fases estacionárias diferentes, porém com idênticas características:

1,80 m de comprimento e 4 mm de diâmetro interno, fluxo do gás de arraste (nitrogênio) 100 ml/min, suporte sólido cromosorb WHP e quantidade de padrão injetado 50 µg/ml. A Tabela 1 ilustra os resultados obtidos.

TABELA 1 - COLUNAS CROMATOGRAFICAS E CONDIÇÕES USADAS PARA DETERMINAÇÃO DO PROPARGITO

PARÂMETROS	COLUMA 1 SE-30 a 4% + OF-1 a 6%	COLUMA 2 DC-200 a 4,8% + Carbowax 20M a 0,1%	COLUMA 3 OV-17 a 1,5% + OF-1 a 1,95%	COLUMA 4 OV-101 a 3%	COLUMA 5 SE-30 a 2%
Temperatura da coluna	174°C	186°C	190°C	190°C	195°C
Temperatura do detector	211°C	218°C	210°C	216°C	225°C
Temperatura vaporizador	215°C	210°C	200°C	208°C	216°C
Tempo retenção aproximado	3 min	4 min	7 min	4,5/5,0 min	4,5 min
Nº de pratos teóricos	36	164	264	251	55

As colunas de baixa e média polaridade apresentaram picos nítidos, afilados e sem cauda. A resolução das colunas 1 e 5 analisada a partir do cálculo do número de pratos teóricos apresentou valores muito baixos, colunas estas recomendadas no trabalho de ZWIG (9). A coluna 2 foi a que apresentou maior resolução, sendo esta e a coluna 3 indicadas por DEVINE & SISKEN (3) e ZWIG (9). A coluna 4 foi testada por assemblar-se em polaridade à DC-200, recomendada por vários autores (3, 8, 9). Com base nestes resultados, foram escolhidas para o presente trabalho as colunas 2, 3 e 4.

Nas colunas escolhidas, 2, 3 e 4, a sensibilidade do método foi de 0,1 ppm. A quantidade mínima de propargito detectável esteve em torno de 0,01 ppm, considerada como o sinal gráfico maior que o dobro do ruído do aparelho.

3.1.5 Substituição de benzeno por tolueno

SMILO (7) propõe a substituição de benzeno por tolueno na preparação da coluna de florisil, devido à grande toxicidade do benzeno.

No teste, foram utilizadas três amostras de tomate, as quais foram feitas em duplicata e contaminadas com 1,5; 1,0 e 0,5 ppm de padrão de propargito com pureza de 99%. Os resultados obtidos estão demonstrados na Tabela 2. Para a quantificação das amostras, utilizou-se uma coluna DC-200 a 4,8% + Carbowax 20M a 0,1% em cromosorb WHP, com as seguintes condições de temperatura: Tc = 186°C; Td = 218°C; Tv = 210°C. O gás de arraste utilizado foi o nitrogênio à vazão de 100 ml/min.

TABELA 2 - RECUPERAÇÕES OBTIDAS EM TOMATE COM SUBSTITUIÇÃO DE BENZENO POR TOLUENO

AMOSTRAS	CONCENTRAÇÃO ANTES DA COLUMA ppm	CONCENTRAÇÃO APÓS A COLUMA ppm	RECUPERAÇÃO %
1A	1,5	0,99	66
1B	1,5	1,02	68
2A	1,0	0,70	70
2B	1,0	0,71	71
3A	0,5	0,32	64
3B	0,5	0,37	74

FAIXA DE RECUPERAÇÃO: 64 a 74%

As recuperações obtidas nas amostras de tomate contaminadas, apresentaram valores compatíveis com os obtidos por SMILO (7) em suas análises, que foram quantificadas através de método radioativo utilizando ¹⁴C. Na apresentação do método o autor sugere o teste utilizando como método quantitativo a cromatografia com gás. Considerou-se possível a troca de solvente, ainda que com recuperações regulares; as quais foram sensivelmente melhoradas posteriormente quando modificou-se dois pa-

râmetros: polaridade e volume do solvente de eluição.

3.1.6 Proporção e volume do solvente de eluição

Modificou-se a polaridade e a quantidade da mistura de solventes de eluição do propargito na coluna de limpeza, para melhorar os índices de recuperação obtidos quando da substituição do benzeno por tolueno.

Utilizou-se amostras de tomate contaminadas com 0,5 e 1,0 ppm de padrão de propargito com pureza de 99%. Foram usadas a mesma coluna e as mesmas condições cromatográficas do teste anterior. Os resultados obtidos estão expostos na Tabela 3.

TABELA 3 - MUDANÇA DE POLARIDADE DO SOLVENTE DE ELUIÇÃO DO PROPARGITO

AMOSTRAS	ACEONA %	QUANTIDADE ADICIONADA ppm	QUANTIDADE RECUPERADA ppm	RECUPERAÇÃO %	FAIXA DE RECUPERAÇÃO %
A1	3,0	0,5	0,29	58	
A2	3,0	0,5	0,31	62	
A3	3,0	1,0	0,70	70	58-70
A4	3,0	1,0	0,68	68	
B1	3,5	0,5	0,35	70	
B2	3,5	0,5	0,31	62	
B3	3,5	1,0	0,68	68	62-72
B4	3,5	1,0	0,72	72	
C1	4,0	0,5	0,47	94	
C2	4,0	0,5	0,49	98	
C3	4,0	1,0	0,93	93	93-98
C4	4,0	1,0	0,95	95	
D1	4,5	0,5	0,49	98	
D2	4,5	0,5	0,51	102	
D3	4,5	1,0	1,0	100	88-102
D4	4,5	1,0	0,88	88	
E1	5,0	0,5	0,45	90	
E2	5,0	0,5	0,46	92	
E3	5,0	1,0	0,80	80	80-99
E4	5,0	1,0	0,99	99	

Os resultados evidenciaram que a partir da concentração de 4,0% de acetona em hexano, as faixas de recuperação sofreram acentuado acréscimo, permanecendo com ótimos índices de recuperação. Porém, a partir de concentrações de 4,5% de acetona verificou-se o aparecimento de outra substância que, devido a polaridade são carregadas com o solvente e apareceram na forma de mais um pico no cromatograma. Assim sendo, estipulou-se como concentração ideal de acetona 4,0% em hexano, que proporciona ótima recuperação, aliada a obtenção de um cromatograma mais limpo.

Obteve-se melhores recuperações aumentando para 140 ml o volume do solvente de eluição do propargito da coluna de limpeza, do que os 130 ml sugeridos pelo método proposto por DEVINE & SISKEN (3). Com volumes maiores não houve diferença significativa nos índices de recuperação. Portanto, adotou-se como ótimo a ser usado um volume de 140 ml da mistura dos solventes: acetona a 4% em hexano (Tabela 4).

TABELA 4 - VOLUME DE ELUIÇÃO DO PROPARGITO DA COLUNA DE LIMPEZA

AMOSTRAS	VOLUME ml	QUANTIDADE ADICIONADA ppm	QUANTIDADE RECUPERADA ppm	RECUPERAÇÃO %
A1	130	0,5	0,44	88
A2	130	0,5	0,32	80
A3	130	0,5	0,45	90
B1	140	0,5	0,49	98
B2	140	0,5	0,51	102
B3	140	0,5	0,49	98
C1	150	0,5	0,49	98
C2	150	0,5	0,50	100
C3	150	0,5	0,48	96

3.1.7 Tempo de extração

Usou-se para a extração do ingrediente ativo um extrator tipo Stollmann com controle de velocidade de rotação. O agitador comporta seis garrafas de vidro pirex com capacidade de um litro.

As amostras de maçã contaminadas com 1,0 ppm de padrão de propargito a 99% de pureza foram extraídas em seis períodos de tempo diferentes: 10, 20, 30, 40, 50 e 60 minutos.

Para a quantificação, usou-se uma coluna DC 200 a 4,8% + Carbowax 20M 0,1% em Chromosorb WHP, com temperaturas de operação de: Tc = 186°C; Td = 218°C; Tv = 210°C. O gás de arraste utilizado foi o nitrogênio à vazão de 100 ml/min. Os resultados estão demonstrados na Tabela 5.

TABELA 5 - TEMPO DE EXTRAÇÃO PARA AMOSTRAS DE MAÇÃ

AMOSTRAS	TEMPO min	QUANTIDADE ADICIONADA ppm	QUANTIDADE EXTRAÍDA ppm	RECUPERAÇÃO %	RECUPERAÇÃO MÉDIA %
A	10	1,0	0,58 0,57	58 57	57,5
B	20	1,0	0,75 0,78	75 78	76,5
C	30	1,0	0,87 0,99	87 99	93
D	40	1,0	0,98 0,95	98 95	96,5
E	50	1,0	0,98 0,93	98 93	95,5
F	60	1,0	0,83 0,95	83 95	89

Com base nos resultados obtidos, estimou-se como tempo ideal de extração, nas condições pré-fixadas, 40 minutos.

3.1.8 Comparação entre os métodos de extração por maceração e extração superficial

É sabido que o propargito não é um acaricida sistêmico,

portanto não deve penetrar no interior da planta. Porém, segundo estudos feitos por DEVINE & SISKEN (3) essa possibilidade existe. Efetuou-se a comparação entre a extração superficial proposta no método de LANE (5) e a extração por maceração proposta nos trabalhos de DEVINE & SISKEN (3).

Tomou-se duas amostras de maçã que apresentaram índices residuais bem elevados, as quais foram analisadas em duplicata. Na extração superficial, as frutas foram manualmente cortadas em quatro partes, enquanto que na extração por maceração, as frutas foram trituradas em liquidificador. No tratamento dos frutos usou-se o produto comercial, na forma de concentrado emulsionável, com 720 g/l do princípio ativo (Omite 720 BR). Na amostra A, tratada com 72 g/100 l de Omite, os frutos foram colhidos 7 dias após a aplicação, na amostra B, tratada com 144 g/100 l de princípio ativo, os frutos foram colhidos 21 dias após a aplicação. A quantificação dos resíduos foi feita com uma coluna contendo DC-200 a 4,8% + Carbowax 20M a 0,1% com suporte sólido de Chromosorb e temperatura de: Tc = 186°C; Td = 218°C; Tv = 210°C. O nitrogênio foi usado como fase móvel. A Tabela 6 apresenta os resultados obtidos com os dois tipos de extração.

TABELA 6 - COMPARAÇÃO ENTRE OS DOIS TIPOS DE EXTRAÇÃO

AMOSTRAS	QUANTIDADE ING.ATIVO g/100 l	INTERVALO DE COLHEITA dias	EXTRAÇÃO SUPERFICIAL ppm	EXTRAÇÃO POR MACERAÇÃO ppm	DIFERENÇA %
A	72	7	3,72 3,37	4,41 4,20	15,64 19,76
B	144	21	2,90 3,01	3,65 3,80	20,54 20,79

Com o método de extração por maceração obteve-se valores em média 19,18% mais altos que os obtidos por extração superficial, podendo-se dizer que aproximadamente 19% do princípio ativo aplicado penetra no fruto, se não até o centro, pelo

menos além da casca. Por esse motivo, nas amostras trituradas, o solvente de extração tem a possibilidade de um contato maior com a fruta, permitindo uma extração mais eficiente, obtendo-se teores mais altos de resíduo no resultado final.

4 CONCLUSÃO

As colunas cromatográficas que continham, como fase estacionária, SE-30 a 4% + QF-1 a 6%, apresentaram boa resolução para o propargito. As que continham como fase estacionária DC-200 a 4,8% + Carbowax 20M a 0,1%; OV-17 a 1,5% + QF-1 a 1,95% e OV-101 a 3%, além de boa resolução apresentaram também maior eficiência.

A troca do solvente, benzona por tolueno, no empacotamento da coluna de limpeza, demonstrou-se viável.

A proporção do solvente de eluição do propargito da coluna de limpeza apresentou um valor ideal de 4% de acetona em hexano.

O volume ideal do solvente de eluição do propargito (4% de acetona em hexano), da coluna de limpeza, foi estimado em 140 ml como valor ideal.

Utilizando-se um extrator do tipo Stollmann verificou-se que o tempo ideal de extração é de 40 minutos.

Na comparação entre os dois tipos de extração recomendadas, o método de extração por maceração apresentou resultados 19% mais altos na recuperação do propargito, que o por extração superficial, evidenciando que apesar do propargito não ser um acaricida sistêmico, há penetração do ingrediente ativo além da casca.

Abstract

The method to quantify residues of Propargite in apple, strawberry and tomato (that were characterized as aqueous samples) was adapted and optimized. The studied method requests the lecture of results by gas chromatography. It supplies analytical requirements for residues of Propargite, a well used acaricide in Brazil. The approved tolerance for the product can be evaluated to another cultures and adapted to brazilian climate conditions.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 BAKER, E.W., WHARTON, G.W. An introduction to acarology. 2. ed. New York : McMillan, 1962, 1962. p. 321-460.
- 2 BARBERÁ, C. Pesticidas agrícolas. 2. ed. Barcelona : Omega, 1974. p. 369-88.
- 3 DEVINE, J.M., SISKEN, H.R. Use of the flame photometric detector for determining residues of Omite [2-(p-tert-butyl-phenoxy) cyclohexyl propargyl sulfite] in various crops. Agricultural and Food Chemistry, v. 20, n. 1, p. 59-61, Jan./Feb.1972.
- 4 EWING, G.W. Métodos instrumentais de análise química. São Paulo : E. Blücher, 1972. v. 2.
- 5 LANE, J.R. Adaptation of the Omite(R) residue method for the analysis of fruits. São Paulo : Naugatuck/Uniroyal, 1969. 3 f.
- 6 MARICONTI, F.A.M. Inseticidas e seu emprego no combate as pragas. 2. ed. São Paulo : Ceres, 1963. p. 215-240.
- 7 SMILLO, A.R. Modification of the Omite(R) residue method for various crops: substitution of toluene for benzene. São Paulo : Uniroyal, 1977. 5 f. Datilografado.
- 8 VERSINO, B., VENNE, M.T., VISSERS, H. Comparison of some clean up columns for residue analysis of chlorinated and phosphorus - containing pesticides. J. AOAC, v. 54, n. 1, p. 147-149, Jan.1971.
- 9 ZWEIF, Gunter, SHEMA, J. Analytical methods for pesticides and plant growth regulators: gas chromatographic analysis. London : Academic Press, 1972. v. 7.