

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 gaseosa. Supre necessidades analíticas para resíduo do 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, apresentar 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 consti-
tuição similar ao Aramite, que parecia não apresentar os mes-
mos riscos carcinogênicos, atuando principalmente sobre ovos e
larvas primárias, porém sem o efeito de profundidade do Arami-
te. O Smit entrou em desuso com o aparecimento do Omite, pro-
duto de constituição parecida aos anteriores, porém não pos-
suindo cloro em sua molécula. Seu efeito principal é sobre o-
vos 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, oti-
mização e aplicação de um método analítico para quantificação
de resíduo de propargito em amostras aquosas.

Analizar 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 quantida-
des 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 chromatografia em fase gassosa 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 resíduais 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%.

- Florisil ativado - 60/80 mesh (Merck).
 - Hexano G.P.
 - Lâ 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.
 - Tiossulfato de sódio G.P.
 - Tolueno G.P.
 - Fases estacionárias: SE 30; DC 200; OV 101; OV 17; QF 1; carbono 20M.
 - Suporte sólido - Chromosorb WHP;
 - Agitador mecânico (Stolmann).
 - Balança analítica (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).
 - Moinho tipo marconi (Techal - 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 finalmente trituradas, em liquidificador, foram embaladas em sa-

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漏il de separação de 2000 ml, lavou-se cuidadosamente o filtro e o quitazato com 100 ml de hexano-isopropanol (1:1).

Foram extraídos 500 ml de solução de cloreto de sódio a 3%. Agitou-se durante 1 minuto, um cada lavagem. Deixou-se as fases separarem-se individualmente e descartou-se a fase aquosa. Passou-se o extrato remanescente no漏il de separação, por um漏il comum contendo 30 g de sulfato de sódio anidro. Lavou-se o漏il 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 de mais 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 florisil 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 florisil, mantendo-o sempre molhado com tolueno. Verteu-se o extrato concentrado no topo da coluna, com o auxílio de um pequeno漏il. Lavou-se o漏il 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 carreado com a mistura de solventes. Evaprou-se o eluato sob corrente de ar até um volume aproximado de 5 ml. Transferiu-se quantitativamente para um漏il 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: Pesticidas R.íec.ient., Curitiba, v. 2, n. 2, 1992

1,80 m de comprimento e 4 mm de diâmetro interno, fluxo do gás de arraste (nitrogênio) 100 ml/min, suporte sólido chromosorb 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	COLUNA 1 SE-30 a 4% + 0F-1 a 6%	COLUNA 2 DC-200 a 4,8% + Carbowax 20M a 0,1%	COLUNA 3 OV-17 a 1,5% + 0F-1 a 1,95%	COLUNA 4 OV-101 a 2%	COLUNA 5 SE-30 a
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 ZWEIG (9). A coluna 2 foi a que apresentou maior resolução, sendo esta e a coluna 3 indicadas por DEVINE & SISKEN (3) e ZWEIG (9). A coluna 4 foi testada por assemelhar-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 duplicita 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 chromosorb WHP, com as seguintes condições de temperatura: $T_c = 186^\circ\text{C}$; $T_d = 218^\circ\text{C}$; $T_v = 210^\circ\text{C}$. 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 COLUNA ppm	CONCENTRAÇÃO APÓS A COLUNA 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 ^{14}C . 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 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	ACETONA %	QUANTIDADE ADICIONADA ppm	QUANTIDADE RECUPERADA ppm	RECUPERAÇÃO %	FAIXA DE RECUPERAÇÃO DO	
					58	70
A1	3,0	0,5	0,29	58		
A2	3,0	0,5	0,31	62		
A3	3,0	1,0	0,70	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		
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		
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		

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

AMOSTRAS	VOLUME ml	QUANTIDADE ADICIONADA ppm	QUANTIDADE RECUPERADA ppm	RECUPERAÇÃO %	TABELA 4 - VOLUME DE ELUIÇÃO DO PROPARGITO DA COLUNA DE LIMPEZA	
					A1	A2
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		

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 carreadas 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 DE VINE & 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).

3.1.7 Tempo de extração

Usou-se para a extração do ingrediente ativo um extrator tipo Stolmann 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: $T_c = 186^\circ\text{C}$; $T_d = 218^\circ\text{C}$; $T_v = 210^\circ\text{C}$. 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	58	57,5
			0,57	57	
B	20	1,0	0,75	75	76,5
			0,78	78	
C	30	1,0	0,87	87	
			0,99	99	
D	40	1,0	0,98	98	
			0,95	95	
E	50	1,0	0,98	98	
			0,93	93	
F	60	1,0	0,83	83	
			0,95	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. 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: $T_c = 186^\circ\text{C}$; $T_d = 218^\circ\text{C}$; $T_v = 210^\circ\text{C}$. 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 COLETTA dias	EXTRAÇÃO SUPERFICIAL ppm	EXTRAÇÃO POR MACERAÇÃO ppm	DIFERENÇA %
A	72	7	3,72	4,41	15,64
B	144	21	2,90	3,65	20,54

			3,01	3,80	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, benzeno 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 Stolmann 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 MARICONT, F.A.M. Inseticidas e seu emprego no combate as pragas. 2. ed. São Paulo : Ceres, 1963. p. 215-240.

- 7 SMILIO, A.R. Modification of the Omite(R) residue method for various crops: substitution of toluene for benzene. São Paulo : Uniroyal, 1977. 5 f. Datilografia.
- 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 ZWEIG, Gunter, SHEMA, J. Analytical methods for pesticides and plant growth regulators: gas chromatographic analysis. London : Academic Press, 1972. v. 7.