

DETERMINAÇÃO DE PACLOBUTRAZOL EM MANGA POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

DENISE PEDROSA¹; LUCIANA C. S. RIBEIRO²; MARIA A. ROSA³, VERA L. FERRACINI⁴; SONIA C. N. QUEIROZ⁵

Resumo

Este trabalho descreve um método para determinação de paclobutrazol em amostras de manga. A extração foi feita em metanol e as análises por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), usando coluna de fase-reversa, C-18, fase móvel metanol/água 60:40, v/v, detecção e quantificação a 220 nm. Os seguintes parâmetros de validação foram obtidos: limite de detecção do método de 0,025 mg kg⁻¹, limite de quantificação do método de 0,050 mg kg⁻¹, linearidade de 0,100–5,00 mg L⁻¹ ($r^2 \geq 0,9994$); recuperação de 82 a 92%, precisão intermediária (%RSD) < 12%, para paclobutrazol. O método mostrou ser simples, eficiente e confiável para a determinação de resíduos de paclobutrazol em amostras de manga.

Abstract

DETERMINATION OF PACLOBUTRAZOL IN MANGO BY HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

This work presents a method for determination of the pesticide paclobutrazol in mango. The extraction was made with methanol and the analyses by high performance liquid chromatography (HPLC), using reversed-phase column, C-18, mobile phase methanol/water 60:40, v/v, detection and quantification at 220 nm. The following validation parameters were obtained: limit of detection of method 0.025, limit of quantification of method 0.050; linearity from 0.10 to 5.00 mg L⁻¹ ($r^2 \geq 0.999$); recoveries from 82 to 92%; intermediary precision (%RSD) < 13%, for paclobutrazol. The method showed efficient and reliable for determination of the pesticide in mango.

Keywords: Pesticide; High Performance Liquid Chromatography; Mango

1. Bolsista CNPq: Graduação em Ciências Biológicas, PUC, Campinas-SP, ✉ denise-pedrosa@hotmail.com
2. Bolsista CNPq: Graduação em Ciências Biológicas, Uniararas, Araras-SP, lucianaerasmo.ribeiro@ig.com.br
3. Colaborador: Analista, Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP
4. Orientador: Pesquisador, Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP
5. Colaborador: Pesquisador, Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP

Introdução

Paclobutrazol ou [(2RS, 3RS) – (4 clorofenil)-4,4-dimetil- 2-(1H, 1,2,4-triazo-1-yl) pentan-3-ol] - Cultar® (Figura 1) é um regulador de crescimento usado com o propósito de controlar o crescimento vegetativo das plantas. Esse composto, através da síntese da giberelina, restringe o crescimento da planta e possibilita uma melhor manipulação do manejo da cultura. É bastante utilizado na região nordeste do Brasil e sua dosagem varia com a cultivar, porte e estado nutricional da planta e principalmente com as condições climáticas. É absorvido passivamente através das raízes, caule e folhas e se move pelo xilema para as folhas e brotos. Após 90 dias da aplicação do produto, as plantas começam a apresentar ramos sem brotação, folhagem verde-escura e floração espontânea. Sua mobilidade no solo é relativamente baixa (Heling Class 1-2), reduzindo o perigo de contaminação pela lixiviação.

Sharma & Awasthi (2005) verificaram a presença de resíduos de paclobutrazol em frutos de manga “**Alphonso mango**” de árvores tratadas com 20 e 40 mL de Cultar® 25 SC (Paclobutrazol 25% w/v), aplicados ao redor das plantas (30 cm largura e 30 cm de profundidade). Foram analisados frutos no início da formação, frutos já formados e frutos em ponto de colheita. Os valores encontrados foram de 0,011e 0,089 ug.g⁻¹ para 5g e 10g, respectivamente, para frutos no início de formação. Houve redução desses valores nos frutos formados e frutos já prontos para a colheita. Após dois anos de aplicação, os resíduos de paclobutrazol em frutos no início de formação aumentaram para valores de 0,054 e 0,160 ug.g⁻¹, respectivamente. Segundo Sharma & Awasthi (2005), embora, nos três anos de monitoramento, os resíduos de paclobutrazol estivessem presentes nos frutos no início de formação e nos já formados não foram detectados nos frutos a serem colhidos. O tratamento em mangueiras, com este regulador de crescimento, nas dosagens específicas, não resulta em resíduos acima dos limites permissíveis para nenhum dos estágios do fruto, até mesmo após três anos consecutivos de tratamento.

O presente trabalho descreve um método simples para a determinação de paclobutrazol em amostras de manga, baseado em extração com metanol seguido de análise por CLAE.

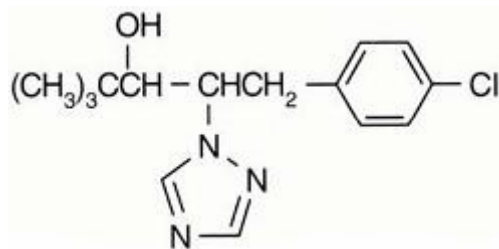


Figura 1. Estrutura do paclobutrazol

Materiais e Métodos

REAGENTES E SOLVENTES

O padrão utilizado foi paclobutrazol (98,0%), adquirido da Chem-service. Os solventes utilizados foram metanol PR, grau resíduo (99,9%) e metanol HPLC, grau cromatográfico, ambos da TEDIA.

PREPARO DAS SOLUÇÕES

A solução estoque do padrão foi preparada em metanol PR na concentração de 1000 mg l⁻¹. A partir desta, foram preparadas soluções por diluições sucessivas do padrão, também em metanol PR, utilizadas nas fortificações das amostras. Posteriormente, foi preparada uma solução na concentração de 100 mg L⁻¹ e a partir desta, foram obtidas as soluções intermediárias por em fase móvel (metanol HPLC: água Milliq 60:40, v/v). Estas soluções foram utilizadas na determinação da linearidade do detector e na obtenção das curvas analíticas.

EQUIPAMENTO

Foi utilizado um cromatógrafo líquido da Agilent, modelo 1100 Series; constituído de uma bomba quaternária, autoamostrador, desgaseificador, e um detector espectrofotométrico de absorção no UV/Vis, de comprimento de onda variável.

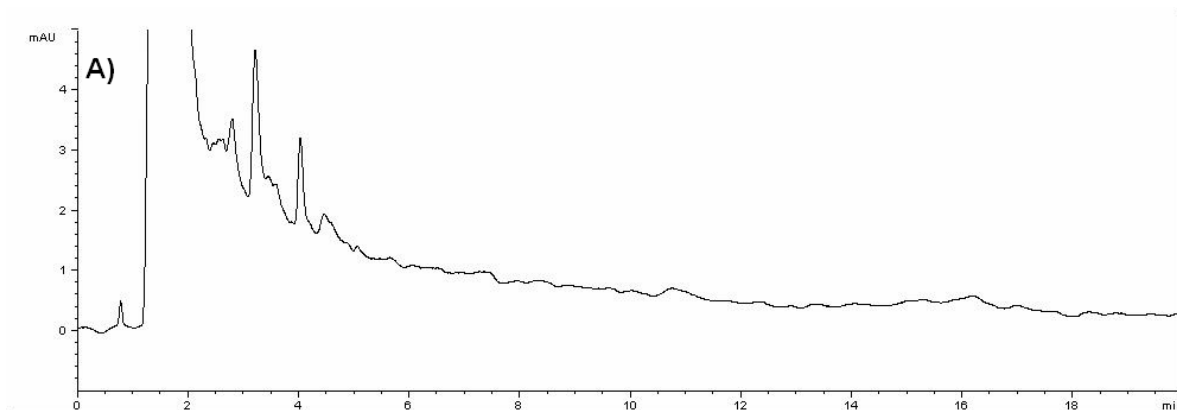
MÉTODO ANALÍTICO

A determinação de resíduos de paclobutrazol em manga foi baseado em extração com metanol e diclorometano, seguido de análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) Vinte gramas de amostra do fruto foram adicionados a 70 mL de metanol PR em cada amostra, deixada sob agitação por 60 min, utilizando uma incubadora refrigerada com agitador orbital Tecnal, modelo T-424, com temperatura controlada a 25°C e rotação de 160 rpm. Após o término, as amostras foram deixadas em repouso durante 30 min. A seguir o sobrenadante foi filtrado a vácuo (utilizando um sistema de filtração constituído de kitassato de 250 mL, funil de bücher e filtro de fibra de vidro de 70 mm de diâmetro, GF/C da Whatman, evitando que o extrato fosse despejado sobre o filtro). O processo foi repetido mais duas vezes consecutivas usando 35 mL de metanol PR, agitado por 30 min, sendo que a última filtração foi feita imediatamente após a agitação e o extrato totalmente transferido para o funil, lavando com pequenas quantidades de metanol PR. O filtrado foi transferido para um balão de 250 mL de fundo redondo e o kitassato lavado com pequenas quantidades de metanol PR. O solvente foi totalmente evaporado num rotaevaporador, a 35°C ± 2°C e

120 rpm. O resíduo foi transferido para um tubo de 10 ml lavando-se cuidadosamente as paredes do balão com 3 porções de 1 ml de metanol PR, em seguida o solvente foi totalmente seco sob ação de nitrogênio comercial. O resíduo foi finalmente ressuspendido com 2 ml de fase móvel e o tubo foi agitado vigorosamente. As amostras foram filtradas em filtro Millipore de 0,45 μm e transferidas para um frasco de injetor automático. As amostras foram injetadas no cromatógrafo líquido de alta eficiência. As condições cromatográficas para o CLAE foram coluna C-18 Synergi Fusion, 4 μm , 4,6 x 150 mm; eluição isocrática; fase móvel: metanol HPLC: água (60:40) v/v; vazão 1 mL min⁻¹, volume de injeção 20 μL ; detecção no UV a 220 nm. Para a validação do método foram utilizadas amostras testemunha fortificadas com o padrão do pesticida. Amostras não fortificadas foram analisadas como testemunhas.

Resultados e Discussão

A Figura 2 mostra os cromatogramas referentes às amostras testemunha e fortificada. A curva analítica do paclobutrazol mostrou ser linear na faixa de 0,100 – 5,00 mg L⁻¹ pois apresentou valores de coeficiente de determinação, $r^2 \geq 0,9994$. Os limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) obtidos foram 0,025 mg Kg⁻¹ e de LOQ foram 0,050 mg Kg⁻¹ para o paclobutrazol. Estes resultados indicam que o método é suficientemente sensível para detectar a presença do pesticida em níveis baixos de concentração. A exatidão do método foi determinada por meio da obtenção da % de recuperação média das amostras fortificadas, em 2 níveis (1x LOQ, 5x LOQ), em triplicatas. Os valores obtidos foram de 82 a 92% e se encontram dentro da faixa de 70-120%, que é a considerada aceitável (GARP, 2002). Os desvios padrão relativo para o paclobutrazol foi ≤ 12 . Estes valores indicam que o método está em consonância com a literatura, onde valores < 15% são considerados aceitáveis (GARP, 2002).



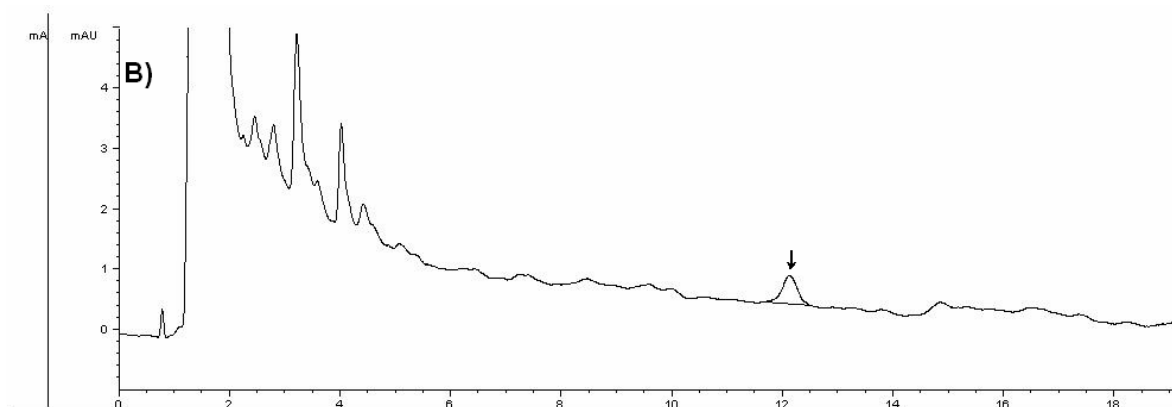


Figura 2 – Cromatogramas das amostras: A) Testemunha e B) Fortificada inicialmente em 0,020 mg Kg⁻¹ para Paclobutrazol

CONCLUSÃO

O método proposto mostrou, por meio dos parâmetros de validação, ser simples, eficiente e confiável para a determinação do resíduo do pesticida paclobutrazol em amostras de manga.

Referências Bibliográficas

1. GARP: **Crítérios Mínimos para a Condução de Estudos de Resíduos. Manual.** Garp: Associação Grupo de Analistas de Resíduos de Pesticidas, 2002, 117p.
2. Sharma, D.; Awasthi, M. D. **Uptake of soil applied paclobutrazol in mango (*Mangifera indica* L.) and its persistence in fruit and soil.** *Chemosphere*, v.60, p. 164, 2005.