

DETERMINAÇÃO DE PACLOBUTRAZOL EM SOLO POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

DENISE PEDROSA¹; VERA L. FERRACINI²; SONIA C. N. QUEIROZ³; MARIA A. ROSA⁴

Nº 0702003

Resumo

Este trabalho descreve um método para determinação de paclobutrazol em amostras de solo. 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 0,010 mg kg⁻¹, limite de quantificação do método de 0,020 mg kg⁻¹, linearidade de 0,100–5,00 mg L⁻¹ ($r^2 \geq 0,999$); recuperação de 70 a 99%, precisão intermediária (%RSD) < 13%, para paclobutrazol. O método mostrou ser simples, eficiente e confiável para a determinação de resíduos de paclobutrazol em amostras de solo.

Abstract

DETERMINATION OF PACLOBUTRAZOL IN SOIL BY HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY

This work presents a method for determination of the pesticide paclobutrazol in soil. 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 0.010, limit of quantification of method 0.020; linearity from 0.10 to 5.00 mg L⁻¹ ($r^2 \geq 0.999$); recoveries from 70 to 99%; intermediary precision (%RSD) < 13%, for paclobutrazol. The method showed efficient and reliable for determination of the pesticide in soil.

Keywords: Pesticide; High Performance Liquid Chromatography; Soil

1. Bolsista PIBIC CNPq: Graduação em Ciências Biológicas, PUC, Campinas-SP, ✉ denise-pedrosa@hotmail.com
2. Orientador: Pesquisador, Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP
3. Colaborador: Pesquisador, Embrapa Meio Ambiente, Jaguariúna-SP
4. Colaborador: Analista, 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. Sua aplicação pode ser feita diretamente no solo ou através de pulverizações dirigidas à folhagem. A aplicação no solo é mais eficiente e pode ser feita tanto na projeção da copa, como junto ao tronco, devendo-se irrigar logo após, já que a água é o veículo de condução do produto até as raízes. 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, reduzindo o perigo de contaminação pela lixiviação. É fortemente ligadas à matéria orgânica do solo e sua adsorção aumenta em pH baixo (Leonard, 1986).

Estudos conduzidos por Attyia et al. (1983) e Hampton (1988) demonstraram que este regulador de crescimento permanece ativo no solo por muitos anos e pode afetar severamente o crescimento e desenvolvimento dos cultivos subseqüentes pela redução do vigor vegetativo. Adriansen & Ogaard (1997), verificaram que, após uma hora da aplicação, os resíduos do paclobutrazol em solução nutriente eram 54 e 64% do valor inicial aplicado. Observaram que o conteúdo do produto aplicado na solução nutriente diminuía gradualmente sendo que, no florescimento 13 a 20% da quantidade aplicada ainda permanecia. Quantidades mínimas foram degradadas após uma semana e 23% após quatro semanas.

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 solo, baseado em extração com metanol seguido de análise por CLAE.

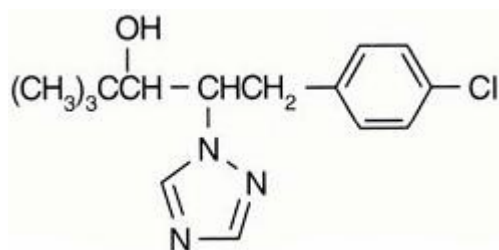


Figura 1. Estrutura do paclobutrazol

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.

MÉTODOS ANALÍTICOS

Vinte gramas de amostra de solo (Neossolo Quartzarênico) previamente seca a temperatura ambiente e peneirada com uma malha de granulometria de 2mm, foram pesadas em um erlenmeyer de 250 ml com tampa. Em seguida foram adicionados 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 solo 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 solo 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 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. As fortificações das amostras foram feitas aplicando uma certa quantidade do pesticida, com auxílio de uma micropipeta calibrada, espalhando sobre a amostra. As amostras fortificadas foram homogeneizadas e deixadas em repouso por 30 min para evaporação do solvente e agregação do pesticida no solo. 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, $r^2 \geq 0,999$. Os limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) foram calculados utilizando a razão sinal/ruído de 3 e 10 vezes, respectivamente. Os valores do método de LOD obtidos foram 0,010 mg kg⁻¹ e de LOQ foram 0,020 mg kg⁻¹ para o paclobutrazol, sendo que após a pré-concentração, corresponde a uma concentração final na solução de 0,200 mg l⁻¹. 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 70 a 99% e se encontram dentro da faixa de 70-120%, que é a considerada aceitável (GARP, 2002). Os desvios padrão relativo para o paclobutrazol foi < 13%. Estes valores indicam que o método está em consonância com a literatura, onde valores < 15% são considerados aceitáveis (GARP, 2002).

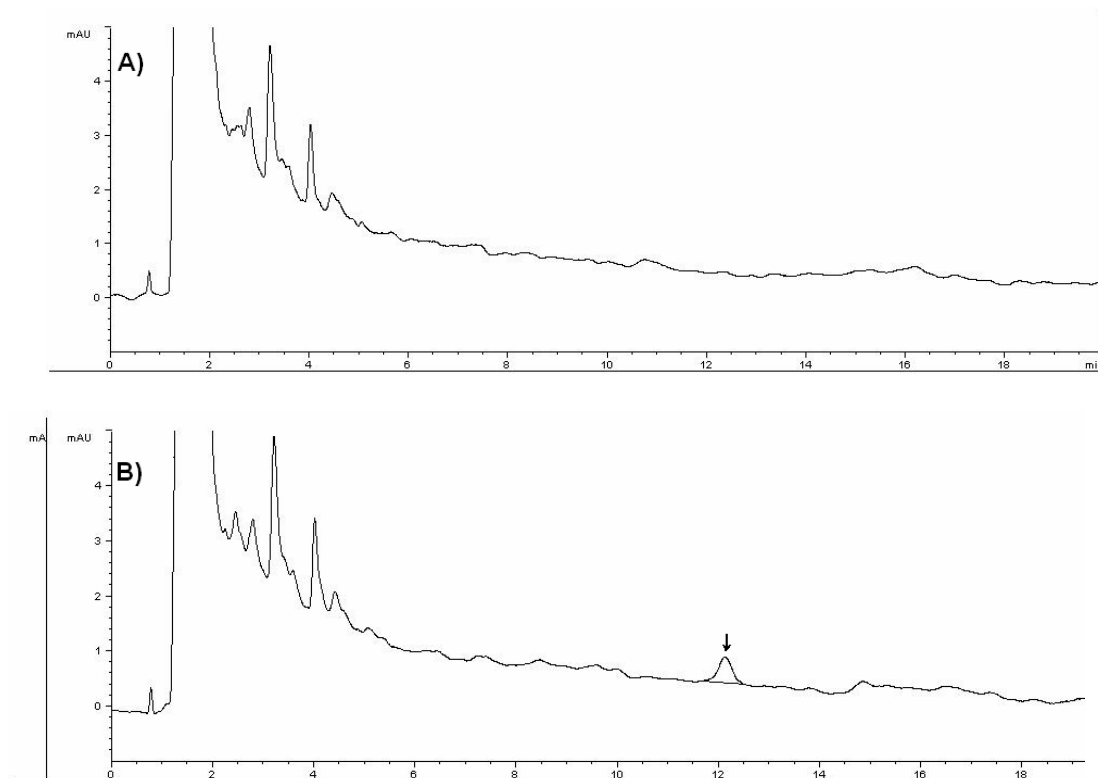


Figura 2 – Cromatogramas das amostras: A) Testemunha e B) Fortificada inicialmente em 0,020 mg Kg⁻¹ para Paclobutrazol

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 solo.

Referências Bibliográficas

1. GARP: **Critérios 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. 164-169, 2005.
3. LEONARD, W. F. **Cultar- a plant growth regulator for horticulture. New Zealand Agricultural Science**, v. 20, p. 195-202, 1986.
4. ADRIANSEN, E.; OGAARD, P. **Residues of paclobutrazol and uniconazole in nutrient solutions from ebb and flood irrigation of pot plants.** *Scientia Horticulturae*, v. 69, n.1-2, p. 73-83, 1997.
5. ATTIYA, H.J.; FIELD, R.J.; HILL, G.D. **Effects of PP333 and TIBA growth regulators on development and yield components of spring sown field beans (*Vicia faba* L.)** *Proceedings of the Agronomy Society of new Zealand*: 13, p. 81-87, 1983.
6. HAMPTON, J.G. **Effect of growth retardant soil residues on succeeding agricultural crops.** *New Zealand Journal of Experimental Agriculture*, v. 16, p. 167-172, 1988.