

UM PROCEDIMENTO RÁPIDO PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE HEPTACLORO, ALDRIN E MIREX EM AGUARDENTE DE CANA

Luciana POLEZE*
Maria Lúcia RIBEIRO*
Regina Célia de TOLEDO FRANCISCO**
Joaquim Teodoro de SOUZA CAMPOS***

RESUMO: *Um procedimento em pequena escala para determinação de heptacloro, aldrin e mirex em aguardente de cana-de-açúcar é descrito. A extração dos pesticidas é efetuada com n-hexano e o extrato é purificado em uma microcoluna empacotada com alumina e sílica gel. A eluição dos pesticidas é realizada com n-hexano, o eluato é concentrado e analisado por cromatografia gasosa. A eficiência do método proposto é demonstrada pelos valores médios de recuperação de 93% para heptacloro, 94% para aldrin e 101% para mirex, com desvio padrão inferior a 4,9, obtidos para amostras fortificadas in vitro.*

UNTERMOS: *Determinação de resíduos; pesticidas organoclorados; aguardente; cromatografia gasosa.*

INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar constitui uma das culturas economicamente mais importantes em diversos Estados brasileiros, principalmente na Região Nordeste do Estado de São Paulo.

Embora a maior parte da safra de cana seja utilizada na produção de açúcar e de álcool, uma parte considerável é destinada à fabricação de aguardente. Esta é a bebida alcoólica fermento-destilada típica do Brasil, com amplo consumo, principalmente pela população de menor poder aquisitivo¹.

Uma grande variedade de produtos químicos é aplicada nas plantações de cana-de-açúcar, como herbicidas pré e pós-emergentes, fungicidas e pesticidas organoclorados.

* Departamento de Química Orgânica — Instituto de Química — UNESP — 14800 — Araraquara — SP.
** Aluna de Iniciação Científica — Bolsista da FUNDAP — Instituto de Química — UNESP — 14800 — Araraquara — SP.

*** Departamento de Química Analítica — Instituto de Química — UNESP — 14800 — Araraquara — SP.

Entre as pragas que atacam a cultura de cana estão os cupins e as formigas. Resultados eficientes para o controle de cupins são obtidos pela aplicação de heptacloro no sulco de plantio², e o combate às formigas é realizado ao longo do ano pela aplicação de iscas de dodecacloro (mirex) no solo. A legislação brasileira de 1985³, que proibiu a comercialização e o uso de organoclorados destinados à agropecuária, ainda permite que aldrin e mirex sejam empregados como cupinícidas e iscas fornecidas.

Apesar da importância econômica da cultura de cana e do uso de pesticidas para controle de diversas pragas, são extremamente limitados os estudos sobre resíduos de pesticidas em derivados de cana. Especificamente em aguardente, não há registro na literatura sobre a identificação e/ou determinação de resíduos de pesticidas.

Existe, no entanto, uma preocupação com a presença de pesticidas em bebidas alcoólicas de grande consumo, como demonstram os estudos sobre resíduos de carbamatos em vinho, uísque e cherry^{4,6}, de organoclorados em vinho⁷, cerveja⁸ e em cidras⁹, de DDT e parathion em arak¹⁰ e de organofosforados em uísque¹¹.

Este trabalho relata um procedimento em pequena escala para a determinação, por cromatografia gasosa, de heptacloro, aldrin e mirex em aguardente. O estabelecimento dos parâmetros experimentais, envolvendo a extração dos pesticidas da matriz e a purificação dos extratos (*clean-up*) por cromatografia de adsorção, é descrito.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os padrões de pesticidas organoclorados foram fornecidos pela U.S. Environmental Protection Agency (EPA), Research Triangle Park, N.C., USA. Todos os solventes usados nos processos de extração e purificação dos extratos (n-hexano, p.a. e n-hexano, grau pesticida, Merck), na preparação de soluções padrão (acetona grau pesticida, Merck e iso-octano p.a., Fisher) e na limpeza do material (acetona p.a., Merck) e da lâmina de vidro foram previamente concentrados e testados por cromatografia gasosa. As impurezas presentes em n-hexano p.a. foram eliminadas por tratamento com solução aquosa de hidróxido de sódio 50% na proporção 3,5:1, por agitação em funil de separação. A fase orgânica foi lavada com água, seca com sulfato de sódio e submetida à destilação fracionada. Sulfato de sódio (p.a., Grupo Química) foi calcinado a 600°C durante vinte e quatro horas e mantido em estufa a 130°C. Alumina neutra (70-230 mesh, Merck, Art. 1.077) foi aquecida a 600°C, durante quatro horas e desativada a 4,6%. Sílica gel 60(70-230 mesh, Merck, Art. 7.734) foi lavada várias vezes com água, duas vezes com n-hexano, seca a 130°C durante vinte e quatro horas e desativada a 10%. Após desativação os adsorventes foram mantidos em repouso por vinte e quatro horas, ao abrigo da luz e da umidade, estando adequados para o uso por uma semana. A lâmina de vidro, utilizada como suporte para os adsorventes na microcoluna, foi lavada por decantação cinco vezes com acetona e seca em estufa. A seguir, foi enxaguada três vezes com n-hexano, seca novamente em estufa e armazenada em frasco âmbar.

Análises em branco, consistindo de todos os reagentes e materiais de vidro empregados durante o procedimento experimental, foram periodicamente realizadas para testar contaminação.

As amostras de aguardente foram obtidas em um pequeno alambique da cidade de Penápolis-SP, coletando-se diretamente em frascos de vidro âmbar, previamente lavados e testados por cromatografia gasosa. Estes frascos foram armazenados em freezer.

Os pesticidas organoclorados foram extraídos com 5 ml de n-hexano em um tubo de ensaio com tampa esmerilhada (capacidade, 15 ml) contendo 5,0 ml de aguardente. Este processo foi repetido duas vezes e em cada extração o tubo foi vigorosamente agitado por dois minutos. Os extratos orgânicos combinados foram filtrados por sulfato de sódio anidro e recolhidos em um tubo Kuderna Danish (capacidade, 25 ml). Este foi conectado a uma microcoluna de Snyder e o extrato foi concentrado em banho-maria a 80°C, até cerca de 1 ml e à secura sob suave corrente de nitrogênio. O volume exato de 1,0 ml foi retornado em iso-octano (extrato A) e 5 µl foram analisados por cromatografia gasosa.

O extrato foi quantitativamente transferido para uma coluna cromatográfica de vidro (diâmetro interno, 1 cm; altura, 35 cm com reservatório na extremidade superior e torneira de tellon), empacotada com 3,0 g de alumina desativada a 4,6%, 0,5 g de sílica gel desativada a 10% e 1 cm de sulfato de sódio. A eluição foi processada com 20 ml de n-hexano, sob velocidade de 60 gotas/minuto. O extrato obtido foi concentrado como indicado anteriormente e 5 µl foram analisados por cromatografia gasosa.

As análises de recuperação foram efetuadas pela fortificação das amostras *in vitro*, obedecendo a seguinte seqüência: 1,0 ml de solução padrão de pesticidas foi adicionado a 5,0 ml de aguardente contida em um tubo de ensaio com tampa esmerilhada. Este foi submetido à agitação vigorosa por dois minutos e mantido em repouso por duas horas, podendo então ser realizada a extração dos pesticidas, de acordo com procedimento descrito acima.

As análises cromatográficas foram efetuadas em um cromatógrafo a gás, modelo CG 35370, equipado com detector por captura de elétrons, fonte de níquel (⁶³Ni). Foi usada uma coluna de vidro (183 cm x 2 mm di.), empacotada com 5% QF-1 sobre Chromosorb WHP (100-120 mesh). As temperaturas de operação foram 190, 210 e 250°C para coluna, injetor e detector, respectivamente. Nitrogênio U (Oxigênio do Brasil) foi usado como gás de arraste, sob fluxo de 40 ml/minuto a 1 x 10⁻⁸A.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A determinação das condições experimentais do procedimento proposto foi efetuada analisando-se os cromatogramas obtidos em cada uma das etapas.

Numa primeira fase foi estudada a extração dos pesticidas da matriz, bem como o método de purificação dos extratos obtidos. A ausência de picos negativos nos cromatogramas e também de picos correspondentes aos tempos de retenção dos pesticidas examinados, significa que o processo de *clean-up* da matriz é eficiente. Foi possível, então, iniciar o estudo de recuperação, fortificando-se as amostras *in vitro* com solução padrão dos pesticidas heptacloro, aldrin e mirex em níveis de 0,85; 0,85 e 2,6 ppb, respectivamente. Nessa etapa, definiu-se a técnica usada para a fortificação e a viabilidade do procedimento por meio dos valores percentuais de recuperação.

Os valores apresentados na Tabela 1, recuperação entre 81 e 95% para heptacloro, 83 e 95% para aldrin e 94 e 111% para mirex, demonstram a possibilidade de um procedimento que compreende apenas a extração dos pesticidas com n-hexano, filtração por sulfato de sódio e concentração em microcoluna de Snyder. Os valores de desvio padrão inferiores a 4,7 confirmam a reprodutibilidade do método. Os cromatogramas obtidos apresentam picos devidos à presença de substâncias interferentes, com tempos de retenção diferentes dos pesticidas de interesse (Fig. 1a).

TABELA 1 — Nível de fortificação, porcentagem de recuperação e desvio padrão dos pesticidas organoclorados estudados (extração)

Pesticidas	Nível de Fortificação (ng/g)	Recuperação (%)		Desvio padrão
		Inter- valo	Média ^a	
Heptacloro	0,85	81-95	87	4,1
Aldrin	0,85	83-95	89	3,6
Mirex	2,6	94-111	101	4,7

a = correspondente a 9 análises

Dois sistemas de solventes foram testados para efetuar a extração dos pesticidas da aguardente: n-hexano e n-hexano-acetona (9:1-v/v). Foi verificado que a recuperação dos pesticidas é praticamente independente do solvente utilizado; assim, optou-se por n-hexano dada a simplicidade de se usar um único solvente.

A execução de uma purificação adicional do extrato hexânico acima obtido, empregando uma microcoluna empacotada com dois adsorventes, propicia a eliminação de interferentes em toda a faixa de tempo de retenção dos clorados, como exemplifica o cromatograma apresentado na Figura 1b. Recuperação superior a 85%, valores médios de 93, 94 e 101% para heptacloro, aldrin e mirex, respectivamente, e dados de desvio padrão inferiores a 4,9, discriminados na Tabela 2, comprovam a eficiência do procedimento. A obtenção de extratos isentos de substâncias interferentes, que são co-eluídas com os pesticidas, é importante porque as análises podem ser realizadas sem acarretar a contaminação da coluna e do detector.

Microcolunas empacotadas com alumina, sílica gel e alumina/sílica gel foram testadas. O extrato purificado com alumina forneceu cromatogramas que ainda apresentavam picos negativos. Cromatogramas totalmente isentos de picos negativos e de picos devido a substâncias interferentes foram obtidos empregando sílica gel ou alumina/sílica.

Optou-se pelo uso da coluna mista, porque já haviam sido estabelecidas anteriormente, neste laboratório¹², as condições adequadas para a recuperação de soluções padrão de pesticidas organoclorados, neste sistema de adsorventes.

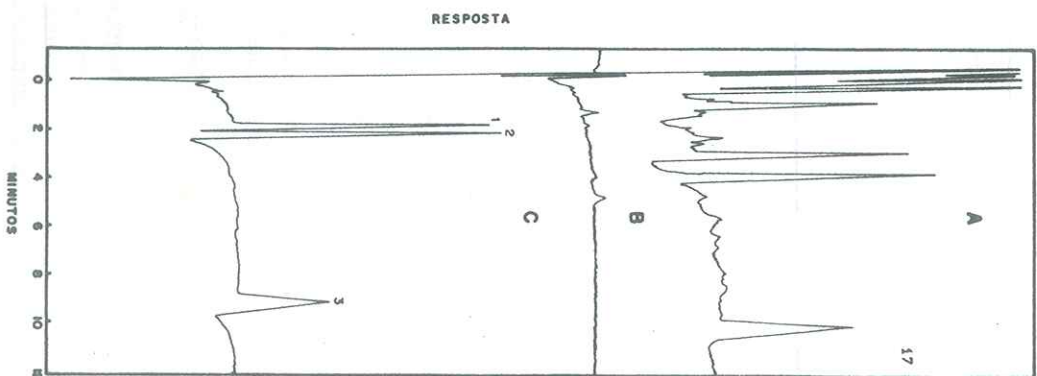


FIG. 1 — Cromatogramas: A, extrato de aguardente antes clean-up em microcoluna; B, extrato aguardente após clean-up em microcoluna; e C, solução padrão de heptacloro (20 pg/5 μ l), aldrin (20 pg/5 μ l) e mirex (60 pg/5 μ l).

TABELA 2 — Nível de fortificação, porcentagem de recuperação e desvio padrão dos pesticidas estudados (extração e *clean-up* em microcoluna)

Pesticidas	Nível de	Recuperação (%)		Desvio padrão
	Fortificação (ng/g)	Inter- valo	Média ^b	
Heptacloro	0,85	87-100	93	4,9
Aldrin	0,85	85-99	94	4,7
Mirex	2,6	99-102	101	1,1

^b = correspondente a 9 análises

Foi verificado, também, que a técnica empregada para fortificar as amostras *in vitro* tem marcante influência nos resultados de recuperação. Um método de fortificação descrito por GUPTA et al.¹³, quando aplicado às amostras de aguardente, forneceu baixos valores de recuperação para heptacloro (47%) e aldrin (63%). A modificação deste procedimento, através de adição da solução padrão à amostra, em substituição à adição da amostra ao resíduo obtido pela evaporação da solução padrão, forneceu valores de recuperação da ordem de 80% para heptacloro e de 90% para aldrin.

Foi examinado, ainda, o efeito do solvente empregado na preparação das soluções padrão dos pesticidas utilizados na fortificação. A substituição da acetona por isooctano produz uma diminuição nas porcentagens de recuperação dos pesticidas. Acetona foi selecionada devido à sua miscibilidade com a aguardente, de modo que os pesticidas são efetivamente incorporados à matriz, possibilitando que se reproduza em laboratório amostras semelhantes às amostras reais.

A busca de métodos mais simples — que demandam pequeno número de operações, e mais econômicos — que utilizam pequeno volume de solvente e pequena quantidade de reagentes — tem sido registrada na literatura, para as mais diferentes matrizes^{14,17}. Entre estes, o emprego de microcolunas de adsorção, empacotadas com um ou mais adsorventes^{14,18,20}, merecem destaque. Considerando que os princípios metodológicos, adotados pelos autores, são adequados à realidade brasileira, julgou-se apropriado aplicá-los na elaboração do método proposto, para monitoramento de organoclorados em aguardente.

Deve-se observar ainda que o interesse pelo desenvolvimento desta metodologia extrapola a sua aplicação às amostras de aguardente, pois é possível adaptá-la a outras bebidas fermento-destilladas.

AGRADECIMENTOS

À FUNDAP pela bolsa concedida.

Ao pós-graduando Alex Sandro Babelo pelo fornecimento das amostras de aguardente.

POLEZE, L. et al. A rapid procedure for determination of heptachlor, aldrin and mirex in sugar cane potable spirits. *Ecl. Quím.*, São Paulo, v. 16, p. 55-62, 1991.

ABSTRACT: A small scale method for determination of heptachlor, aldrin and mirex in sugar cane potable spirits is described. The pesticides are extracted with *n*-hexane. The extract is submitted to *clean-up* over an alumina/silica gel microcolumn and eluted with *n*-hexane. The eluate is concentrated and analysed by gas-liquid chromatography. Samples fortified with heptachlor, aldrin and mirex were tested by recovery analysis and the mean values obtained were 93, 94 and 101%, respectively. The standard deviations were less than 4,9, thus making this method very suitable for residue analysis.

KEYWORDS: Residues determination; organochlorine pesticides; sugar cane potable spirits; gas chromatography.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALMEIDA, M.E.W., BARRETTO, H.H.C. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, v. 31, p. 117, 1971.
2. NOVARETTI, W.R.T., CASAGRANDE, D.V., BORTOLIN, J.R. *STAB*, v. 8, p. 17, 1990.
3. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. Portaria nº 329 de 2 de setembro de 1985. *Diário Oficial*, Brasília, 03 de set. 1985. Seção I, p. 12.941.
4. BRUMLEY, W.C., CANAS, B.J., PERFETTI, G.A., MOSSOBA, M.M., SPHON, J.A., CORNELIUSSEN, P.E. *Anal. Chem.*, v. 60, p. 975, 1988.
5. CANAS, B.J., HAVERY, D.C., JOE JR., F.L. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, v. 71, p. 509, 1988.
6. PIERCE JR., W.M., CLARK, A.O., HURST, H.E. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, v. 71, p. 781, 1988.
7. ARBETOVA, D., LENGYELOVA, H., GEIST, T. *Cesk Hyg.* v. 31, p. 148, 1986. *Apud Chem. Abstr.*, v. 105, p. 59.560x, 1986.
8. GOURSAUD, J., LUQUET, F.M., SCRIBAN, R. *Bios. France*, v. 7, p. 33, 1976. *Apud Anal. Abstr.*, v. 31, 5F25 1976.
9. ZEE, J.A., SIMARD, R.E., CHHEM, C., GOSSELIN, C., MARTIN, G.B. *Amer. J. Enol. Viticult.*, v. 24, p. 120, 1973.
10. KAWAR, N.S., DAGHER, S.M. *J. Environ. Sci. Health, B11*, p. 199, 1976.

11. BLAHA, J.J., JACKSON, P.J. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, v. 68, p. 1.095, 1985.
12. POLEZE, L., DRAETTA, M.S., RIBEIRO, M.L., MINELLI, E.V., DEL'ACQUA, A. In: CONGRESSO DE BOLSISTAS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNESP, 1º, 1989, Araraquara. *Resumos...* Araraquara: Universidade Estadual Paulista, UNESP, 1989, p. 81.
13. GUPTA, R.C., KARNIK, A.B., NIGAM, S.K., KASHYAP, S.K. *Analyst*, v. 103, p. 723, 1978.
14. AHMAD, N., MAROLT, R.S. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, v. 69, p. 581, 1986.
15. VOOGT, P., KLAMER, J.C., GOVERS, H. *J. Chromatogr.*, v. 363, p. 407, 1986.
16. LUKE, M.A., DOOSE, G.M. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, v. 32, p. 651, 1984.
17. WALISZEWSKI, S.M., SZYM CZYNSKI, G.A. *J. Chromatogr.*, v. 321, p. 480, 1985.
18. VENANT, A., BORREL, S. *Analyst*, v. 15, p. 145, 1987.
19. STEINWANDTER, H. *Fresenius Z. Anal. Chem.*, v. 316, p. 493, 1983.
20. SATSMADJIS, J., GREGORIADES, E.G., TALIADOURI, F.V. *J. Chromatogr.*, v. 437, p. 254, 1988.

Recebido em 25.04.91

Aceito em 18.06.91