



Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Meio Ambiente

Ministério da Agricultura e do Abastecimento
Rod. SP 340 Km 127,5 Bairro Tanquinho Velho
Caixa Postal 69 Cep: 13820-000
Jaguaruina, SP Fone (019) 867-8700 Fax (019) 867-8740

Pesquisa em Andamento Embrapa Meio Ambiente



Nº. 5, novembro/99, p.1-3.

VALIDAÇÃO DE MÉTODOS PARA ANÁLISE DE RESÍDUOS DE PACLOBUTRAZOL

Vera Lúcia Ferracini¹

Célia Maria Maganhoto de S. Silva²

A fruticultura tem-se caracterizado por apresentar um rápido crescimento da área plantada e uma forte expansão de sua produção. A necessidade crescente de elevar sua produtividade envolve vários fatores, entre os quais a utilização de agroquímicos, como os reguladores de crescimento que alteram o comportamento fisiológico das plantas. No Brasil, a exportação da manga esbarra em dois problemas fundamentais que são a qualidade do fruto e a continuidade de remessas.

Com a finalidade de solucionar os problemas enfrentados e aumentar a rentabilidade da cultura com os preços da entressafra, os produtores de manga utilizam o regulador de crescimento paclobutrazol (2RS, 3RS) -1-(4-clorofenil)-4,4-dimetil-2-(1,2,4-triazol-1-yl)-1-pentano-3-ol, que, através da inibição da síntese de giberelina, restringe o crescimento da planta e possibilita uma melhor manipulação do manejo da cultura. Esse produto é persistente em solos devido à sua baixa mobilidade e à sua forte adsorção, principalmente na matéria orgânica. Além disso, tem efeito negativo sobre a comunidade fúngica do solo. Estudos conduzidos por Attiya 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 subsequentes pela redução do vigor vegetativo.

No presente estudo, métodos de análise de resíduos de paclobutrazol estão sendo validados para facilitar o monitoramento da qualidade dos solos e dos frutos em plantios comerciais de manga para exportação. Está sendo também validado o método de análise do paclobutrazol, em meio de cultura, visando à avaliação do crescimento de linhagens fúngicas resistentes a este composto.

¹ Química, Ph.D., Embrapa Meio Ambiente, Caixa Postal 69, CEP 13820-000, Jaguariúna-SP.

² Bióloga, Ph.D., Embrapa Meio Ambiente.

A determinação quantitativa dos resíduos em solo e em manga está sendo realizada por cromatografia gasosa, usando coluna capilar HP5 e detector NPD. A determinação dos resíduos em meio de cultura está sendo realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), utilizando coluna de fase reversa C_{18} .

As amostras de manga e solo estão sendo extraídas de acordo com o método descrito por Stahly & Buchanan (1986), com algumas alterações. Para análise dos frutos, as amostras de manga são homogeneizadas em ultra-turrax com 100mL de MeOH 80%. A fase líquida é filtrada e o MeOH é evaporado sob vácuo em evaporador rotatório, com o banho mantido a 35°C.

Para extração da matriz solo, são adicionados ao mesmo (10g.) 100mL de MeOH 80%. A mistura é agitada mecanicamente em agitador por 24 horas e, a fase líquida separada por centrifugação à 8.000rpm, por 8 minutos. Tanto para manga quanto para o solo, a fase aquosa resultante da etapa acima descrita tem seu pH ajustado para 11 com NaOH 6,5N, sendo então extraída por três vezes com 50mL de diclorometano P.R.. Os extratos orgânicos resultantes são combinados e evaporados em evaporador rotatório até quase a secura, sendo totalmente secos em corrente de nitrogênio. Os resíduos são redissolvidos em n-hexano P.R. e filtrados em membrana Millipore. As soluções finais das amostras, assim como padrões de paclobutrazol em n-hexano são analisadas por cromatografia gasosa.

Para estas matrizes, as porcentagens de recuperação variaram de $78,5 \pm 14,8\%$ a $112,4 \pm 8,2\%$. O limite de quantificação do método para solo e para manga foi de $0,25\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$. No entanto, ainda estão sendo feitas algumas tentativas para diminuir este limite de quantificação, uma vez que o método de extração testado ainda contém um interferente. No presente momento, avalia-se o procedimento metodológico para a eliminação do mesmo. Desta forma, acredita-se que o limite de quantificação será alterado para um valor mais baixo, tornando, assim, o método de análise mais sensível.

Para avaliar o potencial de degradação do paclobutrazol por microorganismos do solo é necessário uma metodologia rápida, que permita selecionar as linhagens degradadoras. Desta forma, utiliza-se, em primeiro momento, a degradação em meio de cultura.

Os microorganismos são previamente isolados dos solos que recebem aplicação do produto. Posteriormente, eles são crescidos em meio de cultura mineral líquido suplementado com paclobutrazol como única fonte de carbono e energia.

Para a validação do método analítico, foram estabelecidas as porcentagens de recuperação do paclobutrazol, determinadas em meio de cultura suplementados com $8\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ do mesmo.

As amostras em meio de cultura são filtradas em membrana Millipore e injetadas diretamente para análise em um cromatógrafo líquido de alta eficiência. A coluna utilizada para análise é a de fase reversa C_{18} , com fluxo de $0,7\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$, utilizando detector ultravioleta, $\lambda_{\text{máx}}$ a 220 nm.

O paclobutrazol apresentou recuperação percentual média de $88 \pm 6,46\%$, com boa reprodutibilidade, como mostra o valor de desvio padrão apresentado. Os valores de recuperação aceitos para a validação de métodos analíticos devem estar entre 70 - 110%. A estimativa de desvio padrão não deve ser superior a 15% em relação ao valor médio, AOAC International (1995). O limite de quantificação para meio de cultura esta sendo estabelecido. Neste caso, ficou demonstrado que a análise direta para amostras em meio de cultura é válida.

O uso de uma determinada metodologia analítica deve sempre ser precedido de uma validação para permitir sua aplicabilidade. Para uma validação completa de método, muitas etapas são necessárias, como eficiência do sistema de extração e eficiência do procedimento analítico.

A validação dos métodos para análise nas matrizes solo, manga e meio de cultura estão em andamento para posterior monitoramento da qualidade dos solos e dos frutos de manga para exportação. Este monitoramento nos ajudará a acompanhar a cadeia produtiva de manga, beneficiando diretamente os produtores para exportação em relação ao fornecimento de informações sobre a qualidade dos frutos produzidos no vale do Rio São Francisco. O monitoramento de agrotóxicos é importante, pois irá contribuir para minimização do impacto no ambiente, visando ao controle da utilização desses produtos em frutíferas, obedecendo assim as normas da ISO 14.000.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC INTERNATIONAL. Collaborative study guidelines. **Journal of the AOAC International**, v.78, p.143A-157^A, 1995
- 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.
- 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.
- STAHLY, E. A ; BUCHANAN, D.A . Extraction, purification, and quantitation of paclobutrazol from fruit tree tissues. **HortScience**, v.21, n. 3, p. 534-535, 1986.

