

# APLICABILIDADE DA EXTRAÇÃO SÓLIDO-LÍQUIDO COM PARTIÇÃO À BAIXA TEMPERATURA NA ANÁLISE DE CARBARIL EM BANANA.

**Alessandra T. Cardoso<sup>1</sup>(EG), Simone Machado Goulart<sup>2</sup>(PQ), Adilson Correia Goulart<sup>3</sup>(TA).**

<sup>1</sup>Instituto Federal de Goiás, Câmpus Itumbiara.

**Área do Conhecimento: Área do Conhecimento: Ciências Exatas e da Terra.**

Resumo

*O objetivo desse trabalho foi verificar a aplicabilidade do método de Extração Sólido-líquido com Partição em Baixa Temperatura na determinação de carbaril em banana (*Musa sapientum*) e posteriormente com a análise dos resultados, otimizar parâmetros de análise. A banana foi a fruta escolhida por ser bastante cultivada e comercializada na região de Itumbiara-GO. Para otimização foi empregado um planejamento fatorial completo,  $2^3$ , para avaliação do comportamento simultâneo de três fatores em dois níveis. Para separação, identificação e quantificação de carbaril foi utilizada a cromatografia líquida de alta eficiência com detector ultravioleta (CLAE-UV). A partir do estudo dos resultados obtidos pelas análises, verificou-se que a ESL-PBT é seletiva, de fácil execução, simples e de baixo custo podendo ser aplicada na determinação de carbaril em banana. A porcentagem de recuperação média foi de 111,4%. No processo de otimização foi escolhido o ensaio de número 2 com eficiência de extração de 108,18%. Nesse ensaio utilizou-se como Fator 1 (Relação do volume de água e solução extratora de 1:2), um volume de água de 2 mL e de solvente de 4 mL; Fator 2 (sem adição de NaCl) e Fator 3 (ACN como solvente extrator).*

**Palavras-chave:** Carbaril, banana, extração, análise de resíduos.

## Introdução

Há anos os produtos químicos vêm sendo utilizados para controle de pragas e doenças que afetam a produção agrícola, tornando necessário o monitoramento para avaliar se os agricultores estão utilizando esses produtos de forma consciente, respeitando os cuidados necessários e limites aceitáveis para cada tipo de cultura. Dentre os alimentos cultivados na região de Itumbiara-GO, está a banana, uma das principais e extensas plantações, e que possui destaque no comércio da cidade.

A banana *Musa sapientum*, pertence à família Musaceae que é constituída de diversas espécies sendo considerada uma das frutas tropicais mais cultivadas mundialmente. No Brasil, é a segunda fruta mais plantada e está presente no comércio em todos os Estados, desde o litoral até os planaltos e possui essencial significância para os brasileiros, não somente pelo seu alto valor nutritivo, mas principalmente, por estar acessível para todas as camadas sociais, inclusive as menos favorecidas (MORENO et al., 2016). As espécies mais conhecidas são: nanica, prata, banana-terra e a banana maçã. Neste trabalho a cultivar escolhida é da espécie prata-anã, por ser a mais cultivada nas proximidades de Itumbiara-GO.

Entretanto, devido a vulnerabilidade desse cultivar, a produtividade da banana é afetada por diversos organismos fitopatógenos que constantemente atacam esse tipo de produção. Entre alguns métodos de controle como limpeza e desbaste no bananal, está o uso de inseticidas autorizados, dentre eles o carbaril.

O 1-naphthyl methylcarbamate, mais comumente chamado de carbaril, pertence à classe dos carbamatos, e é um inseticida utilizado para combater pragas de 14 culturas, dentre elas banana, batata, feijão, tomate, maçã e abacaxi, sendo indicada como modalidade de emprego para foliar, pertence a classe toxicológica II, sendo considerado altamente tóxico (ANVISA, 2013). Na banana, o carbaril tem um emprego foliar e o Limite Máximo de resíduo permitido nessa cultura é de 0,2 mg/kg com um intervalo de segurança entre a aplicação até colheita de 14 dias.

Várias metodologias analíticas têm sido utilizadas para extração de agrotóxicos em frutas e verduras, entre elas, o método que utiliza extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura (ESL-PBT) tem sido utilizada e desenvolvida com sucesso para determinação de agrotóxicos em várias matrizes como água, leite, manteiga, tomates e mel. Segundo Paschoal et al. (2008), algumas das vantagens desse método é o baixo consumo de solventes para a extração do carbaril e a simplicidade da execução da metodologia com um número reduzido de etapas, mostrando que a sua utilização como técnica analítica é muito promissora.

A extração dos agrotóxicos é particular para cada matriz e por isso deve-se fazer o uso de planejamentos fatoriais, que tem por objetivo conseguir informações úteis para a otimização do sistema de trabalho com um número mínimo de experimentos reduzindo o tempo e os custos da análise (NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010). Existem variados tipos de planejamentos que podem ser úteis de acordo com o objetivo do trabalho, os mais comuns são o planejamento fatorial completo, fatorial fracionado e o fatorial com componente central (SOUZA, 2014).

Nesse contexto, o objetivo dessa pesquisa foi verificar a aplicabilidade da técnica ESL-PBT e análise por cromatografia líquida para extração de carbaril em banana. Até então essa técnica era conhecida por ser aplicável em diversas culturas, mas ainda não havia sido testada para bananas. Após a verificação da aplicabilidade, parâmetros de análise foram otimizados utilizando a quimiometria.

## Material e Métodos

### Preparo das amostras fortificadas:

Amostras de banana prata-anã (*Musa spp*) isentas do carbaril foram adquiridas de culturas nas quais o carbaril não foi aplicado. As mesmas foram cultivadas e coletadas na zona rural do município de Itumbiara-GO. Após liquidificar casca e polpa da banana até completa homogeneização, as amostras foram fortificadas com solução padrão de carbaril para se obter no extrato final 5,0 mg L<sup>-1</sup>. Após fortificação, as matrizes foram submetidas à extração ESL-PBT, seguida de análise por CLAE-UV conforme metodologia proposta por Goulart et al. (2010) com modificações. Foi feito um “branco da banana”, ou seja, sem adição do padrão, a fim de comparação para verificar a seletividade. O branco foi submetido à ESL-PBT assim como as amostras fortificadas.

A ESL-PBT foi realizada da seguinte forma: a 1,0000 g de amostra de banana (casca e polpa) foram adicionados 2,0 mL de água e 0,03 g de NaCl. Esse sistema foi colocado em contato com 4,0 mL de acetonitrila. O sistema foi homogeneizado em vórtex por 60 segundos. Após agitação, a amostra foi colocada a -20°C por 3 horas. Após a partição a baixa temperatura, foi retirado 1 mL da fase orgânica para análise. Nessa fase foi verificada a aplicabilidade e a seletividade da técnica em matrizes de banana. Os experimentos foram conduzidos no Laboratório Multiusuário do Pontal da Universidade Federal de Uberlândia.

### Condições cromatográficas:

O equipamento utilizado nas análises tem as seguintes especificações: HPLC alliance Waters e2695 separations module.2998 PDA Detector, gerenciado pelo software Empower 3. As condições cromatográficas utilizadas foram: Detector de UV a 213 nm; Coluna Kinetex 5 µm EVO C 18 - 150 X 4,6 mm; fase móvel (modo isocrático); Acetonitrila:Água deionizada 35:65 v/v; Vazão da fase móvel: 0,8 mL min<sup>-1</sup>; Temperatura da coluna: 35 °C; Volume de injeção: 20 µL; e Tempo de análise: 10 minutos.

### Otimização da técnica utilizando o planejamento fatorial 2<sup>3</sup>:

No processo de otimização do método foi empregado um planejamento fatorial completo 2<sup>3</sup>, para avaliação do comportamento simultâneo de três fatores em dois níveis: relação do volume

de água e solvente extrator, adição de sal e solvente extrator. O processo de otimização seguiu o planejamento fatorial respeitando os fatores e níveis estabelecidos. As análises foram realizadas em duplicata.

Na Tabela 1 está apresentado o planejamento fatorial 2<sup>3</sup>. Foram realizados experimentos utilizando a fruta inteira (casca e polpa), a fim de se verificar a presença de carbaril nas duas partes da fruta.

**Tabela 1. Planejamento fatorial 2<sup>3</sup> realizado para estabelecer melhores condições para extração de carbaril em amostras de banana.**

Ensaio	Fatores Codificados			Fatores Originais		
	F(1)	F(2)	F(3)	(1) Relação do volume de água e extrator	(2) Adição NaCl (%m/m)	(3) Solução Extratora
1	-	-	-	1:1	0	ACN
2	+	-	-	1:2	0	ACN
3	-	+	-	1:1	1,5	ACN
4	+	+	-	1:2	1,5	ACN
5	-	-	+	1:1	0	ACN/ACE
6	+	-	+	1:2	0	ACN/ACE
7	-	+	+	1:1	1,5	ACN/ACE
8	+	+	+	1:2	1,5	ACN/ACE

Fonte: TEÓFILO e FERREIRA, 2006

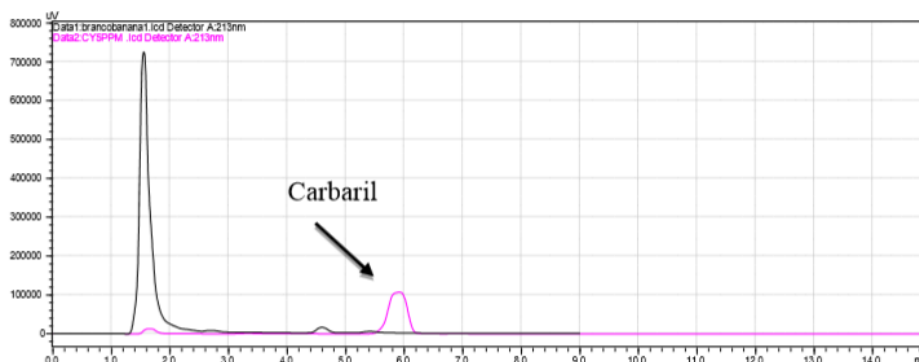
## Resultados e Discussão ou Relato de Caso

### Seletividade e aplicabilidade do método ESL-PBT proposto para casca e polpa de banana

A seletividade do método foi comprovada por comparação dos cromatogramas obtidos a 213 nm de extratos de banana fortificadas, com os extratos de amostras livres de carbaril (Figura 1). Todas as extrações (branco e extrato fortificado) foram realizadas em triplicata.

Verifica-se na Figura 1 que a amostra de banana livre de carbaril, não apresentou interferentes nos mesmos tempos de retenção do agrotóxico. Sendo assim o método ESL-PBT na análise de carbaril em apresenta seletividade. A seletividade na aplicação de uma técnica é extremamente importante, pois a linearidade, a exatidão e a precisão da técnica, dependem exclusivamente desse fator.

**Figura 1: Comparação dos dois cromatogramas do extrato de banana, isenta de carbaril (—) e fortificado com 5 mg L<sup>-1</sup> de carbaril (—).**



Fonte: Os autores.

Com o intuito de verificar a aplicabilidade do método ESL-PBT em matrizes de banana uma curva analítica foi construída (Figura 4) utilizando o padrão carbaril em acetonitrila nas

concentrações 0,1 mg L<sup>-1</sup>, 0,5 mg L<sup>-1</sup>, 1 mg L<sup>-1</sup>, 2 mg L<sup>-1</sup>, 5 mg L<sup>-1</sup>, e 10 mg L<sup>-1</sup> e a equação da reta obtida foi  $y=471718x-45334$  com coeficiente de correlação de 0,9953 indicando a linearidade da resposta do detector na faixa de concentração estudada.

A porcentagem média de recuperação do carbaril em banana utilizando a ESL-PBT foi 111,4% com coeficiente de variação, também chamado de desvio padrão relativo, de 3,05%. Conforme estabelecido no guia SANTE/ 11945/2015, importante Guia para controle de qualidade, otimização e validação para processos envolvendo análises de resíduos, recuperações de 70 a 120% são aceitáveis para extração de agrotóxicos.

### Otimização das variáveis do planejamento fatorial utilizando o método ESL/PBT para extração de carbaril em banana

No processo de otimização do método foi empregado um planejamento fatorial completo 2<sup>3</sup>, para avaliação do comportamento simultâneo dos três fatores listados na Tabela 1. Os resultados das combinações dos fatores foram registrados para análise e interpretação em planilhas eletrônicas construídas no Excell® disponibilizadas pela Universidade de Campinas (UNICAMP). Os resultados do planejamento fatorial são apresentados na Tabela 2.

**Tabela 2: Resultados do planejamento fatorial**

UNICAMP		Planejamento Fatorial Completo 2 <sup>3</sup>							UNICAMP		
Identificação:		Data: 11/07/2018									
Ensaio	Nº Rep.	Respostas das repetições			Médias	Variâncias	Efeitos	Erros	t (8)	p	
1	2	99,10	106,84			102,97	29,9538	SG Média	106,4 ± 0,831	128,056	1,546E-14
2	2	109,45	106,90			108,18	3,25125	1	2,188 ± 1,662	1,316149	0,2245826
3	2	103,00	101,60			102,3	0,98	2	-2,48 ± 1,662	1,492137	0,1740073
4	2	103,28	107,12			105,2	7,3728	3	3,513 ± 1,662	2,113359	0,0675195
5	2	105,12	112,85			108,99	29,87645	12	-1,173 ± 1,662	0,705456	0,5005485
6	2	109,00	112,00			110,5	4,5	13	-1,865 ± 1,662	1,122111	0,2943623
7	2	104,78	109,30			107,04	10,2152	23	-0,657 ± 1,662	0,395597	0,7027426
8	2	105,11	107,23			106,17	2,2472	123	-0,02 ± 1,662	0,012033	0,9906937
Variância das observações individuais →						11,04959	Nível de significância α 0,05				
Variância dos efeitos →						2,762397					
Erro dos efeitos →						1,662046					

Fonte: UNICAMP

Para verificação da significância dos dados apresentados na Tabela 3, foi aplicado o teste t de t-student ao nível de 95% de confiança e 5% significância. A fim de selecionar o melhor ensaio para determinação e quantificação desse agrotóxico na matriz investigada é de importante discutir cada fator no processo.

Observando-se a relação do Fator 1 Relação do volume de água e solução extratora (1:1 ou 1:2), foi verificado que elevando o volume de solvente extrator para 4 mL houve um aumento de recuperação do carbaril de 2,188%. Maiores volumes de solvente extrator podem facilitar a migração dos agrotóxicos para a fase orgânica.

A adição de NaCl ao sistema foi o fator que diminuiu as porcentagens de recuperação, com o aumento da força iônica do sistema, observou-se uma diminuição de 2,48% na eficiência da extração. Com relação à solução extratora, observou-se que nos ensaios em que foram empregados a mistura acetonitrila: acetato de etila (81,25: 18,75) obteve-se um aumento da extração do carbaril em 3,513%. Resultados semelhantes foram obtidos na determinação de agrotóxicos em tomates realizada por Pinho et al, 2010 quando empregou a combinação de dois solventes. Entretanto, esse aumento não é estatisticamente significativo.

Como as médias de recuperação estatisticamente não diferem entre si, optou-se por utilizar apenas a acetonitrila, uma vez que ela é mais solúvel em água e facilita a partição à baixa

temperatura em função do baixo ponto de fusão (-45 °C). Assim, o ensaio 2, com eficiência de extração de 108,18%, com o Fator 1 (Relação do volume de água e solução extratora de 1:2), utilizando portanto um volume de água de 2 mL e de solvente de 4 mL; Fator 2 (sem adição de NaCl) e Fator 3 (ACN como solvente extrator) foram escolhidos para dar continuidade ao trabalho.

## Conclusões

A técnica ESL/PBT aplicada e otimizada na determinação de carbaril em matrizes de banana é aplicável, simples e eficaz, consumindo pequenas quantidades de solventes e amostras, com porcentagens de recuperação dentro da faixa aceitável e recomendável por órgãos como ANVISA e Guia SANTE. Verificou-se que em todos os ensaios os resultados das porcentagens de recuperação ficaram entre 70 a 120%. Porcentagens de recuperação acima de 100 % indicaram um possível efeito de matriz na extração do agrotóxico na matriz banana. Estudos posteriores poderão elucidar quais compostos da banana podem estar interferindo na extração ou na resposta cromatográfica.

## Agradecimentos

Ao PET/MEC/FNDE pelo auxílio financeiro, ao IFG, Câmpus Itumbiara, à AGRODEFESA pela parceria e ao NUPEQUI.

## Referências Bibliográficas

- BRASIL. ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Monografia do Carbaril**. Brasília, 2013. Disponível em: Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/portal/anvisa/home>>. Acesso em: 12 de Agosto de 2018.
- EUROPEAN COMMISSION. **Directorate-General for Health and Food Safety. Guidance document on analytical quality control and method validation procedures for pesticides residues analysis in food and feed**. 2015. (Safety SANTE/11945/2015). Disponível em <[https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/plant/docs/pesticides\\_mrl\\_guidelines\\_wrkdoc\\_11945.pdf](https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/plant/docs/pesticides_mrl_guidelines_wrkdoc_11945.pdf)>. Acesso em 4 de agosto de 2017.
- GOULART, S.M.; ALVES, R.D.; NEVES, A. A.; QUEIROZ, J.H.; ASSIS, T.C.; QUEIROZ, M. E. L. de, Optimization and validation of liquid-liquid extraction with low temperature partitioning for determination of carbamates in water, **Analytica Chimica Acta**, v. 671, p. 41-47, 2010.
- MORENO, N. B. C.; SILVA, A. A.; SILVA, D. F. Análise de variáveis meteorológicas para indicação de áreas agrícolas aptas para banana e caju no Estado do Ceará. **Revista Brasileira de Geografia Física**, v. 9, n. 1, p. 01 - 15, 2016.
- NETO, B. B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos**. 4. ed. Porto Alegre-RS: Bookman, 2010.
- PASCHOAL, J. A; R; RATH, S; AIROLDI, F. P S; REYES, F. D. R. Validação de métodos cromatográficos para a determinação de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos, **Química Nova**, v.31, p. 1190-1198, 2008.
- PINHO, P.G.; NEVES, A.A.; QUEIROZ, M.E.L.R.; SILVÉRIO, F.O. Pesticide determination in tomatoes by solid-liquid extraction with purification at low temperature and gas chromatography. **Food Chemistry**, v. 121, n. 1, p. 251-256, 2010.
- SOUZA, F. T. C. **Validação e determinação de carbofurano e carbaril em plasma sanguíneo de agricultores do perímetro irrigado do baixo Jaguaribe-CE por MEFS-HS/CG-EM**. Fortaleza: UFC, 2014. Disponível em: < <http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/20118>>. Acesso em: 12 de Julho de 2018.
- TEÓFILO, R. F.; FERREIRA, M. M. C. Quimiometria II: planilhas eletrônicas para cálculos de planejamentos experimentais, um tutorial. **Química Nova**, v. 29, p. 338-350, 2006.