

Avaliação de resíduos de Endosulfan em matriz de vagem e soja para comparação de dois sistemas de aplicação do produto formulado

Evaluation of Endosulfan residue in pod and soybean matrices for comparison of two application systems of formulated product

Célia M.D. CORRÊA¹
Jorge J. do V. OLIVEIRA²
Valdemar L. TORNISIELO³

RIALA6/905

Corrêa, C.M.D.; Oliveira, J.J.V.; Tornisielo, V.L. Avaliação de resíduos de Endosulfan em matriz de vagem e soja para comparação de dois sistemas de aplicação do produto formulado. **Rev Inst. Adolfo Lutz**, 60(2):135-139, 2001.

RESUMO. O objetivo deste trabalho foi determinar os níveis de resíduos de α -endosulfan, β -endosulfan e sulfato de endosulfan na vagem e no grão de soja. A soja foi cultivada em uma área de 900 m², dividida em três parcelas iguais, sendo uma parcela reservada para a soja testemunha, sem aplicação de endosulfan, e as outras duas reservadas para pulverização deste inseticida por meio do sistema manejo integrado de pragas (MIP) e do sistema convencional. Os níveis de resíduos de endosulfan foram quantificados por cromatografia gasosa com detector de captura de elétrons (Ni⁶³). Foram encontrados na vagem cerca de 6 e 7 vezes mais resíduos de endosulfan total do que no grão de soja, nos sistemas MIP e convencional, respectivamente. Em ambos os sistemas, não foram detectados a presença de sulfato de endosulfan dentro do limite de quantificação do método de 0,5 mg/kg para o grão de soja e 0,1 mg/kg para a vagem de soja. Em relação aos resultados obtidos conclui-se que a vagem apresentou um efeito protetor à penetração do inseticida no grão. Ambos os sistemas foram eficientes no combate às pragas, porém sugere-se o uso do MIP porque resultou em menor contaminação do grão. A soja estava adequada para consumo em relação à Legislação Brasileira de Resíduos de Pesticidas.

PALAVRAS-CHAVE. Resíduos de endosulfan, soja, vagem, sistemas convencional e MIP.

INTRODUÇÃO

Entre os produtos agrícolas que alimentam a população mundial, a soja vem apresentando extraordinária expansão e

ocupando uma posição de destaque entre os produtos agrícolas. Isto porque esta leguminosa é um alimento que apresenta um alto valor nutritivo, com uma composição química rica em óleos, vitaminas, alguns minerais como cálcio e ferro e teor

¹ Engenheira Agrônoma, M.Sc., Departamento de Ecotoxicologia – BIOAGRI Laboratórios Ltda. – Piracicaba/SP. (e-mail: cdcorrea@bioagri.com.br).

² Químico, Pesquisador Científico, Instituto de Tecnologia de Alimentos (ITAL), Centro de Química de Alimentos e Nutrição Aplicada. Campinas/SP. (e-mail: jorgejvo@ital.org.br).

³ Seção de Ecologia, Centro de Energia Nuclear na Agricultura – CENA/USP – Piracicaba/SP. (e-mail: vltornis@cena.usp.br)

protéico superior a 34%. Destaca-se também como uma cultura de alta produtividade e fácil adaptação em quase todas as regiões do globo^{2,4,11}.

Apesar dos aspectos promissores, a cultura da soja, praticamente durante todo o seu ciclo, está sujeita ao ataque de insetos que podem diminuir significativamente a produtividade acarretando prejuízo para o sojicultor^{5,10}. A aplicação de agrotóxicos no sistema convencional tem sido uma das providências necessárias para neutralizar o ataque desses insetos e pragas e viabilizar a produção de soja. Também o emprego de agrotóxico associado ao tratamento através do manejo integrado de pragas (MIP) é uma outra alternativa para combater essas adversidades.

O MIP consiste em inspeções regulares às lavouras para verificar o nível de ataque, com base na desfolha, no número e tamanho da população das pragas. Esta prática é feita com pano de batida, técnica que consiste em bater duas linhas de cultivo em direção ao pano branco de dimensões 0,5 x 1,0 m, colocado na entrelinha, junto ao solo, fazendo com que os insetos caiam no pano, possibilitando ser contados e avaliados quanto ao estágio de crescimento⁵.

Embora a aplicação de agrotóxico seja imprescindível para combater os insetos, dependendo da forma como é administrado e devido as suas propriedades toxicológicas, o mesmo pode causar danos à saúde do consumidor. No caso da cultura da soja, o agrotóxico endosulfan tem se mostrado eficiente para o controle de grande variedade de pragas. Apesar da proibição do uso dos organoclorados na agricultura, Portaria 95/85 de 21/11/1985, o endosulfan teve seu uso liberado, porém restrito a algumas culturas, entre elas a soja, mediante prescrição do receituário agrônomo³.

Em função destes aspectos, o objetivo deste trabalho foi quantificar os níveis de resíduos dos isômeros α -endosulfan e β -endosulfan e de seu principal metabólito, sulfato de endosulfan, na vagem e nos grãos de soja.

MATERIAL E MÉTODOS

Cultivo da soja e aplicação de endosulfan

A soja de variedade IAC 8-2 foi cultivada no campo experimental do Departamento de Genética da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz-ESALQ/USP em Piracicaba, São Paulo em uma área de 900 m², isenta de qualquer aplicação anterior de endosulfan. Esta área foi dividida em três parcelas iguais de 300 m², sendo uma parcela reservada para o cultivo da soja testemunha (sem aplicação do inseticida) e as outras duas reservadas para os tratamentos nos sistemas MIP e convencional, os quais foram submetidos a pulverizações com o produto comercial Thiodan 35 CE (1,25 L/ha), aplicado nas doses recomendadas pela EMBRAPA⁵ de 371 g de i.a/ha e 1.113 g de i.a/ha, respectivamente.

Cada parcela apresentou uma população de 40 plantas/m², sendo o espaçamento adotado de 50 cm entre linhas e 5 cm entre plantas. A bordadura deixada foi de 2,5 m, com finalidade

de evitar a contaminação entre os tratamentos. Foram adotados para todas as parcelas os mesmos tratos culturais de preparação do solo. O plantio da soja foi realizado em março e a colheita efetuada em julho de 1997.

Coleta das amostras

Os grãos e as vagens foram amostrados em pós-colheita manuais, separados, homogeneizados em processador, acondicionados em frascos de vidro de 500 mL, fechados com tampas envolvidas em papel alumínio, transportadas em isopor com gelo até o laboratório e armazenados em freezer a -18 °C até a ocasião das análises.

Preparação dos padrões (α -endosulfan, β -endosulfan e sulfato de endosulfan)

Foram utilizados os padrões de α -endosulfan, β -endosulfan e sulfato de endosulfan da Hoechst Schering Agrevo, Frankfurt, todos com índice de pureza de 99%. Foram preparadas em hexano grau resíduo soluções de 100 mg/L dos três padrões. Em seguida, foram preparadas soluções de concentrações 10 mg/L, 5,0 mg/L, 1,0 mg/L, 0,5 mg/L, 0,1 mg/L, 0,05 mg/L, 0,01 mg/L e 0,005 mg/L, a partir das soluções estoques.

Método de extração de endosulfan na vagem e na soja

O método de Luke *et al.*⁸ foi empregado para extração de α -endosulfan, β -endosulfan e sulfato de endosulfan na soja e na vagem, segundo descrito a seguir.

Pesou-se 10 g da amostra (vagem ou soja) em erlenmeyer, adicionou-se 150 mL de acetona para resíduo e agitou-se em agitador horizontal durante 60 minutos. Sob pressão reduzida, o extrato foi filtrado em papel de filtro Whatman n° 5, transferido para um balão volumétrico e completado o volume para 200 mL com acetona.

Uma alíquota de 20 mL deste extrato foi transferida para um funil de separação de 500 mL, onde também foram colocados 40 mL de uma solução aquosa saturada com NaCl, seguido da adição de 100 mL da mistura dos solventes hexano:diclorometano (50:50 v/v).

O funil de separação foi vigorosamente agitado durante 5 minutos e deixado em repouso para separação das fases aquosa e orgânica.

Após separação das fases, a fase aquosa inferior foi transferida para outro funil de separação de 500 mL e a fase orgânica foi reservada (fase A). Adicionou-se na fase aquosa 40 mL de diclorometano, agitou-se durante 1 minuto e deixou-se em repouso até separação das fases. Descartou-se a fase aquosa e a fase orgânica foi recolhida (fase B). As fases orgânicas (A e B) foram misturadas e filtradas em funil com sulfato de sódio.

O filtrado foi recolhido em balão de fundo chato de 125 mL, concentrado até aproximadamente 1 mL em rotavapor à temperatura de 40 °C e a seguir até à secura com N₂. O balão foi lavado com 10 mL de hexano para resíduo e o extrato transferido com pipeta Pasteur para um tubo concentrador, evaporado com N₂ até 1 mL e analisado por cromatografia a gás.

Fortificação e recuperação

Para determinação da recuperação, 10 g de amostras de vagem e de soja, ambas testemunhas, foram fortificadas com 1 mL de 1,0 mg/L e 0,1 mg/L com α -endossulfan e β -endossulfan; e 1 mL de 5,0 mg/L e 1,0 mg/L para sulfato de endossulfan na soja e na vagem, respectivamente. Após fortificação, o endossulfan foi extraído segundo metodologia descrita acima.

Quantificação de endossulfan na soja e na vagem

Para quantificação de α -endossulfan, β -endossulfan e sulfato de endossulfan foi utilizado o método do padrão externo. Os limites de quantificação do método, determinado experimentalmente, foram de 0,01 mg/kg para α -endossulfan e β -endossulfan, tanto na vagem como na soja, enquanto que para o sulfato de endossulfan foi de 0,1 mg/kg para a vagem e 0,5 mg/kg para a soja. As relações altura do pico/ruído do detector para os limites de quantificação de 0,01 mg/kg de α -endossulfan e β -endossulfan e 0,1 mg/kg de sulfato de endossulfan foram de 22, 16 e 11, respectivamente.

As curvas de calibração construídas com 4 pontos, nas quantidades injetadas de 0,005 ng, 0,010 ng, 0,015 ng e 0,020 ng para α -endossulfan e β -endossulfan e 0,05 ng, 0,10 ng, 0,15 ng e 0,20 ng para sulfato de endossulfan apresentaram coeficientes de linearidade de 0,9974, 0,9951 e 0,9947, respectivamente.

Para quantificação de endossulfan na soja e na vagem foi utilizado o cromatógrafo gasoso Varian 3.700 com coluna 5% SE-30 (100-120) Supelcoport (1,5 m de comprimento, 2 mm de diâmetro interno e 6 mm de diâmetro externo), equipado com detector de captura de elétrons (Ni^{63}) nas condições previamente otimizadas com injetor a 240 °C, detector 320 °C e coluna com temperatura programada de 150 °C durante 5 minutos, gradiente de temperatura de 10 °C/min até 240 °C (5 minutos) com atenuação de 32x10. Gás de arraste nitrogênio na pressão de 6,8 atm. Registrador Intralab operando a 2mv com velocidade do papel a 5 cm/hr.

Tabela 1. Recuperação de α -endossulfan, β -endossulfan e sulfato de endossulfan em amostras de soja (S) e vagem (V) fortificadas.

Metabólitos	Fortificação (mg/kg)	N		Recuperação (%)		Média		Desvio Padrão(±)		Coeficiente Variação (%)	
		S	V	Amplitude		S	V	S	V	S	V
				S	V						
α -endossulfan	0,1	4	3	(97 – 118)	(70 – 90)	107	80	10	10	9	12
	0.01	2	5	(111 – 114)	(100 – 120)	112	110	3	11	2	10
β -endossulfan	0,1	4	2	(79 – 93)	(103 – 113)	84	108	6	7	7	6
	0.01	5	4	(77 – 120)	(117 – 120)	97	118	15	1	16	1
Sulfato Endo.	0,1	NR	2	NR	(90 – 120)	NR	105	NR	21	NR	20
	0.5	3	NR	(116 – 116)	NR	116	NR	0	NR	0	NR

N – número de determinações. NR – não realizado. Sulfato Endo. – sulfato de endossulfan.

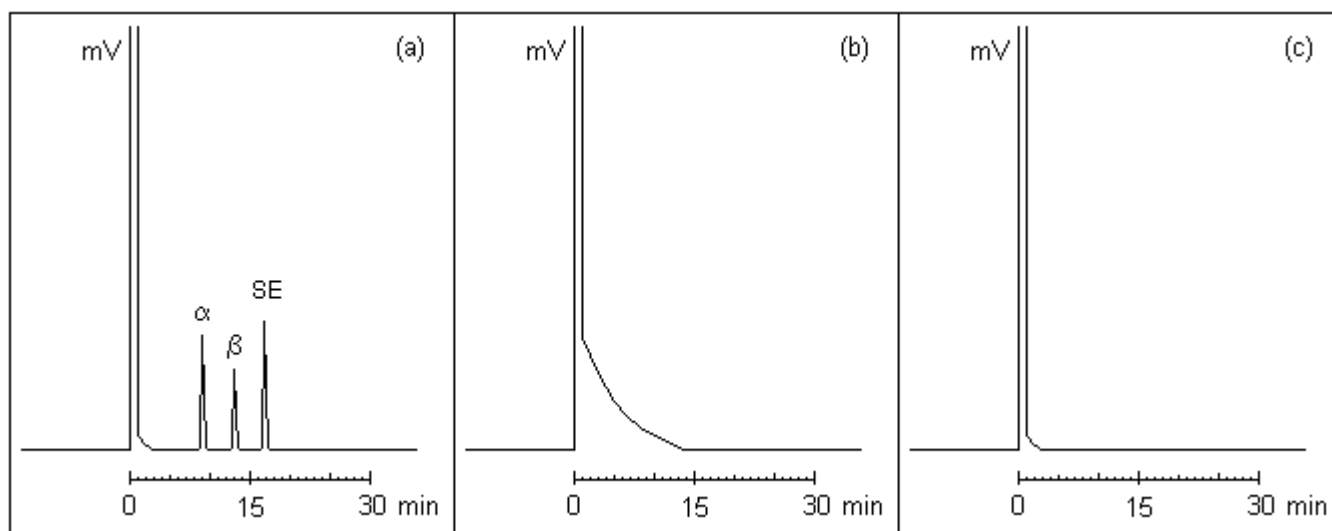


Figura 1. Cromatogramas com volumes de injeção de 3,0 μ L: (a) α -endossulfan (0,01 μ g/mL), β -endossulfan (0,01 μ g/mL) e sulfato de endossulfan (SE) (0,5 μ g/mL); (b) soja testemunha (1 g/5,0 mL); (c) vagem testemunha (1 g/10 mL). Condições cromatográficas (ver material e métodos).

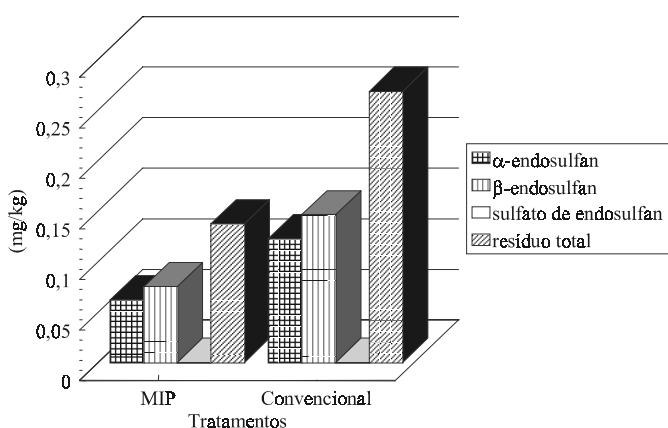


Figura 2. Níveis de resíduos de endosulfan nos grãos de soja tratados nos sistemas MIP e convencional.

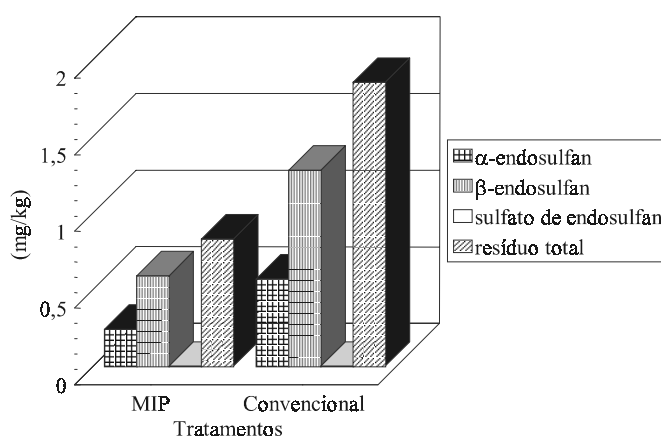


Figura 3. Níveis de resíduos de endosulfan na vagem tratada nos sistemas MIP e convencional.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Recuperações das análises de endosulfan na vagem e na soja

Utilizou-se o método de Luke *et al.*⁸, eliminando-se a limpeza dos extratos por cromatografia em coluna, porque os perfis cromatográficos dos extratos de soja e de vagem testemunhas não apresentaram picos interferentes, nos tempos de retenção dos isômeros e do metabólito do endosulfan (Figura 1).

Os resultados das recuperações de endosulfan nas amostras de vagem e soja encontram-se na Tabela 1. Verifica-se que as recuperações dos isômeros e do principal metabólito do endosulfan situam-se na faixa dos valores aceitos internacionalmente (70% a 120%)¹².

Resíduos de endosulfan na soja e vagem

Os níveis de resíduos de endosulfan no grão e na vagem de soja encontram-se ilustrados nas Figuras 2 e 3, respectivamente. Os alimentos são a principal fonte de exposição da maioria da população aos agrotóxicos, principalmente aqueles consumidos em média e grande quantidade. A soja está enquadrada como um destes alimentos. Por outro lado, a vagem sem os grãos, embora não seja utilizada como alimento, pode representar uma importante fonte de contaminação do ambiente, ou mais precisamente do solo, através da incorporação de restos culturais.

A Legislação Brasileira de Resíduos de Pesticidas estabelece 1,0 mg/kg como o Limite Máximo de Resíduo (LMR) para o endosulfan em soja, sendo este correspondente à soma de α -endosulfan, β -endosulfan e sulfato de endosulfan³. Conforme pode ser verificado na Figura 2 os níveis de resíduos de endosulfan total nos sistemas MIP e convencional estão abaixo do LMR estabelecido por esta legislação.

Os níveis de resíduos de endosulfan total encontrado no presente trabalho foram menores do que os níveis obtidos por Ferreira *et al.*⁶, em trabalho desenvolvido com soja pulveri-

zada uma e três vezes com endosulfan, na dosagem de 525 g i.a./ha. Estes pesquisadores detectaram níveis de endosulfan total de 0,256 mg/kg e 0,597 mg/kg para uma e três aplicações, respectivamente.

Os níveis de resíduos de endosulfan total na vagem nos sistemas MIP e convencional, foram respectivamente cerca de 6 e 7 vezes maiores do que os níveis encontrados nos grãos de soja.

No presente trabalho a maior quantidade de β -endosulfan em relação a α -endosulfan nas amostras de vagens e grãos, tanto no sistema MIP como no convencional, pode ser explicado pela fotodegradação, que segundo Lehr⁷, apenas o α -endosulfan sofre a descloração fotoquímica, enquanto que o β -endosulfan se apresenta como uma molécula mais estável.

Com respeito ao metabolismo em plantas, Maier-Bode⁹ conclui que o endosulfan é metabolizado na superfície da planta até o sulfato de endosulfan. Esta conclusão foi posteriormente confirmada por Aizawa¹. Em oposição aos estudos realizados por estes dois pesquisadores, verifica-se que de acordo com os resultados obtidos tanto para MIP, como para o sistema convencional, não foi detectada a presença de sulfato de endosulfan dentro do limite de quantificação do método de 0,5 mg/kg para soja e 0,1 mg/kg para a vagem. A ausência do sulfato de endosulfan indica que os isômeros α -endosulfan e β -endosulfan não sofreram oxidação em amostras de vagens e grãos. Como a oxidação é um processo químico diretamente ligado à exposição da molécula ao oxigênio, a presença do óleo, junto à molécula de agrotóxico, sugere que o mesmo possa estar atuando como uma barreira físico-química protetora, impedindo a interação entre oxigênio e o inseticida nas configurações isoméricas α -endosulfan e β -endosulfan.

A colheita de soja cultivada em ambos os sistemas foi satisfatória e durante todo o período de cultivo não ocorreu nenhuma incidência de pragas que pudesse inviabilizar a colheita final.

CONCLUSÕES

A vagem apresentou um efeito protetor à penetração de endosulfan no grão em ambos os sistemas.

O cultivo de soja através do sistema MIP é mais

aconselhável porque além de ter sido eficiente no combate às pragas, resultou em menor nível de contaminação.

O grão de soja está próprio para consumo, em ambos os sistemas, em relação à Legislação Brasileira de Resíduos de Pesticidas.

RIALA6/905

Corrêa, C.M.D.; Oliveira, J.J.V.; Tornisielo, V.L. Evaluation of Endosulfan residue in pod and soybean matrices for comparison of two application systems of formulated product. **Rev Inst. Adolfo Lutz**, 60(2):135-139, 2001.

ABSTRACT. The objective of this study was to evaluate the residue levels of the α -endosulfan, β -endosulfan and endosulfan sulphate in pod and soybean. Soybean was cultivated in 900m² divided in three equal parcels: control (without endosulfan), PIM and conventional system. The endosulfan residue levels were quantified by gas chromatography equipped with electron capture detector (Ni⁶³). It was showed 6 and 7 times more residues of total endosulfan in PIM and conventional systems, respectively, in pod than soybean. In both systems were not detected endosulfan sulphate within method quantified limit of 0,5 mg/kg and 0,1 mg/kg for soybean and pod, respectively. It concluded that pod showed protector effect to grains in both systems. Both treatments were efficient to pest control, however PIM was suggested to use in soybean because it results in low contamination level of food. The soybean was adequate for eat in relation at Pesticide Residue Brazilian Legislation.

KEY WORDS. Endosulfan residue, soybean, pod, conventional and PIM systems.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aizawa, H. **Metabolic maps of pesticides**. New York: Academic Press, 1982. 242 p.
2. Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais – ABIOVE. <http://www.abiove.com.br> (1998).
3. Brasil – Ministério da Saúde. **Relação de substâncias para uso domissanitário**: Portarias do Ministério da Saúde. 1985. São Paulo: International Life Sciences Institute – ILSI, 1995. 716p.
4. Costa, S.L. A soja na produção de alimentos. In: Seminário Nacional de Pesquisa de Soja, Londrina, 1978. **Anais**. Londrina: EMBRAPA-CNPSO, 1979, v. 2, p. 235-243.
5. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Recomendações técnicas para a cultura da soja na Região Central do Brasil 1996/97**. Londrina: EMBRAPA-CNPSO, 1996. 164 p.
6. Ferreira, M.S. *et al.* Resíduos de canfeclor, DDT, endrin, e endosulfan em grãos de soja. **Hig. Alim.**, 2(4): 201-209, 1983.
7. Lehr, W. **Statement concerning the chemical classification of endosulfan**. Frankfurt: HOECHST, 1993. p.1-3. (Report, PSR-93/034).
8. Luke, M.A.; Froberg, J.E.; Masumoto, H.T. Extraction and clean-up of organochlorine, organophosphate, organonitrogen and hidrocarbon pesticides in produce for determination by gas-liquid chromatography. **J. Assoc. Off. Anal. Chem.**, 58(5): 1020-1026, 1975.
9. Maier-Bode, H. Properties, effects, residues and analytics of the insecticide endosulfan. **Residue Reviews**, 22, p. 1-44, 1968.
10. Mariconi, F.A.M. **Algumas informações sobre endosulfan**. Piracicaba: ESALQ, Departamento de Zoologia, 1987. 19p.
11. Portela, F. **Bases bioquímicas para o melhoramento de variedades de soja (*Glycine max* (L) Merrill, 1977)**. 114p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto.
12. Van Zoonen, P. (Ed.). **Analytical methods for pesticide residues in foodstuffs**. 6. Ed. Netherlands: Ministry of Public Health, Welfare and Sport, 1996. Part 1, p. 1-22.

Recebido em 15/05/2001; Aprovado em 07/03/2002