

MÉTODO DE DOSAGEM TURBIDIMÉTRICA DE PEQUENAS QUANTIDADES DE DDT
E DE BHC, APÓS SUA SEPARAÇÃO E IDENTIFICAÇÃO POR CROMATOGRAFIA
EM CAMADA DELGADA⁽¹⁾

TURBIDIMETRIC METHOD FOR THE DOSAGE OF SMALL QUANTITIES OF DDT AND
BHC AFTER THEIR SEPARATION AND IDENTIFICATION THROUGH THE THIN-LAYER
CHROMATOGRAPHY PROCESS

PAULO DE ALMEIDA VIDAL ⁽²⁾
ALMIR JOSÉ RICCIARDI ⁽²⁾

SUMMARY

VIDAL, P.A. & RICCIARDI, A.J. — Turbidimetric method for the dosage of small quantities, of DDT and BHC after their separation and identification through the thin-layer chromatography process. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 32: 79-82, 1972.

A method for the separation and identification of small amounts of DDT and BHC through the thin layer chromatography in silica gel is presented. The diphenylamine was used as a chromogenic reagent with exposition to ultraviolet light. The two pesticides, after the development have been eluted from the chromatoplates and hydrolysed with potassium hydroxide; the chloride ion resulting was precipitated by silver nitrate and determined by turbidimetry. It was verified that there was a linear variation of the absorption in function of the amounts of the pesticides, in the order of a milligram tenths amounts.

INTRODUÇÃO

O objetivo do presente trabalho foi a separação e identificação do DDT e do BHC, quando em mistura, e a dosagem destes dois pesticidas, após sua separação e identificação.

Para essa separação e identificação, foi empregada a cromatografia em camada delgada, que permitiu ainda a separação dos principais isômeros do DDT e do BHC, uma vez que o hexano, usado como solvente de arrastamento, forneceu R_F diferentes para aqueles isômeros.

Como reagente cromogênico foi empregada apenas a difenilamina, preconizada por ADAMOVIĆ^{1,2}, que permitiu não só a revelação das manchas, como também a diferenciação entre o DDT e o BHC, por causa dos aspectos diferentes que aquelas manchas apresentaram quando reveladas à luz U.V. e das

colorações diferentes apresentadas à luz natural, depois da exposição à luz U.V.

As manchas reveladas foram retiradas das cromatoplas e, após hidrólise pelo hidróxido de potássio, pelo método de ALMEIDA, PIEDADE & SOUZA³, modificado, o cloro hidrolisado foi precipitado como cloreto de prata e dosado turbidimetricamente pela técnica apresentada por PRADO, LARINI, CARVALHO & SILVA⁴, verificando-se que a difenilamina não interferiu nesta dosagem.

MATERIAL E MÉTODOS

1. *Separação e identificação do DDT e do BHC por cromatografia em camada delgada*

a) *Material*

Cromatoplas de sílica gel G ⁽³⁾, segundo Stahl, de 6 cm de largura por 16 cm de altura,

(1) Trabalho realizado no Laboratório I de Ribeirão Preto, do Instituto Adolfo Lutz.

(2) Do Laboratório I de Ribeirão Preto, S.P.

(3) Merck.

preparadas misturando-se a sílica gel com água, na proporção de 1 g de sílica gel para 2 ml de água, aplicando-se sobre lâmina de vidro, deixando-se secar em temperatura ambiente durante 24 horas, obtendo-se camadas de 0,25 mm de espessura.

Lâmpadas de luz U.V.⁽¹⁾

Pipeta graduada de 2 ml

Tubos capilares

Nebulizador

Secador de ar quente

Soluções padrões de DDT e BHC: soluções a 0,1% p/v em benzeno, purificadas por recristalização em benzeno.

Solvente de arrastamento: Hexano⁽²⁾, com ponto de ebulição entre 60 e 80°C.

Reativo cromogênico: Solução de difenilamina a 1% p/v em acetona.

b) Método

Em pipeta graduada de 2 ml, foram medidos 0,4 – 0,8 – 1,2 – 1,6 – 2,0 ml da mistura em partes iguais das soluções padrões dos dois pesticidas, correspondendo respectivamente a 0,2 – 0,4 – 0,6 – 0,8 – 1,0 mg de cada pesticida.

Estes volumes foram concentrados em corrente de ar quente e as amostras foram aplicadas em cinco placas, por meio de tubos capilares, num ponto a 2 cm da borda inferior de cada placa.

Os cromatogramas foram desenvolvidos empregando-se o hexano como solvente de arrastamento, em temperatura ambiente de 25°C, até a linha de frente atingir a altura de 10 cm a partir do ponto de aplicação das amostras.

Paralelamente foi desenvolvido um cromatograma, em que foi aplicada uma amostra de solução de cloreto de sódio, para verificação de migração do íon cloreto.

As placas, depois de secas ao ar, foram nebulizadas com a solução de difenilamina e, em seguida, expostas à luz U.V., durante 10 minutos, para revelação e, posteriormente, observadas à luz branca e determinados os R_F.

2. Dosagem turbidimétrica do DDT e do BHC, separados por cromatografia em camada delgada

a) Material

Balões de fundo redondo, de 50 ml, munidos de condensadores de refluxo, com juntas esmeriladas

Banho-maria fervente

Balões volumétricos de 50 ml

Tubos de ensaio

Pipetas graduadas de 5 ml

Pipetas volumétricas de 10 ml

Pipeta volumétrica de 20 ml

Funis de vidro

Papel-filtro

Espectrofotômetro (3)

Etanol, isento de aldeídos

Solução alcoólica de hidróxido

de potássio 0,1 N

Solução alcoólica de fenolftaleína a 1% p/v

Solução de ácido nítrico 3 N

Solução de nitrato de prata a 3% p/v

b) Método:

As manchas de DDT e BHC obtidas foram raspadas separadamente das cromatoplasmas e transferidas para balões de 50 ml, com o auxílio de 10 ml de etanol. Foram adicionados 10 ml de solução alcoólica de hidróxido de potássio 0,1 N e os balões foram colocados em banho-maria, mantendo-se em ebulição com refluxo, durante 5 minutos.

Os balões foram resfriados em água corrente e o seu conteúdo foi transferido para balões volumétricos de 50 ml, com o auxílio de 20 ml de etanol. A cada balão foi adicionada uma gota de solução alcoólica de fenolftaleína a 1% p/v e foi feita a neutralização com solução de ácido nítrico 3 N.

O volume foi completado com água. O conteúdo dos balões foi filtrado e, a 10 ml de cada filtrado, colocado em tubo de ensaio, foi

(1) Philips HPW 125W, 57236E/70

(2) British Drug House

(3) Coleman Junior

adicionado 1 ml de solução de ácido nítrico 3 N e 1 ml de solução de nitrato de potássio a 3% p/v.

Os tubos foram invertidos uma vez e deixados em repouso na obscuridade, durante 30 minutos.

Paralelamente foi preparada uma prova em branco, com as mesmas operações realizadas para as manchas dos pesticidas, desde a raspagem da sílica gel da cromatoplaca.

A turbidez desenvolvida foi lida no espectrofotômetro, com comprimento de onda de 415 m μ .

RESULTADOS

1. Separação

A exposição à luz U.V. dos cromatogramas desenvolvidos, após a nebulização com a difenilamina, permitiu verificar não só a separação entre o DDT e o BHC, como ainda a diferenciação entre os dois pesticidas, quanto ao aspecto das manchas, pois à luz U.V., o DDT apresentou fluorescência amarelo-esverdeada sobre o fundo violeta da placa, enquanto que o BHC apresentou manchas violetas, porém bem mais escuras que o fundo da placa. Além disso, foram observadas, quanto ao DDT, duas manchas correspondentes aos seus dois principais isômeros, e quanto ao BHC, quatro manchas correspondentes aos seus quatro principais isômeros.

Após a exposição dos cromatogramas à luz U.V., eles foram observados à luz branca, apresentando-se as duas manchas correspondentes ao DDT com a coloração amarelo-esverdeada, com R_F iguais a 0,71 e 0,81, enquanto que as quatro manchas correspondentes ao BHC apresentaram coloração cinza com R_F iguais a 0,18; 0,28; 0,44 e 0,60, sobre o fundo da placa (Fig. 1).

A placa em que foi aplicada a amostra de solução de cloreto de sódio apresentou, após a nebulização com a solução de difenilamina e exposição à luz U.V., uma mancha violeta fluorescente com $R_F = 0,00$, sem coloração à luz branca.

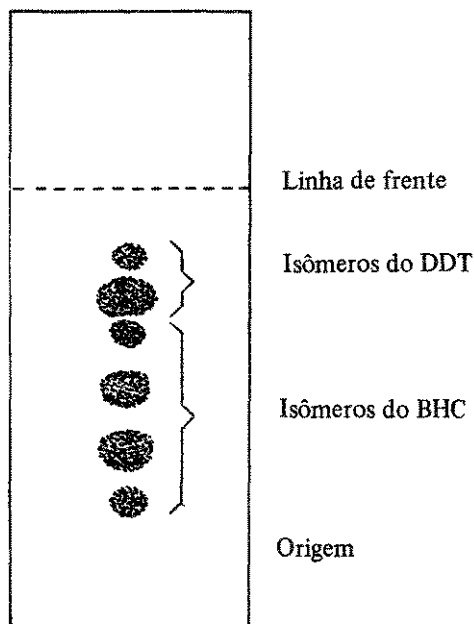


Fig. 1 – Cromatograma em camada delgada de sílica gel de misturas de BHC e DDT, reveladas por nebulização com solução acetônica de difenilamina e exposição à luz U.V.

2. Dosagens

Os resultados obtidos são apresentados no quadro abaixo, correspondendo o zero do aparelho à prova em branco.

Análise turbidimétrica do cloro hidrolisável de amostras de DDT e BHC

Quantidade da amostra mg	Densidade óptica X 100	
	DDT	BHC
0,20	1,0	2,0
0,40	2,0	5,0
0,60	2,8	7,0
0,80	4,2	10,0
1,00	4,6	11,0

Com estes dados, foi construído o gráfico apresentado na Fig. 2:

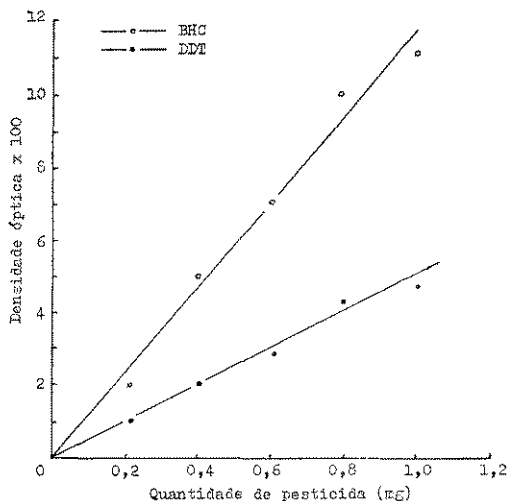


Fig. 2 – Curvas da análise turbidimétrica do cloro hidrolisável de amostras de BHC e DDT.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

A técnica descrita constitui um método simples para a separação e identificação do BHC e do DDT quando misturados, bem como para a determinação quantitativa desses dois pesticidas.

Como por esse procedimento pode ser feita a dosagem de DDT e BHC, em quantidades da ordem de décimos de miligrama, há a possibilidade de sua aplicação no doseamento de resíduos desses pesticidas em produtos alimentícios.

RESUMO

VIDAL, P.A. & RICCIARDI, A.J. – Método de dosagem turbidimétrica de pequenas quantidades de DDT e de BHC, após sua separação e identificação por cromatografia em camada delgada. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 32: 79-82, 1972.

É apresentado um método para a separação e identificação de pequenas quantidades de DDT e BHC, por cromatografia em camada

delgada em sílica gel, empregando-se como reagente cromogênico a difenilamina, com exposição à luz ultravioleta. Os dois pesticidas, após a revelação, foram eluídos das cromatoplasmas e hidrolisados por hidróxido de potássio; o íon cloreto formado foi precipitado por nitrato de prata e dosado turbidimetricamente. Verificou-se haver variação linear da absorção em função das quantidades dos pesticidas, da ordem de décimos de miligrama.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ADAMOVIĆ, V.M. – Aromatic amines as spray reagents in the thin-layer chromatography of chlorinated organic pesticides. *J. Chromat.*, 23: 274–279, 1966.
2. ADAMOVIĆ, V.M. apud PETIT, D. – Utilization de la diphénylamine en combinaison avec l'acide chlorhydrique comme agent général de révélation des pesticides. *Revue Ferment. Ind. Aliment.*, 25: 190–195, 1970.
3. ALMEIDA, N.F.; PIEDADE, J.R. & SOUZA, D. – *Química dos pesticidas*. São Paulo, Fundo de Pesquisas do Instituto Biológico de São Paulo, 1962.
4. PRADO, A.B.; LARINI, L.; CARVALHO, D. & SILVA, H.C. – Método turbidimétrico para a determinação de inseticidas clorados. *Cienc. Cult. (Supl.)*, 23: 43, 1971. Resumo.

Recebido para publicação em 16 de junho de 1972.