



Método multirresíduo para determinação dos herbicidas ametrina, diurom, hexazinona, imazapique e sulfentrazone em amostras de águas superficiais

Rômulo Penna Scorza Júnior¹

A produção de cana-de-açúcar em Mato Grosso do Sul foi de 43,812 mil toneladas na safra 2014/2015, o que representa aumento de 5,6% em relação à safra 2013/2014 (BIOSUL, 2015). Já a área colhida no estado, passou de 612 mil hectares na safra 2013/2014 para 624 mil hectares na safra 2014/2015, representando aumento de 1,9% nesse período. Assim, o Estado de Mato Grosso do Sul se enquadra entre os cinco maiores produtores de cana-de-açúcar no Brasil (CANA-DE-AÇÚCAR... 2015). Durante o cultivo da cana-de-açúcar, uma das práticas comumente utilizadas para o controle das plantas daninhas é o controle químico por meio da aplicação de herbicidas pré e pós-emergentes. Esses herbicidas são aplicados diretamente ao solo, onde os processos relacionados ao transporte, retenção e transformação no meio ambiente ocorrem de forma simultânea. No entanto, para entendimento desses processos e, conseqüentemente, avaliação de possíveis riscos ambientais desses produtos, há necessidade de métodos analíticos para quantificação de seus resíduos nos compartimentos ambientais água e solo. Assim, desenvolveu-se um estudo com o objetivo de validar um método analítico multirresíduo para determinação dos resíduos, em amostras de água superficial, dos herbicidas ametrina, diurom, hexazinona, imazapique e sulfentrazone (Figura 1), utilizados na cultura de cana-de-açúcar em Mato Grosso do Sul.

Como primeiro passo para validação da metodologia, preparou-se soluções estoques de cada herbicida, separadamente, nas concentrações de 1 mg mL⁻¹, diluindo-se 10 mg dos padrões analíticos em 10 mL de acetona grau HPLC. Os padrões analíticos dos agrotóxicos utilizados possuíam pureza de 99,9% para a hexazinona (Fluka®), 99,6% para o diurom (Fluka®), 99,9% para o imazapique (Fluka®), 98,5% para a ametrina (Fluka®) e 99,5% para a sulfentrazone (ChemService®). A partir das soluções estoques foram preparadas, individualmente, as soluções de trabalho por meio de diluições sucessivas em metanol grau HPLC, após evaporação da acetona da alíquota utilizada da solução estoque, obtendo-se as seguintes concentrações para construção das curvas analíticas de quantificação: 0,2; 0,5; 1; 2; 5 e 10 ng µL⁻¹. Todas as soluções foram armazenadas a -20 °C. Para identificação e quantificação dos cinco herbicidas foi utilizado um cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE), modelo Varian 920-LC® equipado com uma coluna de fase reversa C-18 Pursuit XRs® (250 mm x 4,6 mm x 5 µm), pré-coluna C-18 Pursuit XRs® (25 mm x 4,6 mm x 5 µm) e detector de arranjo de diodos. As condições para quantificação dos cinco herbicidas simultaneamente foram por eluição em gradiente com: 40% acetonitrila e 60% água ultrapura (resistividade de 18 mΩ cm) + 0,1% H₃PO₄ (v/v) de 0 a 12 minutos; 100% acetonitrila de 12 a

⁽¹⁾Engenheiro-agrônomo, doutor em Ciências Ambientais, pesquisador da Embrapa Agropecuária Oeste, Dourados, MS.

17 minutos; 40% acetonitrila e 60% água ultrapura + 0,1% H_3PO_4 (v/v) de 17 a 25 minutos. O fluxo foi de 1 mL min^{-1} , temperatura da coluna de $40 \text{ }^\circ\text{C}$ e volume de injeção de $20 \text{ } \mu\text{L}$. Os comprimentos de onda utilizados foram aqueles considerados de máxima absorção para cada herbicida, sendo: 221 nm para a ametrina, 227 nm para a sulfentrazone, 246 nm para a hexazinona, 250 nm para o diurom e 252 nm para o imazapique. Nessas condições, os tempos de retenção foram de: 4,65 minutos para o imazapique; 5,24 minutos para a ametrina; 6,80 minutos para a hexazinona; 12,65 minutos para a sulfentrazone e 13,24 minutos para o diurom (Figura 2). Observa-se boa resolução dos picos cromatográficos para os cinco herbicidas nessas condições, bem como boa separação considerando a determinação simultânea (Figura 2).

A quantificação dos cinco herbicidas individualmente foi realizada por meio da comparação das áreas dos picos nas amostras com suas respectivas curvas de calibração, obtidas com as injeções dos padrões analíticos. As curvas analíticas de quantificação são apresentadas na Figura 3. Observa-se que a faixa linear de concentração, para todos os herbicidas, ficou entre $0,2$ e $10 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ (equivalente a mg L^{-1}) com valores dos coeficientes de determinação (R^2) entre 0,9989 e 0,9995. Assim, todas as quantificações dos cinco herbicidas foram feitas nesse intervalo de concentração. O limite de quantificação do método analítico para todos os herbicidas, individualmente, foi de $0,5 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$ ou mg L^{-1} .

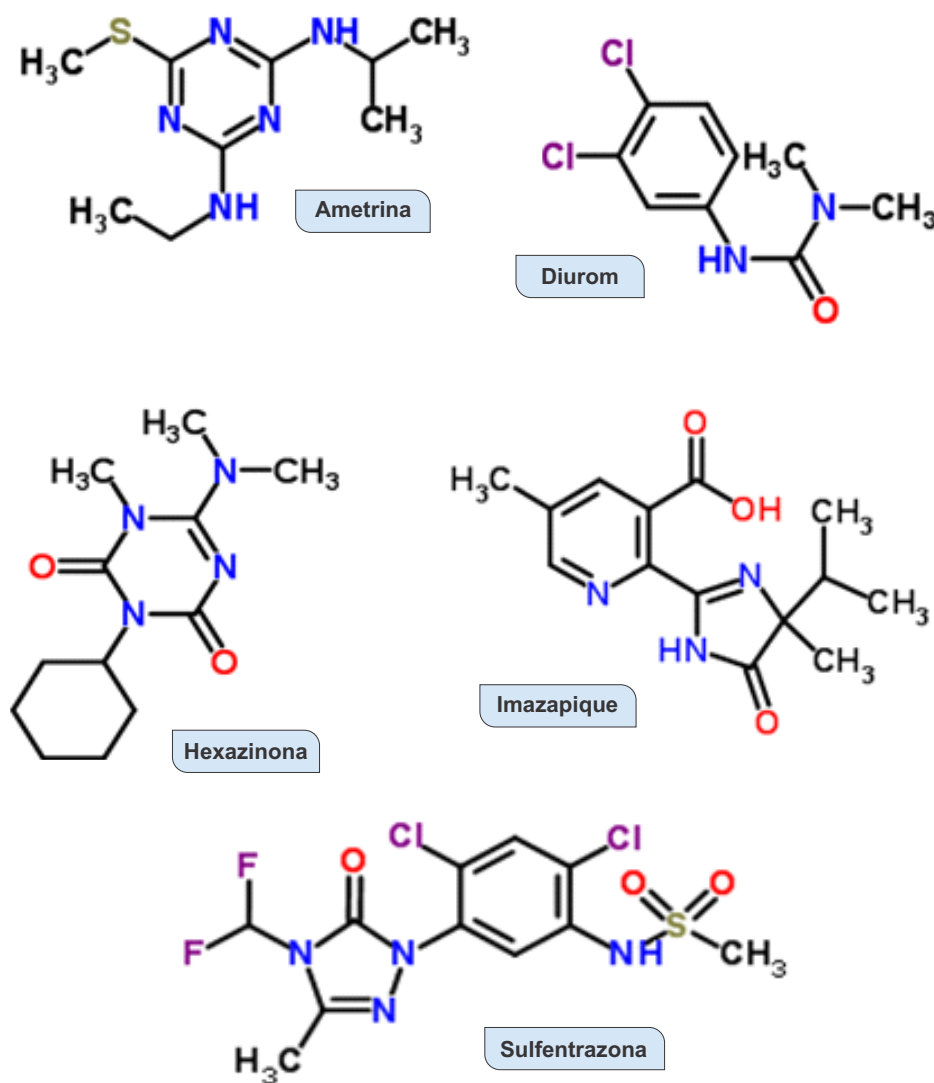


Figura 1. Estruturas químicas dos herbicidas ametrina, diurom, hexazinona, imazapique e sulfentrazone.

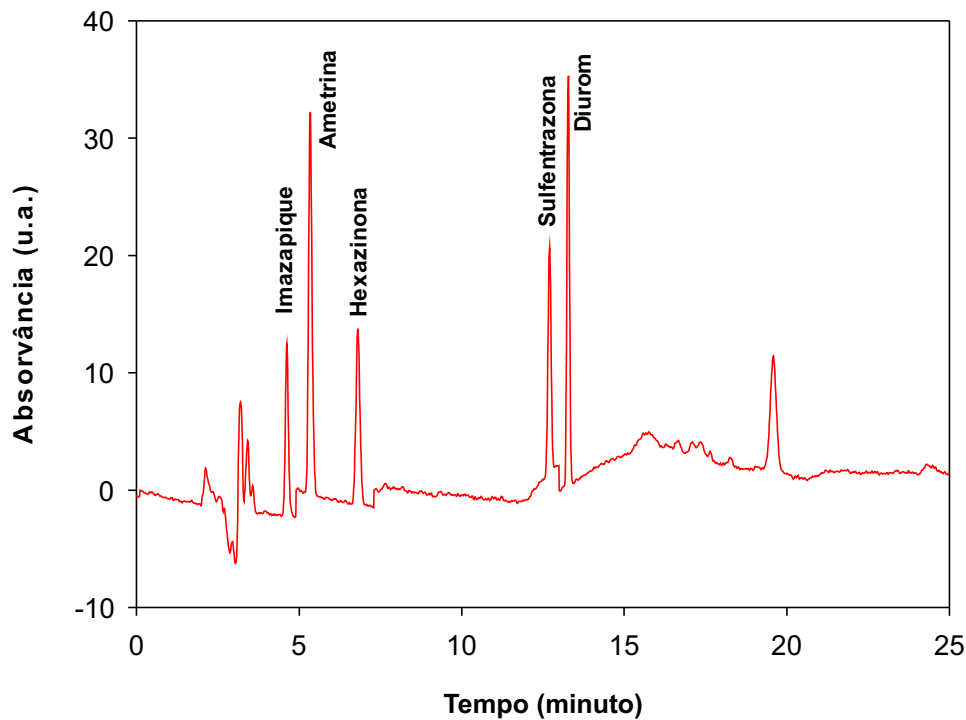


Figura 2. Cromatograma dos padrões analíticos de imazapíque, ametrina, hexazinona, sulfentrazone e diurom, nas concentrações de $2 \text{ ng } \mu\text{L}^{-1}$, por cromatografia líquida de alta eficiência.

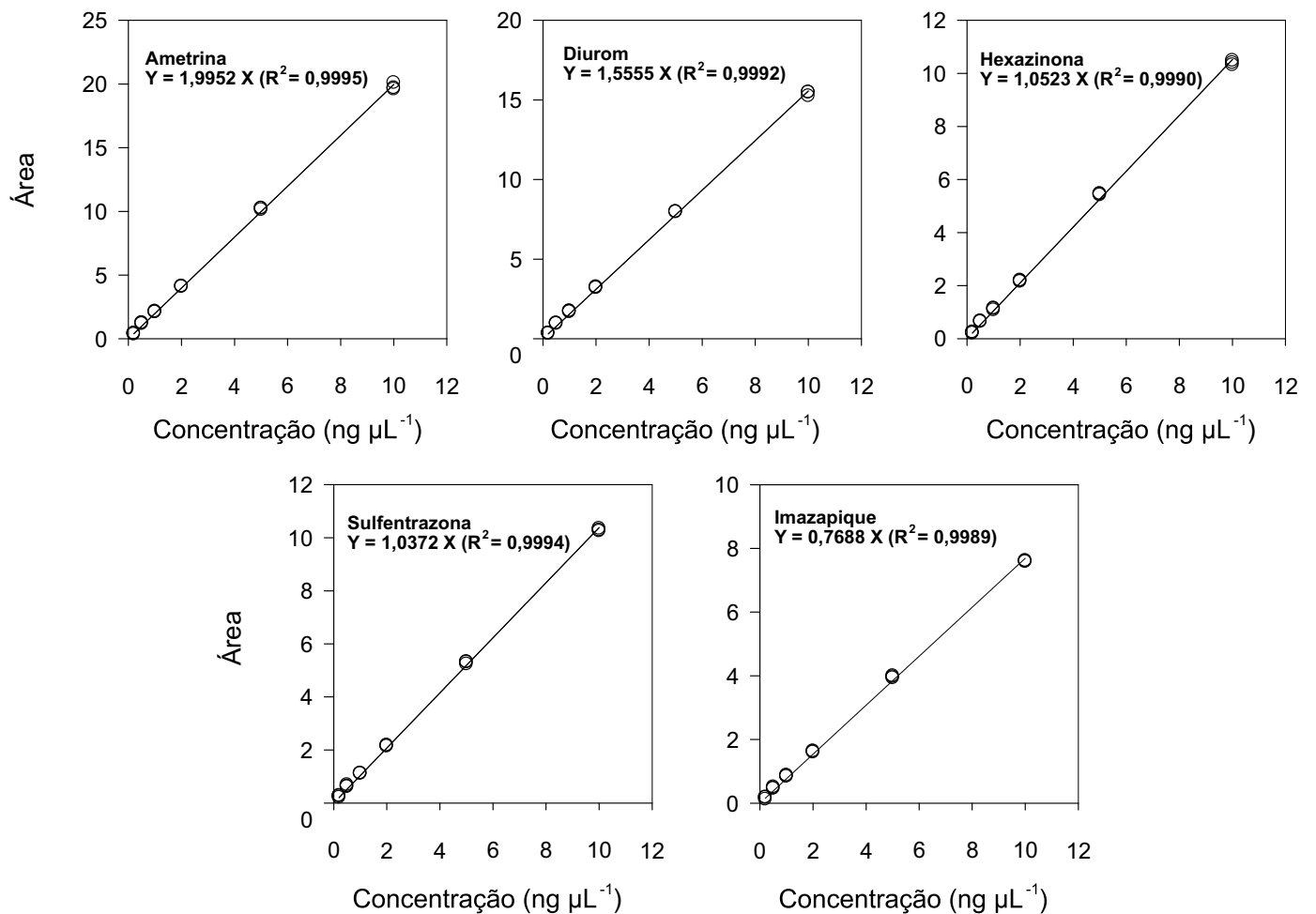


Figura 3. Curvas de analíticas de quantificação para ametrina, diurom, hexazinona, imazapíque e sulfentrazone em amostras de água superficiais

Como segundo passo para validação da metodologia, foram realizados testes de recuperação, em triplicata, utilizando amostras de água coletadas no dia 6/5/2015 em uma lagoa localizada na Embrapa Agropecuária Oeste, em Dourados, MS. Após fortificação das amostras de água (50 mL) nas concentrações de 0,5; 2 e 5 ng μL^{-1} de cada herbicida individualmente, essas foram filtradas, por gravidade, em papel de filtro qualitativo. As fortificações das amostras foram realizadas adicionando-se 25, 100 e 250 μL da solução estoque (1 mg mL^{-1}), de cada herbicida individualmente, para se obter as concentrações finais nas amostras de 0,5; 2 e 5 ng μL^{-1} , respectivamente. A acetona, proveniente das soluções estoques durante o processo de fortificação, foi totalmente evaporada antes da adição dos 50 mL de água. Após fortificação e completa homogeneização, retirou-se uma alíquota de 10 mL que foi imediatamente centrifugada a 20 °C com rotação de 3.000 g e por 30 minutos. Em seguida, as amostras foram filtradas usando-se filtro de seringa em celulose regenerada de 0,45 μm e armazenadas a 4 °C até o momento de injeção no CLAE. As condições cromatográficas foram as mesmas já descritas anteriormente.

Observa-se que o cromatograma da amostra de água não fortificada (Figura 4) é isento de picos cromatográficos nos tempos de retenção dos analitos avaliados (4,65 minutos para o imazapíque; 5,24 minutos para a

ametrina; 6,80 minutos para a hexazinona; 12,65 minutos para a sulfentrazone e 13,24 minutos para o diurom), mostrando ausência de possíveis interferentes e, portanto, boa seletividade do método analítico.

Observa-se que para todos os herbicidas estudados, os testes de recuperação variaram de 79,7% a 106%, considerando as três concentrações avaliadas nas fortificações (Tabela 1). Os intervalos aceitáveis dos testes de recuperação para análise de resíduos de agrotóxicos estão geralmente entre 70% e 120%, com coeficientes de variação menores que 20% (RIBANI et al., 2004). Assim, conclui-se que o método multirresíduo proposto para a análise dos cinco herbicidas, em amostras de água, está dentro do aceitável e, portanto, pode ser considerado validado para uso em estudos de monitoramento ambiental onde se aplicou, a priori, os herbicidas em questão. Para amostras desconhecidas, deve-se validar um método utilizando espectrometria de massas, que permite a confirmação dos compostos.

De maneira geral, as menores recuperações e maiores variações foram observadas nos testes de recuperação para a concentração de fortificação igual a 0,5 ng μL^{-1} . Importante mencionar que a eficiência da recuperação varia em função da concentração testada, sendo que, na maioria dos casos, são esperadas maiores variações com a diminuição das concentrações testadas (RIBANI et al., 2004).

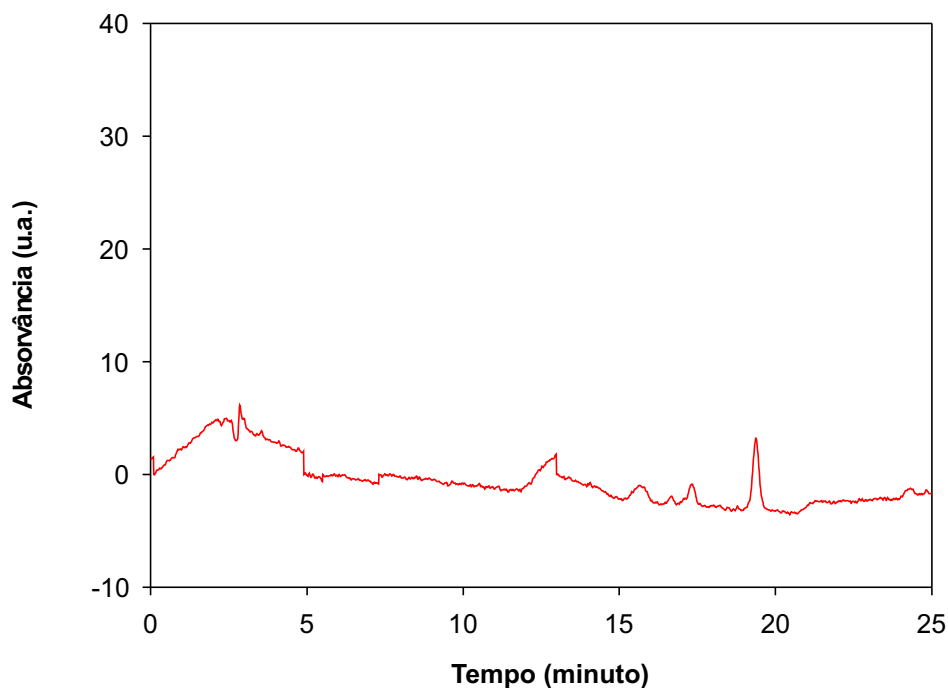


Figura 4. Cromatograma da amostra de água não fortificada analisada por cromatografia líquida de alta eficiência.

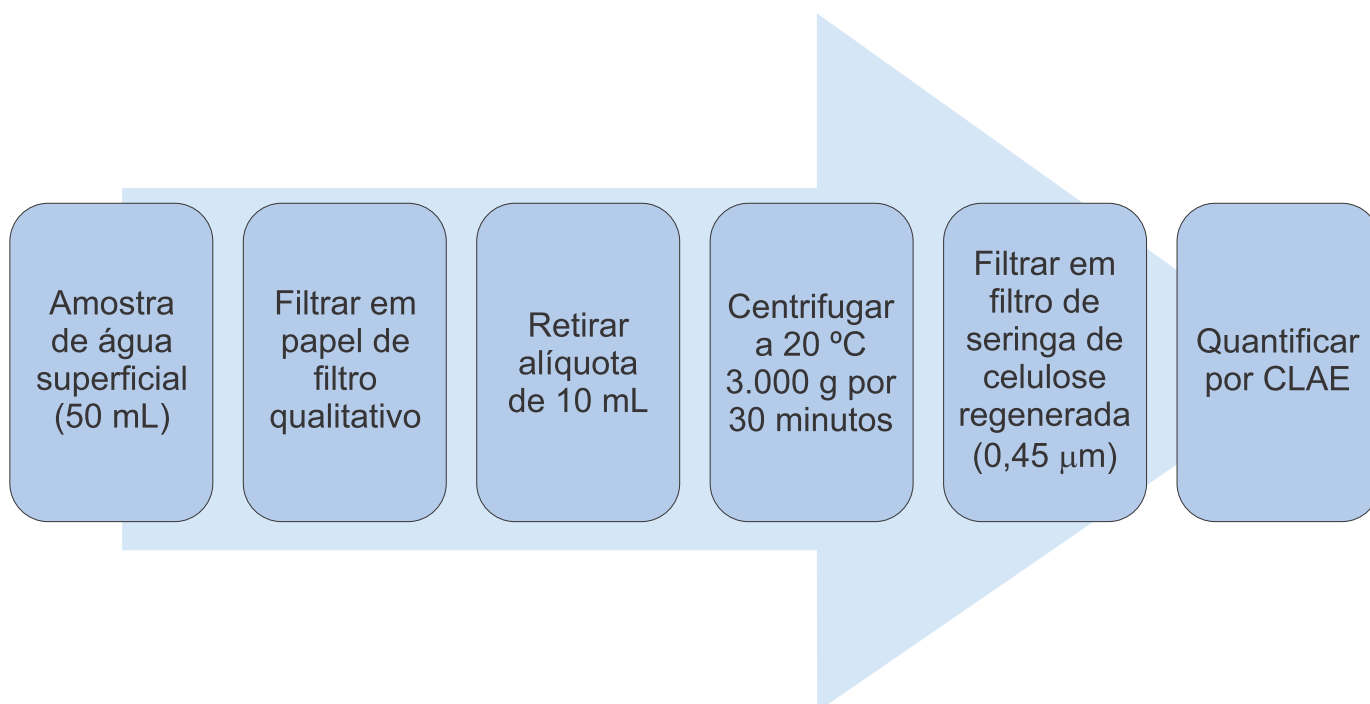
Tabela 1. Recuperações médias (%) em amostras de água superficial dos herbicidas ametrina, diurom, hexazinona, sulfentrazone e imazapique, após os testes de recuperação.

| Herbicida | Concentração (ng μL^{-1}) | Recuperação média (%) (n=3) |
|---------------|---------------------------------------|-------------------------------------|
| Ametrina | 0,5 | 80,7 \pm 0,9 (1,9) ⁽¹⁾ |
| | 2,0 | 95,3 \pm 1,7 (3,0) |
| | 5,0 | 91,7 \pm 0,3 (0,6) |
| Diurom | 0,5 | 79,7 \pm 5,6 (12,2) |
| | 2,0 | 99,3 \pm 0,7 (1,2) |
| | 5,0 | 100,0 \pm 0,6 (1,0) |
| Hexazinona | 0,5 | 81,3 \pm 4,7 (9,9) |
| | 2,0 | 99,3 \pm 0,9 (1,5) |
| | 5,0 | 99,3 \pm 0,7 (1,2) |
| Sulfentrazone | 0,5 | 91,0 \pm 3,2 (6,1) |
| | 2,0 | 106,0 \pm 1,2 (1,9) |
| | 5,0 | 100,0 \pm 1,0 (1,7) |
| Imazapique | 0,5 | 81,7 \pm 2,3 (4,9) |
| | 2,0 | 99,3 \pm 0,3 (0,6) |
| | 5,0 | 96,3 \pm 0,9 (1,6) |

⁽¹⁾Média \pm erro padrão (coeficiente de variação em %).

Uma vantagem do método proposto (Figura 5) é sua rapidez, já que não requer etapas de purificação dos extratos das amostras, além de ser robusto e permitir a determinação simultânea dos cinco herbicidas utilizados na cultura da cana-de-açúcar. Assim, há uma grande economia de tempo e de reagentes que deveriam ser gastos em métodos com determinações individuais dos

cinco herbicidas e envolvendo a purificação dos extratos. Outra peculiaridade do método proposto é a possibilidade de se determinar e quantificar, simultaneamente, os resíduos dos cinco herbicidas que possuem características físico-químicas diferentes (polaridade, solubilidade, etc.) em apenas uma única corrida cromatográfica.

**Figura 5.** Etapas do método multirresíduo para determinação dos herbicidas ametrina, diurom, hexazinona, imazapique e sulfentrazone em amostras de águas superficiais utilizando cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

Agradecimento

Ao técnico Paulo Henrique Vitro, pela ajuda nas análises laboratoriais e auxílio na condução dos testes de recuperação.

Referências

BIOSUL. **Produção safra 2014-2015**: comparativo de safras - safra 2014/2015. Campo Grande, MS, 2015. Disponível em: <http://www.biosulms.com.br/_arquivos/resultado/15861637055591461ddbfa81.90279557.pdf>. Acesso em: 10 set. 2015.

CANA-DE-AÇÚCAR: produção brasileira e área colhida. **Agrianual online**, p. 214, 2015.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

Comunicado Técnico, 205

Embrapa Agropecuária Oeste
Endereço: BR 163, km 253,6 - Caixa Postal 449
79804-970 Dourados, MS
Fone: (67) 3416-9700
Fax: (67) 3416-9721
www.embrapa.br/
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

1ª edição
(2015): on-line



Comitê de Publicações

Presidente: *Harley Nonato de Oliveira*
Secretária-Executiva: *Silvia Mara Belloni*
Membros: *Auro Akio Otsubo, Clarice Zanoni Fontes, Danilton Luiz Flumignan, Ivo de Sá Motta, Marciana Retore, Michely Tomazi, Oscar Fontão de Lima Filho e Tarcila Souza de Castro Silva*

Membros suplentes: *Augusto César Pereira Goulart e Crébio José Ávila*

Expediente

Supervisão editorial: *Eliete do Nascimento Ferreira*
Revisão de texto: *Eliete do Nascimento Ferreira*
Editoração eletrônica: *Eliete do Nascimento Ferreira*
Normalização bibliográfica: *Eli de Lourdes Vasconcelos*