

MARIA INÊS DA COSTA MARINHO

**QUANTIFICAÇÃO DA SORÇÃO, DESSORÇÃO, MEIA-VIDA E POTENCIAL DE
LIXIVIAÇÃO DOS HERBICIDAS IMAZETHAPYR E IMAZAPIC EM SOLOS**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2015

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

M338q
2015
Marinho, Maria Inês da Costa, 1979-
Quantificação da sorção, dessorção, meia-vida e potencial
de lixiviação dos herbicidas Imazethapyr e Imazapic em solos /
Maria Inês da Costa Marinho. – Viçosa, MG, 2015.
xv, 78f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Antonio Alberto da Silva.
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Herbicidas. 2. Solos - Efeito dos herbicidas. 3. Solos -
Sorção. 4. Solos - Dessorção. 5. Solos - Lixiviação.
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Química.
Programa de Pós-graduação em Agroquímica. II. Título.

CDD 22. ed. 668.654

MARIA INÊS DA COSTA MARINHO

QUANTIFICAÇÃO DA SORÇÃO, DESSORÇÃO, MEIA-VIDA E POTENCIAL DE LIXIVIAÇÃO DOS HERBICIDAS IMAZETHAPYR E IMAZAPIC EM SOLOS

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de *Doctor Scientiae*.

APROVADA: 11 de dezembro de 2015.

Silvério de Paiva Freitas

Renata Pereira Lopes Moreira

Francisco Cláudio Lopes de Freitas

Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz
(Coorientadora)

Antonio Alberto da Silva
(Orientador)

À Deus,

Ao meu pai Raymundo e à minha mãe Conceição (in memoriam) por me apoiar em todas as minhas decisões,

Aos meus irmãos e amigos que foram essenciais para alcançar mais essa vitória em minha vida,

Dedico.

*“Não temas porque Eu sou contigo;
Não te assombres porque Eu sou o teu Deus;
Eu te fortaleço, e te ajudo,
E te sustento com a minha destra fiel”.*
Isaías 41:10

AGRADECIMENTOS

À Deus, pela presença constante em minha vida e por todo amor que me permite sempre seguir com coragem e Fé.

A todos os amigos do grupo Manejo Integrado de Plantas Daninhas (MIPD).

A todos os meus amigos pelos momentos felizes vividos aqui em Viçosa. Em especial à Anna Isabel Guido Costa pelo auxílio no desenvolvimento do presente trabalho. Agradeço também ao Francisco Glicério Ribeiro, Murilo Feitosa Cabral e Nívea Vieira pelo auxílio.

Aos estagiários, em especial, aos bolsistas Wendel Magno de Souza e Maria Carolina Gomes Paiva pelo apoio nos trabalhos de pesquisa.

Aos Laboratórios Herbicida na Planta e Herbicida no Solo, do Departamento de Fitotecnia da UFV, e ao Núcleo de Análises de Biomoléculas.

À Universidade Federal de Viçosa, particularmente, ao Departamento de Química, pela recepção e pela oportunidade.

Ao Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, pela oportunidade de realização do curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, pela concessão da bolsa de estudos, à FAPEMIG e ao CNPq pelo apoio financeiro para realização desse trabalho.

Ao Prof. Dr. Antonio Alberto da Silva pela orientação profissional, pelo seu apoio, incentivo e compreensão em todos os momentos. E pela amizade no decorrer desses anos de curso.

Ao Prof. Dr. Claudio Ferreira Lima e à Profa. Dra. Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz pela co-orientação ao longo do curso.

Aos professores das disciplinas do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, pelos ensinamentos.

Aos membros da banca Professores: Antonio Alberto da Silva; Francisco Cláudio Lopes de Freitas, Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz, Renata Pereira Lopes Moreira e Silvério de Paiva Freitas, pelas correções e considerações.

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram pelo êxito do trabalho, os meus sinceros agradecimentos.

BIOGRAFIA

Maria Inês da Costa Marinho, filha de Raymundo Marinho e Conceição da Costa Marinho, nasceu em Guaraciaba, Minas Gerais.

Em agosto de 2000, iniciou o Curso de Química, Licenciatura e Bacharel, pela Universidade Federal de Juiz de Fora - UFJF, diplomando-se como licenciada em 29 de janeiro de 2005 e Bacharel em 30 de julho de 2005.

Em 29 de setembro de 2006, iniciou o curso de pós-graduação “Lato Sensu” em Biotecnologia, na Universidade Federal de Lavras – UFLA, submetendo-se à defesa da monografia em 05 de outubro de 2007.

Em 29 de fevereiro de 2008, iniciou o curso de pós-graduação em Química Analítica, em nível de mestrado, na Universidade de São Paulo - USP, submetendo-se à defesa de dissertação em 11 de novembro de 2010.

Em agosto de 2011, iniciou o curso de pós-graduação em Agroquímica, em nível de doutorado, na Universidade Federal de Viçosa – UFV, submetendo-se à defesa de tese em 11 de dezembro de 2015.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	x
LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS.....	xii
RESUMO.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
CAPÍTULO 1: SORÇÃO E DESSORÇÃO DE IMAZETHAPYR E IMAZAPIC EM SOLOS COM DIFERENTES CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E QUÍMICAS.....	3
RESUMO.....	3
ABSTRACT.....	4
1.1. Introdução.....	5
1.2. Material e Métodos.....	8
1.2.1. Herbicidas.....	8
1.2.2. Caracterização dos solos.....	8
1.2.3. Sorção e dessorção de imazethapyr e imazapic em solo.....	10
1.2.3.1. Sorção.....	10
1.2.3.2. Análise por cromatografia líquida de alta eficiência.....	10
1.2.3.3. Dessorção.....	11
1.2.3.4. Determinação dos coeficientes de sorção.....	11
1.2.3.5. Análise de dados.....	12
1.3. Resultados e Discussão.....	12
1.3.1. Sorção e Dessorção de imazethapyr e imazapic em solos.....	12
1.3.1.1. Sorção.....	12
1.3.1.1.1. Tempo de equilíbrio.....	12
1.3.1.1.2. Isotermas linearizadas de Freundlich.....	15
1.3.1.2. Dessorção.....	19
1.4. Conclusão.....	21
1.5. Referências Bibliográficas.....	22
CAPÍTULO 2: MEIA-VIDA E POTENCIAL DE LIXIVIAÇÃO DE IMAZETHAPYR E IMAZAPIC EM SOLOS.....	27
RESUMO.....	27
ABSTRACT.....	28
2.1. Introdução.....	29
2.1.1. Preparo de amostra para análise de resíduos de agrotóxicos.....	29
2.1.1.1. Método de extração QuEChERS.....	30

2.1.1.2. Método QuEChERS aplicado às amostras de solo.....	33
2.1.1.3. Preparo de amostra para extração de herbicidas IMIs em solo.....	35
2.1.2. Métodos cromatográficos para determinação de resíduos de agrotóxicos.....	37
2.1.2.1. Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massas Sequencial.....	37
2.1.2.2. Analisadores de Massas do Tipo Quadrupolo.....	40
2.1.2.3. Efeito Matriz em LC-MS/MS.....	42
2.1.3. Validação de métodos cromatográficos de análise.....	43
2.1.3.1. Curva analítica e linearidade.....	43
2.1.3.2. Sensibilidade.....	44
2.1.3.3. Limite de Detecção e Limite de Quantificação.....	44
2.1.3.4. Exatidão (Recuperação).....	45
2.1.3.5. Precisão.....	45
2.1.3.5.1. Repetitividade.....	46
2.1.3.5.2. Precisão intermediária.....	46
2.1.3.5.3. Reprodutibilidade.....	46
2.1.3.6. Robustez.....	47
2.2. Material e Métodos.....	47
2.2.1. Instrumentação.....	47
2.2.2. Reagentes, solventes e materiais utilizados.....	48
2.2.3. Padrões analíticos dos herbicidas IMIs.....	48
2.2.4. Otimização do sistema cromatográfico LC-MS/MS para determinação dos herbicidas IMIs.....	48
2.2.4.1. Escolha da composição da fase móvel e da vazão.....	49
2.2.4.2. Acidificação da fase móvel.....	50
2.2.4.3. Condições do sistema de detecção.....	50

2.2.5. Otimização do método QuEChERS modificado para extração dos herbicidas IMIs em amostras de solo.....	51
2.2.5.1. Amostras de solo usadas na etapa de validação.....	51
2.2.6. Validação do método QuEChERS modificado empregando LC-MS/MS para análise dos herbicidas imazethapyr e imazapic em solo.....	52
2.2.6.1. Curva analítica e linearidade.....	52
2.2.6.2. Limite de detecção e limite de quantificação.....	52
2.2.6.3. Avaliação da exatidão do método.....	52
2.2.6.4. Precisão (repetitividade e precisão intermediária).....	55
2.2.7. Estudos da persistência e da mobilidade dos herbicidas imazethapyr e imazapic em solos.....	56
2.3. Resultados e Discussão.....	57
2.3.1. Condições do sistema LC-MS/MS.....	57
2.3.2. Validação do Método QuEChERS modificado empregando LC-MS/MS.....	60
2.3.2.1. Curva analítica e linearidade.....	60
2.3.2.2. Determinação dos valores de limite de detecção e de quantificação do instrumento e do método.....	61
2.3.2.3. Ensaio de fortificação para avaliação da exatidão do método.....	63
2.3.2.4. Precisão (repetitividade e precisão intermediária).....	63
2.3.3. Aplicação do método QuEChERS modificado.....	64
2.3.3.1. Persistência do imazethapyr e do imazapic em solos.....	64
2.3.3.2. Mobilidade do imazethapyr e do imazapic em solos.....	68
2.4. Conclusão.....	71
2.5. Referências Bibliográficas.....	72
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	78

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1. SORÇÃO E DESSORÇÃO DE IMAZETHAPYR E IMAZAPIC EM SOLOS COM DIFERENTES CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E QUÍMICAS.

Tabela 1.1. Propriedades físico-químicas do imazethapyr e do imazapic	6
Tabela 1.2. Caracterização mineralógica, química, física e textural dos solos.....	9
Tabela 1.3. Equações das curvas de cinética de sorção do imazethapyr e do imazapic nas diferentes amostras de solo	15
Tabela 1.4. Parâmetros da isoterma linearizada de Freundlich e valores de K_{f-OC} para imazethapyr e imazapic em diferentes solos.....	18
Tabela 1.5. Dados do estudo de dessorção de acordo com o modelo linear para imazethapyr e imazapic em diferentes amostras de solo	21

CAPÍTULO 2. MEIA-VIDA E POTENCIAL DE LIXIVIAÇÃO DE IMAZETHAPYR E IMAZAPIC EM SOLOS.

Tabela 2.1. Condições empregadas no sistema cromatográfico LC-MS/MS	50
Tabela 2.2. Herbicidas IMIs analisados por LC-MS/MS, modo de ionização ESI (+) e modo de aquisição MRM, íons precursores e íons produtos, e energia de colisão para as duas transições monitoradas.....	58
Tabela 2.3. Parâmetros das curvas analíticas e faixa linear do imazethapyr e do imazapic no extrato da matriz, empregando QuEChERS modificado com análise por LC-MS/MS	61
Tabela 2.4. Valores de LOD e LOQ do instrumento e do método.....	61
Tabela 2.5. Percentuais de recuperação e RSD_r para a repetitividade do método	63
Tabela 2.6. Percentuais de recuperação e RSD_{pi} para a precisão intermediária do método	64
Tabela 2.7. Equações de regressão, coeficientes de determinação (r^2) e meia-vida dos herbicidas imazethapyr e imazapic nas amostras dos solos Plintossolo Háplico Distrófico (FX) e Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (LVA) para os diferentes dias de coleta	65
Tabela 2.8. Valores das concentrações dos herbicidas imazethapyr e imazapic em $\mu\text{g kg}^{-1}$ nas amostras dos solos Plintossolo Háplico Distrófico (FX) e Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (LVA) nos diferentes dias de coleta.....	66
Tabela 2.9. Concentração média de imazethapyr e imazapic em amostras de solo coletadas em diferentes profundidades.....	68
Tabela 2.10. Avaliação da porcentagem do imazethapyr e do imazapic em cada profundidade das amostras dos solos Plintossolo Háplico Distrófico (FX) e Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (LVA).....	70

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1. SORÇÃO E DESSORÇÃO DE IMAZETHAPYR E IMAZAPIC EM SOLOS COM DIFERENTES CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E QUÍMICAS.

Figura 1.1. Estruturas químicas dos herbicidas imazethapyr (A) e imazapic (B): forma catiônica, neutra e aniônica.	6
Figura 1.2. Estimativas das curvas de cinética de sorção para o imazethapyr em diferentes solos em função do tempo.....	13
Figura 1.3. Estimativas das curvas de cinética de sorção para o imazapic em diferentes solos em função do tempo.	14
Figura 1.4. Isotermas de sorção do imazethapyr para os solos: Argissolo Vermelho (PV), Neossolo Regolítico (RR), Cambissolo Húmico (CH), Gleissolo Háplico Tb Distrófico (GX), Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (LVA) e Plintossolo Háplico Distrófico (FX).	16
Figura 1.5. Isotermas de sorção de imazapic para os solos: Argissolo Vermelho (PV), Neossolo Regolítico (RR), Cambissolo Húmico (CH), Gleissolo Háplico Tb Distrófico (GX), Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (LVA) e Plintossolo Háplico Distrófico (FX).	17
Figura 1.6. Porcentagens de dessorção de imazethapyr para os solos: Argissolo Vermelho (PV), Plintossolo Háplico Distrófico (FX), Gleissolo Háplico Tb Distrófico (GX), Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (LVA), Neossolo Regolítico (RR), Cambissolo Húmico (CH). .	20
Figura 1.7. Porcentagens de dessorção de imazapic para os solos: Argissolo Vermelho (PV), Plintossolo Háplico Distrófico (FX), Gleissolo Háplico Tb Distrófico (GX), Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (LVA), Neossolo Regolítico (RR), Cambissolo Húmico (CH).	20

CAPÍTULO 2. MEIA-VIDA E POTENCIAL DE LIXIVIAÇÃO DE IMAZETHAPYR E IMAZAPIC EM SOLOS.

Figura 2.1. Esquema representativo do método QuEChERS original.....	31
Figura 2.2. Componentes básicos de um sistema LC-MS/MS.....	38
Figura 2.3. Interface do tipo electrospray utilizada para o acoplamento LC-MS	39
Figura 2.4. Esquema de um analisador de massa do tipo quadrupolo mostrando a trajetória dos íons em direção ao detector	41
Figura 2.5. Representação esquemática do método QuEChERS modificado utilizado na determinação de imazethapyr e imazapic em solo.....	54
Figura 2.6. Algumas etapas da extração e “clean up” do método QuEChERS modificado (A) tubo de polipropileno com amostra de solo (B) tubos contendo amostra de solo, solução de Ca(OH) ₂ , ACN, e os sais MgSO ₄ e NaCl da etapa de partição (C) extrato após centrifugação	

(D) tubos contendo MgSO ₄ para a etapa de “clean-up” (E) evaporação dos extratos até a secura no “speed vac” (F) eluição do extrato no cartucho C18-E.....	55
Figura 2.7. Cromatogramas obtidos por LC-MS/MS (ESI+) no modo MRM para uma solução analítica na matriz do solo contendo 95 µg L ⁻¹ de imazethapyr t _R = 1,3 min e de imazapic, t _R = 1,1 min.....	59
Figura 2.8. Espectros MS/MS dos herbicidas (A) imazethapyr e (B) imazapic em amostra de solo no modo MRM.....	60
Figura 2.9. Curvas analíticas dos herbicidas imazethapyr e imazapic na faixa de concentração de 10,0 a 210,0 µg kg ⁻¹ usando o método QuEChERS modificado	62
Figura 2.10. Dispersão dos resíduos da regressão da resposta analítica em função da concentração de imazethapyr e imazapic na faixa de 10,0 a 210,0 µg kg ⁻¹	62
Figura 2.11. Estimativa da meia-vida do imazethapyr nos solos Plintossolo Háplico Distrófico (FX) e Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (LVA).....	66
Figura 2.12. Estimativa da meia-vida do imazapic nos solos Plintossolo Háplico Distrófico (FX) e Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (LVA)	67
Figura 2.13. Lixiviação do imazethapyr em diferentes profundidades nos solos Plintossolo Háplico Distrófico (FX) e Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (LVA)	69
Figura 2.14. Lixiviação do imazapic em diferentes profundidades nos solos Plintossolo Háplico Distrófico (FX) e Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (LVA)	69

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

- ACN - Acetonitrila
- AHAS - Aceto-Hidroxiácido Sintetase
- ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- AOAC - *Association of Official Analytical Chemists*
- APCI - Ionização Química a Pressão Atmosférica
- API - Ionização a Pressão Atmosférica
- C_e - Concentração do herbicida encontrado na solução de equilíbrio
- CH - Cambissolo Húmico
- CO - Carbono Orgânico
- C_s - Concentração do herbicida sorvido no solo
- D-SPE – Extração em Fase Sólida Dispersiva, do inglês *Dispersive Solid Phase Extraction*
- EMBRAPA – Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
- ESI - Ionização por Eletronebulização, do inglês *Electrospray Ionization*
- ESI+ - Ionização por Eletronebulização no modo positivo, do inglês *Electrospray Ionization Positive Mode*
- FX - Plintossolo Háplico Distrófico
- GARP - Grupo de Analistas de Resíduos de Pesticidas
- GC – Cromatografia Gasosa, do inglês *Gas Chromatography*
- GC- μ ECD - Cromatografia Gasosa com Micro Detecção por Captura de Elétrons, do inglês *Gas Chromatography with micro-Electron Capture Detection*
- GC-QqQ-MS/MS - Cromatografia Gasosa acoplada a um analisador triplo quadrupolo operando em “tandem” com o Espectrômetro de Massa, do inglês *Gas Chromatography coupled to triple quadrupole analyzer operating in tandem Mass Spectrometry*
- GC-MS - Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas, do inglês *Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry*
- GC-NPD - Cromatografia Gasosa com Detecção por Nitrogênio-Fósforo, do inglês *Gas Chromatography Nitrogen Phosphorus Detection*
- GUS - *Groundwater Ubiquity Score*
- GX - Gleissolo Háplico Tb Distrófico
- HPLC - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, do inglês *High Performance Liquid Chromatography*.
- HPLC-UV/DAD - Cromatografia líquida de alta eficiência com detector espectrofotométrico de absorção no ultravioleta/visível com arranjo de fotodiodos, do inglês *High Performance Liquid Chromatography with UV detection of absorption in the Ultraviolet/Visible with a Photodiode Array*
- IMIs - Imidazolinonas

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade

K_{f-OC} - Constante de Freundlich normalizada para o teor de Carbono Orgânico do solo

LC-FLD - Cromatografia Líquida com Detecção por Fluorescência, do inglês *Liquid Chromatography coupled with Fluorescence Detection*

LC-MS/MS - Cromatografia Líquida acoplada a Espectrometria de Massa Sequencial, do inglês *Liquid Chromatography-tandem Mass Spectrometry*.

LC-QqQ-MS/MS - Cromatografia Líquida acoplada a um analisador triplo quadrupolo operando em “tandem” com o Espectrômetro de Massa, do inglês *Liquid Chromatography coupled to triple quadrupole analyzer operating in tandem Mass Spectrometry*

LMR - Limite Máximo de Resíduos

LOD - Limite de Detecção, do inglês *Limit of Detection*

LOQ - Limite de Quantificação, do inglês *Limit of Quantification*

LVA - Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico

MAE - Extração Assistida por Microondas, do inglês *Microwave Assisted Extraction*

MRM - Monitoramento de Reações Múltiplas, do inglês *Multiple Reactions Monitoring*

QqQ - triplo quadrupolo

MS - Espectrometria de Massas, do inglês *Mass Spectrometry*

m/z - razão massa-por-carga

QuEChERS - Rápido, Fácil, Econômico, Robusto e Seguro, do inglês *Quick, Easy, Cheap, Rugged and Safe*

PSA - Amina Secundária Primária, do inglês *Primary Secondary Amine*

PSE - Extração por Solvente Pressurizado, do inglês *Pressurized Solvent Extraction*

PV - Argissolo Vermelho

RR - Neossolo Regolítico

RSD - Desvio Padrão Relativo, do inglês *Relative Standard Deviation*

RSD_r - Desvio Padrão Relativo para Repetitividade

RSD_{pi} - Desvio Padrão Relativo para Precisão Intermediária

r - Coeficiente de correlação

r^2 - Coeficiente de determinação

SFE - Extração por Fluido Supercrítico, do inglês *Supercritical Fluid Extraction*

SIM - do inglês *Single Ion Monitoring*

UPLC-MS/MS - Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência acoplada à Espectrometria de Massas Sequencial, do inglês *Ultra-Performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry*

UV-Vis - Ultravioleta visível.

t_R - Tempo de retenção

$t_{1/2}$ - Tempo de meia-vida

RESUMO

MARINHO, Maria Inês da Costa, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, dezembro de 2015. **Quantificação da sorção, dessorção, meia-vida e potencial de lixiviação dos herbicidas imazethapyr e imazapic em solos.** Orientador: Antonio Alberto da Silva. Coorientadores: Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz e Claudio Ferreira Lima.

O conhecimento das interações herbicida-solo é de grande importância para recomendações seguras do ponto de vista técnico e ambiental. No presente trabalho, foi realizado o estudo de sorção e dessorção, e a avaliação da meia-vida e do potencial de lixiviação de dois herbicidas do grupo das imidazolinonas, imazethapyr e imazapic, em solos: Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (LVA), Plintossolo Háplico Distrófico (FX), Gleissolo Háplico Tb Distrófico (GX), Cambissolo Húmico (CH), Argissolo Vermelho (PV) e Neossolo Regolítico (RR) com diferentes características físico-químicas. O “batch equilibrium” foi o método utilizado no estudo de sorção-dessorção dos herbicidas. Os coeficientes de sorção (K_f) foram obtidos a partir da isoterma linearizada de Freundlich. No estudo de dessorção foram utilizados apenas os solos na concentração mais alta (15 mg L^{-1}). As porcentagens do imazethapyr e do imazapic foram obtidas a partir de ciclos sucessivos, no tempo de equilíbrio otimizado no estudo de sorção, com solução de CaCl_2 $0,01 \text{ M}$ sem os herbicidas. Para avaliar a lixiviação e a meia-vida dos herbicidas, previamente mencionados, um método multirresíduo (QuEChERS) foi desenvolvido, validado e aplicado para a determinação quantitativa de imazethapyr e imazapic em amostras de solo usando a cromatografia líquida acoplada a um analisador triplo quadrupolo operando em tandem com o espectrômetro de massa (LC-QqQ-MS/MS), e ionização por eletronebulização no modo positivo (ESI+). Os resultados do estudo de sorção indicaram fraca sorção dos herbicidas imidazolinonas nos solos avaliados com os valores de K_f variando de $0,38$ a $2,52 \text{ mg}^{1-n} \text{ kg}^{-1} \text{ L}^n$ para imazethapyr e de $0,43$ a $2,72 \text{ mg}^{1-n} \text{ kg}^{-1} \text{ L}^n$ para o imazapic. Alta porcentagem de dessorção ($> 70\%$) foi encontrada para os solos RR, FX, LVA, para ambos os herbicidas, e no solo GX apenas para o imazapic, que implica em riscos de lixiviação destes herbicidas imidazolinonas para águas subterrâneas. A dessorção mais baixa ($< 50\%$) foi encontrada nos solos CH e PV para ambos os herbicidas, e no solo GX apenas para o imazethapyr ($\sim 50\%$), indicando que estes herbicidas apresentam potencial para provocar injúria em culturas em sucessão. O pH, o teor de ferro oxalato e os tipos de argila do solo podem afetar o processo de sorção-dessorção do imazethapyr e do imazapic nos solos avaliados. Os tempos de meia-vida do imazethapyr foram de $29,13$ e $69,11$ dias e do imazapic foram de $29,41$ e $35,53$ dias nos solos FX e LVA, respectivamente. Portanto, ambos os herbicidas são medianamente persistentes e apresentam alto potencial de lixiviação nestes dois solos com quantificação dos mesmos em até 20 cm de profundidade. Sendo assim, o imazethapyr e o imazapic têm potencial de contaminação de águas subterrâneas.

ABSTRACT

MARINHO, Maria Inês da Costa, D.Sc., Universidade Federal de Viçosa, December, 2015. **Quantification of the sorption, desorption, half-life and leaching potential of imazethapyr and imazapic herbicides in soils.** Adviser: Antonio Alberto da Silva. Co-advisers: Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz and Claudio Ferreira Lima.

Knowledge of herbicide-soil interactions is of great importance to secure recommendations from a technical and environmental point of view. In the present work it was performed a study of sorption and desorption, and an evaluation of the half-life and the leaching potential of two herbicides, which are part of the group of imidazolinones (imazethapyr and imazapic) in the following soils: Red-Yellow Latosol (LVA), Dystric Plinthosol (FX), Eutric Gleysol (GX), Humic Cambisol (CH), Red Argisol (PV) and Entisol (RR) with different physicochemical characteristics. The batch equilibrium was the method used in the study of sorption-desorption of these herbicides. The sorption coefficients (K_f) were obtained from the linearized isotherm of Freundlich. In the study of desorption only soils at higher concentration of 15 mg L^{-1} were used. The percentages of imazethapyr and imazapic were obtained from successive desorption cycles in the optimized equilibrium time in the study of sorption, with solution of CaCl_2 0.01 M without herbicides. In order to evaluate the leaching and the half-life of the herbicides, which were previously mentioned, a multiresidue method (QuEChERS) was developed, validated and applied to the quantitative determination of imazethapyr and imazapic in soil samples using the liquid chromatography coupled to a triple quadrupole analyzer operating in tandem with the mass spectrometry (LC-QqQ-MS/MS), and also electrospray ionization in the positive mode (ESI+). The results of this study about sorption indicated a weak sorption of the imidazolinone herbicides in the soils that had been evaluated. It was possible to find on these ones, values of K_f varying from 0.38 to $2.52 \text{ mg}^{1-n} \text{ kg}^{-1} \text{ L}^n$ for imazethapyr and from 0.43 to $2.72 \text{ mg}^{1-n} \text{ kg}^{-1} \text{ L}^n$ for imazapic. A high percentage of desorption (> 70%) was found in Entisol, in Dystric Plinthosol, in Red-Yellow Latosol (for both herbicides), and in Eutric Gleysol (only for imazapic) soils as well, which implies in leaching risks of these imidazolinone herbicides for the groundwater. The lowest desorption (< 50%) was found in Humic Cambisol and in Red Argisol (for both herbicides), and in Eutric Gleysol (only for imazethapyr) soils (~50%), indicating that these herbicides show potential to cause injures in the sensitive rotational crops. The soil pH, the oxalate iron content and clay types can affect the sorption-desorption process of imazethapyr and imazapic in the soils that had been evaluated. The imazethapyr's half-lives were 29.13 and 69.11 days and the imazapic ones were 29.41 and 35.53 days in FX and LVA soils, respectively. Thus, both herbicides are averagely persistent and they show a high leaching potential with detection and quantification up to 20 cm depth in the two soils that had been evaluated. Therefore, the imazethapyr and imazapic have potential for groundwater contamination.

INTRODUÇÃO GERAL

Os agrotóxicos aplicados em lavouras de diversas culturas contribuem para evitar a perda de produtividade e prejuízos, no entanto, durante esse processo atingem não apenas a planta, mas também o solo, podendo causar graves problemas de contaminação do solo e de águas subterrâneas. Sendo assim, é necessário que se realize estudos, tais como, sorção e dessorção, persistência e mobilidade destes compostos no solo, para avaliar o seu impacto no meio ambiente e o potencial de risco de contaminação de águas subterrâneas.

Os estudos de sorção de herbicidas em solos determinam a sua persistência e disponibilidade na solução do solo para degradação e transporte. Nesse propósito, deve-se considerar que a sorção é influenciada pelas propriedades físico-químicas tanto do solo quanto do herbicida, além das condições do ambiente.

Dentre os herbicidas amplamente aplicados em culturas agrícolas, destacam-se os herbicidas pertencentes ao grupo químico das imidazolinonas (IMIs). Estes herbicidas são inibidores da enzima aceto-hidroxiácido sintetase (AHAS), a qual é essencial para a síntese de aminoácidos de cadeia ramificada (valina, isoleucina e leucina). Estes herbicidas são, geralmente, móveis na planta, tanto no xilema como no floema, podendo ser absorvidos e translocados tanto a partir das folhas como das raízes. Com a inibição da síntese dos aminoácidos, há paralisação no crescimento celular e na síntese de DNA. Além disso, inibem o transporte de fotossintetizados das folhas verdes causando a morte da planta.

Uma das aplicações importantes de herbicidas IMIs ocorre no controle do arroz vermelho (*Oryza sativa L.*), em lavouras de arroz irrigado, pela ação conjunta de dois herbicidas desse grupo: o imazethapyr e o imazapic. Os herbicidas deste grupo apresentam como principais mecanismos de dissipação a degradação microbiana [GOETZ et al., 1990] e a decomposição fotolítica [AICHELE & PENNER, 2005; VENCILL, 2002], sendo assim, o seu comportamento no solo é fortemente afetado pelas propriedades do solo tais como o pH [LOUX & REESE, 1992], a umidade [BAUGHMAN & SHAW, 1996], o teor de matéria orgânica [STOUGAARD et al., 1990] e a textura [LOUX & REESE, 1993].

A mobilidade e a eficiência dos herbicidas, geralmente, decrescem com o aumento da sua sorção pelos colóides do solo. A variabilidade das propriedades físicas e químicas do solo pode provocar uma retenção diferencial dos herbicidas que, por sua vez, reflete numa disponibilidade diferencial destes na solução do solo, e com isso gera uma variação no controle das plantas daninhas [GERSTL, 2000]. Essa retenção diferencial também pode acarretar numa variabilidade no potencial de lixiviação do produto [OLIVEIRA JR. et al., 2001] ou na sua persistência no solo.

Apesar da importância em estudar o comportamento de um dos herbicidas IMIs mais encontrados em solos, o imazethapyr, muitos dos resultados de sua persistência no solo, baseiam-se em estudos realizados onde as condições edafoclimáticas são diferentes das

encontradas no Brasil. Isto modifica o comportamento do herbicida no solo e, conseqüentemente, a resposta de culturas não tolerantes semeadas em sucessão. Especificamente, em solos de várzea, onde é cultivado o arroz irrigado, a persistência do imazethapyr e do imazapic, ambos presentes na formulação Only[®], pode ocorrer por um período maior [GOETZ et al., 1990; LOUX & REESE, 1993].

Em vista do exposto, a proposta do presente trabalho teve como objetivo: avaliar o comportamento do imazethapyr e do imazapic, por meio de estudos de sorção, dessorção, meia-vida e potencial de lixiviação, em solos com diferentes características físico-químicas muito utilizados em cultivos de arroz e soja. Acredita-se que os resultados dessa proposta irão contribuir de maneira segura para recomendação desses herbicidas quanto aos aspectos técnicos e ambientais.

CAPÍTULO 1: SORÇÃO E DESSORÇÃO DE IMAZETHAPYR E IMAZAPIC EM SOLOS COM DIFERENTES CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E QUÍMICAS

RESUMO

SORÇÃO E DESSORÇÃO DE IMAZETHAPYR E IMAZAPIC EM SOLOS COM DIFERENTES CARACTERÍSTICAS FÍSICAS E QUÍMICAS

No presente trabalho, foi realizado o estudo de sorção e dessorção, para dois herbicidas imidazolinonas, imazethapyr e imazapic, nos solos: Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (LVA), Plintossolo Háplico Distrófico (FX), Gleissolo Háplico Tb Distrófico (GX), Cambissolo Húmico (CH), Argissolo Vermelho (PV) e Neossolo Regolítico (RR) com diferentes características físico-químicas. O “batch equilibrium” foi o método utilizado neste estudo e os herbicidas foram determinados por cromatografia líquida de alta eficiência. A partir das isotermas linearizadas de Freundlich foi possível obter os coeficientes de sorção (K_f) e valores de $1/n$. O estudo de dessorção foi realizado imediatamente após os experimentos de sorção utilizando os solos em que foi utilizada concentração mais alta (15 mg L^{-1}). Após adição de 10 mL de CaCl_2 (0,01 M), sem os herbicidas, os solos foram ressuspensos em um vortex, seguido de agitação no tempo de equilíbrio avaliado para cada solo. As suspensões de solo foram centrifugadas e 1 mL do sobrenadante foi removido para análise. As porcentagens de dessorção foram obtidas usando três e quatro ciclos sucessivos para imazethapyr e imazapic, respectivamente. Os valores de K_f obtidos no estudo de sorção variaram de 0,38 a $2,52 \text{ mg}^{1-n} \text{ kg}^{-1} \text{ L}^n$ para imazethapyr e de 0,43 a $2,72 \text{ mg}^{1-n} \text{ kg}^{-1} \text{ L}^n$ para o imazapic, indicando fraca sorção nos solos avaliados. Portanto, a sorção destes herbicidas nos solos avaliados segue a ordem: $\text{PV} > \text{GX} > \text{CH} \approx \text{FX} > \text{LVA} > \text{RR}$ para imazethapyr e $\text{PV} > \text{CH} > \text{GX} > \text{LVA} > \text{RR} > \text{FX}$ para imazapic. Esta ordem de sorção nos solos implica que os herbicidas imidazolinonas apresentam uma diferença de comportamento em alguns destes solos. A alta porcentagem de dessorção ($> 70\%$) foi encontrada para os solos RR, FX, LVA para ambos os herbicidas, e no solo GX apenas para o imazapic, que implica em riscos de lixiviação destes herbicidas para águas subterrâneas. A dessorção mais baixa ($< 50\%$) foi encontrada nos solos CH e PV para ambos os herbicidas, e no solo GX apenas para o imazethapyr ($\sim 50\%$), indicando que estes herbicidas apresentam potencial para provocar injúria em culturas em sucessão. As moléculas sorvidas foram liberadas para a solução aquosa na seguinte ordem: $\text{RR} > \text{LVA} > \text{FX} > \text{GX} > \text{CH} > \text{PV}$ para imazethapyr e $\text{FX} > \text{LVA} > \text{RR} > \text{GX} > \text{CH} > \text{PV}$ para imazapic. As propriedades do solo pH, teor de ferro oxalato e tipo de argila do solo podem ser alguns dos fatores que afetaram o processo de sorção–dessorção de imazethapyr e imazapic nos seis solos avaliados.

ABSTRACT

SORPTION AND DESORPTION OF IMAZETHAPYR AND IMAZAPIC IN SOILS WITH DIFFERENT CHEMICAL AND PHYSICAL CHARACTERISTICS

In this work it was performed a sorption and desorption study of two imidazolinone herbicides (imazethapyr and imazapic) in the following soils: Red-Yellow Latosol (LVA), Dystric Plinthosol (FX), Eutric Gleysol (GX), Humic Cambisol (CH), Red Argisol (PV) and Entisol (RR) with different physicochemical characteristics. The batch equilibrium was the method used in this study, and the herbicides were determined by high performance liquid chromatography. From linearized isotherms of Freundlich it was possible to obtain the sorption coefficients (K_f) and values of $1/n$. The study of desorption was conducted immediately after the sorption experiment using soils at higher concentration of 15 mg L^{-1} . After the addition of CaCl_2 (0.01 M, 10 mL), without herbicides, the soils were resuspended in a vortex and shaken in the equilibrium time evaluated for each soil. The soil suspensions were centrifuged and 1 ml of supernatant was removed for analysis. The desorption percentages were obtained using three and four successive desorption cycles for imazethapyr and imazapic, respectively. The K_f values obtained in the sorption study ranged from 0.38 to $2.52 \text{ mg}^{1-n} \text{ kg}^{-1} \text{ L}^n$ for imazethapyr and from 0.43 to $2.72 \text{ mg}^{1-n} \text{ kg}^{-1} \text{ L}^n$ for imazapic, indicating low sorption in the soils that had been evaluated. Therefore, the sorption of these herbicides followed the order: $\text{PV} > \text{GX} > \text{CH} \approx \text{FX} > \text{LVA} > \text{RR}$ for imazethapyr and $\text{PV} > \text{CH} > \text{GX} > \text{LVA} > \text{RR} > \text{FX}$ for imazapic. This sorption order implies that the imidazolinone herbicides present a different behavior for some of these soils. A high percentage of desorption ($> 70\%$) was found in RR, FX and LVA (for both herbicides), and in GX (only for imazapic) soils, which implies in leaching risks of these herbicides for groundwater. The lowest desorption ($< 50\%$) was found in CH and PV, for both herbicides, and in GX, only for imazethapyr ($\sim 50\%$), indicating that these herbicides present potential to cause injure in sensitive rotational crops. The sorbed molecules were released for aqueous solution in the following order: $\text{RR} > \text{LVA} > \text{FX} > \text{GX} > \text{CH} > \text{PV}$ for imazethapyr and $\text{FX} > \text{LVA} > \text{RR} > \text{GX} > \text{CH} > \text{PV}$ for imazapic. The soil properties pH, the oxalate iron content and the clay types can be some of the factors that affected the sorption and desorption process of imazethapyr and imazapic in the six soils that had been evaluated.

1.1. Introdução

Um dos componentes de grande importância no custo de produção das culturas refere-se aos gastos, para o controle de plantas daninhas, com herbicidas que pertencem a diferentes grupos químicos e possuem características físico-químicas variáveis que afetam a sua interação com os colóides do solo. E dessa interação resulta a eficiência ou ineficiência agrônômica do herbicida, assim como, o seu impacto ambiental, no tocante à contaminação do solo e de águas superficiais e subterrâneas, pelos resíduos indesejáveis do herbicida não completamente degradado durante o ciclo da cultura principal [LOUX & REESE, 1993; LOUX et al., 1989; STOUGAARD et al., 1990].

Herbicidas Imidazolinonas (IMIs) são amplamente usados em culturas agrícolas e de importante relevância para o controle de várias espécies de plantas daninhas, tais como, o arroz vermelho (*Oryza sativa* L.). O controle deste ocorre por meio do sistema de produção Clearfield®, utilizado para culturas tolerantes aos herbicidas IMIs, que promove redução nos custos de produção da cultura [MENEZES et al., 2009; SUDIANTO et al., 2013; TAN et al., 2006]. A tolerância ao uso de ambos os herbicidas IMIs, imazethapyr e imazapic (Only®), em culturas de arroz irrigado, deve-se ao uso de genótipos de arroz resistentes a estes que permite o controle seletivo do arroz-vermelho.

O amplo uso de herbicidas IMIs resulta da baixa dose de aplicação e da seletividade para uma ampla faixa de culturas agrícolas. O mecanismo de ação de herbicidas deste grupo envolve a inibição da enzima aceto-hidroxiácido sintetase (AHAS), que é uma das enzimas chave na biossíntese de aminoácidos de cadeia ramificada em plantas isoleucina, leucina e valina [DUGGLEBY et al., 2008; TAN et al. 2006; SUDIANTO et al., 2013; SILVA, et al., 2007].

Os herbicidas imazethapyr e imazapic têm um grupo imidazol quiral em sua estrutura molecular e se diferenciam por um radical unido ao carbono cinco do anel piridina: imazapic tem um grupo metil (CH₃) enquanto que o imazethapyr tem um grupo etil (CH₃-CH₂) (Figura 1.1). Estes herbicidas têm como característica comum o fato de terem dois enantiômeros, mas a sua atividade biológica resulta, preferencialmente, da reatividade de apenas um destes enantiômeros [RAMEZANI et al., 2010]. As principais propriedades físico-químicas destes herbicidas estão listadas na Tabela 1.1.

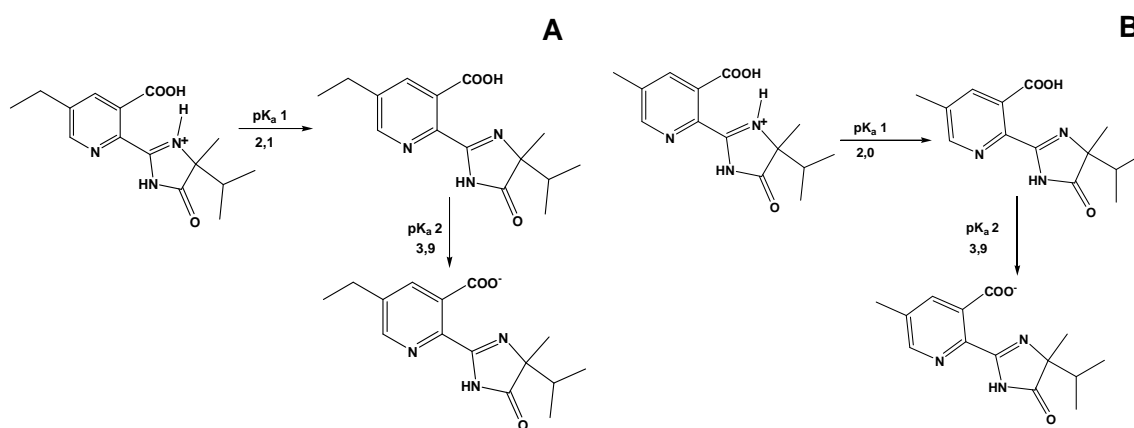


Figura 1.1. Estruturas químicas dos herbicidas imazethapyr (A) e imazapic (B): forma catiônica, neutra e aniônica.

Tabela 1.1. Propriedades físico-químicas^a do imazethapyr e do imazapic.

Herbicidas	Massa molar	pK _{a1}	pK _{a2}	Solubilidade em água (mg L ⁻¹) (25 °C)	Pressão de Vapor (mPa) (60 °C)
Imazethapyr	289,3	2,1	3,9	1400	< 0,013
Imazapic	275,3	2,0	3,9	2150	< 0,013

^aC.D.S. Tomlin (Ed.), The Pesticide Manual, 12th ed., British Crop Protection Council, Surrey, U.K., 2000.

Os diferentes radicais no grupo piridina da estrutura química dos herbicidas IMIs apresentam pouca atividade na inibição da AHAS, contudo exerce um efeito diferencial sobre o comportamento do herbicida no ambiente [TAN et al., 2005]. O comportamento de herbicidas em solos depende, principalmente, de dois processos de retenção, a sorção e a dessorção.

A sorção acontece de forma rápida antecipando-se aos outros processos, regulando-os, influenciando o destino de herbicidas, uma vez que controla a disponibilidade desses para a planta, a taxa de degradação pelos microrganismos do solo [GOETZ et al., 1990] e o movimento do herbicida através do perfil do solo [OLIVEIRA JR. et al., 2001; PORFIRI et al., 2015].

Para a caracterização da sorção é utilizado o método “batch equilibrium” e, a partir das isotermas de Freundlich são obtidos os coeficientes K_f e 1/n. O K_f representa uma medida da extensão da interação do herbicida com o solo [AHMAD & RAHMAN, 2009] e 1/n, parâmetro relacionado à linearidade do modelo [GILES et al., 1960; OLIVEIRA & BRIGHENTI, 2011].

A intensidade e a extensão da sorção dependem das propriedades físico-químicas do solo tais como pH [BRESNAHAN et al., 2000; LOUX & REESE, 1993; CHE et al., 1992], matéria orgânica (MO) [AHMAD & RAHMAN, 2009; STOUGAARD et al., 1990; BOIVIN et al., 2005], textura [LOUX & REESE, 1993], umidade e temperatura [CÁRTON et al., 1997; LOUX et al., 1989; GOETZ et al., 1990] e do herbicida [GREEN, 1974; OLIVEIRA JR. et al., 1999]. Assim,

a obtenção de uma recomendação única é difícil, tanto do ponto de vista agrônomo como ambiental [WANG & LIU, 1999].

Os herbicidas IMIs apresentam natureza anfótera, possuem um grupo carboxílico (ácido) e um grupo amina (básico), o que permite que os mesmos existam na forma aniônica, neutra ou catiônica dependendo do pH do meio. Dessa forma, dependendo da constante de dissociação (pK_a) do herbicida e do pH do meio onde se encontra, as moléculas dos herbicidas podem apresentar-se mais ou menos disponíveis na solução do solo.

Para valores de pH maior que o pK_a dos herbicidas, estes existem predominantemente na forma aniônica ($-COO^-$) onde estão fracamente ligados ou repelidos pelas cargas negativas dos colóides do solo resultando em uma baixa sorção em solos com pH neutro ou mais altos [CHE et al., 1992; GREEN, 1974; OLIVEIRA JR. et al., 1999; AICHELE & PENNER, 2005].

Assim, o pH do solo pode afetar a persistência dos herbicidas IMIs no meio ambiente resultando em efeitos de “carryover” em culturas subsequentes dependendo das condições do ambiente onde os mesmos se encontram [LOUX & REESE, 1993; BRESNAHAN et al., 2000; KRAEMER et al., 2009; PINTO et al., 2011]. Adicionalmente, trabalhos da literatura relatam o alto potencial de lixiviação dos herbicidas IMIs em solos [GIANELLI et al., 2014; OLIVEIRA JR. et al., 2001; OLIVEIRA JR. et al., 1999; REGITANO et al., 2005].

A reversibilidade do processo de sorção depende do tipo de ligação existente entre o herbicida e o solo, que pode ser iônica ou covalente ou forças de ligação fracas como de Van der Waals ou interação do tipo dipolo–dipolo formadas entre a superfície do sorvente e as moléculas do composto [SINGH & KAUR, 2013].

O processo de dessorção é muito importante uma vez que determina a taxa de liberação do composto para a solução e a sua mobilidade no solo [Huang et al., 1998]. Além disso, este processo reflete algumas das interações existentes entre o composto e os vários tipos de solos [BOIVIN et al., 2005].

Na literatura, existem poucos relatos de trabalhos com relação a estudos do comportamento de dessorção de herbicidas ácidos fracos, tais como, os herbicidas IMIs, em solos tropicais. Conseqüentemente, há uma informação muito limitada sobre o comportamento destes herbicidas em tais solos, que são quimicamente e fisicamente distintos dos solos não tropicais.

Considerando a informação limitada e as características dos herbicidas IMIs, objetivou-se com o presente trabalho avaliar a sorção e a dessorção de dois herbicidas deste grupo, o imazethapyr e o imazapic, em solos com diferentes propriedades físico-químicas, em condições de laboratório, para compreender o comportamento destes compostos nos solos e contribuir com informações relevantes para a prevenção de danos ao meio ambiente pelo uso desses xenobióticos em culturas agrícolas, assim como, medir a eficiência no controle de plantas daninhas para evitar perdas de produtividade das culturas e garantir a sustentabilidade da produção.

1.2. Material e Métodos

1.2.1. Herbicidas

Os herbicidas imazapic [(R,S)-5-methyl-2-(4-isopropyl-4-methyl-5-oxo-2-imidazolin-2-yl) nicotinic acid] e imazethapyr [(R,S)-5-ethyl-2-(4-isopropyl-4-methyl-5-oxo-2-imidazolin-2-yl) nicotinic acid] foram obtidos da *Sigma-Aldrich* (pureza maior que 99%).

Soluções estoque dos padrões de cada herbicida na concentração de 1000 mg L⁻¹ foram preparadas em acetonitrila e armazenadas em frascos âmbar à 4 °C. As soluções estoque dos herbicidas foram, posteriormente, diluídas para 10 mg L⁻¹ em CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹ e estocadas na geladeira em frascos âmbar à 4 °C. Todas as soluções foram preparadas usando água ultrapura obtida de um sistema de purificação de água Millipore (≥18.2. MΩ•cm, Milli-Q, Millipore).

1.2.2. Caracterização dos solos

A sorção de imazethapyr e de imazapic foi avaliada para seis tipos de solos sendo três deles provenientes do estado de Tocantins, o Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (LVA), o Plintossolo Háplico Distrófico (FX) e o Gleissolo Háplico Tb Distrófico (GX), e três provenientes do estado do Rio Grande do Sul, o Cambissolo Húmico (CH), o Argissolo Vermelho (PV) e o Neossolo Regolítico (RR), cujas características físico-químicas estão listadas na Tabela 1.2.

As amostras de solo foram coletadas numa profundidade de 0 a 20 cm, homogeneizadas, secas em temperatura ambiente e passadas em peneira de malha de 4 mm. Após, foram acondicionadas em embalagens de plástico e armazenadas à temperatura ambiente.

No estudo de sorção dos herbicidas IMIs deve ser considerado que grande quantidade de Fe presente nos solos se encontra em sua maior parte na forma de óxidos [OLSON, 1965]. E esta característica pode ser utilizada para avaliar a sorção dos herbicidas imazethapyr e imazapic nos solos do estudo.

Tabela 1.2. Caracterização mineralógica, química, física e textural dos solos.

Caracterização química											
Solos	pH (H ₂ O)	P	K	Ca ²⁺	Mg ²⁺	Al ³⁺	H+Al	(t)	V	M	MO
		-mg dm ⁻³ -	----- cmol _c dm ⁻³ -----					-----%-----			
LVA	5,7	0,8	79	0,99	0,52	0,00	4,70	1,71	26,7	0,00	3,00
FX	6,1	3,5	27	3,39	1,35	0,00	3,00	4,81	61,6	0,00	2,22
GX	5,2	1,3	82	1,69	0,75	0,57	5,20	3,22	33,8	17,7	2,35
CH	5,2	5,9	99	0,90	0,50	1,70	6,77	3,35	20,0	51,0	2,30
PV	5,2	1,5	27	1,20	0,60	2,10	6,77	3,97	22,0	53,0	2,10
RR	5,1	9,1	115	3,30	0,70	0,70	8,09	4,99	35,0	14,0	5,10
		Ferro oxalato					Ferro ditionito				
		----- % -----									
LVA		0,14					2,19				
FX		0,10					1,29				
GX		0,56					0,83				
CH		0,23					0,92				
PV		0,12					2,50				
RR		0,13					1,34				
Caracterização física											
	Areia	Silte	Argila		Classe textural						
	-----%-----										
LVA	55	6	39		Argilo Arenoso						
FX	47	16	37		Argilo Arenoso						
GX	32	45	23		Franco						
CH	62	12	26		Franco Argilo Arenoso						
PV	42	20	38		Franco Argiloso						
RR	51	17	32		Franco Argiloso						

*Análises realizadas no laboratório de Análises de Solo Viçosa, segundo a metodologia da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA (2013); (t) = capacidade de troca catiônica efetiva; V = saturação por bases; M = Saturação por Al³⁺; MO = matéria orgânica.

*De acordo com a Sociedade Brasileira da Ciência do Solo e Taxonomia do Solo: LVA (Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico); FX (Plintossolo Háplico Distrófico); GX (Gleissolo Háplico Tb Distrófico); CH (Cambissolo Húmico); PV (Argissolo Vermelho); RR (Neossolo Regolítico).

1.2.3. Sorção e dessorção de imazethapyr e imazapic em solo

1.2.3.1. Sorção

A sorção de imazethapyr e imazapic foi estudada a 25 ± 2 °C empregando-se o método “batch equilibrium” [OECD, 2000] ou método de equilíbrio de partição. Este método consiste em agitar a mistura solo/solução contendo o herbicida por tempo suficiente para atingir o equilíbrio aparente do sistema [OLIVEIRA & BRIGHENTI, 2011]. O método envolveu duas etapas, em triplicata.

A primeira etapa consistiu em obter o tempo de equilíbrio de sorção dos herbicidas com os solos e, nesse intuito, foram utilizadas soluções de cada herbicida na concentração de 10 mg L^{-1} em CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$. As soluções de cada herbicida isoladamente (10 mL) foram colocadas em equilíbrio com as amostras de solos (2 g), em triplicata, e agitadas por 0,5; 1; 5; 8; 12; 16 e 24 h em tubos de polipropileno de 50 mL .

Após a otimização do tempo de equilíbrio, numa segunda etapa, foram obtidas as isotermas de sorção, a partir de soluções dos herbicidas preparadas em CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ nas concentrações 0,4; 0,8; 1; 5; 10 e 15 mg L^{-1} . As soluções (10 mL) foram colocadas em contato com 2 g de solo, em triplicata, e agitadas no tempo de equilíbrio estimado para cada solo na etapa anterior. Após agitação, as amostras foram centrifugadas a 3200 rpm por dez minutos. Parte do sobrenadante foi retirado e filtrado em membrana PTFE (diâmetro de 25 mm e poros de $0,45 \mu\text{m}$), diretamente para “vials” de 2 mL .

Após a coleta dos dados, foi realizado o cálculo do coeficiente de sorção (K_f) e do coeficiente de adsorção no carbono orgânico (K_{f-OC}) a partir das isotermas de Freundlich linearizadas.

As soluções de CaCl_2 $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ (sem os herbicidas em estudo) foram adicionadas a cada um dos solos para verificar se houve interferência analítica em razão dos extratos dos solos.

1.2.3.2. Análise por cromatografia líquida de alta eficiência

A concentração de cada herbicida em solução foi determinada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), modelo Shimadzu LC 20AT, detector UV/vis (Shimadzu SPD-20A). A coluna analítica utilizada foi uma coluna C18 de aço inox (Shimadzu VP-ODS Shim-pack $250 \times 4,6 \text{ mm I. D.}$, $4,6 \mu\text{m ODS}$). A fase móvel foi constituída por 40:60 acetonitrila /água (acidificada com 0,01% de ácido ortofosfórico para pH 3,0); as análises por HPLC-UV/vis foram realizadas no modo isocrático, detecção em 254 nm , para ambos os herbicidas, com volume de injeção de $20 \mu\text{L}$ e vazão de 1 mL min^{-1} . Dentro destas condições cromatográficas, os tempos de retenção para o imazethapyr e imazapic foram de $6,4 \text{ min}$ e $4,9 \text{ min}$, respectivamente.

1.2.3.3. Dessorção

Os estudos de dessorção foram realizados imediatamente após os de sorção utilizando-se apenas os solos, em que foi utilizada a solução com a maior concentração do herbicida (15 mg L⁻¹). A cada tubo foi adicionado 10 mL de solução de CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹ sem herbicida. Os solos foram ressuspensos em um agitador vortex por 1 min e, em seguida, agitados verticalmente durante os tempos de equilíbrio otimizados. Após a centrifugação das amostras e remoção de 1 mL do sobrenadante para análise, foi adicionado 1 mL de CaCl₂ 0,01 mol L⁻¹, sem o herbicida, ao tubo. O procedimento de dessorção foi repetido por quatro vezes consecutivas para imazapic e três vezes para o imazethapyr. Todos os ensaios foram realizados em triplicata. A determinação da quantidade do herbicida (mg kg⁻¹) que permaneceu adsorvida ao solo, após cada intervalo de tempo, foi realizada a partir da diferença entre a concentração do herbicida no solo, antes das etapas de dessorção, e a concentração na solução analisada. Posteriormente, calculou-se a porcentagem total de dessorção em cada intervalo de tempo para todos os solos avaliados.

1.2.3.4. Determinação dos coeficientes de sorção

Os coeficientes de sorção (K_f , mg¹⁻ⁿ kg⁻¹ Lⁿ) foram determinados a partir das isotermas linearizadas de Freundlich que envolvem a relação entre a concentração do herbicida sorvido no solo (C_s (mg kg⁻¹)) e a concentração do herbicida encontrado na solução de equilíbrio (C_e (mg L⁻¹)). A partir dos valores de C_e e de C_s utilizou-se a equação linearizada de Freundlich para a interpretação do processo sortivo descrita abaixo:

$$\log C_s = \log k_f + 1/n \log C_e \quad (1)$$

Onde K_f e $1/n$ são constantes empíricas que representam a capacidade e a intensidade de sorção, respectivamente. A determinação de C_s foi realizada a partir da diferença entre a quantidade do herbicida adicionada inicialmente e a C_e .

O coeficiente K_f foi normalizado para o teor de carbono orgânico do solo (CO) conforme a equação 2, obtendo-se assim, o valor de K_{f-OC} .

$$K_{f-OC} = \left(\frac{K_f}{\%CO} \right) \times 100 \quad (2)$$

Onde: CO = MO / 1,724

1.2.3.5. Análise de dados

As análises estatísticas foram realizadas utilizando os programas Microsoft Excel (2013) e SigmaPlot 12. Este programa estatístico foi usado para determinar a correlação entre a sorção e os parâmetros do solo. Todos os dados foram submetidos à análise de regressão, sendo os coeficientes das equações testados pelo teste t a 5% de significância.

1.3. Resultados e Discussão

1.3.1. Sorção e Dessorção de imazethapyr e imazapic em solos

1.3.1.1. Sorção

1.3.1.1.1. Tempo de equilíbrio

As curvas do tempo de equilíbrio (Figuras 1.2 e 1.3) mostram que a sorção dos herbicidas segue a mesma tendência em todos os solos: uma fase inicial, onde a sorção de imazethapyr e imazapic ocorreu de forma rápida, principalmente, nos três primeiros tempos avaliados (0,5; 1 e 5 horas) e, em seguida, uma fase lenta, com menor incremento da sorção até atingir a estabilização. Isso ocorreu devido a maior disponibilidade de sítios de ligação nos solos no início do ensaio. À medida que os sítios superficiais são saturados, sua ocupação é dificultada devido às forças de repulsão entre as moléculas do soluto na fase sólida e na solução.

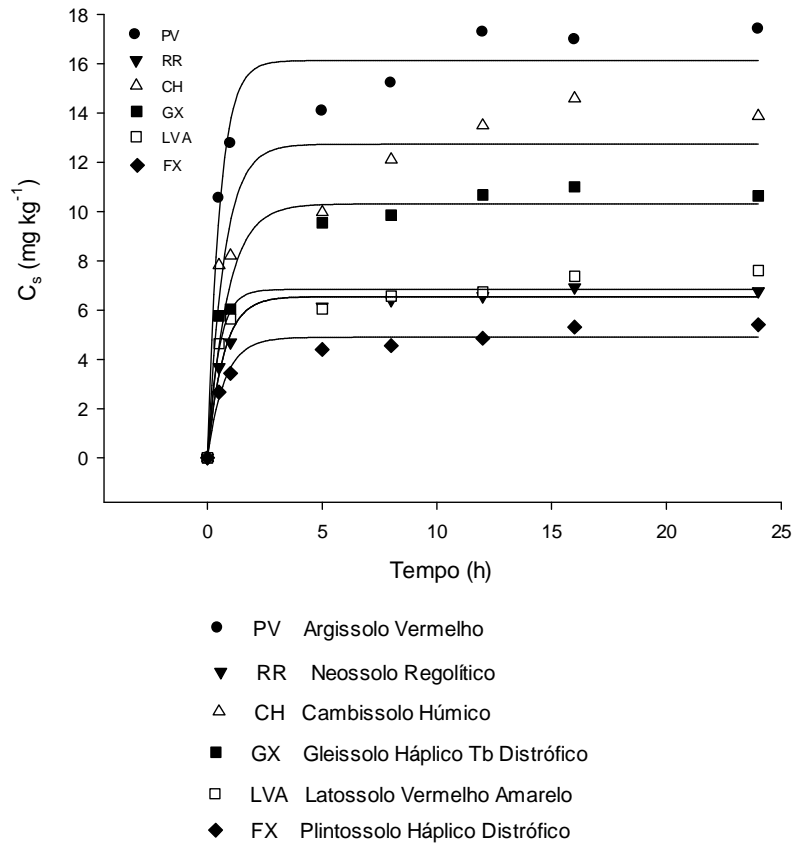


Figura 1.2. Estimativas das curvas de cinética de sorção para o imazethapyr em diferentes solos em função do tempo.

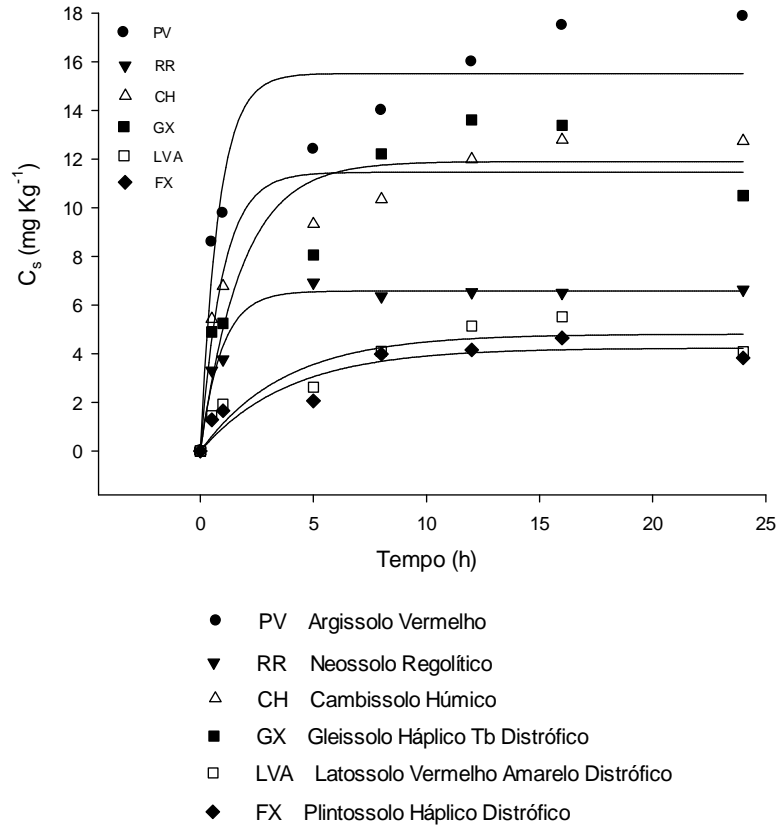


Figura 1.3. Estimativas das curvas de cinética de sorção para o imazapic em diferentes solos em função do tempo.

O tempo de sorção de um herbicida no solo pode ser descrito em três estágios em função da mudança da concentração da solução. No estágio inicial, ocorre a rápida difusão do soluto na interface do solo, podendo ocorrer em minutos. Posteriormente, o herbicida movimenta-se lentamente entre as fases sólido/líquido que pode ocorrer em horas ou demorar dias para chegar ao equilíbrio. A terceira etapa da sorção caracteriza-se como muito lenta e, por isso, é chamada de reação de envelhecimento [OLIVEIRA & BRIGHENTI, 2011].

O tempo mínimo para que o equilíbrio do herbicida em solução com os solos LVA, FX, GX, CH, PV fosse atingido foi de 16 horas para imazethapyr e imazapic, para o solo RR foi de 16 horas apenas para o imazethapyr e de 8 horas apenas para o imazapic. Dessa forma, optou-se por esses respectivos tempos de agitação, visto que, após os mesmos, não ocorreram variações significativas na sorção dos herbicidas IMIs nos solos.

A Tabela 1.3 mostra as equações das curvas de cinética de sorção de ambos os herbicidas.

Tabela 1.3. Equações das curvas de cinética de sorção do imazethapyr e do imazapic nas diferentes amostras de solo.

Solos	Imazethapyr		Imazapic	
	$\hat{Y} = a * (1 - e^{-bx})$	R ²	$\hat{Y} = a * (1 - e^{-bx})$	R ²
GX	$\hat{Y} = 10,3114 (1 - e^{-1,1622x})$	0,96	$\hat{Y} = 11,9026(1 - e^{-0,5469x})$	0,87
LVA	$\hat{Y} = 6,8364(1 - e^{-2,0621x})$	0,96	$\hat{Y} = 4,8090(1 - e^{-0,2699x})$	0,86
FX	$\hat{Y} = 4,8959(1 - e^{-1,3702x})$	0,96	$\hat{Y} = 4,2361(1 - e^{-0,2555x})$	0,87
CH	$\hat{Y} = 12,7360 (1 - e^{-1,3986x})$	0,89	$\hat{Y} = 11,4614(1 - e^{-1,0151x})$	0,93
PV	$\hat{Y} = 16,1278 (1 - e^{-1,8809x})$	0,96	$\hat{Y} = 15,4304 (1 - e^{-1,2506x})$	0,90
RR	$\hat{Y} = 6,5430(1 - e^{-1,4482x})$	0,99	$\hat{Y} = 6,5769 (1 - e^{-1,0645x})$	0,98

1.3.1.1.2. Isotermas linearizadas de Freundlich

As isotermas de sorção de imazethapyr e imazapic foram obtidas para os solos LVA, FX, GX, CH, PV, RR e estão representadas nas Figuras 1.4 e 1.5. No presente estudo, foram observadas diferenças significativas nos valores de $1/n$, parâmetro relacionado à linearidade do modelo, para ambos os herbicidas IMIs, nos solos avaliados.

Os dados de sorção obtidos para os herbicidas nos solos avaliados caracterizam-se pelo ajuste de isoterma do tipo C, onde $1/n \sim 1$, para o imazapic nos solos CH e FX, e para o imazethapyr nos solos PV e LVA, o que implica que a razão entre a concentração adsorvida no solo e a que permanece em solução foi sempre a mesma concentração. Enquanto que para os solos LVA, GX e PV o imazapic exibiu isoterma do tipo L onde $1/n < 1$. Essa isoterma representa o tipo de sorção mais comum verificado para herbicidas no solo, e ocorre devido à capacidade limitada de formar ligações com o material coloidal e à variação do coeficiente de sorção com a temperatura e umidade do solo [GIANELLI et al., 2014; OLIVEIRA JR. et al., 2001]. Isto acontece quando os sítios específicos de ligação são preenchidos e os sítios restantes são menos atrativos para as moléculas dos herbicidas restantes [KOSKINEN et al., 2006; KOSKINEN & HARPER, 1990; OLIVEIRA & BRIGHENTI, 2011].

PUSINO et al. (1997) avaliaram a sorção do imazapyr em seis diferentes tipos de solo e obtiveram valores de $1/n < 1$ em todas as amostras de solo (isotermas do tipo L) indicando uma alta afinidade do herbicida pelos sítios de sorção. Enquanto que GIANELLI et al. (2014) avaliaram este mesmo herbicida, em três diferentes tipos de solo, sendo que, para um dos solos o imazapyr exibiu isoterma do tipo C ($1/n \sim 1$) e para os outros dois solos isoterma do tipo L ($1/n < 1$).

A isoterma de sorção do tipo S, onde $1/n > 1$, foi obtida para o solo RR (para ambos os herbicidas) e para os solos CH, GX e FX (apenas para o imazethapyr) o que indica que as moléculas dos herbicidas IMIs modificam a superfície adsorvente, favorecendo futuras sorções [OLIVEIRA & BRIGHENTI, 2011]. De acordo com GILES et al. (1960), uma isoterma do tipo S indica que uma vez que os herbicidas são adsorvidos, torna mais fácil para quantidades adicionais destes se fixarem nos sítios de adsorção do solo. LEONE et al. (2001) encontraram este tipo de isoterma para o herbicida IMI imazaquin.

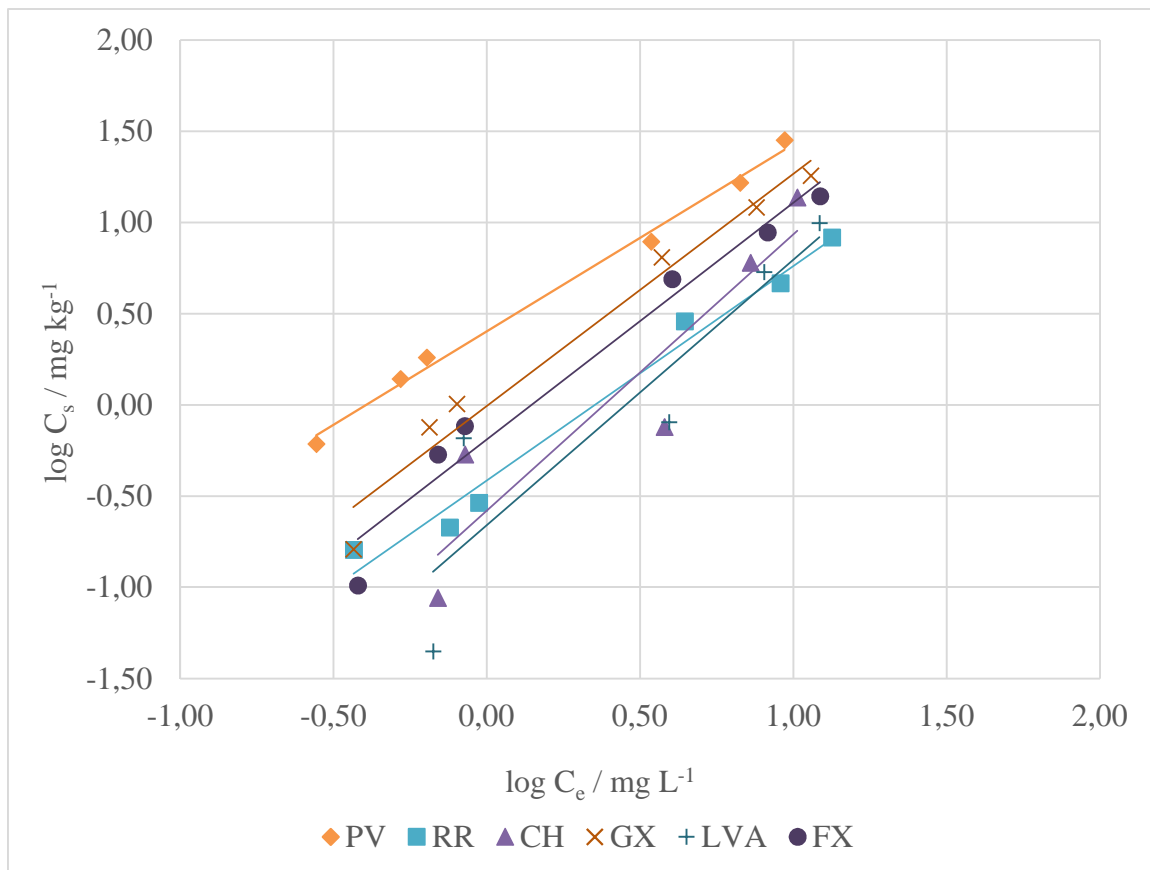


Figura 1.4. Isotermas de sorção do imazethapyr para os solos: Argissolo Vermelho (PV), Neossolo Regolítico (RR), Cambissolo Húmico (CH), Gleissolo Háplico Tb Distrófico (GX), Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (LVA) e Plintossolo Háplico Distrófico (FX).

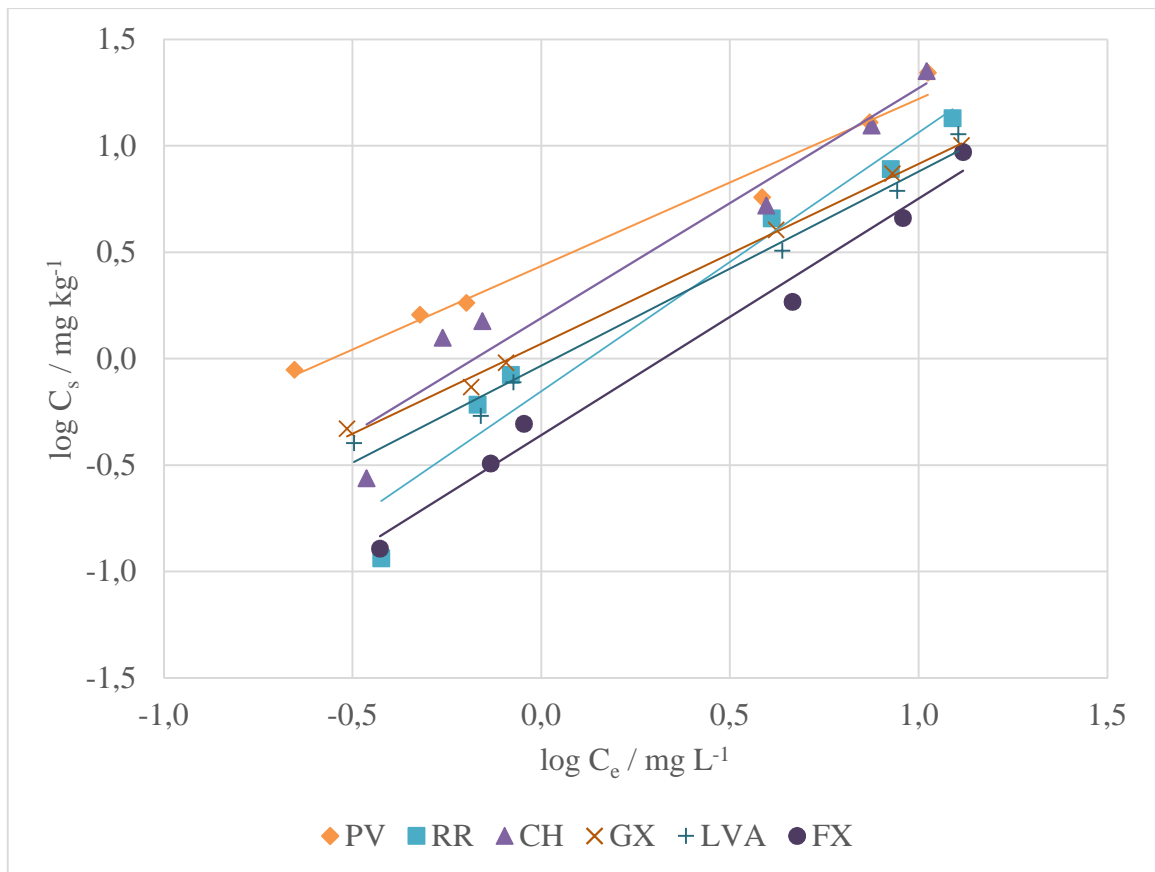


Figura 1.5. Isotermas de sorção do imazapic para os solos: Argissolo Vermelho (PV), Neossolo Regolítico (RR), Cambissolo Húmico (CH), Gleissolo Háplico Tb Distrófico (GX), Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (LVA) e Plintossolo Háplico Distrófico (FX).

Os coeficientes da isoterma de Freundlich estão descritos na Tabela 1.4. No presente estudo, verificou-se diferenças significativas nos valores de K_f e de $1/n$ (iguais, maiores e menores que 1) para ambos os herbicidas nos solos avaliados.

AHMAD & RAHMAN (2009) investigaram as características de sorção de imazethapyr em solos, e os fatores que mais afetaram a sorção deste herbicida foram o pH e o teor de carbono orgânico. No entanto, outros fatores podem influenciar a sorção de compostos ionizáveis tais como o Fe e o Al [GIANELLI et al., 2014; KAH & BROWN, 2006; ESPINOZA et al., 2009].

Tabela 1.4. Parâmetros da isoterma linearizada de Freundlich e valores de K_{f-OC} para imazethapyr e imazapic em diferentes solos.

Solos	Imazethapyr				Imazapic			
	K_f ($mg^{1-n} kg^{-1} L^n$)	1/n	R^2	K_{f-OC} ($mg^{1-n} kg^{-1} L^n$)	K_f ($mg^{1-n} kg^{-1} L^n$)	1/n	R^2	K_{f-OC} ($mg^{1-n} kg^{-1} L^n$)
PV	2,52	1,024	0,99	206,88	2,72	0,785	0,98	223,29
RR	0,38	1,176	0,98	12,84	0,70	1,215	0,96	23,66
CH	0,68	1,564	0,98	50,97	1,54	1,079	0,94	115,43
GX	0,98	1,273	0,97	71,89	1,17	0,845	0,99	85,83
LVA	0,55	1,088	0,89	31,60	1,08	0,912	0,99	62,06
FX	0,64	1,297	0,96	49,70	0,43	1,111	0,99	33,39

Para $pH > pK_{a2}$ a sorção é promovida pela predominância da forma aniônica do herbicida que é atraído pela carga positiva presentes na superfície do solo. De acordo com LEONE et al. (2001) e PUSINO et al. (1997), os óxidos de Ferro têm uma importante função na sorção de herbicidas IMIs e afetam a persistência destes no solo.

O valor de K_f pode variar de baixo a elevado e reflete, parcialmente, a mobilidade e a persistência do herbicida no ambiente [SILVA, et al., 2007]. Os baixos valores de K_f verificados neste trabalho para ambos os herbicidas imazethapyr e imazapic pode estar relacionado ao pH dos solos avaliados, entre 5,1 e 6,1, que são maiores que o valor de pK_a destes herbicidas. Nestas condições, estes se encontram predominantemente na forma aniônica (COO^-) e, a energia de ligação aos sítios dos colóides do solo é fraca.

Os valores de K_f obtidos para o imazethapyr (entre 0,38 e 2,52 $mg^{1-n} kg^{-1} L^n$) e para o imazapic (entre 0,43 e 2,72 $mg^{1-n} kg^{-1} L^n$) nos solos avaliados indicam uma sorção fraca, de ambos os herbicidas, assim como, fraca energia de ligação da molécula aos colóides do solo. Estes resultados são corroborados por trabalhos nos quais foi avaliada a sorção desses herbicidas [OLIVEIRA JR. et al., 1999; BRESNAHAN et al., 2001; AHMAD & RAHMAN, 2009; OLIVEIRA JR. et al., 2001].

A sorção dos herbicidas IMIs nos solos avaliados segue a seguinte ordem: PV > GX > CH \approx FX > LVA > RR para imazethapyr e PV > CH > GX > LVA > RR > FX para imazapic. Esta ordem de sorção nos solos indica que estes herbicidas apresentam diferença de comportamento e, conseqüentemente, na sua persistência nos solos avaliados. Isto pode estar relacionado a fatores tais como o pH, o óxido de Ferro, o tipo de argila e sua porcentagem no solo. Além destes fatores, outro fator que pode afetar a sorção dos herbicidas IMIs em solos é o teor de carbono orgânico que apresenta, geralmente, muitos sítios para sorção destes compostos em solos [STOUGAARD et al., 1990].

Assim, valores de K_{f-OC} foram obtidos para imazethapyr e imazapic nos solos avaliados que variaram de 12,84 a 206,88 e de 23,66 a 223,29, respectivamente (Tabela 1.4). Considerando que estes valores de K_{f-OC} variaram muito para ambos os herbicidas, e que se trata de herbicidas ionizáveis, o comportamento dos herbicidas nestes solos não pode ser descrito apenas pelo CO. Conseqüentemente, o K_{f-OC} não poderia ser usado para comparação da sorção relativa de vários solos [AHMAD & RAHMAN, 2009].

1.3.1.2. Dessorção

No estudo de desorção, verificou-se que a maior porcentagem de desorção do imazethapyr e do imazapic nos solos avaliados, ocorre nas duas primeiras etapas de desorção, com diminuição da quantidade desorvida ao longo das etapas deste processo. Isto se deve ao fato de que os herbicidas ocupam, inicialmente, os sítios mais acessíveis, que envolvem mecanismos de ligação de menor energia [KAH & BROWN, 2006].

Os dados do estudo de desorção de imazethapyr e imazapic nos solos PV, CH, GX, LVA, RR e FX foram plotados de acordo com o sistema polinomial linear (Figuras 1.6 e 1.7). Os resultados estão descritos na Tabela 1.5. Para os solos CH e PV foram encontradas baixas porcentagens de desorção para ambos os herbicidas (menor que 50%) e para o solo GX (em torno de 50%) apenas para o imazethapyr. Isto indica maior dificuldade dos herbicidas sorvidos retornarem para a solução do solo, e conseqüentemente, a ocorrência de histerese nestes solos que pode ser atribuída a várias causas. Entre estas, a ligação das moléculas dos herbicidas a sítios de sorção específicos como ao óxido de ferro amorfo.

PUSINO et al. (1997) avaliaram a desorção de imazapyr em seis solos, sendo que, a menor desorção do herbicida foi encontrada em solos com maior conteúdo de óxido de ferro amorfo. Este pode ter sido um dos fatores responsáveis pela baixa porcentagem de desorção verificada para ambos os herbicidas, imazethapyr e imazapic, nos solos CH e GX (Figuras 1.6 e 1.7) que apresentam teor de ferro oxalato maior em relação aos demais solos avaliados (Tabela 1.2). Assim, ambos os herbicidas podem apresentar efeito de "carryover" em culturas subsequentes, o imazethapyr nos solos CH, PV e GX e o imazapic nos solos CH e PV.

As porcentagens de desorção mais altas do imazethapyr foram obtidas para os solos RR, LVA e FX (> 70%) (Figura 1.6), e do imazapic para os solos RR, LVA, FX e GX (Figura 1.7). O pH e o conteúdo similar de ferro oxalato dos solos RR, LVA e FX pode ser um dos fatores que contribuíram para este resultado. PUSINO et al. (1997) relacionaram a semelhança na porcentagem de desorção de imazapyr em dois solos ao fato de estes apresentarem conteúdo similar de óxido de Ferro amorfo.

A alta porcentagem de desorção encontrada para o imazethapyr e o imazapic, em alguns dos solos avaliados, indica um alto potencial de lixiviação destes herbicidas no perfil do solo o que pode oferecer riscos de contaminação de águas subterrâneas.

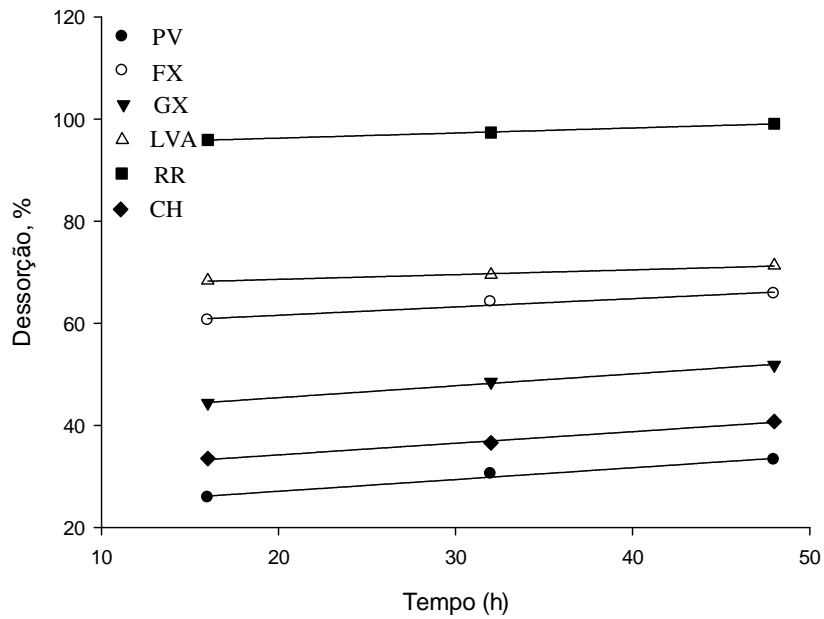


Figura 1.6. Porcentagens de dessorção de imazethapyr para os solos: Argissolo Vermelho (PV), Plintossolo Háplico Distrófico (FX), Gleissolo Háplico Tb Distrófico (GX), Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (LVA), Neossolo Regolítico (RR), Cambissolo Húmico (CH).

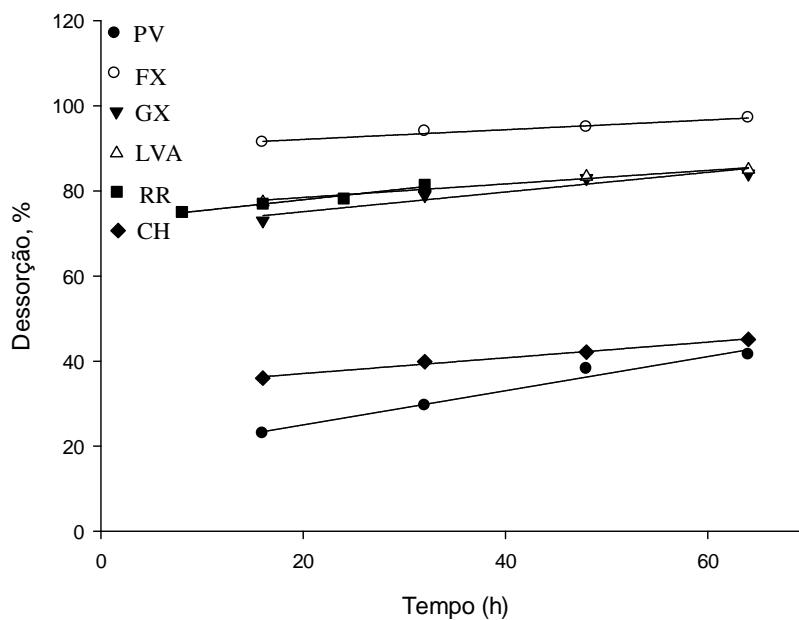


Figura 1.7. Porcentagens de dessorção de imazapic para os solos: Argissolo Vermelho (PV), Plintossolo Háplico Distrófico (FX), Gleissolo Háplico Tb Distrófico (GX), Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (LVA), Neossolo Regolítico (RR), Cambissolo Húmico (CH).

As porcentagens de dessorção mais altas não seguiram a ordem de diminuição na sorção dos herbicidas para todos os solos: RR > LVA > FX > GX > CH > PV para imazethapyr e FX > LVA > RR > GX > CH > PV para imazapic. A dessorção do imazethapyr seguiu a ordem inversa da sorção apenas para os solos RR, LVA, FX e PV e a do imazapic para os solos PV, CH, GX e PV. Isto indica que múltiplos mecanismos podem estar ocorrendo na sorção dos herbicidas quando comparado com os processos de dessorção, e sua compreensão depende não apenas de coeficientes de sorção, mas de cada composto que interage com o solo.

Tabela 1.5. Dados do estudo de dessorção de acordo com o modelo linear para imazethapyr e imazapic em diferentes amostras de solo.

Solos	Imazethapyr		Imazapic	
	$\hat{Y} = ax + b$			
	a	b	a	b
GX	0,23 ($\pm 0,01$)	40,78 ($\pm 0,46$)	0,23 ($\pm 0,05$)	70,50 ($\pm 2,2$)
LVA	0,09 ($\pm 0,01$)	66,78 ($\pm 0,43$)	0,16 ($\pm 0,02$)	75,29 ($\pm 0,88$)
FX	0,16 ($\pm 0,03$)	58,33 ($\pm 1,20$)	0,11 ($\pm 0,01$)	89,20 ($\pm 0,57$)
CH	0,23 ($\pm 0,02$)	29,71 ($\pm 0,70$)	0,19 ($\pm 0,01$)	33,38 ($\pm 0,57$)
PV	0,23 ($\pm 0,03$)	22,51 ($\pm 1,15$)	0,40 ($\pm 0,05$)	17,00 ($\pm 2,0$)
RR	0,10 ($\pm 0,01$)	94,31 ($\pm 0,17$)	0,26 ($\pm 0,04$)	72,83 ($\pm 0,78$)

*Os coeficientes de determinação (R^2) foram > 0,92 em todos os casos.

1.4. Conclusão

O estudo de sorção–dessorção mostrou que ambos os herbicidas imazethapyr e imazapic são afetados pelas propriedades dos solos tais como o pH e o teor de óxido de ferro e, que o tipo de argila e sua porcentagem no solo também pode ter contribuído para os resultados obtidos no estudo. Os baixos valores de K_f encontrados indicam fraca sorção destes herbicidas nos solos avaliados. Adicionalmente, de acordo com as isotermas de sorção obtidas há diferença no comportamento do imazethapyr e do imazapic para alguns dos solos avaliados podendo ter mais do que um tipo de mecanismo envolvido no processo de sorção. Já as porcentagens de dessorção obtidas para estes herbicidas nos solos avaliados indicam a possibilidade de efeitos de “carryover” e riscos de lixiviação para águas subterrâneas.

Portanto, os resultados do presente estudo mostram que para o uso seguro e efetivo do imazethapyr e do imazapic em culturas agrícolas, principalmente, em sistemas de produção Clearfield®, é necessário considerar as propriedades físico-químicas do herbicida e do solo.

1.5. Referências Bibliográficas

AHMAD, R., RAHMAN, A., 2009. Sorption characteristics of atrazine and imazethapyr in soils of New Zealand: Importance of independently determined sorption data. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 57, 10866–10875.

AICHELE, T. M., PENNER, D., 2005. Adsorption, desorption, and degradation of imidazolinones in soil. **Weed Technology** 19, 154-159.

BAUGHMAN, T. A., SHAW, D. R., 1996. Effect of wetting/drying cycles on dissipation patterns of bioavailable imazaquin. **Weed Science**, 44, 2, 380-382.

BOIVIN, A., CHERRIER, R., SCHIAVON, M., 2005. A comparison of five pesticides adsorption and desorption processes in thirteen contrasting field soils. **Chemosphere** 61, 668–676.

BRESNAHAN, G. A., KOSKINEN, W. C., DEXTER, A. G., LUESCHEN, W. E., 2000. Influence of soil pH-sorption interactions on imazethapyr carryover. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 48, 1929-1934.

CARTÓN, A., ISLA, T., ALVAREZ-BENEDÍ, J., 1997. Sorption-desorption of imazamethabenz on three Spanish soils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 45, 1454–1458.

C.D.S. TOMLIN (Ed.), The Pesticide Manual, 12th ed., **British Crop Protection Council**, Surrey, U.K., 2000.

CHE, M., LOUX, M. M., TRAINA, S. J., LOGAN, T. J., 1992. Effect of pH on sorption and desorption of imazaquin and imazethapyr on clays and humic acid. **Journal of Environmental Quality** 21, 698-703.

DUGGLEBY, R. G., MCCOURT, J. A., GUDDAT, L. W., 2008. Structure and mechanism of inhibition of plant acetohydroxyacid synthase. **Plant Physiology and Biochemistry** 46, 309-324.

EMBRAPA, 2013. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. Revista e ampliada.

ESPINOZA, J., FUENTES, E., BÁEZ, M. E., 2009. Sorption behavior of bensulfuron-methyl on andisols and ultisols volcanic ash-derived soils: Contribution of humic fractions and mineral-organic complexes. **Environmental Pollution** 157, 3387–3395.

GERSTL, Z., 2000. An update on the Koc concept in regard to regional scale management. **Crop Protection** 19.

GIANELLI, V. R., BEDMAR, F., COSTA, J. L., 2014. Persistence and sorption of imazapyr in three argentinean soils. **Environmental Toxicology Chemistry** 33, 29–34.

GILES, C. H. MACEWAN, T. H., NAKHWA, S. N., SMITH, D., 1960. A system of classification of solution adsorption isotherms. **Journal of the Chemical Society** 111, 3973-3993.

GOETZ, A., LAVY, T., GBUR, E., 1990. Degradation and field persistence of imazethapyr. **Weed Science**, v.38, p. 421–428.

GREEN, R. E., 1974. Pesticide-clay-water interactions, in: GUENZI, W. D. (Ed.), Pesticide in Soil and Water. **Soil Science Society of America Journal**, Inc., Madison, pp. 3-37.

HUANG, W., YU, H., WEBER JR., W. J., 1998. Hysteresis in the sorption and desorption of hydrophobic organic contaminants by soils and sediments: 1. A comparative analysis of experimental protocols. **Journal of Contaminant Hydrology**. 31 (1–2), 129–148.

KAH, M., BROWN, C. D., 2006. Adsorption of ionisable pesticides in soils. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology** 188, 149–217.

KOSKINEN, W. C., CALDERON, M. J., RICE, P., CORNEJO, J., 2006. Sorption–desorption of flucarbazone and propoxycarbazone and their benzenesulfonamide and triazolinone metabolites in two soils. **Pest Management Science** 62, 598–602.

KOSKINEN, W. C., HARPER, S. S., 1990. The retention process: mechanisms. In: CHENG, H. H.; BAILEY, B. W.; GREEN, R. E.; SPENCER, W. F. (Ed.). Pesticides in the soil environment: Processes, impacts, and modeling. **Soil Science Society of America**, Madison, WI, pp. 51-77.

KRAEMER, A. F., MARCHESAN, E., AVILA, L.A., MACHADO, S. L. O., GROHS, M., 2009. Destino ambiental dos herbicidas do grupo das imidazolinonas. **Planta Daninha** 27, 629-639.

- LEONE, P., GENNARI, M., NÈGRE, M., BOERO, V., 2001. Role of ferrihydrite in adsorption of three imidazolinone herbicides. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 49, 1315–1320.
- LOUX, M. M., LIEBL, R. A., SLIFE, F. W., 1989. Availability and persistence of imazaquin, imazethapyr, and clomazone in soil. **Weed Science**, 37, 259-267.
- LOUX, M. M., REESE, K. D., 1992. Effect of soil pH on adsorption and persistence of imazaquin. **Weed Science** 40, 3, 490-496.
- LOUX, M. M., REESE, K. D., 1993. Effect of soil type and pH on persistence and carryover of imidazolinone herbicides. **Weed Technology** 7, 452-458.
- MAMY, L., BARRIUSO, E., 2007. Desorption and time-dependent sorption of herbicides in soils. **European Journal of Soil Science** 58, 174–187.
- MENEZES, V. G., MARIOT, C. H. P., KALSING, A., GOULART, I. C. G. R., 2009. Red rice (*oryza sativa*) resistant to the imidazolinone herbicides. **Planta Daninha** 27, 1047-1052.
- MOREAU-KERVÉVAN, C., MOUVET, C., 1997. Adsorption and desorption of atrazine, deethylatrazine, and hydroxyatrazine by soil and aquifer solids. **Journal Environmental Quality** 26, 416–424.
- Organization for Economic Cooperation and Development. 2000. OECD - **guidelines for testing of chemicals, adsorption**, 106. Paris, France.
- OLIVEIRA, M. F., BRIGHENTI, A. M., 2011. Comportamento dos herbicidas no ambiente, in: OLIVEIRA JR., R. S.; CONSTANTIN, J.; INOUE, M. H. (Eds.). **Biologia e manejo de plantas daninhas**. Curitiba: Omnipax.
- OLIVEIRA JR., R. S., KOSKINEN, W. C., FERREIRA, F. A., 2001. Sorption and leaching potential of herbicides on Brazilian soils. **Weed Research** 41, 97-110.
- OLIVEIRA JR., R. S., KOSKINEN, W. C.; FERREIRA, F. A., KHAKURAL, B. R., MULLA, D. J., ROBERT, P. C., 1999. Spatial variability of imazethapyr sorption in soil. **Weed Science** 47, 243-248.

OLSON, R.V., 1965. Iron. Methods of soil analysis, Agronomy Series 9, in: Black, C. A., (Ed.), **American Society of Agronomy**, Inc., Madison, pp. 963–973.

PINTO, J. J. O., NOLDIN, J. A., SOUSA, C. P., AGOSTINETTO, D., PIVETA, L., DONIDA, A., 2011. Atividade residual de imazethapyr + imazapic em arroz semeado em rotação com o arroz clearfield®. **Planta Daninha**, 29, 205-216.

PORFIRI, C., MONTOYA, J. C., KOSKINEN, W. C., AZCARATE, M. P., 2015. Adsorption and transport of imazapyr through intact soil columns taken from two soils under two tillage systems. **Geoderma**, 251–252, 1–9.

PUSINO, A., PETRETTO, S., GESSA, C., 1997. Adsorption and Desorption of Imazapyr by Soil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 45, 1012–1016.

RAMEZANI, M. K., OLIVER, D. P., KOOKANA, R. S., LAO, W., GILL, G., PRESTON, C., 2010. Faster degradation of herbicidally-active enantiomer of imidazolinones in soils. **Chemosphere** 79, 1040–1045.

REGITANO, J. B., DA ROCHA, W. S. D., ALLEONI, L. R. F., 2005. Soil pH on mobility of imazaquin in oxisols with positive balance of charges. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 53, 4096–4102.

SENSEMAN, S. A. Herbicide handbook. Lawrence: **Weed Science Society of America**, 2007. 458p.

SILVA, A. A., VIVIAN, R., OLIVEIRA JR., R. S., 2007. **Herbicidas: comportamento no solo**. In: SILVA, A. A.; Silva, J. F. (Ed.). Tópicos em manejo de plantas daninhas. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 189-248.

SINGH, J., KAUR, G., 2013. Freundlich, Langmuir adsorption isotherms and kinetics for the removal of malachite green from aqueous solutions using agricultural waste rice straw. **Journal Environmental Science** 4, 250-258.

STOUGAARD, R. N., SHEA, P. J., MARTIN, A. R., 1990. Effect of soil type and pH on adsorption, mobility and efficacy of imazaquin and imazethapyr. **Weed Science** 38, 67-73.

SUDIANTO, E., BENG-KAH, S.,TING-XIANG, N., SALDAIN, N. E., SCOTT, R. C., BURGOS, N. R., 2013. Clearfield® rice: Its development, success, and key challenges on a global perspective. **Crop Protection** 49, 40-51.

TAN, S., EVANS, R., DAHMER, M. L., SINGH, B. K., SHANER, D. L., 2005. Imidazolinone-tolerant crops: history, current status and future. **Pest Management Science**, 61, 246-257.

TAN, S., EVANS, R., SINGH, B., 2006. Herbicidal inhibitors of amino acid biosynthesis and herbicide-tolerant crops. **Amino Acids** 30, 195-204.

VENCILL, W. K. (Ed.). Herbicide Handbook. 8 ed. Lawrence, KS: **Weed Science Society of America**, 2002.

WANG, Q., LIU, W., 1999. Correlation of imazapyr adsorption and desorption with soil properties. **Soil Science** 164, 411–416.

CAPÍTULO 2: MEIA-VIDA E POTENCIAL DE LIXIVIAÇÃO DE IMAZETHAPYR E IMAZAPIC EM SOLOS

RESUMO

MEIA-VIDA E POTENCIAL DE LIXIVIAÇÃO DE IMAZETHAPYR E IMAZAPIC EM SOLOS

Os herbicidas imidazolinonas são utilizados para o controle de vários tipos de plantas em soja e outras leguminosas, e em culturas tolerantes às imidazolinonas. Dois herbicidas deste grupo, imazethapyr e imazapic, são utilizados na forma de mistura comercial na tecnologia Clearfield® (ONLY®). No propósito de avaliar a persistência e a mobilidade destes herbicidas nos solos Plintossolo Háplico Distrófico (FX) e Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (LVA), um método multirresíduo (QuEChERS) foi desenvolvido e validado neste estudo. O método foi validado em termos de seletividade, linearidade, recuperação dos herbicidas, precisão (repetitividade e precisão intermediária), limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ), e exatidão. Para a quantificação e confirmação dos herbicidas imazethapyr e imazapic foi utilizada a cromatografia líquida acoplada a um analisador triplo quadrupolo operando em “tandem” com o espectrômetro de massa (LC–QqQ-MS/MS), e ionização por eletronebulização no modo positivo (ESI+). As transições de monitoramento de reação selecionadas foram monitoradas para imazethapyr (íon precursor > íon produto): m/z 290 > 245 e m/z 290 > 248 e para imazapic m/z 276 > 231 e m/z 276 > 234 para a quantificação e confirmação, respectivamente. No método validado, obteve-se recuperações para a repetitividade na faixa de 85,02 a 116,60% com RSD_r entre 6,74 – 16,59 % e precisão intermediária na faixa de 94,73 e 108,54% com RSD_{pi} entre 5,95 – 11,92 %. Coeficientes de correlação das curvas analíticas na faixa de 5,0 – 105,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ foram maiores que 0,99. Os LOD foram de 2,18 $\mu\text{g kg}^{-1}$ para imazethapyr e 2,03 $\mu\text{g kg}^{-1}$ for imazapic. Os LOQ foram 6,61 $\mu\text{g kg}^{-1}$ para o imazethapyr e 6,14 $\mu\text{g kg}^{-1}$ para o imazapic em solos. Os tempos de meia-vida de imazethapyr foram de 29,13 e 69,11 dias e de imazapic foram de 29,41 e 35,53 dias para os solos FX e LVA, respectivamente. Estes valores de meia-vida indicam que os herbicidas imidazolinonas são medianamente persistentes nestes solos. Adicionalmente, os resultados indicam alto potencial de mobilidade destes herbicidas nos solos avaliados, com detecção e quantificação em até 20 cm de profundidade. Portanto, o imazethapyr e o imazapic têm potencial de contaminação de águas subterrâneas.

ABSTRACT

HALF-LIFE AND LEACHING POTENTIAL OF IMAZETHAPYR AND IMAZAPIC IN SOILS

The imidazolinone herbicides are used to control a wide range of weeds in soybeans and in other legumes, also in imidazolinone-tolerant crops (Clearfield® crops). Two herbicides of this group, imazethapyr and imazapic, are used in commercial mix in the Clearfield® technology (ONLY®). In order to evaluate the persistence and the mobility of these herbicides in Dystric Plinthosol (FX) and Red-Yellow Latosol (LVA) soils, a multiresidue method (QuEChERS) was developed and validated, in this study. The method was validated in terms of selectivity, linearity, recovery of herbicides, precision (repeatability and intermediate precision), limits of detection (LOD) and quantification (LOQ) and also of accuracy. For the quantification and confirmation of the herbicides, imazethapyr and imazapic, the liquid chromatography was used and coupled to a triple quadrupole analyzer operating in tandem with the mass spectrometry (LC-QqQ-MS/MS), and also the electrospray ionization in the positive mode (ESI+). The selected reaction monitoring transitions were monitored for imazethapyr (precursor ion > product ion): m/z 290 > 245 and m/z 290 > 248; and for imazapic: m/z 276 > 231 and m/z 276 > 234 for quantification and confirmation, respectively. In the validated method, recoveries for the repeatability were obtained in the range of 85.02 to 116.60% with RSD_r between 6.74 – 16.59 % and intermediate precision in the range of 94.73 to 108.54% with RSD_{pi} between 5.95 – 11.92 %. Correlation coefficients of calibration curves, in the range of 5.0 – 105.0 $\mu\text{g L}^{-1}$, were higher than 0.99. The LODs were 2.18 $\mu\text{g kg}^{-1}$ for imazethapyr and 2.03 $\mu\text{g kg}^{-1}$ for imazapic. The LOQs were 6.61 $\mu\text{g kg}^{-1}$ for imazethapyr and 6.14 $\mu\text{g kg}^{-1}$ for imazapic. The imazethapyr's half-lives were 29.13 and 69.11 days and the imazapic ones were 29.41 and 35.53 days for FX and LVA soils, respectively. These half-life values indicate that the imidazolinone herbicides are averagely persistent in the soils that were previously mentioned. Additionally, the results indicate high mobility potential of these herbicides with detection and quantification up to 20 cm depth in the evaluated soils. Therefore, the imazethapyr and the imazapic have potential for groundwater contamination.

2.1. Introdução

A aplicação indiscriminada de agrotóxicos pelos agricultores gera uma preocupação quanto à contaminação do solo e da água [SILVA et al., 2007]. No Sul e no Sudeste do Brasil, as lavouras que se destacam no consumo de agrotóxicos são a soja, cana-de-açúcar, milho, café, citros, arroz irrigado e algodão. Considerando que o agronegócio é hoje a principal atividade econômica brasileira, respondendo por 23% do produto interno produto (PIB) [CEPEA, 2015], torna-se necessário monitorar as possíveis contaminações, oriundas do uso de agrotóxicos em amostras ambientais, devido ao risco que eles oferecem à saúde humana, além da sua persistência no meio ambiente [PICÓ et al., 2007].

No entanto, a complexidade das amostras a serem analisadas e a exigência em determinar os resíduos de agrotóxicos em concentrações extremamente baixas, bem como a grande variedade de propriedades químicas têm exigido o uso de novas técnicas de extração, novos equipamentos e novos métodos de análise. No desenvolvimento de métodos analíticos faz-se necessário uma etapa prévia de preparo da amostra que depende das características da matriz, das propriedades do agrotóxico e do nível de concentração da substância a ser determinada.

2.1.1. Preparo de amostra para análise de resíduos de agrotóxicos

Os principais objetivos do preparo da amostra são promover a extração e o enriquecimento dos analitos de interesse, e a remoção, tanto quanto possível, dos interferentes. Assim, o preparo de amostra é uma etapa crucial dentro de todo o processo analítico, uma vez que, perdas do analito nessa etapa podem comprometer o resultado das análises [PRESTES et al., 2009].

De acordo com HERCEGOVÁ et al. (2007), um método multirresíduo de preparo de amostras ideal é o que inclui o maior número de compostos possíveis, recuperações próximas à 100%, remove os possíveis compostos interferentes da amostra, apresenta boa precisão e robustez, baixo custo, rapidez, facilidade e segurança.

Os procedimentos de preparo de amostra, tais como extração, concentração e “clean-up”, influenciam potencialmente na confiabilidade e exatidão das análises [AHMED, 2001]. No entanto, essa etapa é responsável por mais de 80% do tempo de consumo das análises e as novas tendências em preparo de amostras visam o desenvolvimento de métodos que aumentem a precisão, a reprodutibilidade e a relação custo-benefício [HYÖTYLÄINEN, 2007]. Para isso, muitas inovações nos processos analíticos para a determinação de resíduos de agrotóxicos, têm sido desenvolvidas [PICÓ et al., 2007].

Os métodos utilizados tradicionalmente na extração de agrotóxicos do solo são a Extração por Soxhlet, o Ultrassom e a Agitação Mecânica, seguidos de uma etapa de “clean-up”, consistindo na maioria dos casos, por procedimentos de extração em fase sólida (SPE, *Solid*

Phase Extraction) [RAMOS et al., 2010]. Técnicas mais recentes são utilizadas apesar do custo considerável: Extração por Fluido Supercrítico (SFE, *Supercritical Fluid Extraction*), Extração por Solvente Pressurizado (PSE, *Pressurized Solvent Extraction*) e Extração Assistida por Microondas (MAE, *Microwave Assisted Extraction*).

Entre os procedimentos de preparo de amostra que têm sido largamente empregados para extração de agrotóxicos em matrizes complexas destaca-se o método de extração QuEChERS.

2.1.1.1. Método de extração QuEChERS

O método de extração QuEChERS (do inglês “Quick, Easy, Cheap, Effective, Rugged and Safe”) foi introduzido em 2003 por ANASTASSIADES et al. com o intuito de superar limitações práticas de outros métodos de extração de resíduos de agrotóxicos já existentes. Este método é considerado vantajoso devido às suas características embutidas no próprio nome: rápido, fácil, econômico, efetivo, robusto e seguro. O procedimento original envolve as seguintes etapas: extração com acetonitrila (ACN), seguido de partição líquido-líquido com adição de sulfato de magnésio anidro ($MgSO_4$) e cloreto de sódio (NaCl) e, posteriormente, “clean-up” com SPE dispersiva [ANASTASSIADES et al., 2003; ROMERO-GONZÁLEZ et al., 2008]. A Figura 2.1, apresenta um esquema representativo do método QuEChERS original.

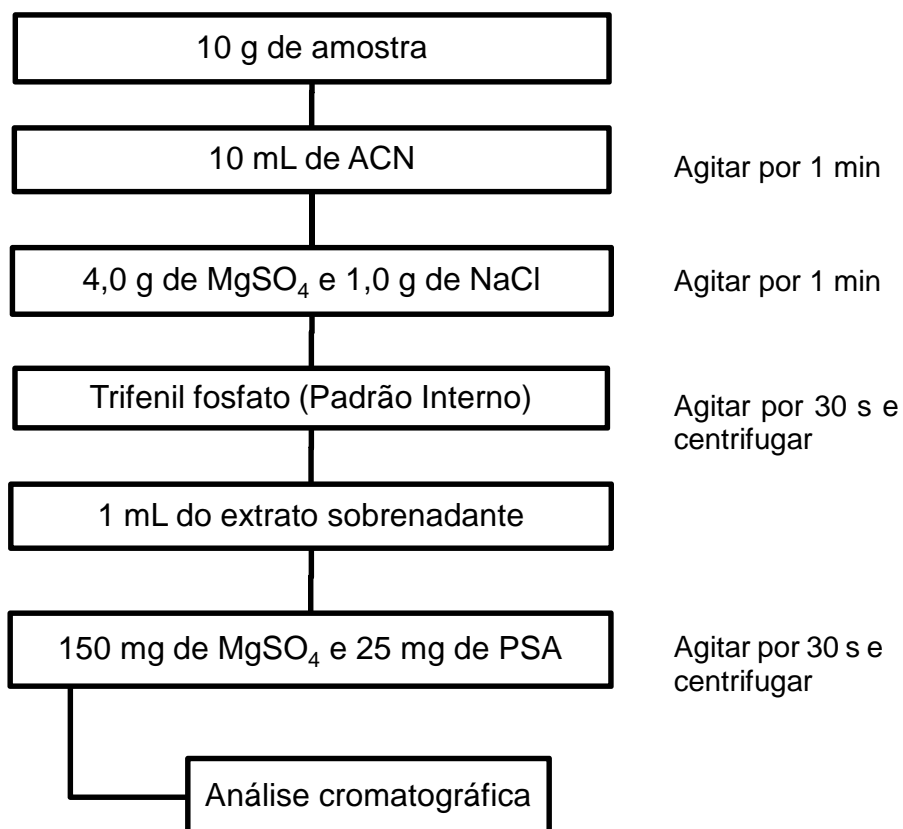


Figura 2.1. Esquema representativo do método QuEChERS original [PRESTES et al., 2009].

O uso de acetonitrila como solvente de extração no método QuEChERS proporciona uma menor quantidade de coextrativos lipofílicos provenientes de amostras, tais como, ceras, gorduras e pigmentos, a extração de uma ampla faixa de agrotóxicos com diferentes polaridades, e compatibilidade do extrato final com a Cromatografia Líquida (LC, *Liquid Chromatography*) acoplada à Espectrometria de Massas (MS, *Mass Spectrometry*) e a Gasosa (GC, *Gas Chromatography*). Além disso, a acidificação da acetonitrila permite recuperações satisfatórias de agrotóxicos que, geralmente, apresentam problemas de estabilidade. Já a adição de sais na etapa de partição promove o efeito “salting out” proporcionando melhores percentuais de recuperação para agrotóxicos polares, uma vez que a adição de sais diminui a solubilidade destes compostos na fase aquosa, assim como, a quantidade de água na fase orgânica e vice-versa. Na extração com ACN, a adição de sais é muito conveniente, uma vez que, tem a grande vantagem de não diluir o extrato da amostra e proporciona a separação das fases orgânica e aquosa [PRESTES et al., 2009].

No método QuEChERS foi utilizado o sulfato de magnésio anidro por ser um agente secante muito mais eficiente quando comparado a outros sais, sendo sua hidratação um processo extremamente exotérmico, tendo como resultado um aquecimento do tubo utilizado

durante as etapas de extração/partição. Este aquecimento é favorável para extração de alguns agrotóxicos e indica que a água está sendo removida da solução [ANASTASSIADES et al., 2003].

A etapa de “clean-up” é essencial na análise de resíduos de agrotóxicos para promover robustez e confiabilidade aos resultados obtidos pelo sistema cromatográfico, uma vez que, componentes não-voláteis da matriz podem ficar aderidos no conjunto injetor-insersor e na coluna cromatográfica, alterando assim a resposta do sistema e aumentando a frequência de manutenções necessárias. Portanto, a eficiência do “clean up” contribui para uma maior vida útil dos insersores, bem como das colunas cromatográficas, reduzindo assim a contaminação do sistema cromatográfico.

Considerando a importância da etapa de “clean up”, desenvolveram a extração em fase sólida dispersiva (D-SPE, *Dispersive Solid Phase Extraction*) juntamente com o método QuEChERS. Neste método, uma alíquota de 1 mL do extrato é colocada em contato com uma mistura contendo 25 mg do sorvente amina primária-secundária (PSA, *Primary Secondary Amine*) e 150 mg de MgSO₄. Os sólidos são separados por centrifugação ou filtração, e uma alíquota do extrato final é levada para análise [ANASTASSIADES et al., 2003]. Na etapa de “clean-up” do método QuEChERS é conveniente utilizar uma combinação de sorventes como, por exemplo, octadecilsilano (C18) e PSA, dependendo do tipo de matriz utilizada e das propriedades químicas dos agrotóxicos [LEHOTAY et al., 2007]. Mas cabe ressaltar que a estrutura bidentada do PSA tem um elevado efeito quelante, devido à presença dos grupos amino primário e secundário e, conseqüentemente, a retenção de ácidos graxos livres e de outros compostos polares presentes na matriz é muito forte [PRESTES et al., 2009].

O método QuEChERS apresenta como principais vantagens, em relação aos métodos tradicionais de preparo de amostra, os altos valores de recuperações (maiores que 85%) para uma ampla faixa de agrotóxicos com diferentes polaridades e volatilidade, elevado grau de exatidão e precisão dos resultados, preparo de um grande número de amostra em um tempo reduzido, redução no volume de solventes orgânicos, e simplicidade de execução [LEHOTAY et al., 2007]. A desvantagem deste método está na relação amostra:extrato final, de 1 g mL⁻¹, que é mais baixa do que 2 - 5 g mL⁻¹ obtida pela maioria dos métodos tradicionais de extração [LEHOTAY et al., 2007]. Apesar disso, esta relação é considerada adequada, uma vez que, valores de LOD entre 10 e 100 µg kg⁻¹ são obtidos para a maioria dos agrotóxicos comumente analisados [PRESTES et al., 2009, ANASTASSIADES et al., 2003].

Nos Estados Unidos, o método QuEChERS foi adotado em 2007, como método oficial da AOAC, “Association of Official Analytical Chemists”, e pelo Comitê Europeu para Padronização para a determinação de resíduos de agrotóxicos em alimentos [PRESTES et al., 2009].

Considerando que o método QuEChERS fornece bons resultados para a extração de agrotóxicos não polares, de média polaridade e polares em alimentos não gordurosos, sua

aplicação é igualmente interessante na análise de agrotóxicos em outras matrizes não gordurosas, tais como os solos.

2.1.1.2. Método QuEChERS aplicado às amostras de solo

No método QuEChERS, quando escolhido para a extração de agrotóxicos em solos, utiliza-se, na maioria dos casos, a detecção por Espectrometria de Massas (MS). Além disso, o número de trabalhos da literatura publicados envolvendo a aplicação do método para amostras de solos ainda são poucos comparado à sua aplicação em amostras como de frutas e vegetais. A seguir, alguns trabalhos da literatura estão descritos, com ênfase no preparo de amostra utilizando o método QuEChERS para amostras de solo.

PADILLA-SÁNCHEZ et al. (2010) desenvolveram um método QuEChERS modificado para determinação de 13 compostos fenólicos em amostras de solo, incluindo os clorofenóis, alquilfenóis, nitrofenóis e cresóis, seguido de quantificação por GC-MS e LC-MS/MS. A extração dos compostos no solo utilizando este método consistiu em pesar 10 g de amostra em tubos de polipropileno de 50 mL seguido da adição de 10 mL de ACN (acidificada com ácido acético 1% v/v) e 5 mL de água Milli-Q com agitação por 1 h. Em seguida, foram adicionados 1,7 g de NaOAc, 6 g de MgSO₄ e 4 g de NaCl, e os tubos foram agitados novamente por 1 min. Após centrifugação à 5000 rpm por 5 min, 1,5 mL da fase orgânica foram transferidos para um microtubo de polipropileno de 2 mL contendo 0,75 g de MgSO₄, para assegurar a completa remoção de água. Um volume de 860 µL de sobrenadante foi transferido para um vial de 1 mL e, em seguida, foram adicionados a este vial 20 µL de piridina e 100 µL de ácido acético anidro como reagentes de derivatização. O vial foi agitado vigorosamente em um vortex por 1 min, para promover a reação de derivatização, que foi desenvolvida à temperatura ambiente em alguns segundos. Volumes de 10 µL foram injetados no sistema GC-QqQ-MS/MS. Os compostos fenólicos analisados apresentaram recuperação entre 65–113%, com RSD na faixa de 7 a 24%. Os LODs e LOQs para compostos fenólicos em solos ficaram na faixa de 1 a 100 µg kg⁻¹ sendo que o LOQ < 10 µg kg⁻¹ para a maioria dos compostos fenólicos. O método QuEChERS modificado foi validado para solos agrícolas e aplicado para 15 amostras de solos.

RAMOS et al. (2010) desenvolveram um método QuEChERS modificado para determinação de 11 agrotóxicos em três tipos de solos (florestal, ornamental e agrícola), seguido de quantificação por Cromatografia Gasosa com Detecção por Nitrogênio e Fósforo (GC-NPD). O método desenvolvido para extração dos agrotóxicos no solo consistiu das seguintes etapas: pesagem de 10 g de amostra, adição de solução do padrão interno e de 20 mL de ACN, agitação por 1 min, seguido pela adição de 4,0 g de MgSO₄, e 1,0 g de NaCl, adição de 1,0 g de citrato de sódio tribásico dihidratado e de 0,5 g de hidrogenocitrato dissódico sesquihidratado, agitação por 10 s, ultrassom por 5 min e centrifugação por 8 min.

A etapa de “clean-up” consistiu de 0,25 g de PSA e 1,5 g de MgSO₄, agitação por alguns segundos, seguido de ultrassom por 1 min e centrifugação por 10 min. O sobrenadante foi evaporado até securo e redissolvido com 1 mL de ciclohexano, seguido de filtração. Posteriormente, uma quantidade muito pequena de Na₂SO₄ anidro foi adicionada e o sobrenadante foi filtrado para análise por GC-NPD. O método foi validado e valores de recuperação aceitáveis entre 45 e 96% e RSD menor que 12% foram obtidos para todos os agrotóxicos em solos, exceto para malation e malaoxon em solos florestais e ornamentais, os quais não foram extraídos quantitativamente devido aos valores de recuperação muito baixos. LODs na faixa de 0,48 a 12,5 µg kg⁻¹ e LOQs na faixa de 1,61 a 41,6 µg kg⁻¹ foram obtidos para os agrotóxicos utilizando o método QuEChERS modificado.

BRAGANÇA et al. (2012) desenvolveram um método QuEChERS para a determinação de ibuprofen e seus metabólitos em solos e análise por LC-FLD. Neste estudo foram testados quatro tipos de composições do método (com variação na quantidade e nos tipos de sais utilizados) para extração destes compostos e foram avaliados os valores de recuperação. O método envolveu uma extração única dos compostos avaliados com água ultrapura (acidificada para pH 2,5 com ácido hidrolórico), e uma lenta e contínua adição das diferentes composições do método seguido pela adição de ACN acidificada (ácido acético 1%), para posterior determinação por LC acoplada com detecção por fluorescência (LC-FLD). Estudos de validação foram conduzidos usando amostras de solo dentro de uma faixa de conteúdo de carbono orgânico. As recuperações das amostras fortificadas ficaram na faixa de 79.5% a 101% e os valores de RSD não foram maiores que 3%. Os LOQ foram ≤ 22,4 µg kg⁻¹ em todos os testes realizados. O método QuEChERS desenvolvido foi aplicado na análise de 16 amostras reais.

MARTÍN et al. (2010) desenvolveram um método QuEChERS modificado para a determinação de trihalometanos (clorofórmio, bromodiolorometano, dibromodiolorometano e bromofórmio) em amostras de solo. O método QuEChERS para extração destes compostos no solo envolveu as seguintes etapas: 5 g de solo foram pesados em um tubo de vidro de 15 mL que permaneceu fechado para evitar a perda dos compostos mais voláteis. Em seguida, foi adicionado 3 mL de água ultra pura, e agitação no vortex por 1 min. À mistura foi adicionado 2,5 mL de acetato de etil seguido de agitação em um vortex por 1 min. A este tubo foi adicionado 2 g de MgSO₄ anidro que foi novamente agitado em um vortex por 1 min. Posteriormente, o tubo foi centrifugado à 5000 rpm por 5 min e a fase orgânica foi transferida para um vial para análise por GC-µECD. Valores de recuperação obtidos entre 65–94% foram satisfatórios e RSD da repetitividade na faixa de 2,5 a 6,7% e da reprodutibilidade na faixa de 2,8 a 8,3%. Os LODs ficaram na faixa de 6 a 659 ng kg⁻¹ e os LOQs na faixa de 17 a 1998 ng kg⁻¹.

PINTO et al. (2010) desenvolveram uma versão simplificada do método QuEChERS para extração de três compostos clorados de diferentes polaridades (hexaclorobenzeno, 1,2-

diclorobenzeno e clorofórmio) em amostras de solos, seguido de quantificação por Cromatografia Gasosa com Micro Detecção por Captura de Elétrons (GC- μ ECD). Na avaliação do método proposto, três tipos diferentes de solos foram usados: solo de jardim, com alto conteúdo orgânico; um Vertisol, com alto conteúdo de argila; e um material de referência certificado (solo argiloso sedimentoso). O método QuEChERS proposto consistiu em pesar 2,5 g de amostra, adição de 1,5 mL de água ultrapura e agitação por 1 min em vortex. Posteriormente, foi adicionado 2,5 mL de acetato de etila com agitação por 1 min, seguido de adição de 1,0 g de $MgSO_4$ anidro com agitação por 1 min, centrifugação à 5000 rpm durante 5 min, e análise por GC- μ ECD. Valores de recuperação entre 62 e 93% foram obtidos para os compostos nos diferentes tipos de solos, com RSD entre 0,1 e 3,4%. A principal vantagem do método QuEChERS modificado desenvolvido foi a eliminação da etapa de “clean-up” dispersivo, além de ser um procedimento rápido, barato, e que minimiza os erros associados a essa etapa. Os LODs ficaram na faixa de 0,15 a 2,2 $\mu g kg^{-1}$.

Apesar de todas as vantagens do método QuEChERS na extração de multiresíduos, a sua aplicação na extração de herbicidas IMIs, tais como, o imazethapyr e o imazapic, em solos ainda é relativamente pequena.

2.1.1.3. Preparo de amostra para extração de herbicidas IMIs em solo

Os herbicidas do grupo das IMIs controlam um amplo espectro de plantas daninhas em diversas culturas agrícolas. Dois herbicidas deste grupo, imazethapyr e imazapic, são amplamente utilizados nos estados do Rio Grande do Sul (RS) e de Tocantins (TO), em uma mistura formulada com o nome comercial Only[®], que é aplicado em cultivares tolerantes (Sistema Clearfield[®]). No entanto, estes herbicidas apresentam alto potencial de contaminar o ambiente e afetar culturas subsequentes devido à sua alta persistência e solubilidade em água [KRAEMER et al., 2009].

Portanto, o conhecimento das características físico-químicas dos herbicidas IMIs é muito importante para o desenvolvimento de métodos analíticos de preparo de amostra, que visam a sua determinação em matrizes ambientais como o solo. A extração de herbicidas IMIs em solos, normalmente, é difícil devido à co-extração de muitas substâncias interferentes, à complexidade da matriz, às propriedades desses herbicidas e aos baixos limites de detecção requeridos [RAMEZANI et al., 2009]. Além disso, devido à sua baixa dosagem de aplicação, o monitoramento de resíduos de herbicidas IMIs em solos necessita ser executado em níveis de $\mu g kg^{-1}$.

Os métodos clássicos para a extração de herbicidas IMIs em solos são procedimentos demorados, envolvendo várias etapas, e o uso de sorventes aumenta o custo de análise [RAMEZANI et al., 2009]. Assim, o desenvolvimento de métodos de extração de herbicidas

IMIs mais rápidos e eficazes, visando baixo custo e menor contaminação ambiental é uma exigência necessária.

Vários métodos têm sido desenvolvidos para a extração e/ou concentração de herbicidas IMIs presentes no solo. A seguir estão citados alguns dos trabalhos da literatura, com ênfase no preparo de amostra de herbicidas deste grupo em solos.

STOUT et al. (1997) utilizaram a extração assistida por micro-ondas (MAE) para a determinação do herbicida imazaquin em amostras de solo, e quantificação por GC-ECD e GC-MS com ionização química. A etapa de “clean up” das amostras de solo, não foi utilizada na análise por LC-MS, e a etapa de derivatização, utilizada para análise por GC-ECD e GC-MS, foi eliminada. As recuperações obtidas para amostras de solo, fortificadas aos níveis de 1 – 50 $\mu\text{g kg}^{-1}$, ficaram acima de 92%. O LOQ foi de 0,2 $\mu\text{g kg}^{-1}$.

LAGANA et al. (1998) desenvolveram um método para quantificação simultânea dos herbicidas IMIs imazapyr, m-imazamethabenz, p-imazamethabenz, m,p-imazamethabenz metílico, imazethapyr e imazaquin em amostras de água e solo. Os herbicidas foram extraídos das amostras de solo utilizando extração por coluna de solo combinada com SPE e quantificadas por LC-MS/MS no modo SIM. As amostras de água foram pré-concentradas com SPE e os herbicidas foram quantificados por HPLC-UV/Vis. As recuperações ficaram acima de 89%. Foram obtidos LOD para amostras de água na faixa de 43 a 51 ng L^{-1} e na faixa de 0,1 a 0,05 ng g^{-1} em solo. A recuperação total de cada herbicida IMI em amostras de solo variou de 87 a 95%.

GONÇALVES (2007) desenvolveu um método para a determinação de resíduos de herbicidas imazethapyr, imazapic e outros, em água e solos provenientes do cultivo de arroz irrigado. Para extração dos herbicidas em amostras de solo foram pesados 5 g de amostra em um tubo de extração e, em seguida, adicionados 10 mL de ACN, ultrassom por 30 min e centrifugação à 3600 rpm por 10 min. Após, o sobrenadante foi transferido quantitativamente para um tubo de vidro graduado, o volume foi completado até 10 mL com ACN e, após, evaporado sob corrente de N_2 . A amostra foi redissolvida com 500 μL de fase móvel (ACN:H₂O). Para análise das amostras de solo foi utilizado LC-MS/MS, com ESI no modo positivo, para confirmação dos compostos, e obtiveram valores de LOQ na faixa entre 2,5 e 5,0 $\mu\text{g kg}^{-1}$ e LOD entre 0,8 a 1,5 $\mu\text{g kg}^{-1}$. As recuperações para as amostras de solo ficaram na faixa de 89,3 e 105,7%, com RSDs menores que 8,7%.

RAMEZANI et al. (2009) avaliaram métodos de extração e “clean up” para a determinação de imazapyr, imazethapyr e imazaquin em solos com análise por HPLC-UV/Vis. Para isso, uma série de combinações de solventes, condições de pH e adsorventes foram testados para a extração em fase sólida (SPE) desses herbicidas. O método de extração dos herbicidas IMIs em solos consistiu em pesar 10 g de solo, o qual foi fortificado na concentração de 1,0 $\mu\text{g g}^{-1}$, seguido de homogeneização por meio de agitação no vortex por 1 min, e mantidos à 4 °C por uma semana, antes da extração. Após, foram adicionados 40 mL de NaOH 0,5 mol L^{-1} ,

seguido de agitação por 1 h. Em seguida, foi realizada centrifugação à 5860 rpm por 10 min, acidificação com HCl para pH 2,0 da solução do solo, e “clean-up” com cartuchos de SPE, seguido de análise por HPLC-UV. Os valores de recuperação mais altos dos herbicidas foram obtidos com NaOH 0,5 mol L⁻¹ como solução de extração, porém, a co-extração de ácidos húmicos e fúlvicos do solo gerou um pico mal resolvido no início do cromatograma. A avaliação de diferentes cartuchos de extração em fase sólida mostrou que o cartucho C18 + SCX permitiu a remoção de substâncias co-extraídas, resultando em altos níveis de recuperação (acima de 85,4%) dos herbicidas, com RSD < 8,2%. Limites de detecção de 0,5 µg mL⁻¹ foram obtidos para imazapyr, imazethapyr e imazaquin.

ASSALIN et al. (2014) utilizaram a Extração Assistida por Ultrassom para extração dos herbicidas IMLs imazethapyr e imazapic em amostras de solo com determinação por LC-MS/MS. Para extração dos herbicidas em amostras de solo foram pesados 5 g de amostra em um tubo de extração e, em seguida, adicionados 10 mL de solução aquosa de ácido fosfórico e metanol (pH 2) na razão de 9:1 (v/v). A mistura foi agitada por 1 min no vortex, seguido de ultrassom por 10 min e centrifugação por 5 min. Em seguida, o sobrenadante foi transferido para um tubo para evaporação a 53°C. Após, o resíduo foi redissolvido em 2 mL de fase móvel e filtrado para posterior injeção de 10 µL no LC-MS/MS. O LOQ foi menor que 0,2 µg Kg⁻¹ para ambos os herbicidas com RSD menores que 16% e recuperações para as amostras de solo entre 70 % e 120 %.

2.1.2. Métodos cromatográficos para determinação de resíduos de agrotóxicos

2.1.2.1. Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massas Sequencial

A Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massas Sequencial (LC-MS/MS, *Liquid chromatography-tandem Mass Spectrometry*) é uma das ferramentas analíticas mais interessantes da atualidade para a determinação de compostos orgânicos. Os compostos presentes em matrizes complexas, como amostras ambientais, fluidos biológicos e alimentos podem ser determinados livres de interferentes e com limites de detecção muito baixos, atendendo às exigências da legislação vigente sem, muitas vezes, necessitar de procedimentos de concentração [ARDREY, 2003]. Além disso, a LC-MS/MS permite um aumento de seletividade e sensibilidade proporcionando o monitoramento de centenas de compostos em uma única análise. Esta técnica promove uma eliminação de interferências de background, e simultaneamente, a confirmação dos compostos é obtida com elevado grau de certeza, devido ao espectro de massas muito característico do íon produto. Este espectro é específico para cada composto e não possui influência dos íons interferentes da matriz, pois são excluídos durante a seleção do íon [FERNÁNDEZ-ALBA, 2005].

Além disso, o espectrômetro de massa permite o fornecimento da massa molar, informação estrutural e análise quantitativa exata do analito [SKOOG et al., 2008]. A Figura 2.2 apresenta os componentes básicos de um sistema LC-MS/MS.

Apesar do alto custo de aquisição e manutenção destes equipamentos, além de analistas treinados, eles apresentam uma série de vantagens, tais como, alta eficiência analítica, menor tempo no desenvolvimento de métodos e elevada robustez [PRESTES et al., 2009].

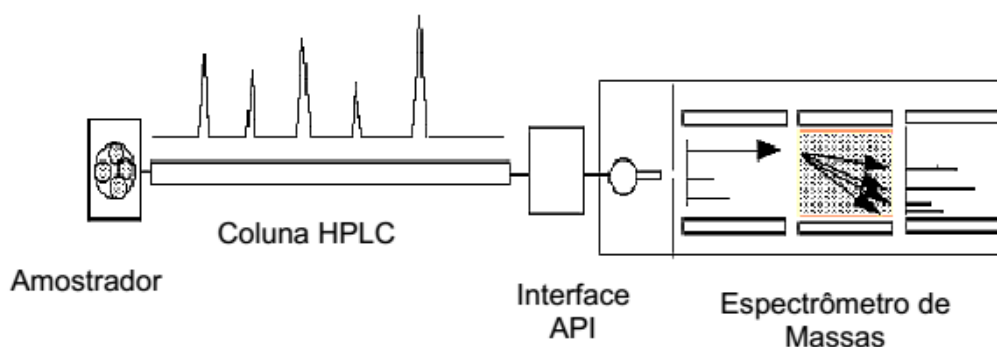


Figura 2.2. Componentes básicos de um sistema LC-MS/MS.

O acoplamento da cromatografia líquida com a espectrometria de massas foi um processo demorado devido à incompatibilidade entre as vazões relativamente altas empregadas em HPLC, que impossibilitava a transferência direta do eluente da coluna cromatográfica para o interior da fonte do espectrômetro, que opera em condições de alto vácuo [HARRIS, 2001; FERNÁNDEZ-ALBA, 2005]. Mas após as deficiências com as interfaces terem sido parcialmente superadas, a LC-MS vem sendo cada vez mais utilizada [ALDER et al., 2006].

A interface é um dispositivo colocado entre o LC e o MS com o objetivo de remover o solvente e transferir a amostra para a fonte de íons. A principal interface utilizada na análise de compostos polares é baseada na Ionização a Pressão Atmosférica (API, *Atmospheric Pressure Ionization*) e engloba a Ionização por Eletronebulização (ESI, *Electrospray Ionization*) e a Ionização Química a Pressão Atmosférica (APCI, *Atmospheric Pressure Chemical Ionization*).

Na Figura 2.3 está uma representação esquemática da ESI. Essa técnica se baseia na formação de um “spray” eletrostático, a partir do qual são geradas pequenas gotas carregadas e destas são liberados os íons. Quando o potencial elétrico aplicado no capilar metálico (kV) promove a migração de cargas para a interface capilar/solução, formando uma dupla camada elétrica, ocorre a formação de gotas com superfícies carregadas. A evaporação do solvente, devido à ação do gás nebulizador, normalmente nitrogênio, diminui o tamanho destas gotas e, conseqüentemente, aumenta a repulsão eletrostática entre as cargas formais que existem em suas superfícies. A tensão superficial das gotas vai se tornando cada vez maior até ocorrer

o fenômeno de “explosão coulômbica” das mesmas, que resulta na formação de gotas menores, com posterior liberação dos íons. Forma-se, assim, um “spray” de partículas carregadas, ou seja, uma corrente eletrolítica. A medida que a densidade de carga aumenta na gota, o campo elétrico formado entre o capilar e o contra-eletródo aumenta provocando a deformação da gota. A gota ganha a forma de um cone que é denominado de cone de Taylor [MORAES et al., 2003].

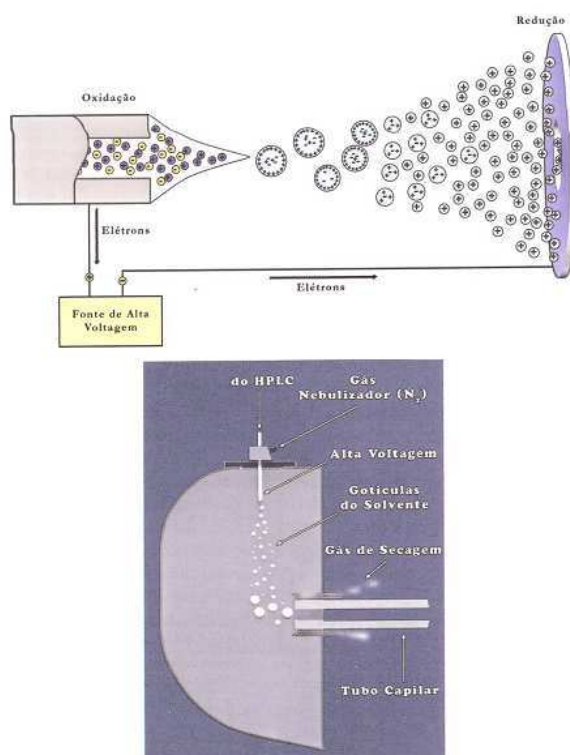


Figura 2.3. Interface do tipo electrospray utilizada para o acoplamento LC-MS [LANÇAS, 2009].

Os íons formados no processo são conduzidos para o anteparo pelo campo elétrico aplicado [LANÇAS, 2009]. A gota permanece “presa” ao capilar até o momento em que a densidade de carga na superfície da mesma e o aumento da repulsão entre os íons vençam a tensão superficial do líquido, ocorrendo a liberação de pequenas gotas com alta densidade de carga. Após a liberação das gotas com alta densidade de carga do cone de Taylor, estas passam pela região entre a ponta do capilar e o contra eletrodo ocorrendo a dessolvatação. Durante o processo de dessolvatação, a densidade de carga aumenta até um ponto em que as forças de repulsão vençam a tensão superficial e gotículas são liberadas pela fissão da gota inicial [MORAES et al., 2003].

A ionização por eletronebulização tem sido extensivamente empregada para determinação de resíduos de agrotóxicos em amostras ambientais como pode ser verificado por trabalhos publicados na literatura [ASSALIN et al. 2014; PORFIRI et al. 2015]. No caso da determinação

de resíduos dos herbicidas IMIs, imazethapyr e imazapic, em solos utiliza-se ESI-MS no modo positivo.

Os modos de operação são as maneiras como o espectrômetro de massas pode ser programado para a aquisição de dados. No modo scan, o espectrômetro de massas é programado de forma a analisar todas as massas do seu espectro de operação ou dentro de uma faixa determinada de m/z [VÉKEY, 2001]. No modo SIM (do inglês, *Single Ion Monitoring*), após a ionização, o espectrômetro de massas faz a separação de somente um íon específico, o que aumenta a sensibilidade, uma vez que os íons correspondentes ao ruído são ejetados sem chegar ao detector [VÉKEY, 2001]. Já no modo de Monitoramento de Reações Múltiplas (MRM, do inglês *Multiple Reactions Monitoring*), dois ou mais íons são separados e fragmentados novamente (MS/MS), sendo extremamente útil quando a separação cromatográfica não é completa [VÉKEY, 2001].

O modo MRM permite analisar multianalitos dentro de uma mesma análise, uma vez que, permite a identificação e separação de cada transição monitorada [DEMOLINER, 2008]. Além disso, operando neste modo aumenta a seletividade da espectrometria de massas para determinados analitos e melhora a sensibilidade, diminuindo a resposta dos interferentes e reduzindo o ruído de fundo [HARRIS, 2001].

Os analisadores de massas separam os íons de acordo com a relação existente entre suas massas e cargas, ou seja, a razão m/z . O LC-MS pode ser equipado com diversos analisadores, cada um com propriedades características para identificar, quantificar e resolver ambigüidades pela seleção de parâmetros adequados de ionização e aquisição [ROSEN, 2007].

2.1.2.2. Analisadores de Massas do Tipo Quadrupolo

Os analisadores de massas diferem entre si em relação às suas características de construção e operação, assim como seus benefícios e limitações. A escolha do mais apropriado deve ser efetuada considerando a aplicação (por exemplo, faixa de massas desejada), desempenho desejado (por exemplo, resolução) e custo [LANÇAS, 2009]. Dentre os analisadores de massas existentes destaca-se o sistema triplo quadrupolo (QqQ).

O quadrupolo linear é o analisador de massas mais popular devido a sua simplicidade, baixa linearidade em análises quantitativas e facilidade de ser entendido e operado. A Figura 2.4 mostra um esquema de um analisador de massa do tipo quadrupolo.

O espectrômetro de massas do tipo triplo quadrupolo (QqQ) é formado pela junção de três quadrupolos em sequência, dois analisadores quadrupolo que tem entre eles uma cela de colisão. No primeiro, o íon selecionado é separado da corrente de íons vinda da fonte de íons. No segundo quadrupolo, este íon sofre nova fragmentação por colisão por íons de N_2 ou

argônio. O terceiro quadrupolo seleciona um dos íons formados para enviar ao detector [HARRIS, 2001].

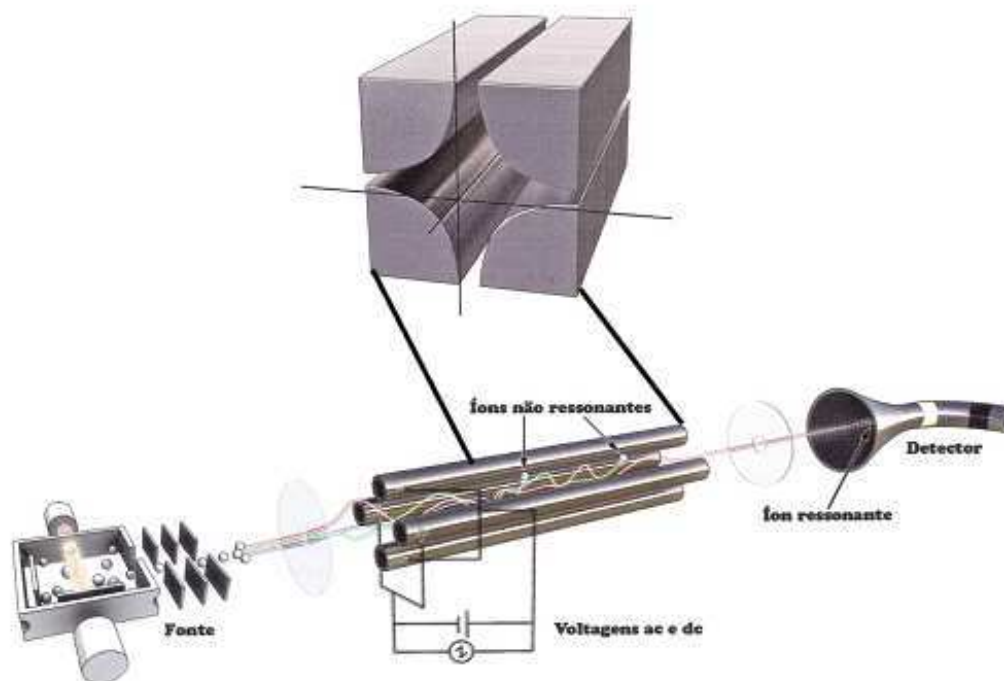


Figura 2.4. Esquema de um analisador de massa do tipo quadrupolo mostrando a trajetória dos íons em direção ao detector [LANÇAS, 2009].

Um par de barras é mantido em um potencial elétrico positivo, enquanto o outro a um potencial negativo. Uma combinação de corrente contínua (DC) e radiofrequência (Rf) é aplicada nas barras. O par positivo de barras atuará como um filtro para massas mais elevadas, enquanto que o par negativo agir para massas pequenas [LANÇAS, 2009].

Os quadrupolos operam a uma resolução constante, mantendo a razão Rf/DC constante e, a uma dada amplitude para as voltagens Rf e DC, somente os íons que apresentarem determinada razão m/z , a qual esteja em ressonância com o campo aplicado, irão passar pelas barras do quadrupolo e serão detectados. Enquanto que os demais íons que entrarem no quadrupolo terão suas trajetórias instáveis e, conseqüentemente, atingirão as barras e serão eliminados pela bomba de vácuo [LANÇAS, 2009].

A alta sensibilidade e seletividade estão entre as principais vantagens ao empregar um QqQ para análise de agrotóxicos, particularmente, operando no modo MRM. Adicionalmente, as análises por MRM introduzem alta especificidade, uma vez que se baseiam na detecção do íon precursor e de um fragmento conhecido [ROSEN, 2007]. Considerando essas vantagens, e a simplicidade relativa das análises realizadas no modo MRM, o uso do LC-QqQ-MS/MS tem sido mais comum na determinação de resíduos de contaminantes em análises ambientais e de alimentos.

KUSTER et al. (2006) mostraram que aproximadamente 70% dos métodos revisados na literatura estão baseados nesta configuração: LC - MS/MS equipado com um analisador do tipo QqQ operando no modo MRM por meio de interfaces de API.

2.1.2.3. Efeito Matriz em LC-MS/MS

O efeito matriz (ME, *Matrix Effect*) foi descrito pela primeira vez por TANG e KEBARLE (1993), em análise por LC, em que observaram a diminuição da resposta de uma base orgânica em uma determinada matriz, empregando ESI como fonte de ionização, com o aumento da concentração de outras bases orgânicas.

A presença de efeito matriz na análise por LC-MS pode resultar em mudanças na eficiência de ionização, uma vez que, pode ocorrer supressão ou aumento da ionização [KRUVE et al., 2008; PRESTES et al., 2009]. A interferência dos componentes da matriz ocorre à medida que eluem no mesmo tempo de retenção (t_R) que o analito e, por isso, competem com este durante o processo de ionização. O mecanismo exato da supressão iônica é desconhecido, porém, causado pela presença de substâncias não-voláteis ou pela competição entre um analito e a co-eluição de um componente da matriz não monitorado [PRESTES et al., 2009].

O efeito matriz é dependente da natureza química do analito, pois, a eficiência de ionização dos compostos polares é mais influenciada pela presença de co-elutos provenientes da matriz quando comparada com compostos apolares. [PRESTES et al., 2009; HAJŠLOVÁ et al., 1998]. Parâmetros instrumentais, tais como, fonte de ionização e vazão da fase móvel, também influenciam na extensão do efeito matriz [KRUVE et al., 2008].

Adicionalmente, a intensidade do efeito matriz pode variar de uma amostra para outra com a concentração do analito na matriz. De acordo com HAJŠLOVÁ et al. (1998), o efeito matriz é maior em baixas concentrações de analitos, com um decréscimo na razão da concentração do analito/concentração da matriz. TANG & KEBARLE (1993) relatam que, os componentes da matriz, quando presentes na amostra em concentração superior a 10^{-5} mol L⁻¹, podem interferir na ionização dos compostos.

Há relatos na literatura de diversos métodos para quantificar o efeito matriz para um determinado composto, no intuito de eliminar ou reduzir este efeito em LC-MS, tais como, modificações na etapa de extração e emprego de uma separação cromatográfica adequada [STÜBER & REEMTSMA, 2004; KRUVE et al., 2008].

Portanto, a exata avaliação do efeito matriz pode evitar estimativas errôneas dos teores dos analitos. E para redução deste efeito é recomendável o uso de curva analítica preparada em extratos da matriz isenta de agrotóxicos [RIBANI et al., 2004; PRESTES et al., 2009]. Outra forma de redução do efeito matriz seria submeter os extratos a novos processos de “clean-up”.

2.1.3. Validação de métodos cromatográficos de análise

A validação de um método analítico implica em informações confiáveis e interpretáveis com relação a uma amostra [RIBANI et al., 2004]. Esse processo, visa garantir, por meio de estudos experimentais, que o método atende às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados [EURACHEM, 1998; ANVISA, 2003]. Os parâmetros geralmente investigados são: curva analítica e linearidade, limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ), precisão (repetitividade e precisão intermediária) e exatidão [LANÇAS, 2004; RIBANI et al., 2004; SANCO, 2007].

2.1.3.1. Curva analítica e linearidade

A curva analítica é uma ferramenta de quantificação e corresponde ao modelo matemático que estabelece uma relação entre a resposta instrumental (área / altura da banda cromatográfica) e a concentração do analito [RIBANI et al., 2004].

O Grupo de Analistas de Resíduos de Pesticidas (GARP) e a ANVISA sugerem que para a curva analítica, um mínimo de cinco concentrações do composto deve ser injetado em ordem crescente de concentração, no mínimo três vezes cada, com estimativa do desvio padrão relativo (RSD) entre as injeções inferior a 5% [BRITO et al., 2003; RIBANI et al., 2004].

O preparo da curva analítica pode ser em solvente ou no extrato da matriz. A curva preparada em solvente não considera o efeito matriz e a estimativa dos coeficientes da curva ocorre a partir de um método matemático conhecido como regressão linear descrita pela equação $y = ax + b$, porém, só é válida em um determinado intervalo de massa ou concentração da espécie medida [RIBANI et al., 2004; INMETRO, 2010].

A linearidade refere-se à capacidade de uma metodologia analítica em fornecer resultados que sejam diretamente proporcionais à concentração do analito nas amostras, dentro de uma determinada faixa de aplicação [RIBANI et al., 2004]. Este parâmetro pode ser demonstrado pelo coeficiente de determinação (r^2) do gráfico analítico. Já o coeficiente de correlação (r) permite uma estimativa da qualidade da curva obtida, pois quanto mais próximo o coeficiente de correlação de 1,0, menor a dispersão do conjunto de pontos experimentais e menor a incerteza dos coeficientes de regressão estimados. Um valor de $r > 0,999$ é considerado como evidência de um ajuste ideal dos dados para a linha de regressão. A ANVISA recomenda um $r \geq 0,99$ e o INMETRO um $r > 0,90$ [RIBANI et al., 2004].

No entanto, apenas o valor do coeficiente de correlação não é suficiente para garantir a adequação do ajuste linear à curva de calibração. Para evitar problemas de falta de ajuste durante a modelagem, faz-se necessária a análise do gráfico dos resíduos do sinal analítico e a aplicação de testes para determinar a faixa na qual a curva de calibração apresenta um comportamento linear. Uma curva bem ajustada deverá apresentar erros com distribuição

uniforme, média zero e variância constante (homocedastidade), e ausência de amostras atípicas [Ribeiro et al., 2008].

O método de superposição de matriz consiste na adição do padrão do analito em diversas concentrações em uma matriz similar à da amostra, isenta da substância, e construção da curva analítica relacionando as áreas obtidas com as concentrações dos padrões [RIBANI et al., 2004]. Este método é usado para compensar o efeito matriz ou de possíveis interferentes sendo muito importante em determinações quando a matriz pode interferir na pré-concentração, extração, separação ou detecção do analito de interesse [RIBANI et al., 2004].

2.1.3.2. Sensibilidade

A sensibilidade é um parâmetro que demonstra a variação da resposta em função da concentração do analito e pode ser expressa pela inclinação da curva analítica, sendo determinada simultaneamente aos testes de linearidade. A sensibilidade depende da natureza do analito e da escolha da técnica de detecção [INMETRO, 2010]. No caso de uma reta, quanto maior for o ângulo de inclinação da reta, mais sensível será o método [LANÇAS, 2004].

2.1.3.3. Limite de Detecção e Limite de Quantificação

O Limite de Detecção é a menor concentração do analito presente em uma amostra que pode ser detectada, porém, não necessariamente quantificada, sob as condições experimentais estabelecidas [RIBANI et al., 2004]. Na prática, o LOD é determinado pela menor concentração do analito que gera um sinal três vezes maior que o sinal do ruído.

O Limite de Quantificação representa a menor concentração de uma substância que pode ser medida com confiabilidade, utilizando um determinado procedimento experimental [RIBANI et al., 2004]. E também pode ser definido em relação ao ruído, sendo dez vezes maior que o sinal do ruído.

O método mais utilizado para estimar o LOD e o LOQ em Cromatografia é o da relação sinal/ruído e pode ser aplicado somente para processos analíticos que exibem linha de base. Essa razão sinal/ruído é determinada por meio da comparação dos sinais medidos da amostra com baixas concentrações conhecidas do analito com as do branco, estabelecendo-se a concentração mínima na qual o analito pode ser detectado e quantificado. O LOD e o LOQ são expressos como uma concentração, sendo que a precisão e exatidão também devem ser consideradas [RIBANI et al., 2004].

2.1.3.4. Exatidão (Recuperação)

O grau de concordância entre o resultado de um ensaio e o valor de referência aceito como valor verdadeiro representa a exatidão do método [INMETRO, 2010]. É normalmente expressa em termos de porcentagem e aparece sempre associada a valores de precisão [EURACHEM, 1998]. A exatidão é sempre considerada dentro de certos limites, que podem ser estreitos em níveis de concentração elevados e mais amplos em níveis de traços [RIBANI et al., 2004].

Os processos normalmente utilizados para avaliar a exatidão de um método são: uso de materiais de referência certificados, comparações interlaboratoriais e realização de ensaios de recuperação [ANVISA, 2003; INMETRO, 2010]. No caso de compostos orgânicos utiliza-se, geralmente, este último procedimento.

A avaliação da recuperação é o método mais utilizado na validação de métodos cromatográficos, e é a medida da eficiência do processo de isolamento do analito de interesse da matriz na qual se encontra presente [LANÇAS, 2004].

Dessa forma, para a avaliação da eficiência da recuperação pelo método de extração escolhido, as amostras “branco” são fortificadas pela adição do composto de interesse na faixa de concentração esperada para o mesmo, em pelo menos três diferentes concentrações, ou seja, próximo ao limite de quantificação, próximo à concentração máxima permissível e em uma concentração próxima à média da faixa de uso do método. A limitação desse procedimento é a de que o analito adicionado não está necessariamente na mesma forma que se apresenta na amostra [INMETRO, 2010].

O intervalo aceitável de recuperação para a análise de resíduos, geralmente, é entre 70 e 120%, com precisão de até $\pm 20\%$ [SANCO, 2007]. Porém, dependendo da complexidade analítica e da amostra, este valor pode estar entre 50 e 120%, com precisão de até $\pm 15\%$ [RIBANI et al., 2004].

2.1.3.5. Precisão

A precisão é um termo geral para avaliar a dispersão de resultados entre ensaios independentes, repetidos em uma mesma amostra, em amostras semelhantes ou em padrões, nas mesmas condições definidas no método de ensaio [RIBANI et al., 2004]. As formas mais comuns de expressá-la são por meio da repetitividade, da precisão intermediária e da reprodutibilidade, sendo que a precisão avalia a proximidade entre várias medidas efetuadas em uma mesma amostra [INMETRO, 2010]. A precisão de um método analítico pode ser expressa como o desvio padrão ou desvio padrão relativo (coeficiente de variação) de uma série de medidas [ANVISA, 2003]. No caso de métodos empregados em

determinações ao nível de traços ou impurezas, valores de RSD de até 20% são aceitáveis, dependendo da complexidade da amostra [RIBANI et al., 2004].

2.1.3.5.1. Repetitividade

É o grau de concordância entre os resultados de medições sucessivas de um mesmo composto em que se utiliza de mesmo procedimento de medição, mesmo analista, mesmo equipamento utilizado sob as mesmas condições de análise, mesmo local e repetições do ensaio em curto espaço de tempo. Para repetitividade, o INMETRO recomenda sete ou mais repetições para o cálculo da estimativa do desvio padrão, enquanto que, a ANVISA recomenda um mínimo de nove determinações cobrindo o limite do procedimento, ou seja, três diferentes concentrações e três replicatas cada uma, ou a partir de um mínimo de seis determinações a uma concentração similar ao valor esperado [RIBANI et al., 2004].

2.1.3.5.2. Precisão intermediária

A precisão intermediária, refere-se à precisão avaliada sobre a mesma amostra, amostras idênticas ou padrões, utilizando o mesmo método, no mesmo laboratório, mas definindo exatamente quais as condições a variar (uma ou mais), como por exemplo: diferentes analistas, diferentes equipamentos, e diferentes dias de análise [INMETRO, 2010]. A precisão intermediária é reconhecida como a mais representativa da variabilidade dos resultados em um único laboratório e, como tal, mais aconselhável de ser adotada. A validação da precisão intermediária tem por objetivo verificar que no mesmo laboratório o método fornecerá os mesmos resultados. Esta medida de precisão pode ser expressa através da estimativa do desvio padrão relativo (RSD) [RIBANI et al., 2004].

2.1.3.5.3. Reprodutibilidade

O grau de concordância entre os resultados das medições de uma mesma amostra, efetuadas sob condições variadas de análise (mudança de operador, local, equipamentos, etc) representa a reprodutibilidade. É obtida, geralmente, através de estudo de colaboração entre laboratórios [RIBANI et al., 2004]. A reprodutibilidade é considerada importante quando um laboratório busca a verificação do desempenho dos seus métodos em relação aos dados de validação obtidos por meio de comparação interlaboratorial [INMETRO, 2010].

2.1.3.6. Robustez

A robustez mede a sensibilidade que um método analítico apresenta em relação a pequenas variações [INMETRO, 2010]. O método pode ser considerado robusto quando ele não é afetado por uma modificação pequena e deliberada em seus parâmetros. No caso de um método cromatográfico, a robustez é avaliada, por exemplo, pela variação de parâmetros como a concentração do solvente orgânico, pH e força iônica da fase móvel em HPLC, programação da temperatura, natureza do gás de arraste em GC, bem como o tempo de extração, agitação, etc. As mudanças introduzidas refletem as alterações que podem ocorrer quando um método é transferido para outros laboratórios, analistas ou equipamentos [RIBANI et al., 2004].

2.2. Material e Métodos

Os estudos da persistência e da mobilidade dos herbicidas imazethapyr e imazapic nos solos, Plintossolo Háplico Distrófico (FX) e Latossolo Vermelho-Amarelo Distrófico (LVA), foram realizados em casa de vegetação, no campus da Universidade Federal de Viçosa (UFV). As amostras de solo deste estudo foram armazenadas em um freezer para posterior análise por método cromatográfico. A extração dos herbicidas empregando o método QuEChERS foi realizada no laboratório Herbicida no Solo da UFV e a quantificação dos dois herbicidas IMIs nas amostras de solo foi realizada no Núcleo de Análises de Biomoléculas da UFV.

O desenvolvimento experimental consistiu na otimização e validação do método QuEChERS modificado para a extração dos herbicidas imazethapyr e imazapic nas amostras de solo do estudo de meia-vida e lixiviação, e posterior quantificação destes herbicidas por LC-MS/MS.

2.2.1. Instrumentação

A instrumentação utilizada no desenvolvimento do método está descrita a seguir: Agitador vortex, balança analítica de precisão, banho de ultrassom, centrífuga, micropipetadores automáticos com capacidade variável, pHmetro equipado com eletrodo de vidro combinado, sistema de purificação de água Milli-Q Direct UV3[®] (Millipore), sistema LC-MS/MS Agilent Technologies 6430, amostrador automático, bomba quaternária, forno para coluna e sistema de degaseificação, coluna analítica (Eclipse Plus C18) (2,1 x 50 mm d.i.) e 1,8 µm de tamanho de partícula (Agilent Technologies), detector Espectrômetro de Massa QqQ 6430

com fonte ESI, sistema de aquisição de dados através do Software Mass Hunter B06.00, sistema gerador de nitrogênio.

2.2.2. Reagentes, solventes e materiais utilizados

Os reagentes, solventes e materiais utilizados no desenvolvimento do trabalho foram: Acetonitrila grau HPLC (Sigma-Aldrich), Acetonitrila grau MS (Sigma-Aldrich), Ácido fórmico 98% (Fluka), Ácido clorídrico p.a. (Vetec), Água destilada e água deionizada, água ultrapura, purificada em sistema Milli-Q Direct UV3[®] (resistividade de 18,2 MΩ cm), gás nitrogênio analítico 5.0 usado como gás de colisão no sistema LC-MS/MS (White Martins), gerador/compressor de nitrogênio (Peak), hidróxido de cálcio (Baker), sulfato de magnésio anidro (Sigma-Aldrich), cloreto de sódio p.a. (Vetec), cartuchos de Strata C18-E (100 mg / 3mL), tubos de polipropileno com tampas rosqueadas com capacidade de 50 mL, frascos de vidro (*vial*) com capacidade de 2,0 mL, vidraria comum de laboratório, padrões sólidos dos herbicidas (Sigma-Aldrich).

2.2.3. Padrões analíticos dos herbicidas IMIs

Preparou-se individualmente, 25 mL de solução analítica estoque na concentração de 1000 mg L⁻¹ de cada herbicida considerando a pureza dos padrões sólidos, conforme recomendado na literatura [GARP, 1999]. A massa do padrão sólido pesado foi dissolvida em acetonitrila grau MS e as soluções estoque foram armazenadas em frascos âmbar à temperatura de 4 °C. Após, foram preparadas soluções analíticas individuais de ambos os herbicidas em estudo, na concentração de 100 mg L⁻¹, em acetonitrila. A partir destas soluções, preparou-se uma mistura contendo ambos os herbicidas na concentração 5 mg L⁻¹. A partir desta solução padrão, foram preparadas as soluções analíticas de trabalho no extrato da matriz nas concentrações de 10,0; 40,0; 70,0; 100,0; 130,0; 160; 190 e 210,0 µg kg⁻¹ para o estudo da linearidade do método.

2.2.4. Otimização do sistema cromatográfico LC-MS/MS para determinação dos herbicidas IMIs

No presente trabalho, a otimização do método QuEChERS modificado foi realizada empregando a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detecção por Arranjo de Diodos (HPLC-DAD). No entanto, devido à presença de interferentes provenientes da matriz do solo e aos baixos limites de detecção requeridos para análise de herbicidas IMIs em solo, optou-se por utilizar a técnica Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência acoplada à Espectrometria de Massas sequencial (UPLC-MS/MS), para a etapa de validação, pois esta apresenta maior sensibilidade e seletividade em relação aos detectores convencionais.

O uso do MS/MS permite detectar individualmente os compostos, não separados pela técnica cromatográfica utilizada, através do modo de aquisição MRM, se apresentarem diferentes massas molares e gerarem diferentes espectros de massas. Assim, o LC-MS/MS possibilita a obtenção de uma grande quantidade de informação estrutural acerca do composto de interesse, o que assegura sua identificação com maior exatidão do que quando ela é feita apenas com base nas características de retenção dos compostos analisados, como ocorre nas outras técnicas de detecção cromatográficas [CHIARADIA et al., 2008]. Adicionalmente, o uso do LC-MS/MS possibilita eliminar interferências espectrais e o problema de co-eluição de substâncias encontradas, sendo o detector de massas uma ferramenta analítica essencial para análise e confirmação dos analitos de interesse em níveis de traços.

No entanto, a separação cromatográfica é importante para assegurar a eficiência da ionização dos compostos, aumentando a sensibilidade dos fragmentos selecionados, além das condições otimizadas para a fragmentação dos compostos que devem se apresentar adequadas à vazão de fase móvel empregada. A seguir, segue a otimização dos principais parâmetros do sistema cromatográfico LC-MS/MS para a determinação dos herbicidas imazethapyr e imazapic.

2.2.4.1. Escolha da composição da fase móvel e da vazão

A escolha da fase móvel foi realizada a partir de informações obtidas por meio de revisão bibliográfica dos herbicidas IMIs imazethapyr e imazapic para análise por LC, particularmente, quando acoplada ao sistema MS/MS. Neste trabalho, a fase móvel empregada foi água ultrapura (solvente A) e acetonitrila (solvente B), ambas acidificadas com 100 mmol L⁻¹ de ácido fórmico.

Para otimizar o tempo de análise e garantir a separação adequada dos herbicidas imazethapyr e imazapic foi necessário empregar um gradiente de eluição conforme descrito na Tabela 2.1, visando uma eficiente eluição destes herbicidas em um menor tempo possível de análise.

A vazão da fase móvel foi selecionada de acordo com a separação e sensibilidade dos compostos, sendo escolhida a vazão de 0,2 mL min⁻¹. A Tabela 2.1 apresenta as condições empregadas no sistema cromatográfico LC-MS/MS para determinação dos herbicidas imazethapyr e imazapic.

Tabela 2.1. Condições empregadas no sistema cromatográfico LC-MS/MS.

Parâmetros	Condições utilizadas
Coluna analítica	Eclipse Plus C18 (2,1 x 50 mm d.i., 1,8 µm)
Fase móvel	Água ultrapura e acetonitrila, ambas acidificadas com 100 mmol L ⁻¹ de ácido fórmico
Gradiente de eluição	60% A e 40% B de 0 a 5 min; sendo mudado para 20% A e 80% B de 5 a 7 min; e voltando à proporção inicial 60% A e 40% B de 7 a 8 minutos
Vazão	0,2 mL min ⁻¹
Volume de injeção	10 µL
Detector	Espectrômetro de massas, do tipo Triplo Quadrupolo, operando no modo MS/MS

% A: Água ultrapura acidificada com 100 mmol L⁻¹ de ácido fórmico
% B: Acetonitrila acidificada com 100 mmol L⁻¹ de ácido fórmico

2.2.4.2. Acidificação da fase móvel

O uso de ácidos orgânicos, mais voláteis, é indicado no caso do LC-MS/MS, para evitar que ocorra cristalização na interface do sistema. Além disso, a fase móvel quando acidificada influencia na fragmentação dos compostos a serem determinados melhorando a eficiência da ionização [KUSTER et al., 2006].

A fase estacionária C18 é a mais utilizada em LC, em fase reversa, e devido às características polares da maioria dos agrotóxicos analisados por esta técnica, foi necessário o ajuste do pH da fase móvel para que ocorresse uma melhor interação dos herbicidas imazethapyr e imazapic com a fase estacionária da coluna cromatográfica. O herbicida com características ácidas se ioniza, fica menos hidrofóbico, e sua retenção diminui. Neste trabalho, ambas as fases, aquosa (água Milli-Q) e orgânica (ACN), foram acidificadas com 100 mmol L⁻¹ de ácido fórmico.

2.2.4.3. Condições do sistema de detecção

Para otimizar as condições do espectrômetro de massas foram feitas infusões, ou seja, injeções diretas no detector, para tal foi utilizada solução 100 µg L⁻¹ de cada herbicida individualmente. A partir das infusões escolhe-se o modo de ionização da fonte, voltagem do capilar, energias de colisão para fragmentar o íon precursor e gerar íons produtos,

temperatura da fonte, temperatura e pressão do gás de dessolvatação, e pressão do gás de secagem. Após a escolha destas condições foram selecionados os íons a serem monitorados para qualificação e quantificação dos compostos estudados. Na análise dos herbicidas imazethapyr e imazapic foi utilizado ESI no modo positivo.

2.2.5. Otimização do método QuEChERS modificado para extração dos herbicidas IMIs em amostras de solo

A complexidade da matriz solo e os baixos níveis de concentração em que os herbicidas IMIs são encontrados, torna o preparo de amostra uma importante etapa de análise para a obtenção de resultados confiáveis. Neste trabalho, foi utilizado o método QuEChERS com modificações em relação ao proposto por ANASTASSIADES et al. (2003). As modificações do método relativas aos tipos de sais e quantidade destes utilizada na etapa de partição, e a escolha do sorvente para a etapa de “clean up” de modo a obter uma recuperação dentro dos limites aceitáveis para os herbicidas imazethapyr e imazapic nas amostras de solo, foram realizadas baseadas em estudos da literatura [Martins, 2010].

A otimização do método QuEChERS foi realizada utilizando as amostras dos solos Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (LVA) e o Plintossolo Háplico Distrófico (FX), coletadas no Estado de Tocantins, e isentas dos herbicidas de interesse. As amostras de solo foram fortificadas ($5,0 \text{ mg kg}^{-1}$), em triplicata, e submetidas à extração pelo método QuEChERS modificado e análise por HPLC/DAD. As eficiências de extração obtidas para cada solo foram comparadas através da ANOVA com post-hoc teste de Tukey e foram estatisticamente iguais ao nível de 95% de confiança.

2.2.5.1. Amostras de solo usadas na etapa de validação

Após otimização do método QuEChERS, o solo Plintossolo Háplico Distrófico (FX) foi escolhido para a etapa de validação do método. As amostras, denominadas “amostras branco”, utilizadas neste estudo não devem apresentar nenhum resíduo de qualquer dos herbicidas em estudo, para assim serem utilizadas para as fortificações na validação do método.

No intuito de confirmar a ausência dos herbicidas imazethapyr e imazapic nas amostras de solo, realizou-se o processo de extração e “clean-up” das mesmas e, posteriormente, foram eluídas em cartuchos C18-E antes da injeção dos extratos no sistema LC-MS/MS.

2.2.6. Validação do método QuEChERS modificado empregando LC-MS/MS para análise dos herbicidas imazethapyr e imazapic em solo

2.2.6.1. Curva analítica e linearidade

A linearidade das curvas analíticas foi avaliada a partir das soluções contendo os herbicidas em estudo, preparadas conforme descrito no item 2.2.3, no extrato da matriz, nas concentrações de 10,0; 40,0; 70,0; 100,0; 130,0; 160; 190 e 210,0 $\mu\text{g kg}^{-1}$ para imazethapyr e imazapic, em triplicata. As curvas analíticas no extrato da matriz foram injetadas três vezes no LC-MS/MS.

2.2.6.2. Limite de detecção e limite de quantificação

Os limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) foram calculados pela razão entre a estimativa do desvio padrão do coeficiente linear e a inclinação da curva analítica. O valor resultante foi multiplicado por 3,3 para obter o LOD e por 10 para obter o LOQ [HOLLER et al., 2009].

Os limites do instrumento e do método foram obtidos pela injeção de soluções analíticas em diferentes concentrações preparadas em acetonitrila na faixa de 0,25 a 2,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ e no extrato da matriz na faixa de 3,0 a 30 $\mu\text{g kg}^{-1}$, respectivamente.

2.2.6.3. Avaliação da exatidão do método

Para avaliar a exatidão do método (recuperação), foram realizadas seis fortificações das amostras “branco” em três níveis diferentes de concentração, 10; 100 e 210 $\mu\text{g kg}^{-1}$, totalizando 18 análises.

Inicialmente, para o procedimento de extração dos herbicidas IMIs dos solos pelo método QuEChERS modificado, pesou-se $5,0 \pm 0,1$ g de solo homogêneo diretamente em tubos de polipropileno, com tampa rosqueada (capacidade 50 mL). Em seguida, efetuou-se a fortificação do solo com soluções da mistura dos herbicidas, imazethapyr e imazapic, nas concentrações de 10; 100 e 210 $\mu\text{g kg}^{-1}$ utilizando micropipetadores automáticos. Após a fortificação, os solos foram homogeneizados por meio de agitação em vortex por 1 min e mantidos à 4°C por 24 h antes da extração. Segundo PINTO et al. (2010), faz-se necessário certo tempo de contato entre a amostra e os analitos para que ocorra a evaporação do solvente e a maior interação entre os compostos e a matriz. Após esse período, adicionou-se, com auxílio de uma pipeta automática, 20 mL de solução saturada de hidróxido de cálcio (pH 12,0) em cada tubo, seguido de agitação em vortex por 1 min. Após, adicionou-se 10 mL de acetonitrila em cada tubo, seguido de agitação em vortex por 1 min. Para a etapa de partição,

acrescentou-se 4,0 g de sulfato de magnésio anidro e 3,0 g de cloreto de sódio em cada tubo e, logo em seguida, agitação em vortex por 1 min para a completa interação entre o extrato e os sais. Após esta etapa, procedeu-se o ajuste do pH do extrato para 3,0, através da adição de 390 μL de solução aquosa de ácido clorídrico 6 mol L^{-1} , seguido de agitação manual por 30 s e centrifugação à 3200 rpm durante 10 min. Para a etapa de “clean-up”, transferiu-se diretamente 2 mL de extrato para outro tubo de polipropileno (capacidade de 50 mL), já contendo 250 mg de sulfato de magnésio anidro, sendo novamente agitados em vortex por 1 min, seguido de centrifugação. O sobrenadante foi levado para um “speed vac” para a evaporação do solvente, e posteriormente, foi redissolvido com 1 mL de água Milli Q no ultrassom, seguido de eluição em cartuchos de Strata C-18-E, previamente condicionado de acordo com protocolo de limpeza de amostra para estes cartuchos. Após, foi realizada passagem de 1 mL de ACN pelo cartucho, seguido de transferência para um vial com capacidade para 2 mL para análise no LC-MS/MS. As Figuras 2.5 e 2.6 destacam todas as etapas do método de extração (QuEChERS modificado).

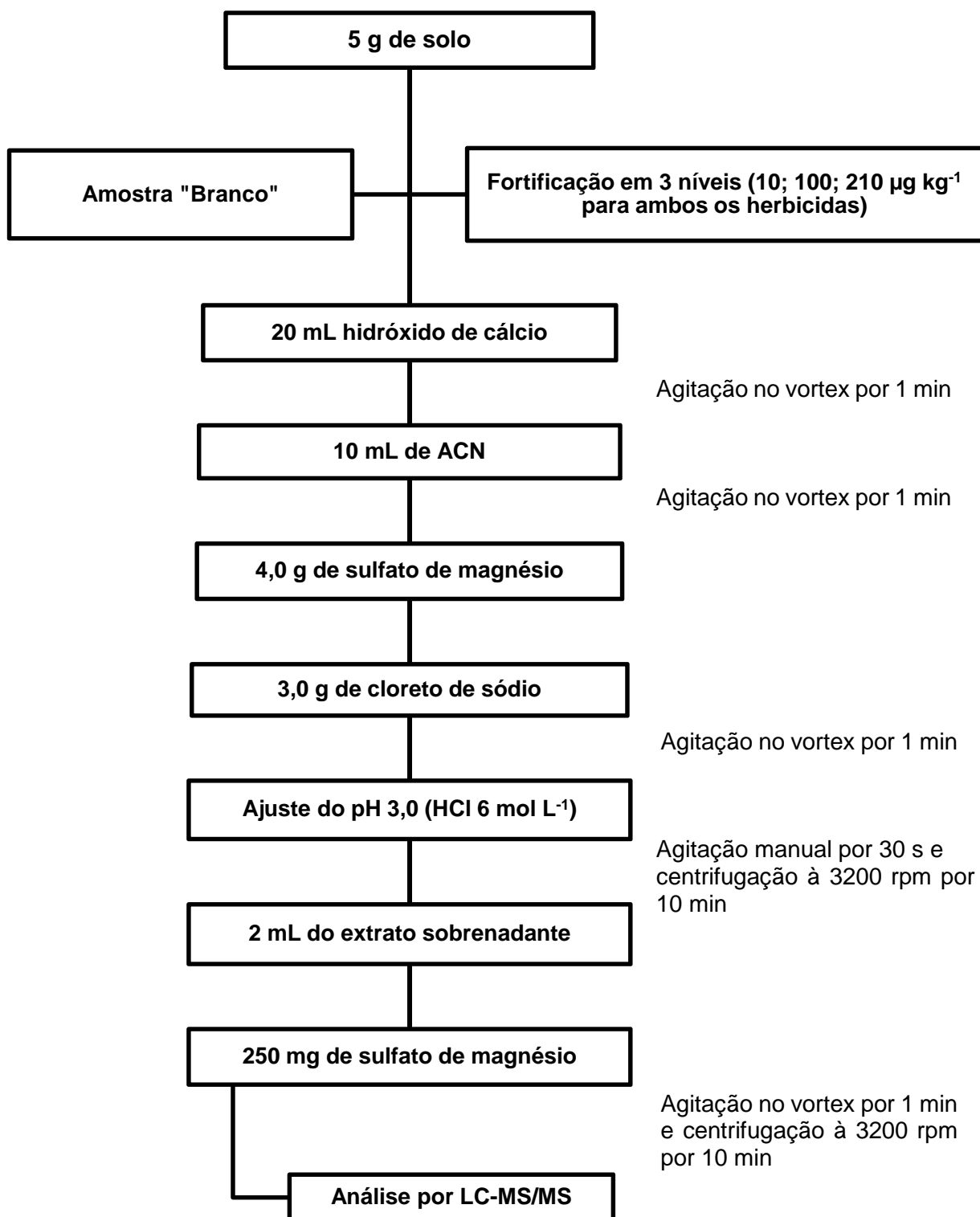


Figura 2.5. Representação esquemática do método QuEChERS modificado utilizado na determinação de imazethapyr e imazapic em solo.

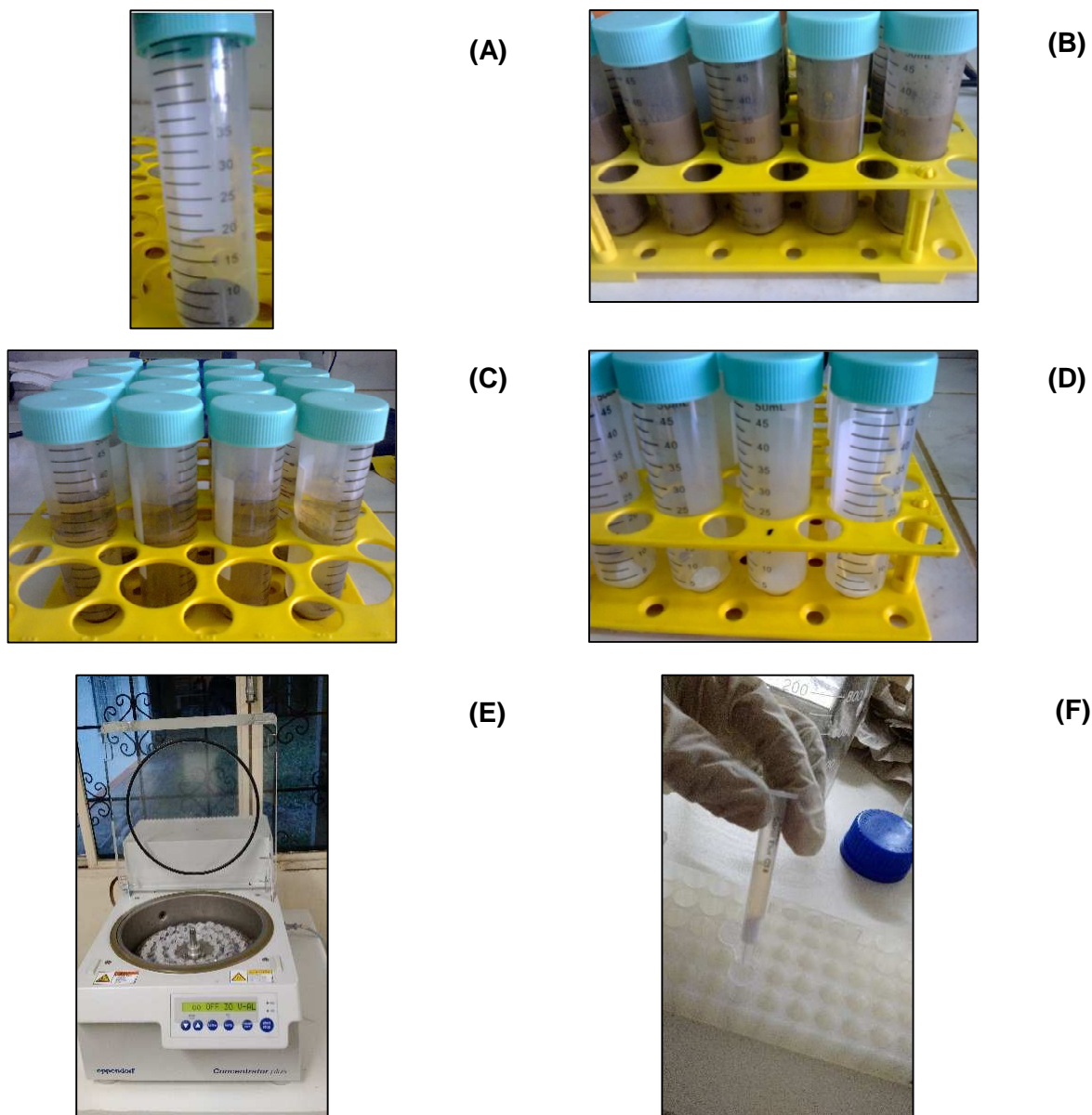


Figura 2.6. Algumas etapas da extração e “clean up” do método QuEChERS modificado **(A)** tubo de polipropileno com amostra de solo **(B)** tubos contendo amostra de solo, solução de $\text{Ca}(\text{OH})_2$, ACN, e os sais MgSO_4 e NaCl da etapa de partição **(C)** extrato após centrifugação **(D)** tubos contendo MgSO_4 para a etapa de “clean-up” **(E)** evaporação dos extratos até a secura no “speed vac” **(F)** eluição do extrato no cartucho C18-E.

2.2.6.4. Precisão (repetitividade e precisão intermediária)

A precisão pode ser avaliada por meio do RSD% que é calculado utilizando a equação a seguir [RIBANI et al., 2004; GARP, 1999].

$$RSD (\%) = \frac{s}{x_m} \times 100 \quad (3)$$

onde:

s = estimativa de desvio padrão absoluto = $\{\sum(x_i - x_m)^2 / N - 1\}^{1/2}$

x_i = valores individuais;

x_m = média das medidas em replicatas;

N = número de medidas;

A precisão foi expressa em termos de repetitividade (RSD_r) e de precisão intermediária (RSD_{pi}). Para determinar a repetitividade, as amostras foram fortificadas em três concentrações com seis repetições cada (10; 100 e 210 µg kg⁻¹). Para determinar a precisão intermediária, as amostras foram fortificadas em três concentrações com seis repetições cada (10; 100 e 210 µg kg⁻¹) e em três dias não consecutivos. Nas análises no sistema LC-MS/MS, para cada amostra efetuou-se três injeções de cada concentração das soluções analíticas preparadas no extrato da matriz. Os resultados foram expressos pelo RSD%.

2.2.7. Estudos da persistência e da mobilidade dos herbicidas imazethapyr e imazapic em solos

Para avaliar a persistência e a mobilidade dos herbicidas IMIs, experimentos foram realizados em casa de vegetação, no Campus da UFV, e para cada tipo de solo avaliado: Plintossolo Háplico Distrófico (FX) e Latossolo Vermelho-Amarelo (LVA), provenientes do Estado de Tocantins (TO). As amostras de solo foram coletadas em áreas sem histórico da aplicação de herbicidas na profundidade de 0 a 20 cm e peneiradas em malhas de 4 mm.

Os experimentos do estudo da persistência foram conduzidos no delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições. Os tratamentos foram dispostos em esquema de parcela subdividida, sendo que nas parcelas foram avaliados os herbicidas imazethapyr e imazapic, isolados e em mistura comercial, e nas subparcelas, as 11 épocas de semeadura da espécie bioindicadora (1, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120, 135 e 150 dias após o tratamento), além de uma testemunha sem aplicação. As unidades experimentais deste estudo foram constituídas por vasos de plásticos com capacidade de 0,33 dm³, preenchidos com os solos. Após o preparo dos vasos, foram aplicados na sua superfície o imazethapyr e imazapic, isolados e em mistura comercial, nas doses de 75 e 25 g ha⁻¹, respectivamente. Utilizou-se um pulverizador pressurizado a CO₂ comprimido, equipado com barra com dois bicos TT11002, espaçados de 0,50 m, mantidos à pressão de 25 lb pol⁻², com volume de calda de 150 L ha⁻¹.

Para avaliar a mobilidade dos herbicidas IMIs imazethapyr e imazapic nos solos avaliados, foram preparadas colunas de PVC de 10 cm de diâmetro por 50 cm de comprimento,

preenchidas com os solos correspondentes a cada experimento. As colunas foram previamente preparadas e parafinadas no seu interior, para evitar o escorrimento lateral da água. Todas as colunas foram marcadas e seccionadas a cada 5 cm de distância, com tampa lateral removível. Após o seu preenchimento com as amostras de solo, estas foram saturadas com água, para eliminar as bolhas de ar presas nos poros. A saturação foi alcançada colocando-se a coluna dentro de um recipiente (caixa-d'água) com até 80% da altura desta, por um período de 48 horas. Posteriormente, as colunas foram deixadas na posição vertical, vedando-se a parte superior com papel-alumínio. Depois disso, foram deixadas em repouso por 72 horas, para drenar o excesso de água. Os experimentos de lixiviação dos herbicidas IMIs nos solos FX e LVA foram realizados no delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições. Os tratamentos foram dispostos em esquema de parcela subdividida. As parcelas foram constituídas dos herbicidas avaliados (imazethapyr e imazapic, isolados e em mistura comercial), e as subparcelas, pelas profundidades do solo (0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-25, 25-30, 30-35, 35-40, 40-45 e 45-50 cm), mais uma testemunha sem aplicação de herbicidas.

O imazethapyr e imazapic, isolados e em mistura comercial, foram aplicados no topo das colunas, nas doses de 75 e 25 g ha⁻¹, respectivamente. Para isso, utilizou-se um pulverizador pressurizado a CO₂ comprimido, equipado com barra com dois bicos TT11002, espaçados de 0,50 m, mantidos em pressão de 25 lb pol⁻², com volume de calda de 150 L ha⁻¹. Doze horas após as aplicações dos tratamentos, com as colunas ainda na posição vertical, foi realizada a simulação da chuva, com aplicação de uma lâmina de 80 mm com intensidade variada, em função do tipo de solo: Plintossolo Háplico Distrófico (3,5 h) e Latossolo Vermelho-Amarelo (3,0 h). Para aferição da precipitação pluvial, foram instalados pluviômetros acoplados às paredes laterais das colunas. As colunas permaneceram por 72 horas na posição vertical, sendo em seguida colocadas na posição horizontal. A umidade dos solos nas colunas durante a realização desses experimentos, foi mantida por meio de irrigações diárias, mantendo-se o solo próximo à capacidade de campo.

2.3. Resultados e Discussão

2.3.1. Condições do sistema LC-MS/MS

As melhores condições de fragmentação dos íons monitorados foram: fonte de ionização à pressão atmosférica (API) com eletronebulização no modo positivo (ESI+). A temperatura do gás de dessolvatação (N₂) foi 300 °C, a pressão do gás de dessolvatação foi 35 psi e a voltagem da agulha foi 4000 V.

A fonte de ionização à pressão atmosférica foi empregada com interface por ESI, devido à polaridade dos herbicidas, sendo esta interface a mais indicada para compostos neutros ou polares, que podem ser protonados ou desprotonados em condições apropriadas de pH [ARDREY, 2003]. Na ESI, ocorre a produção de íons do composto na fase líquida, a transformação destes em íons gasosos que, em seguida, são introduzidos no espectrômetro de massas [FERNÁNDEZ-ALBA, 2005].

Na Tabela 2.2 estão descritas as informações referentes à análise dos herbicidas imazethapyr e imazapic por LC-MS/MS utilizando o modo de ionização ESI (+) e no modo de aquisição MRM: os íons precursores e íons produtos, a energia de colisão para as duas transições monitoradas e o tempo de retenção dos herbicidas.

Tabela 2.2. Herbicidas IMIs analisados por LC-MS/MS, modo de ionização ESI (+) e modo de aquisição MRM, íons precursores e íons produtos, e energia de colisão para as duas transições monitoradas.

Herbicidas	t_R (min)	1ª Transição (quantificação)			2ª Transição (confirmação)		
		Íon Precursor (m/z)	Íon Produto (m/z)	Energia de Colisão (eV)	Íon Precursor (m/z)	Íon Produto (m/z)	Energia de Colisão (eV)
Imazethapyr	1,3	290	245	19	290	248	17
Imazapic	1,1	276	231	18	276	234	17

Scan Time: 1,0 s

Para cada herbicida foram selecionadas duas transições características, como apresentado na Tabela 2.2, vantagem fornecida por um analisador de massas sequencial, LC-MS/MS. A transição mais intensa (mais estável) foi utilizada para a quantificação dos herbicidas e a segunda transição mais intensa para a confirmação dos mesmos.

A Figura 2.7 apresenta cromatogramas obtidos no modo ESI (+) para uma solução analítica na matriz contendo ambos os herbicidas, imazethapyr e imazapic, enquanto que, a Figura 2.8 apresenta os espectros no modo MRM, onde foram monitorados os íons utilizados para a quantificação e confirmação destes herbicidas, nas condições selecionadas para o sistema LC-MS/MS.

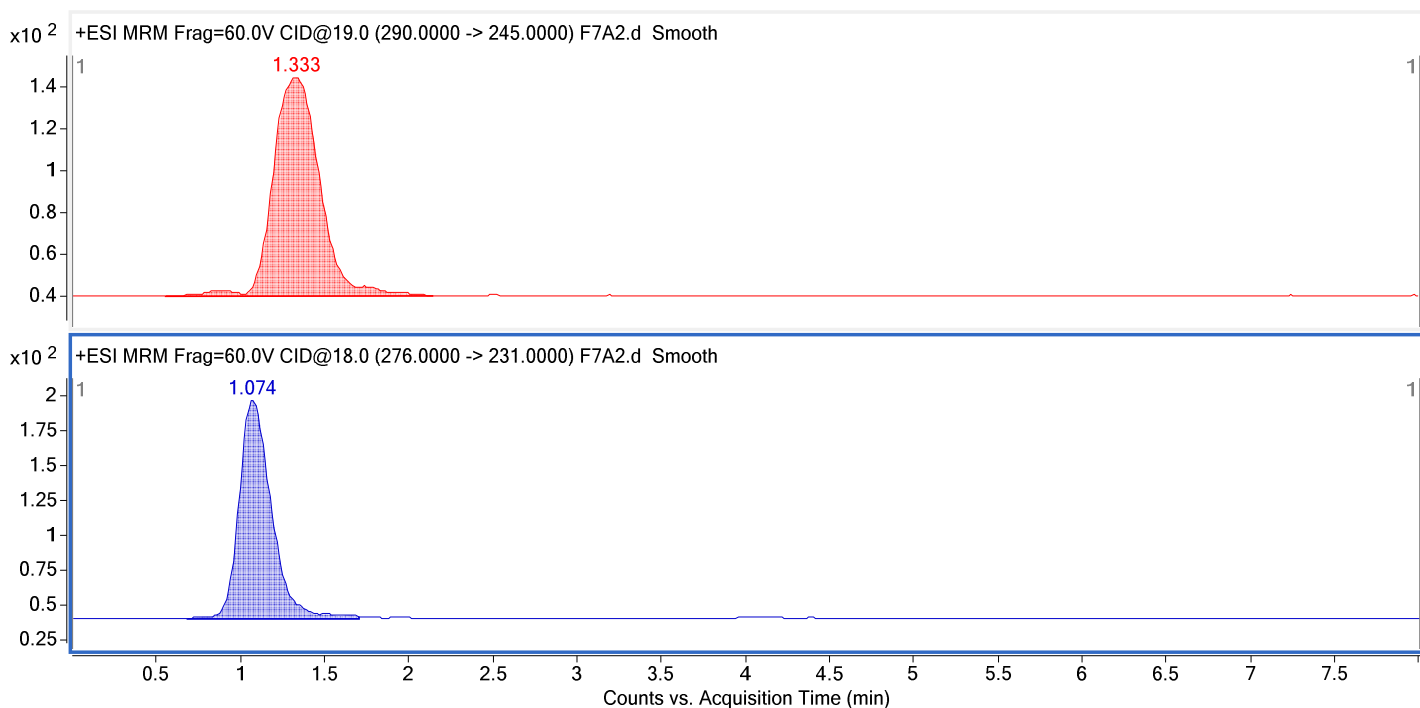


Figura 2.7. Cromatogramas obtidos por LC-MS/MS (ESI+) no modo MRM para uma solução analítica na matriz do solo contendo $95 \mu\text{g L}^{-1}$ de imazethapyr $t_R = 1,3 \text{ min}$ e de imazapic, $t_R = 1,1 \text{ min}$.

A detecção de herbicidas em misturas ou em amostras mais complexas, pode ser um problema para a LC, quando a resolução dos cromatogramas não está adequada, com detectores tradicionais como, por exemplo, detector UV ou até mesmo detector DAD, os quais não são específicos o suficiente quando as diferenças espectrais são pequenas, como no caso do imazethapyr e imazapic, prejudicando a quantificação. Entretanto, o emprego de LC-MS/MS pode contornar estes problemas de separação cromatográfica, pois, o detector de massas sequencial operando no modo MRM monitora as transições de cada composto permitindo obter a resposta individual destes sem interferência sendo altamente seletivo para os analitos da mistura [FERNÁNDEZ-ALBA, 2005; PICÓ et al., 2004]. Esta seletividade pode ser observada neste estudo na Figura 2.7, na qual se observa que os herbicidas imazethapyr e imazapic foram identificados mesmo com tempos de retenção muito próximos.

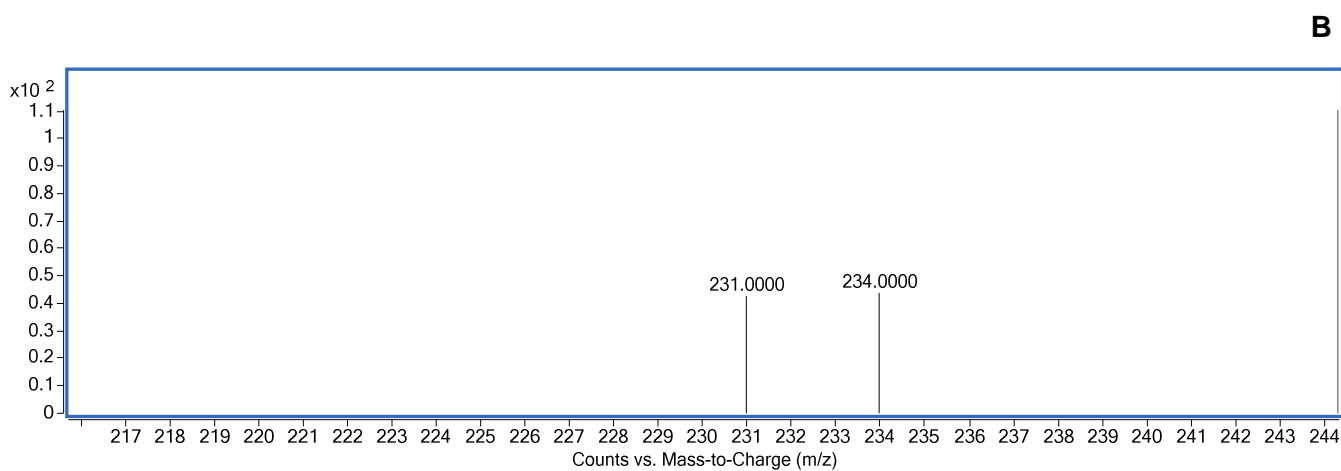
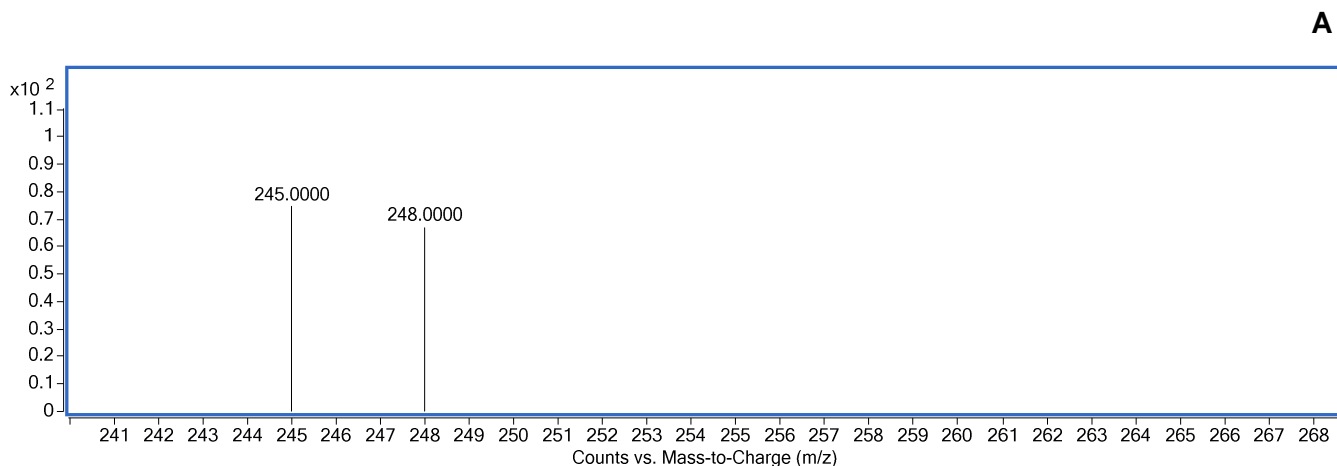


Figura 2.8. Espectros MS/MS dos herbicidas (A) imazethapyr e (B) imazapic em amostra de solo no modo MRM.

2.3.2. Validação do Método QuEChERS modificado empregando LC-MS/MS

Todas as amostras foram preparadas no extrato do solo uma vez que há efeito de matriz utilizando este método para os herbicidas imazethapyr e imazapic. Sendo assim, a validação do método QuEChERS modificado para estes herbicidas, foi realizada segundo os parâmetros descritos a seguir.

2.3.2.1. Curva analítica e linearidade

A Tabela 2.3 apresenta as equações das curvas analíticas no extrato da matriz, os coeficientes de determinação (r^2) e o intervalo linear para o imazethapyr e o imazapic.

Tabela 2.3. Parâmetros das curvas analíticas e faixa linear do imazethapyr e do imazapic no extrato da matriz, empregando QuEChERS modificado com análise por LC-MS/MS.

Herbicidas	Equação da reta $y = ax + b$	r^2	Faixa linear ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Imazethapyr	$y = 78,569 x - 225,74$	0,9923	5 - 105
Imazapic	$y = 75,492 x - 53,052$	0,9989	5 - 105

Observando-se os coeficientes angulares (a) das equações das retas no extrato da matriz, verifica-se que os herbicidas IMIs apresentam sensibilidade semelhante quando analisados por LC-MS/MS. A partir dos resultados das equações das retas obtidas, pode-se concluir que o modelo linear é bastante adequado já que $r^2 > 0,9923$ para as curvas analíticas preparadas no extrato da matriz, o que é satisfatório segundo a literatura [ANVISA, 2003; INMETRO, 2010].

2.3.2.2. Determinação dos valores de limite de detecção e de quantificação do instrumento e do método

Os valores de LOD e LOQ foram obtidos por meio da relação sinal/ruído como apresentados no item 2.1.3.3. Na Tabela 2.4 estão listados os valores de LOD e de LOQ do instrumento e do método para os herbicidas imazethapyr e imazapic.

Tabela 2.4. Valores de LOD e LOQ do instrumento e do método.

Herbicidas	Limites do instrumento ($\mu\text{g L}^{-1}$)		Limites do método ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	
	LOD	LOQ	LOD	LOQ
Imazethapyr	0,59	1,80	2,18	6,61
Imazapic	0,81	2,47	2,03	6,14

O método QuEChERS modificado utilizado na extração dos herbicidas imazethapyr e imazapic alcançou baixos limites de detecção (LOD = 2,03 e 2,18 $\mu\text{g kg}^{-1}$) e baixos limites de quantificação (LOQ = 6,14 e 6,61 $\mu\text{g kg}^{-1}$). Estes valores de LOD e LOQ são considerados satisfatórios de acordo com o método validado, considerando a complexidade da matriz analisada.

A Figura 2.9 apresenta as curvas analíticas obtidas para os herbicidas imazethapyr e imazapic no extrato da matriz utilizando o método QuEChERS modificado com análise por LC-MS/MS.

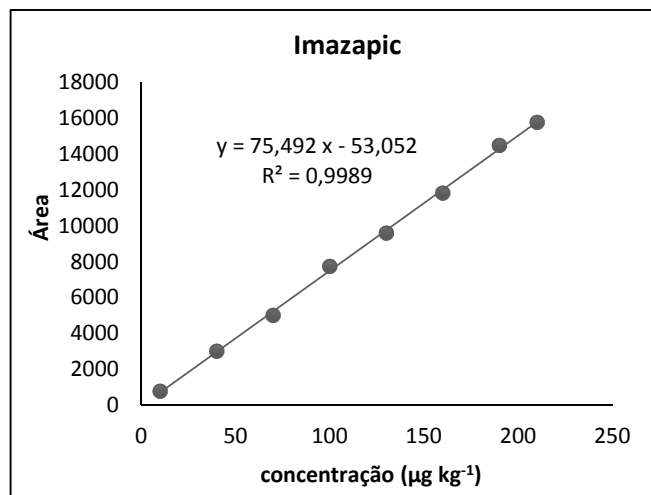
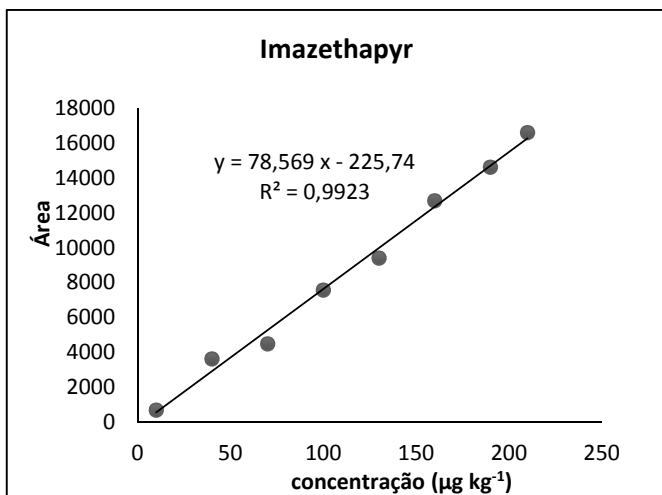


Figura 2.9. Curvas analíticas dos herbicidas imazethapyr e imazapic na faixa de concentração de 10,0 a 210,0 $\mu\text{g kg}^{-1}$ usando o método QuEChERS modificado.

Para verificar se o ajuste linear foi adequado à curva analítica, plotou-se o gráfico de resíduos (Figura 2.10). A análise do gráfico dos resíduos permite detectar problemas no ajuste da curva como, por exemplo, desvios da linearidade, presença de amostras atípicas, heterocedasticidade e dependência entre os erros [Ribeiro et al., 2008].

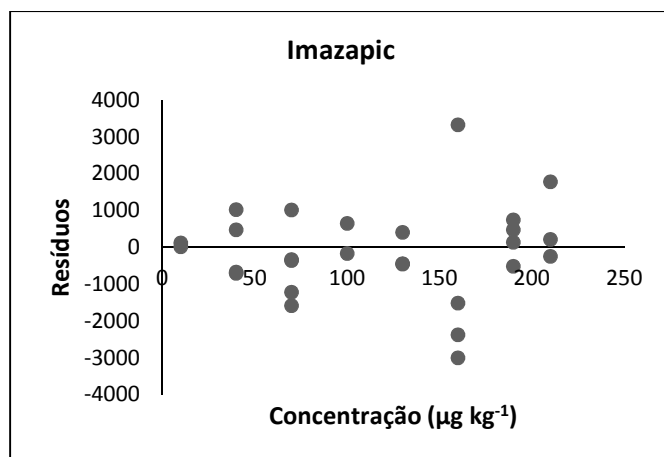
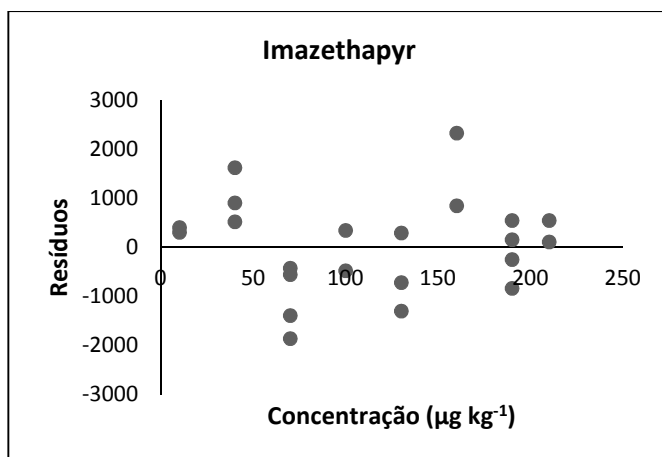


Figura 2.10. Dispersão dos resíduos da regressão da resposta analítica em função da concentração de imazethapyr e imazapic na faixa de 10,0 a 210,0 $\mu\text{g kg}^{-1}$.

Como pode ser observado na Figura 2.10, os resíduos se distribuíram bem ao longo dos valores das concentrações sem seguir nenhuma tendência. De acordo com Ribeiro et al.

(2008), esse comportamento se refere a resíduos que são adequados por apresentar homocedasticidade e estarem normalmente distribuídos.

2.3.2.3. Ensaios de fortificação para avaliação da exatidão do método

As Tabelas 2.5 e 2.6 apresentam os valores de recuperação obtidos para as fortificações, em diferentes níveis de concentração, para os herbicidas imazethapyr e imazapic em amostras de solo, utilizando o procedimento descrito no item 2.2.6.3.

Os valores de recuperação foram calculados utilizando-se as curvas analíticas preparadas nos extratos da matriz, de acordo com o método de extração utilizado.

2.3.2.4. Precisão (repetitividade e precisão intermediária)

A precisão do método empregando QuEChERS modificado foi avaliada em função da repetitividade e da precisão intermediária, estimadas de acordo com as recomendações da ANVISA conforme descrito no item 2.2.6.4. Os valores RSD_r e RSD_{pi} estão apresentados juntamente aos resultados de recuperação nas Tabelas 2.5 e 2.6, respectivamente.

A recuperação depende da matriz da amostra, do procedimento de extração e da concentração do analito [GONÇALVES, 2007]. No presente trabalho, seguiu-se a recomendação de validação de métodos cromatográficos, na qual as recuperações devem estar entre 70 e 120% [RIBANI et al., 2004; SANCO, 2007]. Dessa maneira, todos os resultados obtidos apresentaram-se dentro desse intervalo e, portanto, o método está de acordo com os parâmetros cromatográficos sugeridos.

Tabela 2.5. Percentuais de recuperação e RSD_r para a repetitividade do método

Herbicidas	Nível de fortificação ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Recuperação (%)	RSD_r (%)
Imazethapyr	10	116,60	12,89
	100	85,02	16,59
	210	97,45	11,65
Imazapic	10	107,88	6,77
	100	96,65	11,71
	210	104,08	6,74

* n= 6 (6 extrações x 3 injeções de cada extrato)

Tabela 2.6. Percentuais de recuperação e RSD_{pi} para a precisão intermediária do método.

Herbicidas	Nível de fortificação ($\mu\text{g kg}^{-1}$)	Recuperação (%)	RSD_{pi} (%)
Imazethapyr	10	108,54	11,83
	100	96,61	11,92
	210	98,21	6,83
Imazapic	10	94,73	7,58
	100	99,71	11,49
	210	102,91	5,95

* n= 6 (6 extrações x 3 injeções de cada extrato)

Os valores de RSD_r para o estudo da repetitividade dos herbicidas imazethapyr e imazapic em amostras de solo ficaram entre 6,74 e 16,59 % e de RSD_{pi} para a precisão intermediária ficaram entre 5,95 e 11,92 %.

Para matrizes ambientais e de alimentos, a precisão pode variar entre 2% e acima de 20% [HUBER, 2001]. Para a validação de métodos cromatográficos, na faixa de concentração avaliada nesse trabalho, recomenda-se $RSD \leq 20\%$ (RIBANI et al., 2004; SANCO, 2007). Portanto, todos os resultados obtidos no estudo para o imazethapyr e imazapic estão dentro dos limites sugeridos.

O método QuEChERS, otimizado e validado, foi aplicado na análise de amostras dos solos Plintossolo Háplico Distrófico e Latossolo Vermelho-Amarelo Distrófico, provenientes do estudo de meia-vida e de lixiviação dos herbicidas imazethapyr e imazapic conforme descrito no item 2.2.7.

2.3.3. Aplicação do método QuEChERS modificado

2.3.3.1. Persistência do imazethapyr e do imazapic em solos

Uma das maneiras de se avaliar a persistência de herbicidas no meio ambiente é pela determinação do tempo de meia-vida ($t_{1/2}$). Este é definido como o tempo necessário para o herbicida sofrer degradação até a metade de sua concentração inicial.

O estudo do tempo de meia-vida é importante para a comparação da persistência relativa de diferentes herbicidas no ambiente e, por sua vez, para o entendimento do potencial de impacto destes no solo e na água.

No presente trabalho, a meia-vida foi avaliada para o imazethapyr e o imazapic nas amostras dos solos Plintossolo Háplico Distrófico e Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico. Para isso, foram utilizadas as amostras coletadas referente aos períodos de 0, 30, 60, 90 e 150 dias após a aplicação do herbicida (dose 25 g ha^{-1} de imazapic e 75 g ha^{-1} de imazethapyr), as quais foram submetidas ao método QuEChERS modificado e análise por LC-MS/MS. As

equações de regressão (modelo “Four Parameter Logistic Curve”), os respectivos coeficientes de determinação (r^2) e os valores de meia-vida estão apresentados na Tabela 2.7. E na Tabela 2.8, os valores das concentrações do imazethapyr e do imazapic em $\mu\text{g kg}^{-1}$ encontrados em amostras de solos no estudo da meia-vida.

Tabela 2.7. Equações de regressão, coeficientes de determinação (r^2) e meia-vida dos herbicidas imazethapyr e imazapic nas amostras dos solos Plintossolo Háplico Distrófico (FX) e Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (LVA) para os diferentes dias de coleta.

Herbicidas	Solos	Equação	r^2	$t_{1/2}$ (dias)
Imazethapyr	FX	$\hat{Y} = \frac{25,6215 + (89,9190 - 25,6215)}{1 + \left(\frac{X}{29,1332}\right)^{-4,3021}}$	0,99	29,13
	LVA	$\hat{Y} = \frac{16,0751 + (77,9758 - 16,0751)}{1 + \left(\frac{X}{69,1121}\right)^{-1,5435}}$	0,96	69,11
Imazapic	FX	$\hat{Y} = \frac{13,5350 + (36,5783 - 13,5350)}{1 + \left(\frac{X}{29,4129}\right)^{-4,2918}}$	0,99	29,41
	LVA	$\hat{Y} = \frac{15,1921 + (33,6741 - 15,1921)}{1 + \left(\frac{X}{35,5287}\right)^{-3,8705}}$	1,00	35,53

Tabela 2.8. Valores das concentrações dos herbicidas imazethapyr e imazapic em $\mu\text{g kg}^{-1}$ nas amostras dos solos Plintossolo Háplico Distrófico (FX) e Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (LVA) nos diferentes dias de coleta.

Tempo (dias)	Concentrações dos herbicidas ($\mu\text{g kg}^{-1}$)			
	Imazethapyr		Imazapic	
	FX	LVA	FX	LVA
0	89,92 ± 9,28	78,38 ± 4,71	36,58 ± 4,86	33,67 ± 1,89
30	55,74 ± 2,84	62,48 ± 6,94	24,56 ± 1,09	27,36 ± 2,47
60	28,47 ± 3,63	55,64 ± 3,05	14,71 ± 1,51	17,33 ± 4,15
90	25,74 ± 4,46	35,81 ± 5,67	13,18 ± 1,60	15,73 ± 2,41
150	26,27 ± 0,87	30,27 ± 2,94	13,96 ± 0,32	15,23 ± 1,44

As Figuras 2.11 e 2.12 mostram os gráficos do estudo da meia-vida do imazethapyr e imazapic nos solos Plintossolo Háplico Distrófico e Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico.

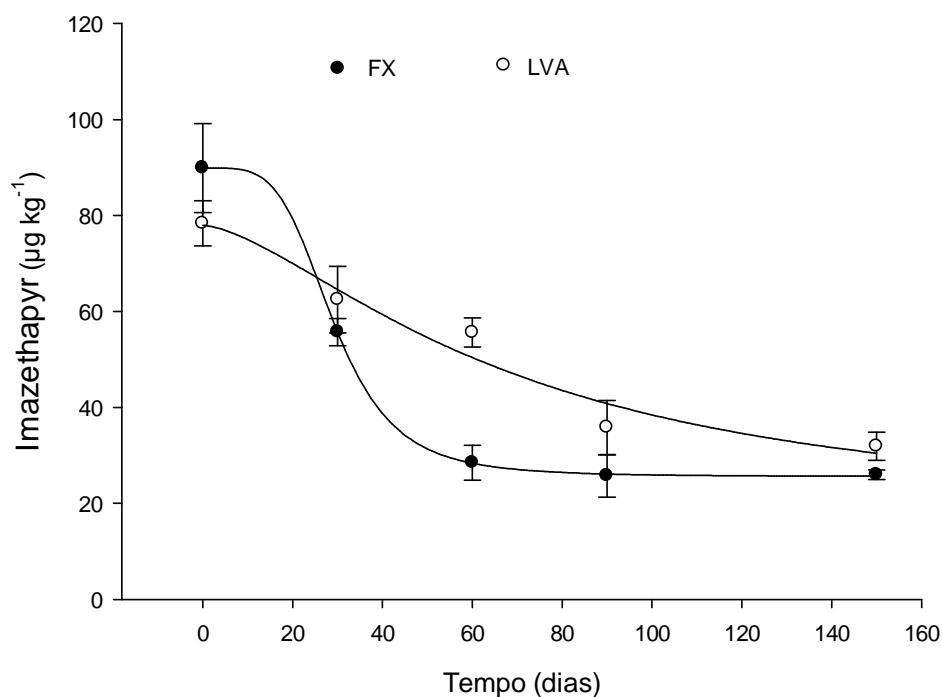


Figura 2.11. Estimativa da meia-vida do imazethapyr nos solos Plintossolo Háplico Distrófico (FX) e Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (LVA).

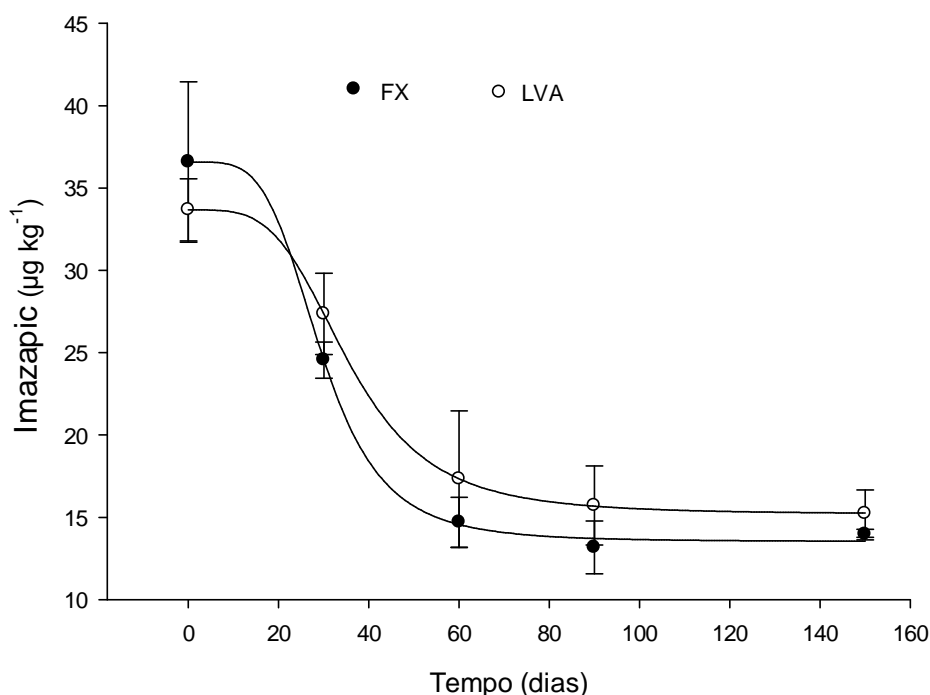


Figura 2.12. Estimativa da meia-vida do imazapic nos solos Plintossolo Háplico Distrófico (FX) e Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (LVA).

A classificação de um herbicida quanto à persistência varia de acordo com a legislação de cada país. Pelos valores obtidos neste estudo da meia-vida de imazethapyr e imazapic, considera-se como moderadamente persistentes (22 – 60 dias) ambos os herbicidas para o solo FX (29,13 – 29,41) e apenas o imazapic para o solo LVA (35,53 dias); como muito persistente (> 60 dias), de acordo com a classificação adotada pela Inglaterra, apenas o imazethapyr para o solo LVA (69,11 dias) nas diferentes condições avaliadas. Já em relação à classificação adotada no Brasil pelo IBAMA, o imazapic e o imazethapyr são classificados como medianamente persistentes (entre 30 e 180 dias) [JÚNIOR E REGITANO, 2009, SILVA et al., 2007].

Em geral, os herbicidas IMIs são relativamente persistentes em solos com meia-vida na faixa de 30 a 150 dias podendo apresentar efeito de “carryover” em culturas subsequentes [RAMEZANI et al., 2009]. No entanto, alguns trabalhos da literatura relataram persistência variável de alguns dos herbicidas deste grupo no solo, com meia-vida de 30 a 45 dias [WANG et al., 2005] a 436 dias [COFFMAN et al., 1993] para imazapyr, e 112 dias para o imazethapyr em solos, 1337 dias para imazaquin e 11 dias para imazamox [AICHELE & PENNER, 2005] e de 31 a 410 dias para o imazapic [SYRACUSE ENVIRONMENTAL RESEARCH ASSOCIATES, 2001].

A baixa sorção verificada para imazethapyr e imazapic no Cap.1 deste trabalho, e o fato de serem herbicidas medianamente persistentes nos solos avaliados, indica que estes

herbicidas conferem riscos de contaminação de reservatórios de águas subterrâneas além de contaminação do solo afetando culturas em sucessão.

2.3.3.2. Mobilidade do imazethapyr e do imazapic em solos

Para avaliação da mobilidade do imazethapyr e do imazapic nos solos FX e LVA foram utilizadas amostras de solo coletadas ao longo da coluna de solo, e seccionadas em intervalos de 5 cm, até a profundidade de 30 cm. Essas amostras foram submetidas, posteriormente, à extração dos herbicidas pelo método QuEChERS modificado e quantificação por LC-MS/MS. Amostras de cada segmento foram preparadas em triplicata.

A Tabela 2.9 mostra as concentrações obtidas para os herbicidas imazethapyr e imazapic em cada profundidade dos solos avaliados. Ambos os herbicidas se concentram na faixa de profundidade de 5-20 cm. Além disso, os herbicidas foram identificados em profundidades altas, em até 25 cm para o solo FX (em concentração < LOQ no caso do imazapic), e até 30 cm no caso do LVA (em concentração < LOQ no caso do imazapic). Foi realizado a análise das amostras de solos FX e LVA em profundidade acima 30 cm, e não foi detectada a presença de imazethapyr e imazapic nas mesmas.

Tabela 2.9. Concentração média de imazethapyr e imazapic em amostras de solo coletadas em diferentes profundidades.

Profundidade (cm)	Concentrações dos herbicidas ($\mu\text{g kg}^{-1}$)			
	Imazethapyr		Imazapic	
	FX	LVA	FX	LVA
0-5	32,74 \pm 1,70	32,13 \pm 1,85	13,70 \pm 0,64	24,22 \pm 3,95
5-10	22,45 \pm 2,33	37,51 \pm 1,10	10,49 \pm 0,94	16,99 \pm 2,01
10-15	26,62 \pm 1,71	38,54 \pm 5,91	11,94 \pm 0,40	24,41 \pm 3,38
15-20	21,27 \pm 3,07	26,28 \pm 2,20	11,86 \pm 1,13	14,00 \pm 0,73
20-25	7,05 \pm 1,61	10,54 \pm 3,14	<LOQ	6,32 \pm 0,46
25-30	10,40 \pm 1,18	<LOQ

As Figuras 2.13 e 2.14 mostram a lixiviação dos herbicidas imazethapyr e imazapic em diferentes profundidades nos solos FX e LVA.

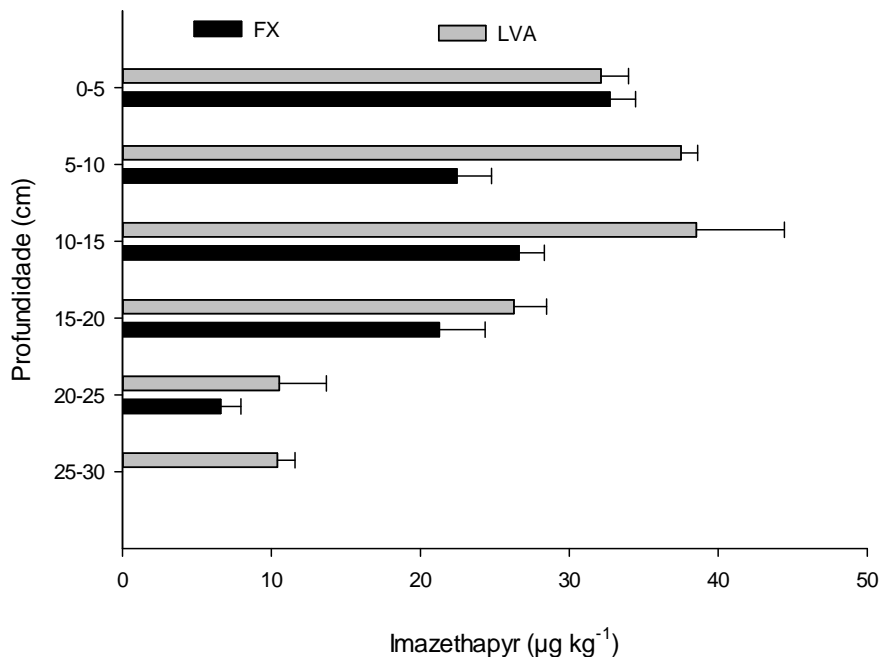


Figura 2.13. Lixiviação do imazethapyr em diferentes profundidades nos solos Plintossolo Háplico Distrófico (FX) e Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (LVA).

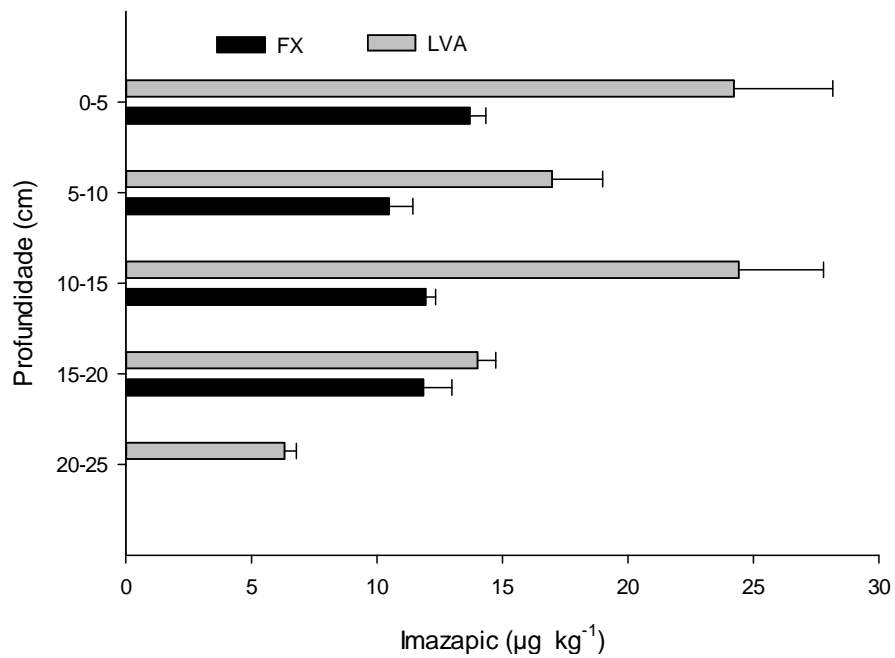


Figura 2.14. Lixiviação do imazapic em diferentes profundidades nos solos Plintossolo Háplico Distrófico (FX) e Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (LVA).

MARTINI et al. (2011), avaliando o efeito do manejo de irrigação do arroz sobre a lixiviação, verificaram que a mistura comercial contendo imazethapyr e imazapic (Only®), se concentra na camada de 5-20 cm de profundidade em solo de várzea, indicando ser passível de movimentação ao longo do perfil do solo. Já NETO (2014), a partir de ensaios biológicos, verificou que tanto o Only® quanto o imazethapyr atingem a profundidade de 25 cm, e que o imazapic concentra-se na camada de 5-15 cm de profundidade. Além disso, foi observada a intoxicação de plantas bioindicadoras na profundidade de 25-30 cm nestas condições, o que sugere que o uso da mistura comercial em áreas de cultivo do arroz Clearfield® está sujeito à contaminação de águas subterrâneas, e que o imazethapyr presente na mistura, em maior dose, pode ser encontrado em maiores profundidades, quando comparado ao imazapic.

No presente trabalho, a lixiviação do imazethapyr em maiores profundidades também foi observada para ambos os solos avaliados FX e LVA (Tabela 2.9). Este carreamento de moléculas de herbicidas até maiores profundidades no perfil do solo pode aumentar o efeito da persistência, em função da menor atividade microbiana, sendo esta considerada a principal via de degradação da maioria dos herbicidas (DAS et al., 2003).

Além da alta mobilidade de imazethapyr e de imazapic nos dois solos avaliados, verificou-se que ocorre uma distribuição heterogênea de ambos os herbicidas ao longo do perfil dos solos que pode ser observada também pelas porcentagens encontradas destes herbicidas em cada profundidade descritas na Tabela 2.10.

Tabela 2.10. Avaliação da porcentagem do imazethapyr e do imazapic em cada profundidade das amostras dos solos Plintossolo Háplico Distrófico (FX) e Latossolo Vermelho Amarelo Distrófico (LVA).

Profundidade (cm)	Herbicidas (%)			
	Imazethapyr		Imazapic	
	FX	LVA	FX	LVA
0-5	29,85	20,68	25,79	26,41
5-10	20,47	24,14	19,75	18,52
10-15	24,27	24,81	22,48	26,60
15-20	19,40	16,90	22,34	15,27
20-25	6,02	6,79	9,64	6,89
25-30	...	6,69	...	6,30

O cálculo das porcentagens dos herbicidas imazethapyr e imazapic em cada profundidade foi realizado considerando a massa total de cada herbicida no solo com a massa do herbicida encontrada em cada profundidade do solo. Para obter a massa total de herbicida no solo, a concentração de cada herbicida, e em cada profundidade, foi relacionada com a massa total de solo na coluna.

Os resultados obtidos no estudo da mobilidade de imazethapyr e imazapic condizem com a baixa sorção verificada para estes herbicidas nos solos avaliados (FX e LVA) conforme descrito na Tabela 1.4. Essa relação inversa entre sorção e lixiviação também foi observada por NETO (2014).

A partir dos valores descritos de $t_{1/2}$ na Tabela 2.7 e de K_{f-OC} na Tabela 1.4 calculou-se também o Índice de GUS (*Groundwater Ubiquity Score*), para avaliar o potencial de lixiviação do imazethapyr e do imazapic nos solos avaliados, cuja equação está descrita abaixo:

$$GUS = \log t_{1/2} (4 - \log k_{fOC}) \quad (4)$$

Os valores do índice de GUS obtidos para os herbicidas ficaram entre 3,54 e 3,64 para o imazapic e entre 3,37 e 4,60 para o imazethapyr. De acordo com o critério desse índice para os valores encontrados, estes herbicidas são considerados como lixiviáveis em ambos os solos FX e LVA.

2.4. Conclusão

O método QuEChERS otimizado e validado mostrou-se seletivo, eficiente, preciso e exato podendo ser aplicado para a determinação de imazethapyr e imazapic em amostras de solo e, assim, obter informações referentes à persistência pelo tempo de meia-vida, e o potencial de lixiviação destes herbicidas IMIs. Os resultados do estudo de meia-vida mostraram que estes são medianamente persistentes sendo que tanto o imazethapyr quanto o imazapic apresentaram maior persistência no solo LVA. Já os estudos de mobilidade indicaram a presença destes herbicidas nos solos LVA e FX em profundidades altas, e concentrados na faixa de 5-20 cm, com menor lixiviação observada para o imazapic nos solos avaliados. Os resultados obtidos no estudo, condizem com a baixa sorção verificada para estes compostos nos solos avaliados. Dessa forma, em condições de chuvas ou irrigações intensas, uma lixiviação significativa pode ocorrer destes herbicidas no perfil do solo. Consequentemente, pode afetar tanto a atividade do herbicida, com relação ao controle de plantas daninhas, quanto sua persistência no solo e no ambiente, além de seu potencial de contaminação de mananciais aquáticos subterrâneos.

2.5. Referências Bibliográficas

AHMED, F. E., 2001. Analyses of pesticides and their metabolites in foods and drinks. **Trends in Analytical Trends**, 20, 649-661.

AICHELE, T. M., PENNER, D., 2005. Adsorption, desorption, and degradation of imidazolinones in soil. **Weed Technology** 19, 154-159.

ALDER, L., GREULICH, K., KEMPE, G., VIETH, B., 2006. Residue analysis of 500 high priority pesticides: better by GC-MS or LC-MS/MS? **Mass Spectrometry Review** 25, 838-865.

ANASTASSIADES, M., LEHOTAY, S., STAJNBAHER, D., SCHENCK, F. J., 2003. Fast and easy multiresidue method employing acetonitrila extraction/partitioning and “dispersive solid-phase extraction” for the determination of pesticide residue in produce. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists International** 86, 412-431.

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), 2003. Resolução - nº899, de 29 de maio de 2003, Brasil. **Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos**.

ARDREY, R. E. **Liquid Chromatography - Mass Spectrometry: An Introduction**. England: John Wiley & Sons Ltda, 2003. 276 p.

ASSALIN, M. R., QUEIROZ, S. C. N., FERRACINI, V. L., VILHENA, T. O. E., MATTOS, M. L. T., 2014. A Method for determination of imazapic and imazethapyr residues in soil using an ultrasonic assisted extraction and LC-MS/MS. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology** 93, 360–364.

BRAGANÇA, I., PLÁCIDO, A., PAÍGA, P., DOMINGUES, V. F., DELERUE-MATOS, C., 2012. QuEChERS: A new sample preparation approach for the determination of ibuprofen and its metabolites in soils. **The Science of the Total Environment** 433, 281–289.

BRITO, N. M., JUNIOR, J., O. P. A., POLESE, L., RIBEIRO, M. L., 2003. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. Pesticidas: **Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, 13, 129-146.

CEPEA, 2015. Relatório PIBAgro-Brasil. <http://www.cepea.esalq.usp.br>.

COFFMAN, C. B., FRANK, J. R., POTTS, W. E., 1993. Crop responses to hexazinone, imazapyr, tebuthiuron, and triclopyr. **Weed Technology** 7, 140–145.

CHIARADIA, M. C., COLLINS, C. H., JARDIM, I. C. S. F., 2008. O estado da arte da cromatografia associada à espectrometria de massas acoplada à espectrometria de massas na análise de compostos tóxicos em alimentos. **Química Nova**, 31, 623-636.

DAS, A. C., DEBNATH, A., MUKHERJEE, D., 2003. Effect of the herbicides oxadiazon and oxyfluorfen on phosphates solubilizing microorganisms and their persistence in rice fields. **Chemosphere**, 53, 3, 217-221.

DEMOLINER, A. **Otimização e Validação de Metodologia Analítica Empregando SPE e LC-ESI-MS/MS para Determinação de Multiclasses de Agrotóxicos e Metabólitos em Água de Superfície e Abastecimento**. 2008. 84 p. Dissertação (Mestrado em Química) - FURG, Rio Grande, RS.

EURACHEM GUIDE. **The Fitness for Purpose of Analytical Methods**. A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics. LGC (Teddington) Ltd, 1998.

FERNÁNDEZ-ALBA, A. R. **Chromatographic - Mass Spectrometry Food Analysis for Trace Determination of Pesticide Residues**, Editora Elsevier, Amsterdam, v. XLIII, Cap. 4, 2005.

FIRMINO, L. E., TUFFI SANTOS, L. D., FERREIRA, F. A., FERREIRA, L. R., TIBURCIO, R. A. S., 2008. Sorção do imazapyr em solos com diferentes texturas. **Planta Daninha** 26, 2, 395-402.

GARP. Associação grupo de analistas de resíduos de pesticidas. **Manual de Resíduos de Pesticidas em Alimentos**. 1999.

GONÇALVES, F. F, **Estudo de métodos empregando HPLC-DAD e LC-MS/MS para a determinação de resíduos de herbicidas em água e solo do cultivo do arroz irrigado**. 2007. 148 p. Tese (Doutorado em Química) – UFSM, Santa Maria, RS.

Hajslová, J., Holadova, K., Kocourek, V., Poustka, J., Godula, M., Cuhra, P., Kempny, M., 1998. Matrix-induced effects: a critical point in the gas chromatographic analysis of pesticide residues. **Journal of Chromatography A**, 800, 283-295.

HARRIS, D. C., 2001. **Análise Química Quantitativa**. 5ª ed. Rio de Janeiro: LTC Editora. 640-645.

HERCEGOVÁ, A.; DÖMÖTÖROVÁ, M.; MATISOVÁ, E., 2007. Sample preparation methods in the analysis of pesticide residues in baby food with subsequent chromatographic determination. *J. Chromatogr. A*, 1153, 54-73.

HOLLER, F. J., SKOOG, D. A., CROUCH, S. R., 2009. **Princípios de análise instrumental**. Bookman Companhia Ed.

HUBER, L. **Validation of analytical methods: review and strategy**. 2001.

HYÖTYLÄINEN, T., 2007. Principles, developments and applications of on-line coupling of extraction with chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1153, 14-28.

INMETRO, 2010. **Orientação sobre validação de métodos analíticos, DOQ-CGCRE-008**. Brasil.

JÚNIOR, R. S. O., REGITANO, J. B., 2009. **Dinâmica de pesticida no solo**. In: Melo, V. F., Alleoni, L. R. F. (Eds.). *Química e mineralogia do solo*, Viçosa, MG, pp. 187-248.

KRAEMER, A. F., MARCHESAN, E., AVILA, L. A., MACHADO, S. L. O., GROHS, M., 2009. Destino ambiental dos herbicidas do grupo das imidazolinonas. *Planta Daninha* 27, 629-639.

KRUBE, A., KÜNNAPAS, A., HERODES, K., LEITO, I., 2008. Matrix effects in pesticide multi-residue analysis by liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* 1187, 58-66.

KUSTER, M., LÓPEZ, A. M, BARCELÓ, D., 2006. Analysis of pesticides in water by liquid chromatography-tandem mass spectrometric techniques. *Mass Spectrometry Reviews*, 25, 900-916.

LAGANA, A., FAGO, G., MARINO, A., 1998. Simultaneous determination of Imidazolinone herbicides from soil and natural waters using soil column extraction and Off-Line solid-phase extraction followed by liquid chromatography with UV detection or liquid chromatography/electrospray mass spectroscopy. *Analytical Chemistry*, 70, 121-130.

LANÇAS, F. M. **Validação de Métodos Cromatográficos de Análise**. RiMa, São Carlos, 2004, 62p.

LANÇAS, F. M. A cromatografia líquida moderna e a espectrometria de massas: finalmente compatíveis? **Scientia Chromatographica**, 2009. 1 (n° 2).

LEHOTAY, S. J., 2007. Determination of Pesticide Residues in Foods by Acetonitrile Extraction and Partitioning with Magnesium Sulfate: Collaborative Study. **Journal of AOAC International**, 90, 2, 485-520.

MARTÍN, S. H., PINTO, C. G., PAVÓN, J. L. P., CORDERO, B. M., 2010. Determination of trihalomethanes in soil matrices by simplified quick, easy, cheap, effective, rugged and safe extraction and fast gas chromatography with electron capture detection. **Journal of Chromatography A**, 1217, 4883–4889.

MARTINI, L. F. D., AVILA, L. A., SOUTO, K. M., CASSOL, G. V., REFATTI, J. P., MARCHESAN, E., BARROS, C. A. P., 2011. Lixiviação de imazethapyr + imazapic em função do manejo de Irrigação do arroz. **Planta Daninha** 29, 1, 185-193.

MARTINS, G. L., **Determinação de resíduos de pesticidas em solo de lavoura de arroz irrigado empregando QuEChERS modificado e LC-MS/MS**. 2010. 149 p. Tese (Mestrado em Química) – UFSM, Santa Maria, RS.

MORAES, M. C. B., do Lago, C. L., 2003. Electrospray ionization mass spectrometry applied to study inorganic and organo-metallic species. **Química Nova**, 26, 4, 556-563.

NETO, M. D. C. **Sorção, Lixiviação e persistência de imidazolinonas em solos utilizados no sistema clearfield de cultivo de arroz**. 2014. 65 p. Tese (Doutorado em Agronomia) – UFV, Viçosa, MG.

PADILLA-SÁNCHEZ, J. A., PLAZA-BOLÃÑOS, P., ROMERO-GONZÁLEZ, R., GARRIDO-FRENICH, A., VIDAL, J. L. M., 2010. Application of a quick, easy, cheap, effective, rugged and safe-based method or the simultaneous extraction of chlorophenols, alkylphenols, nitrophenols and cresols in agricultural soils, analyzed by using gas chromatography–triple quadrupole-mass spectrometry/mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, 1217, 5724–5731.

PICÓ, Y., FERNÁNDEZ, M.; RUIZ, M. J.; FONT, G., 2007. Current trends in solid-phase-based extraction techniques for the determination of pesticides in food and environment. **Journal of Biochemical and Biophysical Methods**, 70, 117-131.

PINTO, C. G., LAESPADA, M. E. F., MARTÍN, S. H., FERREIRA, A. M. C., PAVÓN, J. L. P., CORDERO, B. M., 2010. Simplified QuEChERS approach for the extraction of chlorinated compounds from soil samples. **Talanta** 81, 385–391.

PORFIRI, C., MONTOYA, J. C., KOSKINEN, W. C., AZCARATE, M. P., 2015. Adsorption and transport of imazapyr through intact soil columns taken from two soils under two tillage systems. **Geoderma**, 251–252, 1–9.

PRESTES, O. D., FRIGGI, C. A., ADAIME, M. B., ZANELLA, R., 2009. QuEChERS - Um método moderno de preparo de amostra para determinação multirresíduo de pesticidas em alimentos por métodos cromatográficos acoplados à espectrometria de massas. **Química Nova** 32, 6, 1620-1634

RAMEZANI, M., SIMPSON, N., OLIVER, D., KOOKANA, R., GILL, G., PRESTON, C., 2009. Improved extraction and clean-up of imidazolinone herbicides from soil solutions using different solid-phase sorbents. **Journal of Chromatography A**, 1216, 5092–5100.

RAMOS, A. M., Hernández-Borges, J., Ravelo-Pérez, L.M., Rodríguez-Delgado, M. A., 2010. Evaluation of a modified QuEChERS method for the extraction of pesticides from agricultural, ornamental and forestal soils. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, 396, 2307-2319.

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

RIBEIRO, F. A. D. L., FERREIRA, M. M. C., MORANO, S. C., SILVA, L. R. D., SCHNEIDER, R. P., 2008. Planilha de validação: Uma nova ferramenta para estimar figuras de mérito na validação de métodos analíticos univariados. **Química Nova** 31, 164-171.

ROMERO-GONZÁLEZ, R., GARRIDO-FRENICH, A., MARTÍNEZ-VIDAL, J. L., 2008. Multiresidue method for fast determination of pesticides in fruit juices by ultra performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry. **Talanta** 76, 211-225.

ROSEN, R., 2007. Mass spectrometry for monitoring micropollutants in water. **Current Opinion in Biotechnology** 18, 246-251.

SANCO, COMMISSION OF THE EUROPEAN COMMUNITIES (2003). Document nº SANCO/2007/3131. **Method validation and quality control procedures for pesticide residues analysis in food and feed**. 3ª ed.,Bruxelas, Bélgica. 31/10/2007.

SILVA, A. A., VIVIAN, R., OLIVEIRA JR., R. S., 2007. **Herbicidas: comportamento no solo**. In: SILVA, A. A.; Silva, J. F. (Ed.). Tópicos em manejo de plantas daninhas. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa,189-248.

SYRACUSE ENVIRONMENTAL RESEARCH ASSOCIATES, Inc.2001. Imazapic [Plateau and Plateau DG] - Human health and ecological risk assessment final report. Prepared for USDA, **Forest Service**. www.fs.fed.us/foresthealth/pesticide/risk.shtml. p. 2-5.

STOUGAARD, R. N., SHEA, P. J., MARTIN, A. R., 1990. Effect of soil type and pH on adsorption, mobility and efficacy of imazaquin and imazethapyr. **Weed Science** 38, 67-73.

STOUT, S. J., CUNHA, A. R., SAFARPOUR, M. M., 1997. Simplified determination of imidazolinone herbicides in soil at parts-per-billion level by liquid chromatography electrospray ionization tandem mass spectrometry. **Journal of AOAC International** 80, 426-432.

STUBER, M., REEMTSMA, T., 2004. Evaluation of three calibration methods to compensate matrix effects in environmental analysis with LC-ESI-MS. **Analytical and Bioanalytical Chemistry** 378, 910-916.

TANG, L., KEBARLE, P., 1993. Dependence of ion intensity in electrospray mass spectrometry on the concentration of the analytes in the electrosprayed solution. **Analytical Chemistry** 65, 3654-3668.

WANG, X. D., ZHOU, S. M., WANG, H. L., FAN, D. F., 2005. Biodegradation of imazapyr in typical soils in Zhejiang Province, China. **Journal Environmental Science** 17, 593–597.

VÉKEY, K., 2001. Mass spectrometry and mass-selective detection in chromatography. **Journal of Chromatography A**, 921, 227-236.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os estudos de sorção, dessorção, meia-vida e potencial de lixiviação do imazethapyr e do imazapic permitiram avaliar o comportamento desses herbicidas imidazolinonas em diferentes tipos de solos, muito utilizados em cultivos de arroz e soja.

Os resultados obtidos no presente trabalho indicam que para a recomendação segura de uso dos herbicidas imazethapyr e imazapic em culturas agrícolas, faz-se necessário que, no momento de sua aplicação, sejam consideradas tanto as características físico-químicas destes herbicidas quanto a dos solos, uma vez que, podem afetar o meio ambiente se não forem consideradas. Entre estes resultados, a fraca sorção dos herbicidas IMIs e a alta mobilidade destes no perfil dos solos avaliados implica em riscos de contaminação de águas subterrâneas. Adicionalmente, os resultados do estudo de meia-vida indicam que estes herbicidas são medianamente persistentes nos solos avaliados, o que pode inviabilizar o uso destes solos para culturas em sucessão.

Além disso, considerando os resultados satisfatórios obtidos no estudo de meia-vida e do potencial de lixiviação dos herbicidas imazethapyr e imazapic nos solos avaliados, utilizando o método QuEChERS modificado desenvolvido e validado empregando LC-MS/MS, tais como, alta sensibilidade e seletividade, altas porcentagens de recuperação dentro dos limites aceitáveis, além de baixos LOD e LOQ, para ambos os herbicidas imazethapyr e imazapic em amostras de solos, a aplicabilidade deste método para outros solos com características físico-químicas distintas pode contribuir para obter informações importantes, tais como, a persistência e a mobilidade destes herbicidas imidazolinonas e, assim, evitar a contaminação do solo e de águas subterrâneas.