

**RODRIGO TAVARES DE PAULA**

**MOBILIDADE DE ATRAZINE E AMETRYN EM LATOSSOLO VERMELHO-  
AMARELO**

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

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2007

**RODRIGO TAVARES DE PAULA**

**MOBILIDADE DE ATRAZINE E AMETRYN EM LATOSSOLO VERMELHO-AMARELO**

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

Aprovada: 27 de julho de 2007

---

Prof. Antônio Augusto Neves  
(Co-orientador)

---

Prof. Antônio Alberto da Silva  
(Co-orientador)

---

Prof. Anízio Márcio de Faria

---

Prof. Efraim Lázaro Reis

---

Prof<sup>a</sup>. Maria Eliana L. R. de Queiroz  
(Orientadora)

*À Deus,  
Aos meus pais Sebastião e Ione,  
À minha irmã Camila,  
À Rosi,*

*Pelo carinho e apoio incondicionais,  
dedico este trabalho.*

## AGRADECIMENTOS

Aos professores, Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz e Antônio Augusto Neves, pela oportunidade, confiança, ensinamentos, pela dedicada orientação e, sobretudo, pela sincera amizade.

Ao professor Antônio Alberto da Silva pelas sugestões e ensinamentos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, pela bolsa concedida.

À Universidade Federal de Viçosa, particularmente ao Departamento de Química e ao corpo docente, que contribuíram para a realização deste trabalho.

À todos os amigos do Laboratório de Química Analítica – LAQUA: Aline, Ana Claudia, Deyse, Elisa, Érica, Gevany, Igor, Jussara, Leila, Lucimara, Marciano, Raquel, Ricardo e Vanessa pela ajuda, amizade e agradável convívio, em especial a Ana Beatriz e Elisângela Jaqueline pelo auxílio no desenvolvimento do trabalho e pela amizade.

À todos os amigos do curso e também aqueles conquistados durante essa etapa, Leandro, David, Anderson, Kamila, Gisele, Lílian pela grande amizade.

Ao professor Cláudio Ferreira Lima, ao professor José Humberto de Queiroz e à Elizete pela amizade.

Ao professor Luiz Cláudio, ao LASA onde foram realizadas parte das análises e ao técnico José Luiz pelo auxílio nas análises.

À todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.

## **BIOGRAFIA**

RODRIGO TAVARES DE PAULA, filho de Sebastião Tavares Vieira e Ione de Paula Tavares, nasceu em Barbacena, Minas Gerais, em 28 de Abril de 1982.

Em março de 2001, iniciou o Curso de Graduação em Química, pela Universidade Federal de São João Del Rei, diplomando-se como licenciado em julho de 2005.

Em agosto de 2005, iniciou o curso de pós-graduação em Agroquímica, em nível de mestrado, na Universidade Federal de Viçosa, submetendo-se à defesa de dissertação em julho de 2007.

## SUMÁRIO

RESUMO.....	viii
ABSTRACT .....	x
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	3
2.1. Características dos herbicidas.....	6
2.1.1. Atrazine .....	6
2.1.2. Ametryn .....	9
2.2. Comportamento do atrazine e ametryn no solo .....	11
2.3. Métodos de extração .....	13
2.4. Métodos de análise.....	15
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	17
3.1. Amostra de solo.....	17
3.2. Soluções padrão de ametryn, atrazine e bifentryn.....	17
3.3. Fortificação das amostras de solo .....	18
3.4. Otimização da técnica de extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura .....	19
3.4.1. Estudos preliminares .....	19
3.4.2. Planejamento fatorial.....	20
3.4.3. Extração do atrazine e ametryn no solo .....	22
3.5. Extração líquido-líquido com partição em baixa temperatura .....	23
3.6. Extração de atrazine e ametryn em produtos comerciais .....	23
3.7. Análise cromatográfica dos agrotóxicos .....	24
3.7.1. Quantificação.....	26
3.8. Validação do método analítico.....	26

3.8.1. Seletividade .....	27
3.8.2. Faixa de trabalho linear .....	27
3.8.3. Limite de detecção e limite de quantificação .....	27
3.8.4. Precisão .....	28
3.8.4.1. Repetitividade.....	28
3.8.4.2. Precisão intermediária.....	28
3.8.5. Exatidão .....	29
3.9. Estudo da percolação do atrazine e ametryn .....	29
3.9.1. Sistema de percolação .....	29
3.9.2. Aplicação dos herbicidas .....	31
3.9.3. Simulação de chuva .....	32
3.9.4. Preparo das amostras para a ESL-PBT e ELL-PBT .....	32
3.9.5. ESL-PBT e ELL-PBT de atrazine e ametryn nas colunas de percolação .....	33
3.10. Degradação das triazinas .....	34
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	35
4.1. Caracterização da amostra de solo .....	35
4.2. Análise cromatográfica .....	37
4.3. Otimização da técnica de extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura (ESL-PBT) .....	38
4.3.1. Variação da massa de solo .....	39
4.3.2. Tempo de contato entre os herbicidas e o solo .....	40
4.3.3. Efeito da agitação mecânica e sonicação na eficiência da extração dos herbicidas .....	42
4.3.4. Planejamento fatorial na otimização da técnica de ESL-PBT .....	44
4.4. Determinação da concentração de atrazine e do ametryn em produtos comerciais .....	47
4.5. Validação .....	48
4.5.1. Seletividade .....	48
4.5.2. Linearidade e faixa de trabalho .....	50
4.5.3. Limite de detecção e limite de quantificação .....	51

4.5.4. Precisão .....	53
4.5.4.1. Repetitividade.....	53
4.5.4.2. Precisão intermediária.....	53
4.5.5. Exatidão .....	54
4.6. Avaliação da estabilidade do atrazine e do ametryn na presença e ausência de radiação solar .....	55
4.7. Estudo da percolação de atrazine e ametryn .....	61
4.7.1 Quantificação do atrazine e ametryn na profundidade de 0 a 5 cm.....	61
4.7.2 Quantificação do atrazine e ametryn na profundidade de 5 a 10 cm....	64
4.7.3 Quantificação do atrazine e ametryn na profundidade de 10 a 15 cm..	65
4.7.4 Quantificação do atrazine e ametryn na água percolada .....	67
4.7.5. Quantificação da percolação geral do atrazine e ametryn.....	68
5. CONCLUSÕES.....	72
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	74
7. ANEXO .....	86

## RESUMO

PAULA, Rodrigo Tavares, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2007.

**Mobilidade de atrazine e ametryn em Latossolo Vermelho-Amarelo.**

Orientadora: Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz. Co-Orientadores: Antônio Augusto Neves e Antônio Alberto da Silva.

Avaliou-se neste trabalho a mobilidade de atrazine e ametryn no perfil de um Latossolo Vermelho-Amarelo por um período de 90 dias. Sistemas de percolação foram construídos utilizando-se colunas de lixiviação de 15 cm de altura preenchidas com solo. A cada dez dias, após a aplicação dos herbicidas no topo das colunas, foi aplicada uma chuva e o atrazine e o ametryn foram quantificados em três profundidades, 0 a 5, 5 a 10 e 10 a 15 cm e também na água que percolou as colunas. Para a quantificação dos herbicidas, a técnica de extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura (ESL-PBT) foi otimizada e validada. Os extratos obtidos foram analisados por cromatografia gasosa com detecção por ionização em chama. Observou-se que tanto o atrazine quanto o ametryn foram detectados em maior concentração na primeira camada de solo. Na segunda camada o ametryn foi detectado em concentrações inferiores a 9 % da quantidade total aplicada enquanto que o atrazine apresentou

concentrações superiores ao limite de quantificação até 70 dias após sua aplicação nesta profundidade. Na terceira camada de solo, o atrazine foi detectado aos 10, 20 e 30 dias após a sua aplicação em quantidades inferiores a 3 % da quantidade aplicada e o ametryn foi detectado em concentrações inferiores a 5 % até 50 dias, reaparecendo após 80 dias. Na água percolada, tanto o atrazine quanto o ametryn foram detectados entre 6 e 9 % da quantidade aplicada no tempo de 0 e 10 dias de experimento. Essa quantidade decresceu até aos 50 dias de experimento. Após esse período, a quantidade de atrazine e de ametryn na água percolada foi inferior ao limite de quantificação e apenas no 90º dia o ametryn foi quantificado em 1,6 % do total aplicado. Ambos os herbicidas foram sensíveis à fotodegradação, todavia o ametryn apresentou maior estabilidade que o atrazine sendo mais persistente no solo. Concluiu-se que, tanto o atrazine quanto o ametryn, podem alcançar águas subterrâneas, sendo maior o potencial do ametryn pois possui maior meia-vida no solo.

## ABSTRACT

PAULA, Rodrigo Tavares, M.Sc., Federal University of Vicosa, July of 2007.

**Mobility of atrazine and ametryn in red yellow latosoil.** Adviser: Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz. Co-Adviser: Antonio Augusto Neves and Antônio Alberto da Silva.

This work presents a study of the mobility of atrazine and ametryn herbicides on red yellow latosoil during a period of 90 days. Percolating systems using soil leaching columns with 15 cm long were developed. Every ten days, a rain event was simulated on the percolating columns and atrazine and ametryn were quantified on three depths, 0 to 5, 5 to 10 and 10 to 15 cm and also in water which percolated the columns. For the herbicide quantification, the solid-liquid extraction technique with low temperature partition (SLE-LTP) was optimized and validated. The obtained extracts were analyzed by gas chromatography with flame ionization detection. It was observed that during the experiment, atrazine and ametryn were detected predominantly on the first soil layer. However, ametryn was detected on the second layer at concentrations inferior to 9 % of the applied amount, whereas atrazine presented concentrations superior to the limit of quantification up to 70 days of its application on this depth. On the third soil layer, atrazine was detected at 10, 20 and 30 days after its application, in amounts inferior to 3 % of the applied amount and ametryn was detected on concentrations inferior to 5 % up to 50 days,

and reappeared 80 days after. In percolated water, atrazine and ametryn were detected within 6 and 9 % of the applied amount on 0 and 10<sup>th</sup> days of experiment. This amount was diminishing until 50<sup>th</sup> day of experiment. After this period, the amount of atrazine and ametryn in the percolated water was inferior to the limit of quantification and only on 90<sup>th</sup> day the ametryn was quantified in 1,6 % of the applied amount. It was observed that the triazines on studied were sensible to the photodegradation and ametryn presented higher stability than the atrazine, being more persistent on soil. So, it can be concluded that the two herbicides present potential mobility to reach underground water being more potential ametryn because it has more half life in the soil.

## 1. INTRODUÇÃO

Ao longo dos anos, a agricultura mundial cresceu em produtividade e área cultivada, acompanhada pelo uso intenso de agrotóxicos. A utilização de agrotóxicos constitui-se numa prática necessária nas culturas para reduzir o trabalho, melhorar a produtividade e a qualidade dos produtos. Entretanto, o uso inadequado, sem critérios e a falta de conhecimento detalhado de suas ações e efeitos, podem acarretar redução da qualidade do produto colhido, assim como a contaminação do solo, águas superficiais e subterrâneas.

Dentre os agrotóxicos empregados na agricultura e pecuária, os herbicidas são os mais utilizados. O grupo das triazinas é responsável por 30 % da produção mundial de herbicidas sendo utilizados no controle em pré e pós-emergência das plantas daninhas em plantações de cana-de-açúcar, milho, soja, trigo, feijão, laranja entre outros (RODRIGUES e ALMEIDA, 2005).

O emprego de controle químico de plantas daninhas é responsável por grande parte da contaminação dos solos e águas, pois somente cerca de 0,1 % dos pesticidas utilizados no campo atingem o alvo específico, enquanto que o restante da aplicação tem potencial para se mover no ambiente (UETA *et al.*, 2001).

Ao atingir o solo, os pesticidas podem ser transportados para outros locais e sofrer processos degradativos, o qual pode ocorrer rapidamente ou demorar meses ou anos para compostos altamente persistentes. As moléculas de algumas triazinas como por exemplo o ametryn e o atrazine apresentam propriedades físico-químicas que lhes conferem elevada persistência no ambiente. Esta persistência pode ser influenciada pela baixa taxa de mineralização,

especialmente no caso do ametryn, da dinâmica do fluxo hídrico e pelos atributos do solo como pH, carbono orgânico e atividade microbiana (PRATA *et al.*, 2001).

Os herbicidas são aplicados diretamente no solo e, dependendo de suas características como também das características do solo, podem ser lixiviados alcançando o lençol freático. Por possuírem elevada persistência no ambiente, alguns herbicidas derivados das triazinas podem provocar a contaminação de lagos, rios e fontes de água subterrânea. Esta última constitui uma das maiores preocupações atualmente, visto que os métodos habituais de tratamento da água normalmente não são capazes de retirar os resíduos desses compostos.

A mobilidade dos agrotóxicos no solo pode ser estimada utilizando-se valores de sorção e de meia-vida dos compostos no solo (VIVIAN *et al.*, 2007 b) e também utilizando-se coluna de solo ou deslocamento miscível (FARIA, 2003; PRATA, 2002).

Neste trabalho, avaliou-se a mobilidade do atrazine e do ametryn no solo, empregando colunas de percolação e técnicas cromatográficas.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

O aumento da população mundial, mesmo com as enormes diferenças sociais, tem induzido o crescimento da demanda por alimentos de qualidade. Assim, tem-se observado nos últimos anos, uma expansão das fronteiras agrícolas e o aumento da utilização de insumos. Para uma maior produtividade, na agricultura moderna, uma grande quantidade de insumos é utilizada. Dentre os principais, pode-se destacar os inseticidas, acaricidas, fertilizantes e herbicidas. A utilização destes insumos tem a finalidade de garantir elevada produtividade controlando as pragas e melhorando a fertilidade dos solos.

Pela quantidade elevada de agrotóxicos usados, algumas culturas merecem atenção, não somente pela aplicação intensiva de agrotóxicos por unidade de área cultivada, mas também por essas culturas ocuparem extensas áreas. No Brasil, por exemplo, a área ocupada pelas culturas de soja, milho e cana-de-açúcar em 2006 foram respectivamente 22; 12,6 e 6,2 milhões de hectares. Essas culturas apresentam-se como fontes potenciais de contaminação pelo uso de agrotóxicos em grandes áreas (IBGE, 2007).

A produtividade da cana-de-açúcar é diretamente influenciada, entre outros fatores, pelas plantas daninhas, as quais, além de dificultarem o corte e a colheita, fazem com que o rendimento industrial decresça, em função da interferência que exercem sobre o desenvolvimento da cultura. Essas perdas podem ser evitadas com o controle químico das plantas daninhas, que é o método mais utilizado (PITELLI, 1985).

Na cultura do milho, as perdas ocasionadas em função da interferência imposta pelas plantas daninhas têm sido descritas como sendo da ordem de 13%, sendo que, em casos onde não tenha sido feito nenhum controle, essa redução

pode chegar a 85 % (SPADOTTO *et al.*, 2004). De modo geral o controle das plantas daninhas nas culturas mais importantes normalmente é feita com herbicidas, sendo os derivados das triazinas muito utilizados. O herbicida mais utilizado nas décadas passadas foi o atrazine, atualmente o ametryn tem sido muito utilizado devido a expansão do cultivo de cana-de-açúcar. O atrazine tem alta persistência no solo, hidrólise lenta, alta sorção pela matéria orgânica e argila, possui baixa pressão de vapor, alto potencial de escoamento e solubilidade moderada em água (UETA *et al.*, 2001), podendo ser encontrado no ambiente um ano após sua aplicação. Em função dessas características o atrazine pode tornar-se um contaminante potencial de aquíferos.

O ametryn ainda é pouco estudado em solos brasileiros, que são em sua maioria Latossolos muito intemperizados com alto teor de caulinita, óxidos de ferro, óxidos de alumínio e com pH geralmente baixo. No entanto, acredita-se que esse herbicida em função de suas características físico-químicas também seja contaminante das águas superficiais e subterrâneas (CABRAL *et al.*, 2003; VIVIAN *et al.*, 2007).

Quanto ao atrazine, este foi comercializado pela primeira vez na década de 50. Devido ao seu intenso uso por muitos anos, este herbicida é o mais detectado em monitoramento de águas subterrâneas em diversas regiões do mundo (SPADOTTO, 2004). Vários estudos relatam que o atrazine, assim como seus produtos de degradação, estão entre os agroquímicos mais detectados em lençóis freáticos nos EUA. Este fato gerou, inclusive, a obrigatoriedade da referência acerca do potencial que esse herbicida possui de contaminação das águas subterrâneas em rótulos de embalagens comerciais nos EUA. O crescente número de relatos de contaminação de mananciais hídricos superficiais acima do limite de potabilidade levou a redução da dose máxima estabelecida na França de 3 para 1,5 kg ha<sup>-1</sup> e à proibição de seu uso na Alemanha desde 1991. Os EUA tem sua utilização controlada, sendo proibida em algumas áreas (SPADOTTO, 2004).

O monitoramento de poços artesianos norte-americanos mostrou que 4 % de um total de 15.000 poços estavam contaminados com atrazine e que algumas regiões mostravam elevados índices de contaminação. No caso das águas

superficiais não é diferente. Por exemplo, na década de 90 foi estimado que o Rio Mississippi carrega anualmente, cerca de 160 toneladas de atrazine, 71 toneladas de simazine, 56 toneladas de metolachlor e 18 toneladas de alachlor para o Golfo do México (PEREIRA e HOSTETTLER, 1993).

No Brasil, Ludovice *et al.* (2003) mostrou em estudos de escoamento superficial que o atrazine pode ser detectado em águas superficiais e também subterrâneas, em concentrações preocupantes. E que em solos arenosos pode sofrer lixiviação relativamente rápida, atingindo profundidades consideráveis. Além disso, apresenta baixo potencial de bioacumulação e moderadas adsorção e mobilidade em solo.

Inúmeros outros trabalhos científicos têm relatado a presença de ametryn ou atrazine e seus produtos de degradação em águas superficiais e subterrâneas em concentrações capazes de causar danos ao meio ambiente e à saúde do Homem (WAUCHOPE, 1978; ZHANG *et al.*, 1997; UETA *et al.*, 2001).

Armas e outros pesquisadores (2005) calcularam para uma série de agrotóxicos utilizados em cana-de-açúcar na sub-bacia do Rio Corumbataí-SP Índices de particionamento, como o “Groundwater Ubiquity Score – GUS” e o “Leaching Index – LEACH”. O índice GUS para o ametryn e atrazine foi de 5,9 e 4,4, respectivamente. Este índice avalia a lixiviabilidade de moléculas e a possibilidade de encontrá-las em águas subterrâneas e o LEACH descreve a mobilidade e o potencial de poluição de águas subterrâneas e superficiais. Foi observado que tanto o ametryn quanto o atrazine são potenciais poluidores das águas subterrâneas.

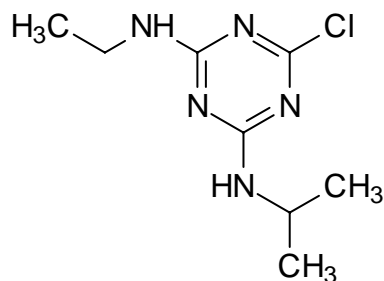
## 2.1. Características dos herbicidas

Em 1952 J. R. Geigy iniciou na Suíça pesquisas com derivados de triazinas, obtendo herbicidas com seletividade para algumas espécies cultivadas. As propriedades herbicidas desses compostos químicos foram registradas em 1955 e, desde então, as triazinas foram sintetizadas e introduzidas no mercado. (RODRIGUES e ALMEIDA, 2005)

Quimicamente, as triazinas são derivados nitrogenados heterocíclicos com estrutura do anel contendo átomos de diferentes tipos. No caso de ametryn e atrazine o anel é composto de átomos de nitrogênio e carbono. A maioria das triazinas são simétricas (s-triazinas), ou seja, possui átomos de nitrogênio e carbono alternados no anel (ARCHANGELO, 2003).

### 2.1.1. Atrazine

O atrazine (Figura 1), também um constituinte do grupo das s-triazinas possui o nome químico de 6-chloro-N-etil-N'-(1-metiletil)-1,3,5-triazina-2,4-diamina. Apresenta-se como um sólido cristalino branco possui fórmula molecular  $C_8H_{14}ClN_5$ , massa molar 215,7 g/mol, densidade 1,187 g/cm<sup>3</sup> a 20 °C, pressão de vapor  $2,89 \times 10^{-7}$  mmHg à 25 °C, ponto de fusão entre 175 e 177 °C, temperatura de ebulição de 200 °C, pK<sub>a</sub> de 1,70, coeficiente de partição octanol água (K<sub>ow</sub>) de 481 e a solubilidade em água é de 33 mg L<sup>-1</sup> a 27 °C (EXTOXNET, 2006 b), sendo comercializada em diferentes marcas comerciais (SILVA e SILVA, 2007). O atrazine é absorvido mais facilmente pelas raízes da planta daninha e é transportado exclusivamente via xilema para a parte aérea (RODRIGUES e ALMEIDA, 2005).



**Figura 1.** Fórmula estrutural do atrazine

Este herbicida possui alguns produtos de degradação como o deethylatrazine (DEA), deisopropylatrazine (DIA), deethyldeisopropylatrazine (DEDIA) e hydroxyatrazine (HA). Os três primeiros são formados na biodegradação do atrazine. Deethylatrazine é o metabólito em maior concentração e é tão tóxico quanto o herbicida de origem, porém deisopropylatrazine é 3 ou 4 vezes menos tóxico. O Hydroxyatrazine é formado por outras reações químicas no solo, especialmente em altas concentrações de ácidos fúlvicos e em pH menor que 6. Esse metabólito é praticamente insolúvel em água, não tóxico enquanto que os outros são mais solúveis em água que o atrazine (ABATE *et al.*, 2004).

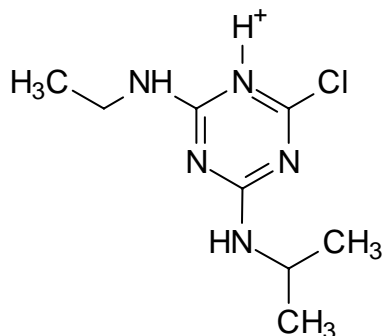
O atrazine tem sido classificado como um possível agente cancerígeno em humanos e está sendo banido da Europa. A União Européia estabelece uma concentração máxima de 0,1 mg L<sup>-1</sup> de pesticidas individuais em águas utilizadas para o consumo humano. A Agência de Proteção Ambiental Americana considera a toxicidade de cada agrotóxico e estabelece diferentes limites para cada (PINTO e JARDIM, 2000). No Brasil, o limite de atrazine para águas destinadas ao consumo humano é de 2 ppb (ANVISA, 2006c).

A aplicação deste herbicida pode ser efetuada em pré e pós-emergência das plantas daninhas nas culturas de abacaxi, cana-de-açúcar, milho, pinus, seringueira, sisal e sorgo (ANVISA, 2006 b). Para uso em pós-emergência, este deve ser aplicado em planta daninha recém emergida adicionando-se a calda óleo mineral (SILVA e SILVA, 2007).

As doses deste agrotóxico recomendadas para uso em pré-emergência dependem das características físico-químicas do solo, sendo mais elevadas para

solos mais ricos em matéria orgânica. O atrazine é pouco lixiviável em solos com teores médios e altos de argila ou matéria orgânica, não sendo encontrado em solos cultiváveis em profundidades maiores que 30 cm. Em climas tropicais e subtropicais, o atrazine apresenta persistência média no solo de cinco a sete meses (RODRIGUES e ALMEIDA, 2005). A meia-vida do atrazine é, geralmente, de 20 a 100 dias, entretanto, existem alguns casos em que a meia-vida pode exceder trezentos dias, dependendo do ambiente (VAZ,1994).

O processo de sorção está entre os mais importantes fatores que influenciam a mobilidade dos agrotóxicos no solo, além de ter efeito sobre a lixiviação, volatilização e decomposição microbiana entre outros. Weber (1970) observou que a sorção aumenta com a diminuição do pH, alcançando valores máximos próximos ao valor do  $pK_a$ . O atrazine protonado (Figura 2) possui uma forte característica de adsorção, o que não é observado na molécula neutra (McBRIDE, 1994). Quando protonado o atrazine encontra-se mais susceptível à interação com os colóides do solo.



**Figura 2.** Molécula de atrazine protonada

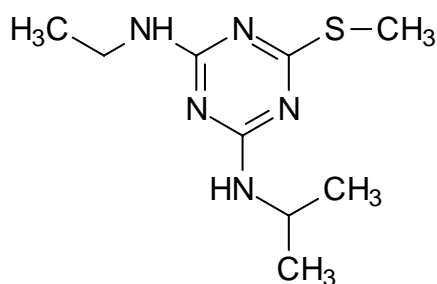
Estudos sobre a sorção de atrazine em solos revelam a dependência do processo com a temperatura, pH, matéria orgânica total e fracionada, minerais de argila e capacidade de troca de cátions (VAZ,1994). Além disso, essa molécula é sensível a fotodecomposição, entretanto sua degradação no solo é essencialmente microbiana. Existem basicamente três caminhos para a degradação de s-triazinas: hidrólise do carbono na posição 2 do anel; N-dealquilação de cadeias laterais e clivagem do anel. O processo de degradação

ocorrendo por N-dealquilação microbiana dará origem aos metabólitos deethylatrazine (DEA), deisopropylatrazine (DIA) e deethyldeisopropylatrazine (DEDIA) e a hidrólise química resulta na formação do metabólito hydroxyatrazine (HA). Os metabólitos DEA e DIA podem sofrer hidroxilação e o HA N-dealquilação, resultando, neste caso, nos metabólitos deethylhydroxyatrazine (DEHA) e deisopropylhydroxyatrazine (DIHA) (PEIXOTO, 1998).

### 2.1.2. Ametryn

O ametryn é um produto que apresenta translocação em plantas via xilema podendo ser aplicado em pré e pós-emergência das plantas infestantes nas culturas de abacaxi, algodão, banana, café, cana-de-açúcar, citros, mandioca, milho e uva (ANVISA, 2006 a). O ametryn é geralmente absorvido pelas raízes e também pelas folhas das plantas daninhas jovens e atua inibindo o fotosistema II.

Na Figura 3 está representada a estrutura do ametryn, N-etil-N'-(1-metiletil)-6-metiltio-1,3,5-triazina-2,4-diamina, da família das s-triazinas, o qual apresenta um anel de seis membros com nitrogênios localizados nas posições 1, 3 e 5. Possui fórmula molecular de  $C_9H_{17}N_5S$ , massa molar de 227,3 g/mol, ponto de fusão entre 84 e 85 °C, temperatura de ebulição em 337 °C, pressão de vapor  $8,4 \times 10^{-7}$  mm Hg,  $pK_a$  de 4,1,  $K_{ow}$  427 e a solubilidade em água de  $185 \text{ mg L}^{-1}$  (EXTOXNET, 2006 a). É comercializado no Brasil em várias marcas comerciais (RODRIGUES e ALMEIDA, 2005).



**Figura 3.** Fórmula estrutural do ametryn

O ametryn é classificado na classe toxicológica III ou de baixa toxicidade (ANVISA, 2006 a). Altas doses em contato com humanos podem causar náusea, vômito, diarreia, fraqueza muscular e irritar moderadamente os olhos, a pele e o trato respiratório. Sua dose letal ( $DL_{50}$ ) é de  $508 \text{ mg kg}^{-1}$  para ratos, a concentração letal ( $CL_{50}$ ) para ratos que inalam ametryn por quatro horas é maior que  $2,2 \text{ mg L}^{-1}$  no ar e a  $DL_{50}$  para o contato cutâneo é de  $3100 \text{ mg kg}^{-1}$ . Para peixes não é muito tóxico, sendo, no entanto, altamente tóxico para crustáceos e moluscos (EXTOXNET, 2006 a).

A concentração do ametryn utilizada no campo pode chegar até  $4,0 \text{ kg ha}^{-1}$  do princípio ativo (EMBRAPA, 2006). Este herbicida possui meia-vida variável dependendo das condições do solo, entretanto apresenta persistência média ou alta no solo, sendo influenciada pelo pH, porcentagem de matéria orgânica, temperatura, umidade e aeração do solo (PRATA *et al.*, 2001).

A molécula de ametryn, Figura 3, tem caráter básico, podendo receber um próton no N do anel. Sua forma protonada tem  $pK_a$  igual a 4,1. Como o pH do solo está, geralmente, acima deste valor o ametryn estará na sua formula molecular. Assim, a sorção deste herbicida não deve ocorrer por forças eletrostáticas e sim por interações hidrofóbicas, ligações de hidrogênio, forças de Van der Waals entre o herbicida e as substâncias húmicas do solo. Desta forma, a porcentagem de matéria orgânica influencia a persistência deste herbicida no solo, pois acarreta aumento da atividade microbiana do solo reduzindo a sua persistência (PRATA *et al.*, 2001).

A atividade microbiana é um importante meio de degradação de produtos químicos no ambiente (PEIXOTO, 1998). Na degradação do ametryn os microorganismos são os principais responsáveis, pois utilizam este produto como fonte de energia e nitrogênio (RODRIGUES e ALMEIDA, 2005). Entretanto, em estudos de degradação deste herbicida em culturas de cana-de-açúcar, Prata *et al.* (2001), observaram que não há formação de metabólitos em um período de 120 dias após sua aplicação. A atividade microbiana pode ser dificultada por características químicas das moléculas como ligações de halogênios, anéis aromáticos altamente condensados, etc (PRATA e LAVORENTI, 2000). Alguns

fatores, como a inibição da síntese de enzimas por microorganismos capazes de atuar na degradação, insolubilidade do composto, sorção e toxicidade, podem ocasionar baixa taxa de mineralização da molécula de herbicida, o que é observado para o ametryn (CARDOSO *et al.*, 1992).

## **2.2. Comportamento do atrazine e ametryn no solo**

O solo é o compartimento ambiental que recebe a maior quantidade de agrotóxicos, sejam eles aplicados nas folhagens das plantas ou diretamente ao solo, sendo o principal receptor e acumulador desses produtos. Neste compartimento, além dos processos de degradação, volatilização e absorção pelas plantas, podem ocorrer a adsorção e a movimentação horizontal e/ou vertical dos agrotóxicos (SILVA E SILVA, 2007).

Como resultado da movimentação dos agrotóxicos no solo, os lençóis freáticos e poços do mundo inteiro têm sido contaminados com resíduos desses compostos. Devido à crescente preocupação com a movimentação dos agrotóxicos e contaminação das águas, estudos do comportamento destes no solo têm sido desenvolvidos (ARMAS *et al.*, 2005; ABATE *et al.*, 2004). Os estudos de adsorção e movimentação dos agrotóxicos permitem inferir sobre os riscos de contaminação dos recursos hídricos.

A adsorção que é o fenômeno de atração e retenção das moléculas, ou íons, na superfície dos sólidos é um processo fundamental no comportamento dos agrotóxicos. Estes apresentam um comportamento complexo que é resultante de numerosas interações com os constituintes das diferentes frações do solo. As frações orgânicas e argila são as principais influenciadoras nos processo de adsorção e, conseqüentemente, na movimentação dos agrotóxicos no solo (BOIVIN *et al.*, 2005)

De modo geral ao se estudar a adsorção tem-se como propósito avaliar e quantificar a intensidade das interações dos compostos químicos com o solo. A sorção é avaliada, normalmente, por meio de isotermas que descrevem as relações no equilíbrio entre a quantidade do elemento adsorvido por uma matriz sólida e a quantidade remanescente na solução. As isotermas são úteis para quantificar a adsorção de herbicidas no solo, pois, independentemente das reações envolvidas na sorção, um estado de equilíbrio é admitido entre o adsorvato localizado na fase sólida e aquele na fase líquida (LOPES *et al.*, 2002).

Outras técnicas são também utilizadas para avaliar o movimento e a dissipação de agrotóxicos no solo, sendo as mais comuns: deslocamento miscível (PRATA, 2002) e colunas de percolação (LOPES, 2000; FARIA, 2003).

Nos experimentos que utilizam colunas para avaliação do movimento dos agrotóxicos no solo, algumas técnicas de análise são utilizadas para monitorar a presença dos resíduos ao longo da coluna. Uma delas consiste em aplicar material radioativo no topo da coluna e analisar a percolação do material pela sua cintilação ao longo da coluna de solo (ARIENZO *et al.*, 1994). Outra técnica de análise consiste na extração e quantificação dos compostos, ao longo da coluna (LOPES, 2000; FARIA, 2003). Também quando se emprega o deslocamento miscível, que é o estudo do deslocamento de um fluido contendo um soluto, por um meio poroso, pelo mesmo fluido sem o soluto, utiliza-se técnicas analíticas para o monitoramento dos compostos ao longo do perfil da coluna de solo. Como resultado, têm-se curvas de lixiviação que explicam o transporte dos solutos no solo (PRATA, 2002).

O método mais adequado é aquele que melhor se aproxima das condições de campo, apresentando boa reprodutibilidade. Por isso, o método da coluna de percolação tem sido utilizado nos ensaios com atrazine e ametryn (EMBRAPA, 2005).

### 2.3. Métodos de extração

A análise de agrotóxicos em amostras complexas como o solo e a água, requer, geralmente, a preparação dessas amostras a fim de que sejam analisadas pelas diversas técnicas existentes. Etapas de extração, pré-concentração e *clean-up*, são necessárias para a identificação e quantificação dos ingredientes ativos dos agrotóxicos.

McDonald *et al.* (1999) empregaram a extração sólido-líquido (ESL) para a análise de agrotóxicos em solos por cromatografia gasosa. Embora eficiente, essa técnica apresentou algumas desvantagens como o grande consumo de solventes e a necessidade de etapas de *clean-up*. Nos trabalhos de Pinto e Jardim (2000) e Hamada e Wintersteiger, (2002) o método de extração em fase-sólida (EFS) para extração e pré-concentração de triazinas em águas foi utilizado. Este método tem sido amplamente empregado e substituiu os tradicionais como por exemplo a extração líquido-líquido. A técnica de EFS pode reduzir a manipulação da amostra e o consumo de solventes, entretanto apresenta desvantagens como o descarte do cartucho após cada análise.

Brondi e Lanças (2005) analisaram resíduos de pesticidas em fontes de águas de abastecimento empregando três técnicas de extração. Extração líquido-líquido (ELL), utilizando diclorometano como solvente extrator; extração em fase sólida (EFS), utilizando C<sub>18</sub> como suporte sólido e acetonitrila como solvente para a eluição dos analitos; extração com fluido supercrítico, utilizando C<sub>18</sub> como suporte sólido e CO<sub>2</sub> no estado supercrítico como extrator. Os melhores resultados foram encontrados para a ELL e EFS. No entanto, a ELL apresentou grande consumo de solventes e o procedimento é demorado e de difícil automação.

A microextração em fase-sólida (MEFS) é uma técnica que permite extrair e pré-concentrar simultaneamente o analito em amostras de águas, solos e sedimentos, eliminando algumas desvantagens de técnicas convencionais como

extração em fase-sólida e extração líquido-líquido (ZAMBONIN e PALMISANO, 2000).

Kamatsu e Vaz (2004), otimizaram a técnica de microextração em fase sólida para análise de triazinas, piretróides, organoclorados e dinitroanilina em amostras de águas. Foram avaliadas algumas variáveis tais como: modo de extração, “headspace” ou imersão direta; tipo de fibra; pH; velocidade de agitação; concentração iônica; temperatura; volume da amostra e tempo de extração. A MEFS difere das outras técnicas de extração para amostras aquosas pelo menor tempo de análise e pela não utilização de solventes, minimizando a geração de descartes e a exposição ocupacional. É uma técnica simples, rápida e de fácil manuseio, além de apresentar a vantagem da utilização de pequena quantidade de amostra, podendo ser aplicada em diversas áreas.

Uma outra técnica utilizada na extração de herbicidas e seus metabólitos de matrizes sólidas é a extração por soxhlet, a qual requer grandes volumes de solventes e tempo. Nos últimos anos, algumas técnicas têm sido desenvolvidas como extração por água subcrítica, extração assistida por microondas e extração por líquido pressurizado (DAGNAC *et al.*, 2005).

Goulart (2003) adaptou um método de extração simples, de baixo custo e com baixo consumo de solventes, para análise de deltametryn e cipermetryn em leite. Essa técnica (extração e purificação por precipitação em baixa temperatura) mostrou-se simples e eficiente para extração de piretróides em leite sem a necessidade de etapas de “*clean-up*”. O método foi aperfeiçoado por VIEIRA (2005) na determinação de piretróides em amostras de água e solo. A técnica passou a ser denominada, para essas matrizes, extração líquido-líquido com partição em baixa temperatura (ELL-PBT) e extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura (ESL-PBT), respectivamente.

O método ELL-PBT consiste na adição de solventes ou misturas de solventes miscíveis com a água às amostras. Em seguida, estas são resfriadas até temperatura de  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ , permitindo, assim, a separação da fase orgânica da fase aquosa. Nesta temperatura, o solvente orgânico mantém-se líquido na fração superior (temperatura de fusão menor que  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) e a água solidifica,

permanecendo na parte inferior. A fase orgânica é passada por um filtro com sulfato de sódio anidro no intuito de eliminar a água do solvente orgânico para posterior análise em cromatógrafo a gás (VIEIRA, 2005; VIEIRA *et al.*, 2007).

No Laboratório de Química Analítica, LAQUA, do Departamento de Química da UFV essa técnica de extração vem sendo amplamente estudada obtendo resultados eficientes, para a extração de diversos agrotóxicos de diferentes matrizes (PINHO, 2007; DARDENGO, 2007). Algumas experiências também foram feitas com esse método na extração de herbicidas em solos com análise por CLAE (VIVIAN, 2006). Os resultados são promissores mostrando que a técnica, depois de avaliada, otimizada e validada pode ser uma ferramenta importante na análise multirresíduo de pesticidas em diferentes matrizes.

## **2.4. Métodos de análise**

Os herbicidas triazínicos são passíveis de serem analisados por várias técnicas analíticas. As técnicas mais utilizadas são a cromatografia gasosa e a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

Uma metodologia para determinação de ametryn utilizando a técnica de voltametria de onda quadrada combinada com eletrodo com gota suspensa de mercúrio foi descrita por Cabral *et al.* (2003). Entretanto, este método não foi aplicado para amostras naturais.

Abate *et al.* (2004) analisaram o atrazine e seus metabólitos por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) em amostras de solos e ácidos húmicos. Neste trabalho foi possível uma boa separação dos produtos de degradação do atrazine. Também Pinto e Jardim (2000) fizeram a determinação de resíduos desse herbicida e do ametryn em águas por CLAE com detector UV. O limite de detecção foi estabelecido em 0,1 ppb, satisfazendo os limites estabelecidos por órgãos internacionais.

A cromatografia líquida associada à espectrometria de massa também foi utilizada para a determinação de herbicidas em solos (DAGNAC *et al.*, 2005) e águas (VEGA *et al.*, 2005) apresentando limite de quantificação entre 0,5 e 5 ppb para vários herbicidas. Também a cromatografia gasosa é outra técnica muito eficiente na análise de agrotóxicos, na qual podem ser acoplados diversos detectores: nitrogênio/fósforo (McDONALD *et al.*, 1999), espectrometria de massa (ZAMBONIN e PALMISANO, 2000), ionização com chama (DIC) (EISERT e PAWLISZYN, 1997) e captura de elétrons (ECD) (BOUAID *et al.*, 2001). A eficiência dos detectores utilizados depende do tipo de substância a ser analisada, ou seja, quais elementos estão presentes nos ingredientes ativos dos herbicidas.

### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1. Amostra de solo**

Amostras de solo classificado como Latossolo Vermelho-Amarelo (textura argilosa), destinadas ao estudo da percolação dos herbicidas atrazine e ametryn, foram coletadas na profundidade de 0 a 15 cm no campus da UFV, em área isenta de resíduos de herbicidas.

Após isso estas amostras coletadas foram passadas em peneira com malha de 2 mm de diâmetro e posteriormente secadas ao ar até atingirem peso constante, obtendo-se a terra fina seca ao ar (TFSA). Para caracterização físico-química do solo foram feitas as seguintes determinações: análises químicas (pH, matéria orgânica e CTC), físicas (densidade e equivalente de umidade), teores de argila, silte e areia nos laboratórios de rotina do Departamento de Solos da UFV, seguindo as técnicas propostas pela EMBRAPA (1979).

#### **3.2. Soluções padrão de ametryn, atrazine e bifentryn**

As soluções estoque das triazinas e o bifentryn (padrão interno) foram preparadas na concentração de 1.000 mg L<sup>-1</sup> em acetonitrila (Mallinckrodt/HPLC), a partir dos produtos: ametryn (Herbitec) com 97% m/m de pureza, atrazine 97,7% m/m (Herbitec) e bifentryn 92,2 % m/m (FMC do Brasil).

Todas as soluções de trabalho foram preparadas em acetonitrila a partir de diluições da solução estoque.

No estudo da percolação foram aplicados os produtos comerciais Siptran, 500 e Metrimex, 500 contendo, respectivamente os princípios ativos atrazine e ametryn.

### **3.3. Fortificação das amostras de solo**

Para a otimização da técnica de extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura amostras de solo foram fortificadas com quantidades conhecidas dos princípios ativos dos herbicidas em solução. Para os estudos, 2g de solo (TFSA) foram pesados em balança analítica (Sartorius BP 2215 com precisão de  $1 \times 10^{-4}$ g) e colocados em frascos de vidro com capacidade para 50 mL. Foi adicionado a esse frasco 0,10 mL de uma solução padrão de  $100,0 \text{ mg L}^{-1}$  em acetonitrila contendo ametryn e atrazine com o intuito de se obter uma concentração de  $5,0 \text{ mg kg}^{-1}$  no solo. Para permitir a homogeneização foi adicionado, também, ao frasco 0,4 mL de água, o qual foi misturado aos componentes utilizando-se bastão de vidro por alguns minutos. Após isso a mistura foi secada ao ar e em seguida submetida ao processo de extração.

### **3.4. Otimização da técnica de extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura**

Para otimizar uma técnica de extração é conveniente realizar um planejamento experimental que avalie com eficiência a influência de determinados parâmetros no processo de extração. Neste trabalho, a eficiência foi avaliada pela análise dos extratos por cromatografia gasosa empregando detecção por ionização em chama CG/DIC. Antes da realização do planejamento fatorial torna-se necessário estudos preliminares (3.4.1) de alguns parâmetros a serem descritos no planejamento, de modo que este possa ser executado de uma forma mais simples e eficiente.

#### **3.4.1. Estudos preliminares**

Um dos primeiros estudos preliminares teve como objetivo determinar a quantidade de solo necessária no processo de ESL-PBT. Para esse estudo massas de 1,0; 2,0; 3,0 e 4,0 g de solo foram testadas.

Outro estudo preliminar teve como objetivo determinar o tempo de contato dos ingredientes ativos com o solo no processo de fortificação das amostras. Para isso, o solo contendo 20 % de umidade foi fortificado como descrito no item 3.3 variando-se o período em que ficou secando ao ar na temperatura ambiente em: 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24, 48, 144 e 504 horas.

Para proporcionar o contato mais eficiente entre o solo e a mistura extratora a fim de apresentar maior porcentagem de extração, foram testados a agitação mecânica e o ultra-som. O tempo de agitação mecânica foi de 5, 15, 30, 60 minutos e o tempo de sonicação em ultra-som 1, 5, 15 e 30 minutos. Todos os extratos foram analisados por CG / DIC.

### 3.4.2. Planejamento fatorial

O planejamento fatorial é um método em que as variáveis de interesse são avaliadas simultaneamente.

Um planejamento fatorial  $3^3$  foi desenvolvido para avaliar três fatores (tempo de contato entre as triazinas e o solo, tempo de agitação e polaridade do solvente) em três níveis representados por (-1), (0) e (1). Tempo de contato ( $t_c$ ): 0, 2 e 4 horas; tempo de agitação mecânica ( $t_a$ ): 10, 30 e 50 minutos; e polaridade do solvente ( $p_s$ ): A, B e C. Os solventes extratores foram constituídos de diferentes proporções de água / acetonitrila / acetato de etila: Solvente A: 4 / 6,5 / 1,5; solvente B: 3 / 6,5 / 2,5; solvente C: 3 / 7,5 / 1,5.

Foram realizados 54 ensaios, que corresponderam a todas as combinações possíveis para os níveis (-1), (0), (1) com uma repetição. Na Tabela 1 está representado o planejamento fatorial  $3^3$ , com os três fatores codificados  $F(\alpha)$ ;  $F(\beta)$  e  $F(\gamma)$  em três níveis (-1), (0) e (1).

As porcentagens de recuperação obtidas no experimento para cada um dos herbicidas estudados foram utilizadas para avaliar os efeitos de cada fator.

**Tabela 1.** Matriz do planejamento fatorial  $3^3$  para otimização da ESL-PBT

Ensaio	Fatores codificados			Fatores originais		
	F( $\alpha$ )	F( $\beta$ )	F( $\gamma$ )	( $\alpha$ ) Tc (horas)	( $\beta$ ) Ta (min)	( $\gamma$ ) Ps
1 e 2	(-1)	(-1)	(-1)	0	10	A
3 e 4	(0)	(-1)	(-1)	2	10	A
5 e 6	(1)	(-1)	(-1)	4	10	A
7 e 8	(-1)	(0)	(-1)	0	30	A
9 e 10	(0)	(0)	(-1)	2	30	A
11 e 12	(1)	(0)	(-1)	4	30	A
13 e 14	(-1)	(1)	(-1)	0	50	A
15 e 16	(0)	(1)	(-1)	2	50	A
17 e 18	(1)	(1)	(-1)	4	50	A
19 e 20	(-1)	(-1)	(0)	0	10	B
21 e 22	(0)	(-1)	(0)	2	10	B
23 e 24	(1)	(-1)	(0)	4	10	B
25 e 26	(-1)	(0)	(0)	0	30	B
27 e 28	(0)	(0)	(0)	2	30	B
29 e 30	(1)	(0)	(0)	4	30	B
31 e 32	(-1)	(1)	(0)	0	50	B
33 e 34	(0)	(1)	(0)	2	50	B
35 e 36	(1)	(1)	(0)	4	50	B
37 e 38	(-1)	(-1)	(1)	0	10	C
39 e 40	(0)	(-1)	(1)	2	10	C
41 e 42	(1)	(-1)	(1)	4	10	C
43 e 44	(-1)	(0)	(1)	0	30	C
45 e 46	(0)	(0)	(1)	2	30	C
47 e 48	(1)	(0)	(1)	4	30	C
49 e 50	(-1)	(1)	(1)	0	50	C
51 e 52	(0)	(1)	(1)	2	50	C
53 e 54	(1)	(1)	(1)	4	50	C

### 3.4.3. Extração do atrazine e ametryn no solo

Em frascos de vidro com 50 mL de capacidade foram adicionados 2,00 g de solo fortificado (item 3.3). Aguardou-se o tempo de 0, 2, e 4 horas e adicionaram-se 12,0 mL de mistura extratora, composta por água e solventes orgânicos em diferentes proporções constituindo uma fase única. Os frascos foram agitados em 180 oscilações por minuto (opm) em mesa agitadora (Tecnal TE - 420) durante 10, 30 e 50 minutos, correspondendo a variação descrita na Tabela 1. Posteriormente, essas amostras foram deixadas por um período mínimo de 12 h em freezer à temperatura de  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Após o resfriamento a amostra de solo ficou aprisionada na água congelada e no sobrenadante, ainda no estado líquido, ficaram atrazine e ametryn. As amostras foram passadas por um filtro com sulfato de sódio anidro (Nuclear – P.A.), que foi lavado com acetonitrila e o extrato recolhido.

O extrato orgânico foi transferido para um balão de fundo redondo (10 mL) e completamente evaporado em evaporador rotatório à temperatura inferior a  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Em seguida, lavou-se o balão de fundo redondo cuidadosamente com duas alíquotas de 0,5 mL de acetonitrila e esse extrato final (1,0 mL) foi colocado em frasco de vidro com 1,8 mL de capacidade sendo armazenado em freezer até o momento da análise.

Na otimização da ESL-PBT, a avaliação dos fatores estudados foi realizada com base nas porcentagens de recuperação obtidas para atrazine e ametryn nos diferentes ensaios.

### 3.5. Extração líquido-líquido com partição em baixa temperatura

A Extração líquido-líquido com partição em baixa temperatura, utilizada neste trabalho para a extração do atrazine e do ametryn da água que percolou as colunas de lixiviação, foi otimizada e validada por Magalhães (2007).

Em frascos de vidro com 50 mL de capacidade foram adicionados 4,00 mL de água com força iônica equivalente a uma solução de  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  na concentração de  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ . A seguir adicionou-se a esses frascos 8,0 mL de misturas extratoras, composta por 7,5 mL de acetonitrila e 0,5 mL de acetato de etila, sendo estes frascos agitados em 180 oscilações por minuto (opm) em mesa agitadora (Tecnal TE - 420) durante 15 minutos. Posteriormente, essas amostras foram deixadas por 24 h em freezer na temperatura de  $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ . Após esse período a amostra de água tornou-se sólida e no sobrenadante, em estado líquido, ficaram os analitos de interesse. A filtração seguida da concentração em evaporador rotatório foram realizadas similarmente ao descrito no item 3.4.3 para extração de ametryn e atrazine em solo. Os extratos foram armazenados em freezer à  $-20 \text{ }^\circ\text{C}$  até o momento da análise.

### 3.6. Extração de atrazine e ametryn em produtos comerciais

Os produtos comerciais contendo atrazine e ametryn, respectivamente Siptran e Metrimex, foram aplicados ao solo em colunas de percolação e monitorados durante um período de 90 dias. Desta forma, tornou-se necessário a quantificação dos princípios ativos nos produtos comerciais com o objetivo de identificar a real concentração destes produtos.

Siptran 500 e Metrimex 500 são formulados em suspensão concentrada contendo  $500 \text{ g L}^{-1}$  do princípio ativo. Foram realizados duas diluições 1:50 e uma diluição 1:20 para a obtenção de soluções aquosas de  $10,0 \text{ mg L}^{-1}$  de atrazine e

ametryn. Em seguida, essas soluções foram submetidas à ELL-PBT (item 3.5) e quantificadas por cromatografia gasosa.

### 3.7. Análise cromatográfica dos agrotóxicos

A análise dos extratos orgânicos, para identificação e quantificação das triazinas, foi realizada por cromatografia gasosa com detecção por ionização em chama (DIC).

A identificação dos compostos foi realizada pela comparação dos tempos de retenção dos picos dos padrões e os tempos de retenção dos picos presentes nos extratos das amostras nos cromatogramas. Foi utilizado o método da padronização interna (COLLINS, 2006) para a quantificação dos herbicidas em amostras aquosas e de solos. O bifentryn foi utilizado como padrão interno, uma vez que possui características semelhantes aos compostos de interesse e apresenta tempo de retenção diferente dos mesmos.

Dois equipamentos semelhantes foram utilizados neste experimento, um cromatógrafo a gás Shimadzu CG-17 A (injeção manual, coluna HP-5), na otimização do experimento e um cromatógrafo a gás Shimadzu CG-17 A (coluna SPB-5) equipado com injetor automático na realização das outras etapas do experimento, ambos com detecção por DIC. O estabelecimento das condições ideais de análise como temperatura do injetor, da coluna e do detector, vazão dos gases e escolha do tipo de coluna cromatográfica, foi realizado com base na boa resolução entre os picos dos compostos de interesse e menor tempo de análise.

As condições analíticas determinadas para cada equipamento utilizado foram as seguintes:

- Coluna capilar Agilent Technologies HP-5 com fase estacionária composta de 5 % de fenil e 95 % de dimetilpolissiloxano, 30 m de

comprimento; 0,25 mm de diâmetro interno e 0,1  $\mu\text{m}$  de espessura de filme.

- Programação de temperatura da coluna:

180 °C  $\xrightarrow{10\text{ }^\circ\text{C min}^{-1}}$  210 °C  $\xrightarrow{30\text{ }^\circ\text{C min}^{-1}}$  300 °C (1 min)

- Tempo total de análise: 7 minutos
  - Temperatura do injetor: 280 °C
  - Temperatura do detector (DIC): 300 °C
  - Volume injetado: 1,0  $\mu\text{L}$
  - Gás de arraste: Nitrogênio
  - Vazão do gás de arraste: 1,2  $\text{mL min}^{-1}$
  - Divisão de fluxo: 1:5
- 
- Coluna capilar Supelco SPB-5 com fase estacionária composta de 5 % de fenil 95 % dimetilpolissiloxano, 30 m de comprimento; 0,25 mm de diâmetro interno e 0,25  $\mu\text{m}$  de espessura de filme.
  - Programação de temperatura da coluna:  
200 °C  $\xrightarrow{10\text{ }^\circ\text{C min}^{-1}}$  240 °C  $\xrightarrow{30\text{ }^\circ\text{C min}^{-1}}$  300 °C (5 min)
  - Tempo total de análise: 11 minutos
  - Temperatura do injetor: 280 °C
  - Temperatura do detector (DIC): 300 °C
  - Volume injetado: 1,0  $\mu\text{L}$
  - Gás de arraste: Nitrogênio
  - Vazão do gás de arraste: 1,5  $\text{mL min}^{-1}$
  - Divisão de fluxo: 1:5

### 3.7.1. Quantificação

As quantificações dos herbicidas ametryn e atrazine foram realizadas pelo método da padronização interna.

Soluções padrão de concentrações crescentes dos analitos (0,5, 1,0, 2,5, 5,0, 10,0, 20,0 e 50,0 mg L<sup>-1</sup>), contendo como padrão interno (PI) o bifentryn 4,0 mg L<sup>-1</sup>, foram analisadas em cromatógrafo a gás nas condições analíticas pré-determinadas (item 3.7). As curvas analíticas para cada princípio ativo foram construídas relacionando a razão entre a resposta do detector para os padrões e para o padrão interno, (área do pico do padrão / área do pico do padrão interno) em função das concentrações das soluções padrão.

Os dados experimentais foram ajustados em curvas analíticas e por regressões lineares foram obtidas equações das retas utilizadas no cálculo das concentrações dos agrotóxicos nas amostras. A todos os extratos analisados foram adicionados previamente padrão interno na concentração de 4 mg L<sup>-1</sup>, permitindo por meio da razão entre área do pico do analito e área do padrão interno obter a concentração dos componentes de interesse da amostra.

### 3.8. Validação do método analítico

A validação do método de extração sólido-líquido (ESL-PBT) foi realizada considerando as características de desempenho que normalmente fazem parte dos processos de validação: Seletividade, linearidade, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), precisão e exatidão (INMETRO, 2003; LANÇAS, 2004 e RIBANI *et al.*, 2004).

### 3.8.1. Seletividade

A seletividade do método cromatográfico foi avaliada, comparando-se cromatogramas de extratos das matrizes isentas das substâncias de interesse com extratos de matrizes fortificadas com soluções de ametryn e atrazine na concentração de  $5 \text{ mg kg}^{-1}$ . Em todos os extratos foi adicionado  $40 \mu\text{L}$  da solução de bifentryn a  $100 \text{ mg L}^{-1}$ . Vários cromatogramas do branco e dos extratos das matrizes fortificadas foram analisados.

### 3.8.2. Faixa de trabalho linear

A faixa linear foi estabelecida avaliando a resposta do detector para concentrações crescentes 0, 0,5, 1,0, 2,5, 5,0, 10,0, 20,0 e  $50,0 \text{ mg L}^{-1}$  dos padrões das substâncias de interesse que correspondem a uma faixa de trabalho de 0 a 200 % da concentração dos agrotóxicos no solo. O método de padronização interna foi utilizado para construção das curvas analíticas, que consistiu na adição de  $40,0 \mu\text{L}$  do padrão interno (bifentryn) às soluções padrões de ametryn e atrazine. Desta forma, a curva analítica relacionou a razão entre a resposta do detector para os padrões e para o padrão interno, (área do pico da solução padrão / área do pico do padrão interno) em função das concentrações das soluções padrão conforme descrito no item 3.7.1. A linearidade foi avaliada por meio do coeficiente de regressão linear das curvas analíticas construídas.

### 3.8.3. Limite de detecção e limite de quantificação

Os limites de detecção e quantificação foram determinados pelo método da relação sinal-ruído. Foram realizadas várias injeções dos extratos das matrizes isentas das substâncias de interesse (branco), e também injeções dos extratos, de matrizes fortificadas, em concentrações decrescentes, 5,0, 2,5, 1,0, 0,50, 0,20, e  $0,10 \text{ mg L}^{-1}$ . A concentração que proporcionou um sinal três vezes maior que o

ruído foi estabelecido como o limite de detecção e um sinal dez vezes maior que o nível do ruído como o limite de quantificação (COLLINS, 1997).

#### **3.8.4. Precisão**

A precisão do método de ESL-PBT foi avaliada em dois níveis, repetitividade e precisão intermediária.

##### **3.8.4.1. Repetitividade**

Foram fortificadas onze amostras de solo (item 3.3) em concentração de  $5,0 \text{ mg kg}^{-1}$ . Essas amostras foram submetidas ao processo de extração otimizado e os extratos analisados por CG / DIC. Para avaliar a repetitividade do método, esses ensaios foram realizados pelo mesmo analista, no mesmo instrumento em um curto intervalo de tempo.

A precisão do método de ESL-PBT, em nível de repetitividade, foi avaliada pela estimativa do coeficiente de variação das recuperações dos agrotóxicos nos extratos das matrizes fortificadas.

##### **3.8.4.2. Precisão intermediária**

Para a avaliação da precisão intermediária do método de ESL-PBT foram analisados três extratos de solo das matrizes fortificadas, de acordo com o item 3.3, com padrões de atrazine e ametryn. Esses extratos foram obtidos pelo mesmo analista, que empregou o método otimizado em diferentes dias, 1º, 7º e 30º. Essas análises foram realizadas no mesmo laboratório, empregando o mesmo instrumento de análise.

Esse parâmetro analítico foi avaliado pela estimativa do desvio padrão relativo dos resultados das análises e indica a variabilidade dos resultados em um único laboratório, ao longo do tempo.

### **3.8.5. Exatidão**

Na avaliação da exatidão do método, matrizes de solo foram fortificadas com três diferentes concentrações, para no extrato final apresentarem as concentrações de 0,5, 1,0 e 5,0 mg L<sup>-1</sup> dos componentes de interesse. Essas concentrações correspondem a aproximadamente 2, 4 e 20 vezes o limite de quantificação do método. Os valores das recuperações obtidas nos experimentos foram utilizados para avaliar este parâmetro

## **3.9. Estudo da percolação do atrazine e ametryn**

A mobilidade do atrazine e ametryn em Latossolo Vermelho-Amarelo foi avaliada usando colunas de solo com simulações de chuvas. Amostras de solo e da água percolada foram submetidos aos processos de extração e análise já otimizados, permitindo a avaliação do processo de movimentação das triazinas ao longo de um perfil de 15 cm de profundidade, em 90 dias.

### **3.9.1. Sistema de percolação**

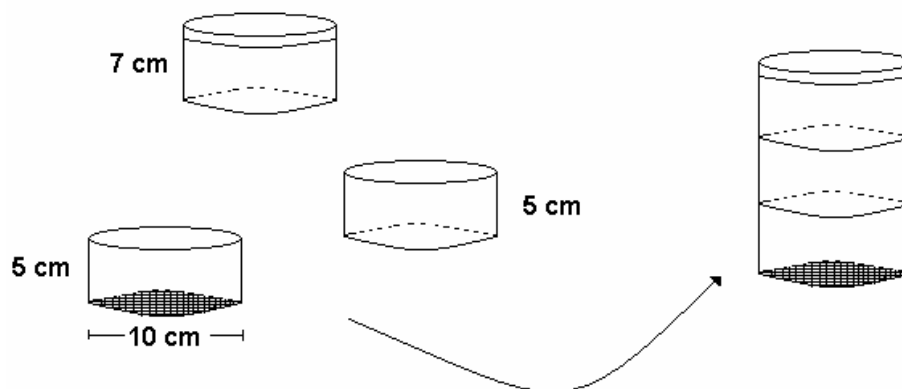
Utilizando as colunas de solo, foi avaliado o movimento dos agrotóxicos no perfil do solo pela simulação de chuvas, a cada 10 dias, por um período de 90 dias. Para tal, foram montadas quatro colunas, sendo três repetições e um branco para cada ensaio (tempo de 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 e 90 dias), totalizando 10 ensaios e 40 colunas (Figura 4), para ambos os agrotóxicos.



**Figura 4.** Colunas de percolação para avaliação da mobilidade de atrazine e ametryn.

Para montar os sistemas de percolação foram utilizados tubos de PVC de 10 cm de diâmetro, cortados em anéis de 5 e 7 cm de altura. Os anéis de PVC de 7 cm foram marcados a 2,0 cm da borda com lápis preto nº 2, em sua superfície interna, delimitando o volume do anel para o preenchimento com solo.

Foram montadas colunas contendo três anéis de tubo de PVC, sendo dois anéis de 5 cm e sobre estes um de 7 cm de altura. Os pontos de contato entre os anéis foram colados com fitas adesivas para garantir a estabilidade do sistema e evitar perdas de água. As superfícies internas dos tubos de PVC foram recobertas com parafina derretida, a fim de evitar caminhos preferenciais para a percolação da água. Na base de cada coluna foi adaptado um papel de filtro, de filtração rápida, e sob o papel, uma tela fina, sendo fixados com um anel de borracha. Um esquema típico do sistema de percolação montado está representado na Figura 5.



**Figura 5.** Representação esquemática de um sistema de percolação em coluna.

O solo (TFSA) foi colocado na coluna de percolação até a marca feita com lápis no anel de 7 cm, a dois cm da borda. A massa de solo, necessária para preencher a coluna de percolação, 1,24 kg, foi calculada a partir da densidade do solo,  $1,05 \text{ g cm}^{-3}$  e do volume da coluna de percolação,  $1,18 \times 10^{-3} \text{ m}^3$ .

Após a montagem do sistema de percolação, as colunas foram colocadas à sombra em uma bandeja contendo água destilada durante um período de 12 horas, para atingir o teor de água equivalente a capacidade de campo que foi de 27,2% m/m.

### 3.9.2. Aplicação dos herbicidas

Após o umedecimento do solo até a capacidade de campo (27,2%) foram aplicados os agrotóxicos atrazine e ametryn em uma dose duas vezes maior que a recomendada pelo fabricante para área de solo correspondente ao tubo de PVC empregado no experimento.

Uma única solução aquosa de concentração  $1.256 \text{ mg L}^{-1}$  de cada um dos princípios ativos foi preparada, por diluições dos produtos comerciais Metrimex e Siptran. Foram retirados 5 mL dessa solução e aplicados em cada uma das 30 colunas de solo.

### **3.9.3. Simulação de chuva**

Num período de 90 dias foram realizados os ensaios de percolação com eventos de chuva a cada 10 dias. Todas as colunas receberam uma lâmina de água equivalente a uma chuva de 59,9 mm de precipitação pluvial ou 469,0 mL. Este volume foi definido com base na média de chuva do período de aplicação dos herbicidas no campo (outubro a abril), referente aos anos de 2003 a 2006.

A água que percolou pelas colunas de solo foram coletadas em recipientes PET – Polietileno Tereftalato, devidamente lavadas com água destilada e deionizada, adaptadas sob as colunas de percolação.

### **3.9.4. Preparo das amostras para a ESL-PBT e ELL-PBT**

Após cada ocorrência de chuva as colunas de solo eram deixadas por 24 horas para percolação do excesso de líquido. Após esse período, quatro colunas eram desmontadas, sendo três repetições e um branco, para posterior extração e análise das triazinas. Cada coluna de solo retirada era dividida em três partes (anéis de PVC) de acordo com sua profundidade; 0 a 5, 5 a 10, 10 a 15 cm. A água que percolou as colunas de solo também era submetida ao processo de extração para posterior análise por CG / DIC.

O solo de cada anel foi homogeneizado e dividido em quatro partes para proceder a amostragem, sendo duas partes opostas desprezadas e outras duas submetidas a um novo quarteamento. Este procedimento foi realizado até a obtenção de uma amostra representativa de aproximadamente 30 g de solo. Uma fração desta amostra foi submetida a ESL-PBT dos agrotóxicos enquanto que outra foi separada para determinação do teor de umidade.

Para determinar o teor de umidade, duas amostras de solo, correspondentes a cada profundidade na coluna de percolação, tiveram suas massas medidas em um valor próximo de 2,0 g. Estas foram colocadas em estufa

à temperatura de 100 °C até atingirem o peso constante (aproximadamente 2 horas).

### **3.9.5. ESL-PBT e ELL-PBT de atrazine e ametryn nas colunas de percolação**

De cada coluna de percolação foram retiradas nove amostras de solo, sendo três repetições de cada profundidade 0 a 5, 5 a 10, 10 a 15 cm e, ainda, três repetições da amostra de água que percolou pela coluna. Em cada evento de chuva, foram obtidos 48 extratos provenientes de quatro colunas. Os extratos foram obtidos pela ESL-PBT e ELL-PBT e analisados por CG / DIC.

Amostras de solo de 2,0 g de massa seca previamente homogeneizada e quarteada foram colocadas em frascos de vidro com 50 mL de capacidade. Adicionaram-se a esses frascos 12,0 mL de uma mistura extratora, composta por 4 mL de água, 6,5 mL de acetonitrila e 1,5 mL de acetato de etila. Estes foram agitados em 180 oscilações por minuto (opm) em mesa agitadora durante 50 minutos. Em seguida, essas amostras foram deixadas por 24 horas em freezer na temperatura de -20 °C, obtendo-se uma fração sólida composta de água congelada e solo, e, uma fração líquida contendo o material extraído em solvente orgânico. A fração líquida foi passada por um filtro com sulfato de sódio anidro e recolhida em balão volumétrico de 10,0 mL. O extrato orgânico foi transferido para um balão de fundo redondo com 10 mL de capacidade, o qual foi concentrado em evaporador rotatório, à temperatura de 55 °C. Em seguida, lavou-se o balão de fundo redondo cuidadosamente com duas alíquotas de 0,5 mL de acetonitrila. O extrato final (1,0 mL) foi colocado em frasco de vidro com 1,8 mL de capacidade sendo armazenado em freezer (-20 °C) até o momento da análise.

A extração dos herbicidas na água percolada foi realizada como descrito no item 3.5.

### 3.10. Degradação das triazinas

A degradação de atrazine e ametryn foi avaliada durante 90 dias em duas situações. Em uma, o solo contaminado pelos herbicidas foi deixado à sombra enquanto em outra foi colocado à exposição da luz solar durante todo o dia.

Para realizar esse ensaio utilizou-se 200 g de solo (TFSA) que foram colocadas em recipiente de alumínio. A essas amostras foram adicionadas 0,8 mL de uma solução aquosa com concentração  $1.256 \text{ mg L}^{-1}$  de cada princípio ativo, preparadas a partir de diluições dos produtos comerciais metrimex e siptran. A quantidade de herbicida aplicado no solo foi calculada considerando 15 cm de profundidade e equivalente ao aplicado nas colunas de percolação no item 3.9.2. A essas amostras de solo foram acrescentados 54 mL de água destilada, correspondendo ao equivalente de umidade (EU) sendo o sistema homogeneizado. A cada dois ou três dias as amostras de solo tiveram sua umidade ajustada para 27 % m/m (EU), repondo-se a água evaporada pela diferença de massa.

A cada dez dias, uma amostra com três repetições foi retirada de cada recipiente e submetida ao processo de extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura como descrito para a extração dos ingredientes ativos das colunas de percolação no item 3.9.5.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Caracterização da amostra de solo

O solo utilizado neste experimento, um Latossolo Vermelho-Amarelo, foi coletado na região de Viçosa e não estava contaminado com ametryn e/ou atrazine. Suas características físicas, químicas e texturais avaliadas estão na Tabela 2. As características do solo são importantes parâmetros na avaliação do comportamento dos agrotóxicos. Características como pH, teor de matéria orgânica e textura influenciam diretamente na adsorção das moléculas dos agrotóxicos no solo, sua persistência e degradação (VIVIAN *et al.*, 2007 a).

O alto teor de matéria orgânica do solo favorece a maior capacidade de sorção de herbicidas, uma vez que a fração húmica do solo apresenta um elevado número de cargas negativas na superfície e grande área superficial específica que promove a sorção dos herbicidas por inúmeros tipos de interações. Todavia, a matéria orgânica é muito variável, sendo constituída desde compostos de baixa massa molar até compostos altamente condensados, que podem interferir não só na sorção dos herbicidas, mas também na sua persistência e degradação (VIVIAN *et al.*, 2007).

O pH do solo também é um fator que influencia o comportamento dos agrotóxicos, uma vez que afeta a distribuição de cargas dos minerais de argila, a capacidade de troca catiônica do solo e também os processos de sorção dos agrotóxicos. O comportamento de herbicidas básicos como o atrazine e o ametryn é influenciado pelo pH do solo, principalmente no caso do ametryn que possui  $pK_a = 4,1$  em relação ao atrazine  $pK_a = 1,7$ . Quanto menor o pH do solo, no caso

do atrazine e ametryn, mais protonadas vão estar as moléculas destes herbicidas apresentando cargas positivas e proporcionando maior atração pelas partículas de argila e matéria orgânica do solo que possuem cargas predominantemente negativas (SHENG *et al.*, 2005 ). Portanto, como a maioria dos solos brasileiros apresentam pH entre 4 e 6 o efeito da protonação das moléculas é mais pronunciado no ametryn do que no atrazine (SILVA e SILVA, 2007).

Na Tabela 2, são apresentadas as principais características físicas, químicas e texturais do solo.

**Tabela 2.** Resultados das análises física, química e textural da amostra de solo

Características	Valores
pH em água	4,73
MO (% m/m)	5,90
CTC* <sub>efetiva</sub> (cmol <sub>c</sub> dm <sup>3</sup> )	0,99
CTC* <sub>total</sub> (cmol <sub>c</sub> dm <sup>3</sup> )	6,42
Densidade (g/cm <sup>3</sup> )	1,05
Equivalente de Umidade (kg/kg)	0,272
Silte (%)	7
Areia fina (%)	15
Areia grossa (%)	18
Argila (%)	60

\*CTC = Capacidade de troca catiônica

A textura do solo é outra característica relevante em relação ao comportamento dos agrotóxicos. A maior parte dos solos com texturas argilosas apresenta alto potencial para adsorver os agrotóxicos, uma vez que possuem grande área superficial. Por outro lado, solos com textura arenosa e com baixo teor de argila, geralmente, têm um potencial muito baixo na adsorção de agrotóxicos, pois suas partículas possuem pequena área superficial específica e praticamente não apresentam cargas de superfície (FONTES *et al.*, 2001).

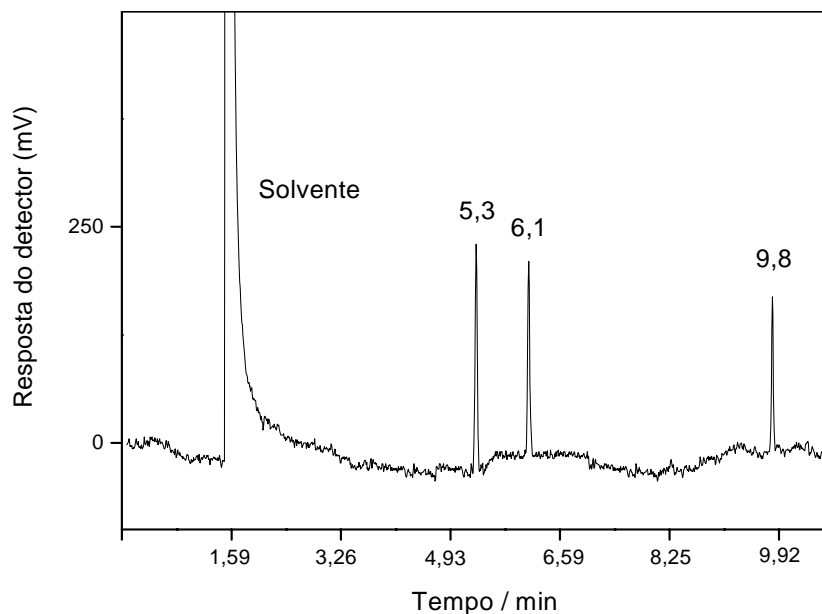
O solo em estudo é composto de 60 % de argila, caracterizado como de textura argilosa, apresenta alto teor de matéria orgânica, em torno 5,9 %, é de característica ácida (pH = 4,7) de baixa capacidade de troca catiônica.

## 4.2. Análise cromatográfica

A cromatografia gasosa é um método físico-químico de alto potencial na separação e na quantificação de compostos orgânicos, no qual os compostos presentes em uma mistura são distribuídos entre duas fases, uma que permanece estacionária e outra que se movimenta em uma direção definida. A identificação dos compostos de interesse é realizada comparando o tempo de retenção do composto da amostra com o de um padrão (COLLINS *et al.*, 2006; SOARES, 2001). Para auxiliar na identificação dos compostos de interesse, outros métodos, como retenção relativa, índice de retenção de Kovats, emprego de duas ou mais colunas e/ou detectores diferentes poderão ser empregados. Para uma identificação mais segura torna-se necessário acoplar a cromatografia a gás com técnicas instrumentais como espectrometria de massas ou espectrometria no infravermelho. Entretanto, tais equipamentos têm preços elevados, o que limitam suas aplicações (COLLINS *et al.*, 2006). Os herbicidas estudados foram identificados pela comparação do tempo de retenção dos compostos de interesse com os dos padrões dessas substâncias, analisadas nas mesmas condições cromatográficas.

A análise cromatográfica dos padrões e da amostra foi realizada de acordo com a metodologia descrita no item 3.7. Pode-se observar na Figura 6, um cromatograma obtido pela análise de uma solução padrão na concentração de 10,0 mg L<sup>-1</sup> em acetonitrila, com o tempo de análise de 11 minutos. Os picos com tempo de retenção,  $t_R$ , iguais a 5,3 e 6,1. correspondem ao atrazine e ao ametryn,

respectivamente e o pico com  $t_R$  igual a 9,8 corresponde ao padrão interno (bifentryn).



**Figura 6.** Cromatograma de uma solução padrão de atrazine e ametryn  $10,0 \text{ mg L}^{-1}$ , em acetonitrila.  $t_R = 5,3$ , atrazine;  $t_R = 6,1$  ametryn,  $t_R = 9,8$  corresponde ao padrão interno (bifentryn).

O cromatograma obtido da solução padrão de atrazine e ametryn, Figura 6, mostra boa separação dos picos, os quais apresentam boa simetria e tempos de retenção relativamente curtos. Nas condições cromatográficas ajustadas para a análise simultânea dos herbicidas foram otimizadas as temperaturas do injetor, da coluna, do detector e fluxo de gás de arraste.

### 4.3. Otimização da técnica de extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura (ESL-PBT)

Com o intuito de avaliar a mobilidade de agrotóxicos no perfil do solo pela quantificação por cromatografia gasosa, tornou-se necessário o emprego de uma técnica de extração capaz de remover os compostos de interesse da matriz de solo. Essa técnica deve extrair os analitos da matriz com eficiência e sem a presença de interferentes. Em função dos bons resultados obtidos por Goulart (2003), Vieira (2005) e Vieira *et al.* (2007), que empregaram a técnica de extração líquido-líquido com partição em baixa temperatura (ELL-PBT) e extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura (ESL-PBT) na extração de agrotóxicos em leite, água e solo, respectivamente, foi desenvolvida e otimizada uma metodologia empregando a ESL-PBT para a extração do atrazine e do ametryn em solos.

Na otimização da metodologia alguns parâmetros foram avaliados individualmente e em seguida foi realizado um planejamento fatorial em que foram avaliadas três variáveis (tempo de contato, tempo de extração, proporções entre os solventes extratores) e as interações entre elas.

#### **4.3.1. Variação da massa de solo**

No estabelecimento das condições ideais para a extração e análise dos herbicidas em solo, foram feitos alguns testes preliminares no intuito de identificar a massa de solo adequada para o processo. A principal vantagem de se utilizar quantidades maiores de amostra é o fator de concentração, entretanto o uso de grandes amostras pode provocar a contaminação do extrato pela extração de interferentes.

Os extratos obtidos a partir de 3 e 4 g solo apresentaram uma coloração amarelada, possivelmente devido a extração de maiores quantidades de matéria orgânica ou outras espécies coloridas, como por exemplo óxidos de ferro presentes no solo. Os extratos obtidos de 1 e 2 g de solo se apresentaram com coloração menos intensa e nos cromatogramas não foram observados picos interferentes. Desta forma, a massa de dois gramas de solo foi escolhida na otimização da técnica de ESL-PBT.

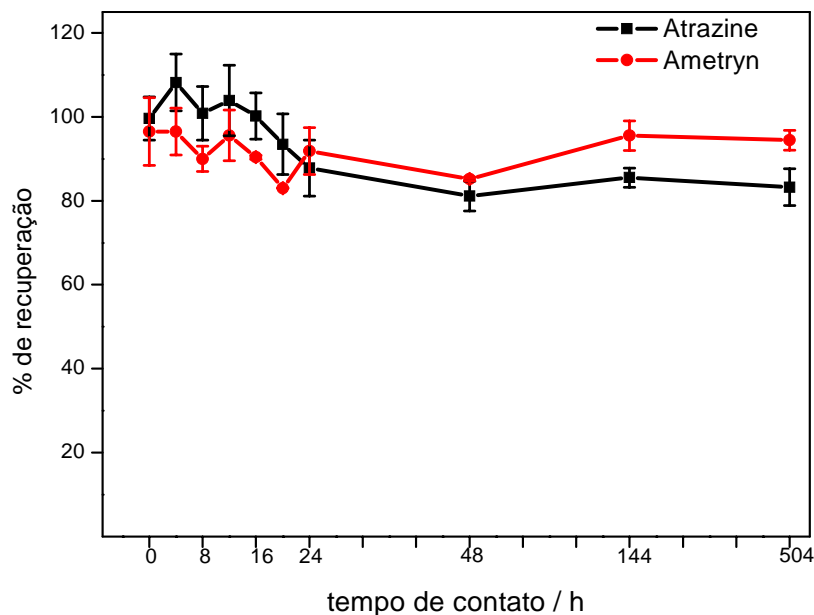
#### 4.3.2. Tempo de contato entre os herbicidas e o solo

Numa etapa preliminar do processo de otimização da técnica foi avaliado o efeito causado na porcentagem de recuperação dos herbicidas, quando os mesmos eram deixados em contato com o solo por diferentes intervalos de tempo.

Verificou-se que com o aumento do tempo de contato entre os agrotóxicos e o solo, pode ocorrer o início do processo de degradação destes compostos antes de serem extraídos ou se ligarem mais fortemente à matriz sólida, diminuindo suas porcentagens de recuperação.

A transformação ou degradação dos agrotóxicos no solo ocorre em função de várias reações bióticas e abióticas que compreendem, reações de oxidação, redução, hidrólise e reações com constituintes do solo, sendo que a temperatura, umidade e aeração são fatores significativos na influência dessas reações. É importante ressaltar que a degradação de moléculas orgânicas pode ocorrer pela biodegradação completa (mineralização), resultando na formação de dióxido de carbono, água, produtos inorgânicos e compostos orgânicos de ocorrência comum no ambiente, como ácidos orgânicos e outros. No entanto, a degradação pode envolver apenas uma oxidação, redução ou perda de um grupo funcional que, mesmo sendo de pequeno porte, pode alterar as características físico-químicas da molécula original, o que pode impossibilitar a extração destes herbicidas pela técnica proposta (MOORMAN, 1994).

Na Figura 7, são apresentados os resultados da porcentagem de recuperação das triazinas ao longo de 21 dias de estudo (504 horas). Pode-se observar que, embora a recuperação do ametryn no tempo de fortificação estudado variasse entre 83 e 96 %, no tempo de fortificação mínimo (0 hora) e máximo (504 horas) verificou-se valores de recuperação muito próximos. Considerando os devidos coeficientes de variação, observou-se tendência constante da recuperação, indicando que houve degradação mínima da molécula e que também não se formaram resíduos não extraíveis durante o tempo estudado.



**Figura 7.** Efeito da variação do tempo de contato entre os herbicidas e o solo na porcentagem de recuperação.

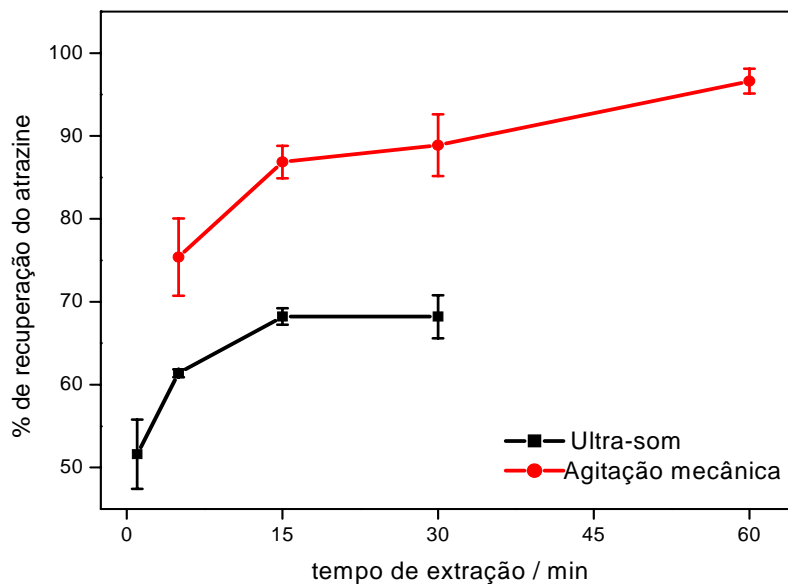
Para o atrazine, de maneira geral, observou-se diminuição da recuperação com o aumento do tempo de fortificação. A máxima recuperação foi possível até 4 horas de fortificação e, no tempo de 504 horas, a recuperação foi apenas de 83 %, indicando possível degradação desse herbicida ou o mesmo se tornou mais aderido à matriz de solo. Entretanto, a degradação do atrazine foi menor do que nos dados descritos na literatura (KONTCHOU e GSCHWIND, 1999; BOTONI, 1996) também apresentados no item 4.6 do presente trabalho. Provavelmente, o fator que influenciou a menor degradação do atrazine foi a baixa umidade do solo, uma vez que esta tem grande influência na degradação dos agrotóxicos (PEIXOTO, 1998) . Nesse estudo do tempo de contato, o solo foi mantido seco e exposto ao ar livre enquanto que no item 4.6 estava úmido, portanto favorável a reações principalmente de hidrólise e degradação microbológica.

Para a realização do planejamento fatorial a faixa de tempo escolhida foi de zero a quatro horas de contato entre os agrotóxicos e o solo.

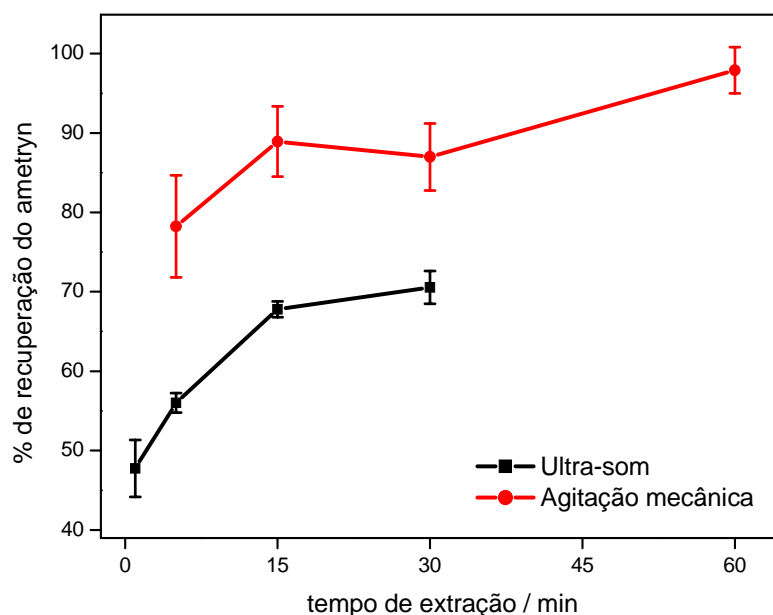
### 4.3.3. Efeito da agitação mecânica e sonicação na eficiência da extração dos herbicidas

As interações entre as moléculas de herbicida e o solo ocorrem com maior frequência na superfície das partículas de solo, entretanto estas interações podem ocorrer nos interstícios dessas partículas, nos locais denominados de microporos. Deste modo, para uma eficiente extração dos agrotóxicos, é necessário que o solvente extrator tenha contato efetivo com as moléculas de triazinas.

No processo preliminar de otimização da técnica de ESL-PBT, foram avaliados os tempos de agitação mecânica e sonicação durante o contato da mistura extratora com o solo contaminado com os herbicidas. A agitação mecânica tem sido empregada para auxiliar a extração de moléculas orgânicas de sólidos. Entretanto, o banho ultra-sônico vem, nos últimos anos, assumindo também esta função (SANTOS e CAPELO, 2007). Neste trabalho, foram avaliadas a agitação mecânica e a sonicação dos frascos contendo solo contaminado e solvente extrator por tempos de 5, 15, 30, 60 e 1, 5, 15 e 30 minutos, respectivamente. Os valores encontrados estão apresentados nas Figuras 8 e 9 para atrazine e ametryn, respectivamente.



**Figura 8.** Efeito da agitação mecânica ou ultra-som na porcentagem de recuperação do atrazine.



**Figura 9.** Efeito da agitação mecânica ou ultra-som na porcentagem de recuperação do ametryn.

As porcentagens de recuperação tanto do atrazine quanto do ametryn foram melhores com a utilização da agitação mecânica. Observou-se que a faixa de recuperação dos agrotóxicos variou de 75 % a 97,9 % com o aumento da tempo de agitação. Com a utilização do banho ultra-sônico observou-se uma faixa de recuperação bem mais baixa. Com o aumento do tempo de sonicação a recuperação atingiu o máximo de 71 %, após 30 minutos, indicando ser processo pouco eficiente para os compostos estudados.

Os efeitos do ultra-som têm sido atribuídos a cavitação, definida como um processo físico em que numerosas bolhas minúsculas de gás são produzidas. As bolhas crescem, vibram e sofrem uma implosão. Desta maneira, são consideradas micro reações em que temperaturas perto de 5.000 °C e pressões de 1.000 atm podem ser alcançadas. A cavitação pode causar desagregação dos sólidos incluindo a ruptura das partículas, além de outras espécies químicas que podem ser formadas (SANTOS e CAPELO, 2007).

A menor porcentagem de extração dos herbicidas no banho ultra-sônico em comparação com a agitação mecânica, pode ser devida à degradação ou volatilização dos compostos de interesse, além de algumas variáveis no processo de sonicação não terem sido otimizadas. Variáveis como a temperatura, viscosidade, volume de água, posição e quantidade dos frascos usados na extração podem influenciar a extração dos herbicidas (NASCENTES *et al.*, 2001). Entretanto, estudos mais detalhados devem ser realizados para identificar as causas da menor eficiência da homogeneização em ultra-som quando comparada com a agitação mecânica.

Para avaliar o tempo de agitação entre os herbicidas e o solo, no planejamento fatorial, foi realizada a agitação mecânica em 10, 30 e 50 minutos.

#### **4.3.4. Planejamento fatorial na otimização da técnica de ESL-PBT**

Métodos estatísticos de planejamento experimental e otimização, tais como planejamento fatorial e análise de superfícies de resposta, têm sido aplicados em diversos sistemas, devido à capacidade de extrair informações relevantes de sistemas que requerem um número reduzido de experimentos (SCOTTI *et al.*, 2006).

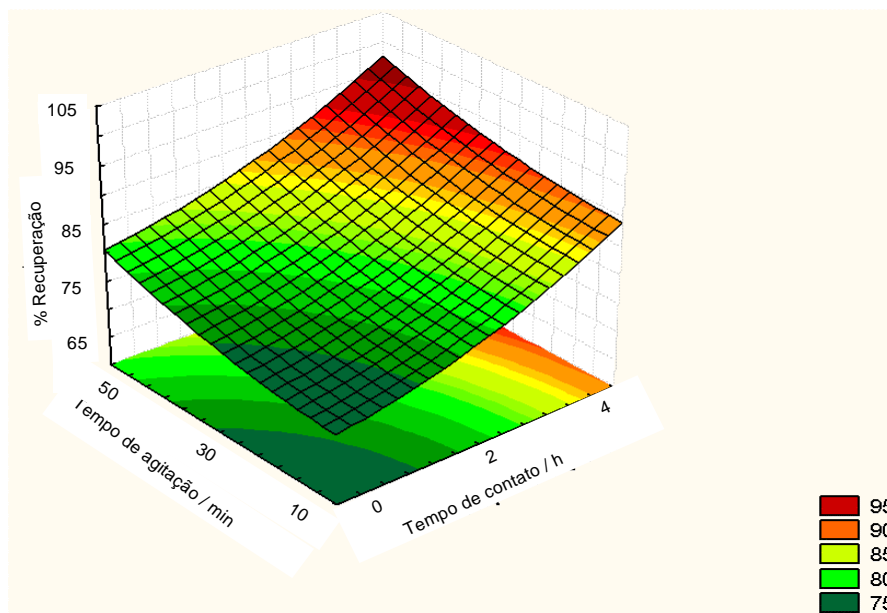
O planejamento fatorial é empregado para se obter as melhores condições operacionais de um sistema sob estudo, realizando-se um número menor de experimentos quando comparado com o processo univariado de otimização. O planejamento fatorial permite medir as interações entre diferentes fatores e quantificar a relevância dos seus efeitos na resposta (BRASIL *et al.*, 2007.).

A investigação de algumas variáveis, tais como a massa de solo (fixada em 2 g), modo de agitação (agitação mecânica), tempo de agitação e tempo de contato, foram necessárias para auxiliar na escolha de quais fatores e níveis seriam estudados no planejamento estatístico da ESL-PBT. O planejamento fatorial  $3^3$ , descrito no item 3.4.2, foi desenvolvido e avaliou-se simultaneamente o

efeito da variação do tempo de contato entre herbicidas e o solo ( $t_c$ ), tempo de agitação mecânica ( $t_a$ ) e proporções entre os solventes ( $p_s$ ) na porcentagem de recuperação de ametryn e atrazine. Os ensaios, realizados em duplicata, geraram 54 respostas que permitiram estimar os erros experimentais associados a determinação de cada resposta média. Com essas repetições foi possível calcular as porcentagens de recuperação médias, os efeitos de cada fator e as interações entre os fatores na extração do atrazine e do ametryn, usando o programa estatístico Statistica®

A partir do planejamento fatorial  $3^3$  foram construídas superfícies de respostas para extração de atrazine e do ametryn relacionando os fatores estudados em seus diversos níveis que podem ser visualizadas nas Figuras 10 e 11.

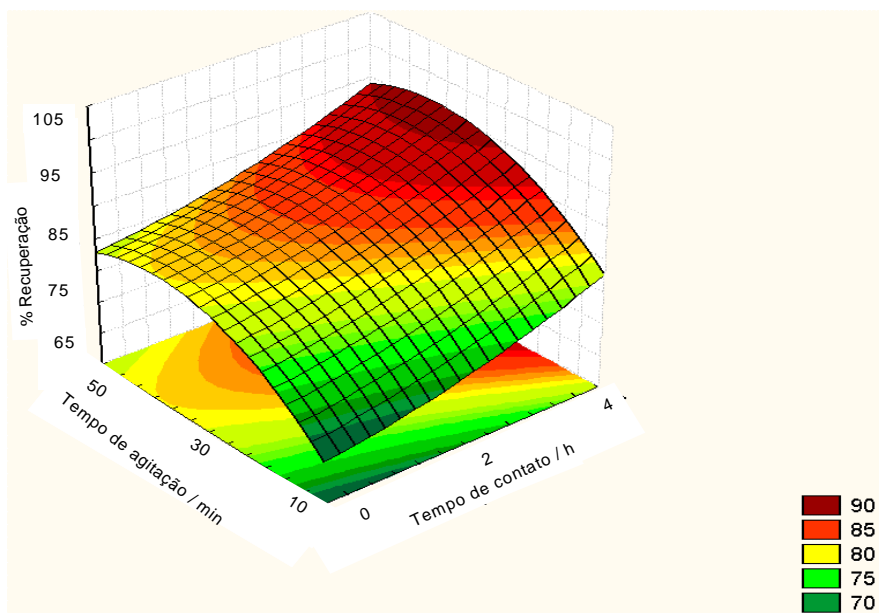
Na Figura 10, observou-se porcentagem de recuperação máxima de 98,7 % para atrazine quando o tempo de contato de 4 horas foi utilizado associado a 50 minutos de agitação. Com a diminuição do tempo de contato e tempo de agitação observou-se a redução da recuperação do atrazine para próximo de 75%. As diferentes proporções entre os solventes na mistura extratora não proporcionaram diferenças significativas nas porcentagens de recuperação, e também não houve interação entre os níveis dos fatores avaliados.



**Figura 10.** Superfície de resposta do planejamento fatorial  $3^3$  em que se avaliou, em três níveis, os efeitos do tempo de contato, tempo de agitação e mantendo a proporção de solventes fixas na extração de atrazine em solo.

A Figura 11 apresenta a superfície de resposta do planejamento fatorial para o ametryn. Como a variável proporção entre solventes não promoveu alteração significativa na porcentagem de extração a superfície de resposta foi construída fixando esta variável. Desta forma, resolveu-se fixar as proporções entre água:acetoneitrila:acetato de etila em 4:6,5:1,5. Com a utilização de 4 mL de água na mistura extratora, em detrimento de 3 mL das outras proporções testadas, ocorreu melhor separação entre o solo e as substância de interesse presentes na fase orgânica, após a etapa de congelamento.

Com a utilização de maior tempo de contato e maior tempo de agitação observou-se uma ótima porcentagem de recuperação do ametryn, acima de 90 %. No entanto, com o tempo de agitação de 30 minutos foi encontrada também ótima porcentagem de recuperação como pode ser observado na região em vermelho escuro da Figura 11.



**Figura 11.** Superfície de resposta do planejamento fatorial  $3^3$  em que se avaliou, em três níveis, os efeitos do tempo de contato, tempo de agitação e mantendo a proporção de solventes fixas na extração de ametryn em solo.

Devido as triazinas serem extraídas simultaneamente do solo, na metodologia otimizada, fixou-se o tempo de contato em 4 horas e o tempo de agitação em 50 minutos, pois embora o ametryn apresentasse a melhor recuperação em 30 minutos de agitação ocorreria perda considerável da recuperação do atrazine se esse tempo de agitação fosse utilizado.

Semelhante aos resultados encontrados para o atrazine no planejamento experimental, não foi observado diferença significativa na resposta entre as interações dos níveis dos fatores estudados para o ametryn.

#### **4.4. Determinação da concentração de atrazine e do ametryn em produtos comerciais**

As concentrações dos princípios ativos nos produtos comerciais Siptran 500 e Metrimex 500 foram determinadas com o intuito de aplicar uma quantidade conhecida no solo. Os produtos comerciais são líquidos e deveriam apresentar concentração de 500 g L<sup>-1</sup>. Todavia após submeter os produtos ao processo de ELL-PBT descrito no item 3.6, realizou-se a quantificação dos herbicidas por cromatografia gasosa. Os resultados mostraram que os teores dos princípios ativos na amostras dos produtos comerciais foram 477 g L<sup>-1</sup> e 479 g L<sup>-1</sup> para o atrazine e o ametryn, respectivamente. Esses valores estão próximos de 95 % da concentração apresentada no rótulo do produto e esse déficit pode estar relacionado com a perda dos princípios ativos por armazenagem ao longo do tempo.

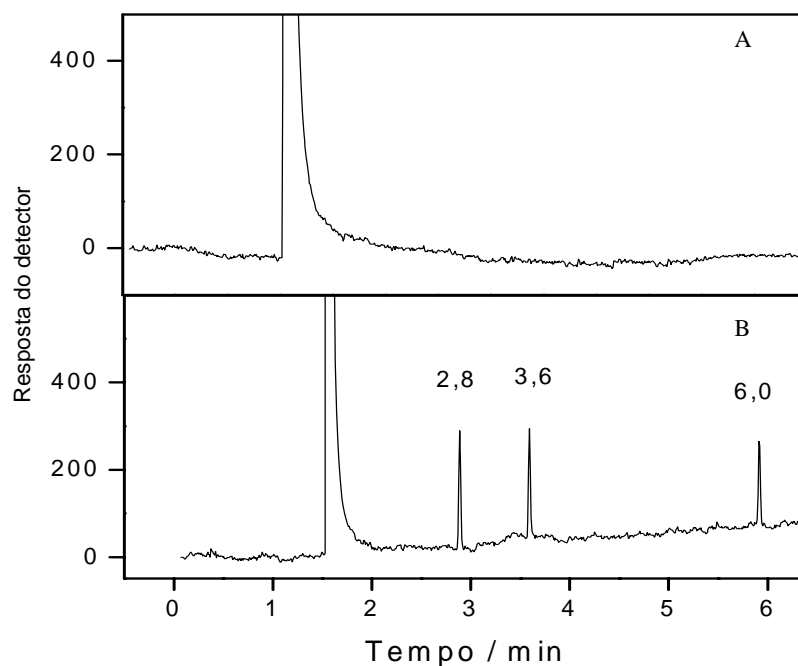
## 4.5. Validação

Validar um método analítico é dar ao mesmo validade, credibilidade e confiança. Como todo método apresenta limitações, o importante na validação é conhecer essas limitações e assegurar que o sistema analítico apresente o desempenho esperado adequado à qualidade pretendida, dentro desses limites determinados no processo de validação (LANÇAS, 2004).

### 4.5.1. Seletividade

A seletividade de um método analítico é a capacidade em determinar o analito de maneira inequívoca na presença de substâncias como outros ingredientes ativos, impurezas, produtos de degradação, susceptíveis a interferirem na determinação (RIBANI *et al.*, 2004). Neste trabalho, para avaliar este parâmetro, cromatogramas dos extratos isentos de atrazine e ametryn foram

comparados com extratos das matrizes de solo (Figura 12.) fortificadas com  $5,0 \text{ mg kg}^{-1}$  destes herbicidas.

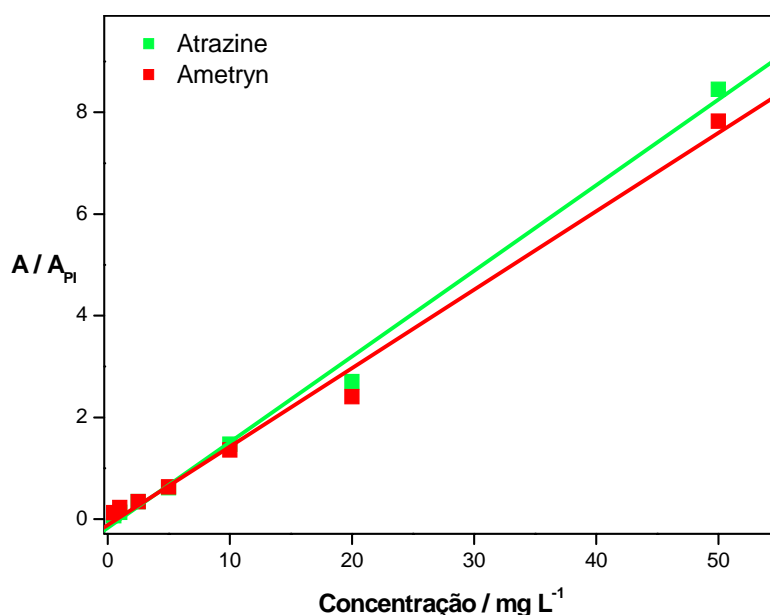


**Figura 12.** (A) Cromatograma da separação dos compostos do extrato de uma matriz de solo isenta de triazinas e (B) cromatograma da separação dos compostos do extrato de uma matriz fortificada com  $5,0 \text{ mg kg}^{-1}$ , onde:  $t_R = 2,8 \text{ min}$ : atrazine;  $t_R = 3,6 \text{ min}$ : ametryn;  $t_R = 6,0$  padrão interno.

Observa-se na Figura 12 que o cromatograma referente ao branco da matriz isenta de triazinas (A) não apresenta picos interferentes, principalmente nos tempos de retenção dos compostos de interesse. Além disso, os picos referentes aos princípios ativos e padrão interno apresentam boa separação, simetria adequada e, portanto uma ótima seletividade.

#### 4.5.2. Linearidade e faixa de trabalho

A linearidade é a capacidade do método fornecer resultados diretamente proporcionais à concentração da substância em exame, dentro de uma faixa de aplicação (RIBANI *et al.*, 2004). A faixa de trabalho foi determinada pelo tratamento estatístico da curva analítica (Figura 13) construída pelo método de padronização interna entre as concentrações de 0,5 a 50 mg L<sup>-1</sup> dos herbicidas em acetonitrila. Não foi realizado o estudo da faixa linear para maiores concentrações das triazinas, pois a concentração de 50,0 mg L<sup>-1</sup> corresponde a aproximadamente 200 % da concentração máxima utilizada neste trabalho.



**Figura 13.** Curvas analíticas dos herbicidas atrazine e ametryn em acetonitrila.

A equação da função e os dados de correlação são apresentados na tabela 3. Os coeficientes de correlação encontrados são maiores que 0,99 o que caracteriza um ajuste ideal dos dados para a regressão linear de acordo com a ANVISA (2003) e o INMETRO (2003).

**Tabela 3.** Equações das retas e coeficientes de correlação obtidos para as triazinas.

Triazina	Equação	r
Atrazine	$Y = 0,1685x - 0,1753$	0,997
Ametryn	$Y = 0,1543x - 0,1172$	0,995

De acordo com as equações das retas, o coeficiente angular da curva referente ao atrazine é ligeiramente superior ao do ametryn, indicando maior inclinação da curva analítica e conseqüentemente sensibilidade levemente maior do detector (DIC), para este composto.

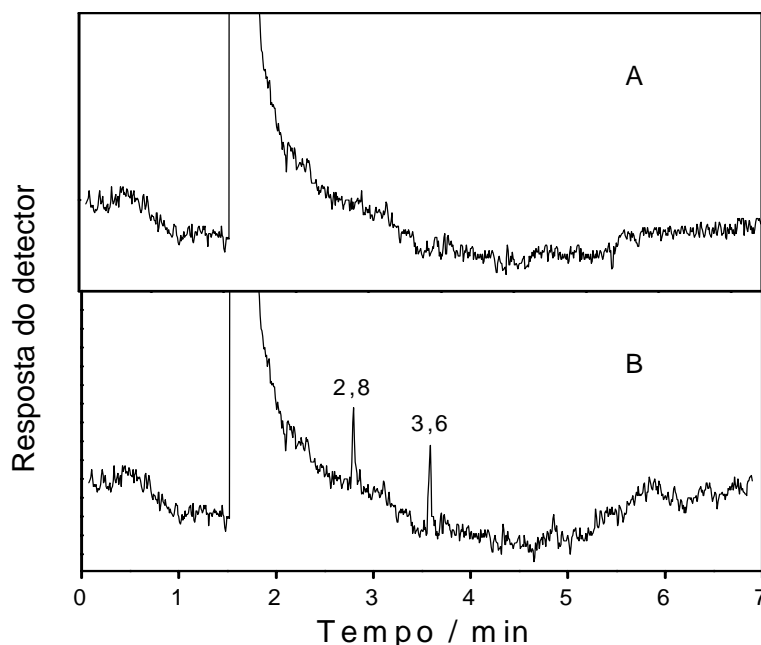
Com a utilização do método de padronização interna foi possível obter melhores resultados em comparação com a padronização externa. Pequenas variações de injeção ou no equipamento, como volume de amostra injetado, fluxo do gás de arraste e temperatura da coluna, foram minimizados. O bifentryn foi utilizado como padrão interno, uma vez que apresenta características ideais como, não reagir com a substância ou outro componente da matriz, não fazer parte da amostra e não ter o mesmo tempo de retenção dos analitos.

#### 4.5.3. Limite de detecção e limite de quantificação

O limite de detecção (LD) corresponde a menor concentração da substância de interesse que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada como valor exato. O limite de quantificação (LQ) corresponde a menor concentração da substância de interesse que pode ser quantificada com exatidão (INMETRO, 2003).

Os limites de detecção e quantificação foram calculados pelo método da relação sinal-ruído, em que LD encontrado foi a concentração que proporcionou um sinal três vezes maior que o ruído médio do aparelho e o LQ um sinal dez vezes maior que esse ruído.

Na Figura 14 pode-se visualizar o sinal referente ao ruído do aparelho, que é a altura da resposta do detector em um cromatograma referente ao branco da matriz de solo isenta de triazinas (A), e os picos correspondentes aos princípios ativos em concentração de  $0,1 \text{ mg kg}^{-1}$  (B).



**Figura 14.** (A) Cromatograma do extrato de uma matriz de solo isenta de triazinas e (B) cromatograma do extrato de uma matriz fortificada com  $0,1 \text{ mg kg}^{-1}$ , onde:  $t_R = 2,8 \text{ min}$ : atrazine;  $t_R = 3,6 \text{ min}$ : ametryn.

Na Figura 14 observa-se que os picos de atrazine e ametryn estão aproximadamente três vezes maiores que o ruído do aparelho, deste modo o LD foi estabelecido em  $0,1 \text{ mg kg}^{-1}$  e o LQ em  $0,33 \text{ mg kg}^{-1}$ .

Os limites de quantificação e detecção do método para as triazinas foram de  $0,17 \text{ ppm}$  e  $0,05 \text{ ppm}$ , respectivamente. Esses valores foram calculados com base no LQ e LD do aparelho, uma vez que o método apresenta concentração de duas vezes sendo  $1 \text{ mL}$  de extrato recuperado para cada amostra de  $2 \text{ g}$  de solo.

#### 4.5.4. Precisão

A precisão é um termo geral para avaliar a dispersão de vários resultados obtidos para uma mesma amostra (LANÇAS, 2004). Ela foi considerada em dois níveis: repetitividade e precisão intermediária

##### 4.5.4.1. Repetitividade

A repetitividade representa a concordância entre os resultados de medições sucessivas por um mesmo método sob as mesmas condições de medição. Ela pode ser expressa quantitativamente em termos da característica de dispersão dos resultados determinada pelo desvio padrão de sete repetições ou mais (INMETRO, 2003).

Os extratos de solo contendo atrazine e ametryn numa concentração de  $10 \text{ mg L}^{-1}$ , apresentaram porcentagem de recuperação de  $98,63 \pm 2,15 \%$  e  $93,40 \pm 2,63 \%$ , o que corresponde a um coeficiente de variação de  $2,18 \%$  e  $2,88 \%$  para atrazine e ametryn, respectivamente. Estes valores de coeficientes de variação encontrados foram inferiores a  $3,0 \%$  que indicam boa repetitividade de acordo com Ribani *et al.* (2004), que considera aceito valores de desvio padrão relativo de até  $2 \%$  para métodos que quantificam compostos em macro quantidades e  $20 \%$  para métodos de análises de traços, dependendo da complexidade da amostra.

A utilização da padronização interna contribuiu para os baixos valores dos coeficientes de variação, principalmente para a matriz de solo que é considerada uma matriz complexa.

##### 4.5.4.2. Precisão intermediária

Este parâmetro analítico refere-se às variações ocorridas dentro de um mesmo laboratório quando um ou mais fatores importantes são modificados, como diferentes analistas, diferentes dias ou diferentes equipamentos. Esta medida de

precisão do método é reconhecida como a mais representativa da variabilidade dos resultados em um laboratório e é mais aconselhável de se usar (RIBANI et al., 2004).

Para a avaliação da precisão intermediária do método de ESL-PBT foram analisados três extratos de solo em diferentes dias, 1<sup>o</sup>, 7<sup>o</sup>, e 30<sup>o</sup> e os valores da porcentagem de recuperação e coeficiente de variação são apresentados na Tabela 4.

**Tabela 4.** Porcentagens de extração e coeficientes de variação obtidos em diferentes dias para os herbicidas atrazine e ametryn.

Matriz		Primeiro dia	Sétimo dia	Trigésimo dia	
		%R	%R	%R	CV
solo	Atrazine	98,9 ± 3,2	98,3 ± 1,3	98,4 ± 2,5	2,5
	Ametryn	92,8 ± 1,6	94,7 ± 1,1	93,7 ± 2,2	2,0

Observa-se (Tabela 4) que os valores do coeficiente de variação encontrados para os herbicidas no solo são menores que 2,5 %, indicando que o método ESL-PBT apresenta boa precisão intermediária.

#### 4.5.5. Exatidão

Existem vários processos para avaliar a exatidão de um método, como o emprego dos materiais de referência, a comparação de métodos, e os ensaios de recuperação. Neste trabalho, foi realizado o ensaio de recuperação, o qual se baseia no fator de recuperação (R) que é definido como a proporção da quantidade de substância de interesse, previamente adicionada à matriz, que é extraída e passível de ser analisada (INMETRO, 2003). A exatidão de um método representa o grau de concordância entre os resultados individuais encontrados em um ensaio e um valor de referência aceito como verdadeiro (INMETRO, 2003).

Na avaliação deste parâmetro analítico, foi realizado um ensaio de recuperação em que os extratos obtidos apresentavam concentração de 0,5, 1,0 e

5,0 mg L<sup>-1</sup> que são aproximadamente 1, 3 e 15 vezes o limite de quantificação. A porcentagem de recuperação (R) e o coeficiente de variação são indicados na tabela 5.

**Tabela 5.** Avaliação da exatidão do método de ESL-PBT, para os ensaios de recuperação e coeficiente de variação.

Matriz		Concentração mg L <sup>-1</sup>					
		0,5		1,0		5,0	
		%R	CV	%R	CV	%R	CV
solo	Atrazine	105,8	8,1	99,7	3,7	99,04	2,4
	Ametryn	103,7	6,2	97,3	5,0	94,7	3,0

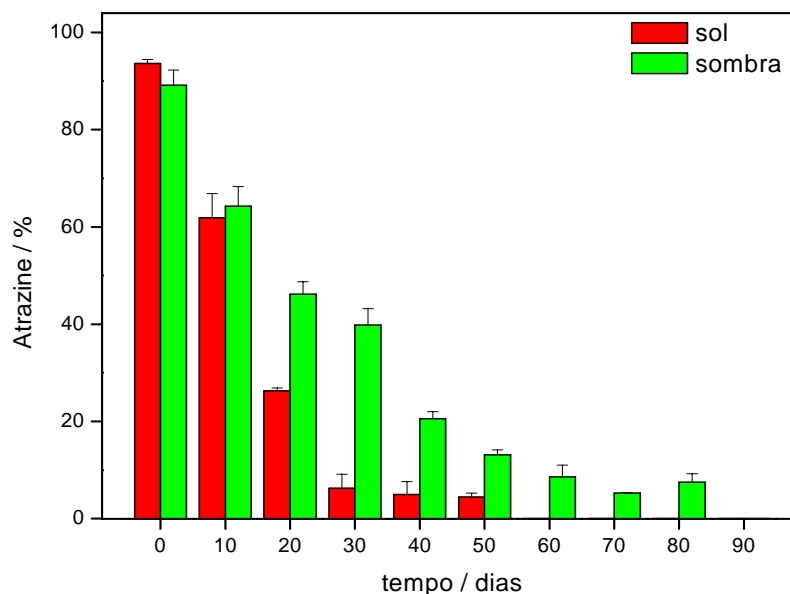
As porcentagens de recuperações encontradas estão entre 94,7 e 105,8 %, com maior dispersão da recuperação, coeficientes de variação de 6,2 e 8,1 %, para os extratos que apresentam concentrações mais baixas (0,5 mg L<sup>-1</sup>) em comparação com os extratos na concentração de 5,0 mg L<sup>-1</sup>. Como as concentrações dos extratos, 0,5 e 1,0 mg L<sup>-1</sup>, estão muito próximas do LQ é aceitável ocorrerem tais resultados.

De acordo com o GARP (1999), os intervalos de recuperação e o coeficiente de variação encontrados são aceitáveis, uma vez que consideram valores de recuperação entre 70 e 120 %, com coeficiente de variação de até 20 % e, ainda, dependendo da complexidade da amostra de 50 a 120 % com variação de 15 %.

#### **4.6. Avaliação da estabilidade do atrazine e do ametryn na presença e ausência de radiação solar**

A estabilidade dos agroquímicos, em Latossolo Vermelho-Amarelo com a umidade ajustada na capacidade de campo, foi estudada durante um período de 90 dias. Duas situações foram investigadas simultaneamente: solo deixado à sombra sem a incidência direta de luz solar e solo exposto durante todo o dia às radiações solares.

As Figuras 15 e 16 mostram as porcentagens dos defensivos agrícolas que foram detectadas em relação à quantidade aplicada no solo (item 3.10), ao longo do tempo. Os valores de porcentagens apresentados nos gráficos foram calculados após ser determinada o teor de umidade das amostras de solo que foram submetidas ao processo de ESL-PBT e quantificação por cromatografia gasosa-DIC.



**Figura 15.** Porcentagens relativas do atrazine encontradas nas amostras de solo, ao longo de 90 dias, expostos ou não à radiação solar direta.

Pelos resultados apresentados na Figura 15, observa-se rápida diminuição da quantidade do atrazine, tanto sob efeito da radiação solar quanto protegido dessa radiação. Quantidades relativas próximas a 90 % da quantidade total

aplicada foram obtidas para o tempo de 0 dias, que correspondeu a 12 horas de incubação. Com 20 dias de incubação, apenas cerca de 50 % da quantidade inicial do atrazine foi encontrada no solo à sombra. Essas quantidades ficaram abaixo dos limites de detecção do método com 90 dias de experimento.

Observa-se também, que após dez dias de incubação a quantidade de atrazine na amostra de solo que recebeu radiação solar teve queda mais acentuada. A quantidade relativa detectada na amostra de solo sob a ação da luz solar após todo o dia foi de 61,94 % enquanto que no solo abrigado da luz foi detectado 64,24 %. Esse comportamento foi observado até 60 dias de experimento, período que corresponde à degradação total do herbicida na presença de radiação solar. No período de 20 a 60 dias de incubação ocorreram as maiores diferenças entre as quantidades de atrazine nas duas situações estudadas. Essa diferença pode estar relacionada com a fotodegradação do atrazine, que pode ocorrer por reações de dealquilação ou por dealogenação, bem como a maior atividade microbiana. De acordo com Pakáčová *et al.* (1996), Schmitt *et al.* (1995), Kiss *et al.* (2007), Lanyi e Dinya (2003), o atrazine sofre uma rápida decomposição uma vez que absorve energia na região ultra violeta da luz solar. Todavia, outras variáveis como biomassa microbiana do solo também podem ser alteradas com a presença de luz promovendo uma degradação mais rápida desse herbicida.

Os dados de degradação de atrazine encontrados na literatura são muito variáveis, encontrando-se períodos de meia-vida de poucos dias até por volta de um ano. De acordo com Kontchou e Gschwind (1999), que estudaram a mineralização do atrazine em vários tipos de solo inoculado com uma linhagem de *Pseudomonas* (YAYA6) tendo o atrazine como única fonte de carbono, após 50 dias de incubação houve degradação de 50 % da molécula. Bottoni (1996) encontrou degradação de 45 % de atrazine em 23 dias de incubação no solo, ajustando a umidade de 22 % (m/m) em dois ou três dias.

Segundo Eisler (1989) a meia-vida do atrazine pode variar de 20 a 385 dias em solo e os fatores que podem acelerar a degradação são, a alta umidade, temperaturas elevadas, altas porcentagens de matéria orgânica, alta densidade

microbiana, alta incidência de raios ultra-violeta, pH baixo e disponibilidade deste herbicida nas camadas superficiais do solo.

Os cálculos do tempo de meia-vida foram realizados utilizando-se a equação  $t_{1/2} = 0,693 / K$ , em que K é a constante de degradação. Essa constante foi calculada pela expressão  $\ln C_0 / C_t = K * t$ , em que  $C_0$  é a concentração inicial do herbicida;  $C_t$  é a concentração no tempo (t); e K a constante de degradação (SILVA e SILVA, 2007).

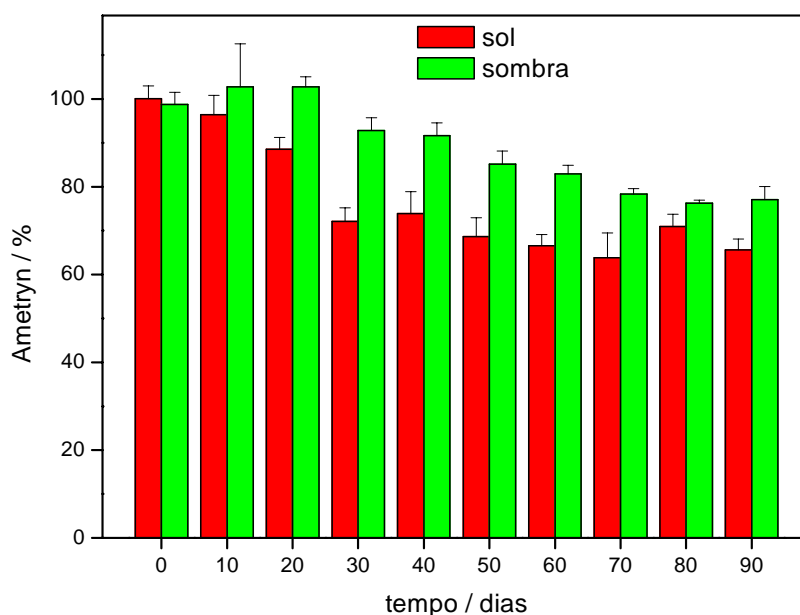
O atrazine apresentou baixa persistência no Latossolo Vermelho-Amarelo, a meia-vida foi estabelecida em aproximadamente 19 dias no solo à sombra e em 10 dias ao sol. As características do solo e as condições de estudo para a estabilidade dos agroquímicos favoreceram a ampla degradação deste defensivo agrícola, uma vez que apresentaram os fatores citados por Eisler (1989) que aceleram a degradação, tais como: alta umidade, visto que a umidade era ajustada em 27 % m/m em dois ou três dias; altas temperaturas, devido ao clima tropical úmido na região do país onde foi realizado o experimento;  $\text{pH}_{(\text{H}_2\text{O})}$  do solo abaixo de 5, que é considerado baixo e matéria orgânica em torno de 5,9 % (m/m), considerada alta.

Sorenson *et al.* (1993); Stolp e Shea (1995) e Vanderheyden *et al.* (1997), citados por PEIXOTO (1998) afirmam que o metabolismo microbiano é um dos mecanismos de degradação do atrazine no solo, entretanto a hidrólise química responsável pela formação do metabólito hidroxyatrazine também é importante nesse processo. Best e Weber (1974) tentaram elucidar as causas primárias da dissipação do atrazine e prometrine em dois solos com diferentes valores de pH (5,5 e 7,5), eles verificaram que a degradação foi o principal modo de dissipação para as duas moléculas. No caso do atrazine, a degradação foi principalmente por processo não biológico, e maior no solo com menor pH. Em condições de pH mais elevado, a degradação foi prejudicada como resultado da alta saturação em bases e baixa concentração de hidrogênio nos colóides do solo.

Segundo Peixoto (1998) com o aumento da matéria orgânica do solo e diminuição do pH ocorre aumento da hidrólise do atrazine que é resultado da protonação do anel ou cadeia lateral, seguida da clivagem da ligação C-Cl pela

molécula de água. A protonação do N resulta em deficiência de elétrons do carbono ligado ao cloro, aumentando a tendência de deslocamento nucleofílico do cloro pela água. A função da matéria orgânica é, por outro lado, catalisar a hidrólise pela adsorção do atrazine, que é o resultado da ligação do H com o N do anel ou cadeia lateral e grupos ácidos fracos da matéria orgânica. Esse H pode aumentar a deficiência de elétrons ao redor do átomo de cloro e, desta forma, aumentar a tendência de ataque da água, incrementando a taxa de hidrólise.

Na Figura 16 estão as quantidades relativas do ametryn que foram detectadas em relação à quantidade aplicada no solo ao longo do tempo.



**Figura 16.** Porcentagens relativas do ametryn encontradas nas amostras de solo, ao longo de 90 dias, expostos ou não à radiação solar.

Observa-se que a quantidade de ametryn diminui lentamente ao longo do tempo. A partir do 10º dia de incubação, foi observado diferença entre as duas situações em estudo, de exposição e não exposição à radiação solar, que se prolongou até o final do experimento. Aos 90 dias, ainda restavam no solo exposto

à luz solar 65 % da concentração inicial e no solo encoberto da luz, 77 % dessa concentração.

O ametryn apresentou baixa taxa de dissipação no solo, sua meia-vida foi calculada em 187 dias no solo à sombra e em 144 dias ao sol. Estes valores estão de acordo com a literatura, pois estudos realizados mostraram alta persistência deste composto no solo.

Vivian (2006), avaliando o comportamento do ametryn no cultivo de cana-de-açúcar e no solo, encontrou a presença de resíduos deste defensivo agrícola em tempo superior a 180 dias após aplicação. Lanchote *et al.* (2000) detectaram resíduos de ametryn na maioria das amostras de águas coletadas nas regiões de cultivo de cana-de-açúcar, no Brasil. Segundo Prata *et al.* (2001), os quais realizaram estudos de sorção e degradação de ametryn em solos com a aplicação de vinhaça, a baixa taxa de mineralização do ametryn, juntamente ao fato de não ser metabolizado, aumenta sua persistência no solo demandando atenção do comportamento dessa molécula em relação aos prováveis problemas ambientais.

De acordo com Kontchou e Gschwind (1999), que estudaram a biodegradação de s-triazinas em uma comunidade de bactérias, o atrazine apresentou rápida degradação sendo totalmente degradado em dois dias de experimento, enquanto o ametryn, apenas 30 % havia sido degradado em 16 dias. Possivelmente, porque a grande eletronegatividade do grupo tiometil aumenta a estabilidade das s-triazinas. Dessa forma, a mais baixa sensibilidade à fotodecomposição do ametryn em comparação ao atrazine pode estar relacionada também à sua maior estabilidade.

Outros fatores que estão associados com a velocidade de dissipação de moléculas orgânicas no solo são a disponibilidade das moléculas de agrotóxicos e a população microbiana no solo. De acordo com Prata e Lavorenti (2000) o alto teor de matéria orgânica e argila no solo podem diminuir a degradação dos pesticidas devido a estes materiais apresentarem alta superfície específica e grande número de cargas negativas na superfície. Deste modo, eles têm a capacidade de adsorver as moléculas orgânicas de agroquímicos,

indisponibilizando-as. Com relação à população microbiana, se o pesticida pode ser degradado por uma vasta população microbiana do solo, existe alta correlação entre biomassa e taxa de degradação. Entretanto, se somente uma pequena porção da biomassa pode atacar o composto, a taxa de degradação e dissipação será pequena (PEIXOTO, 1998).

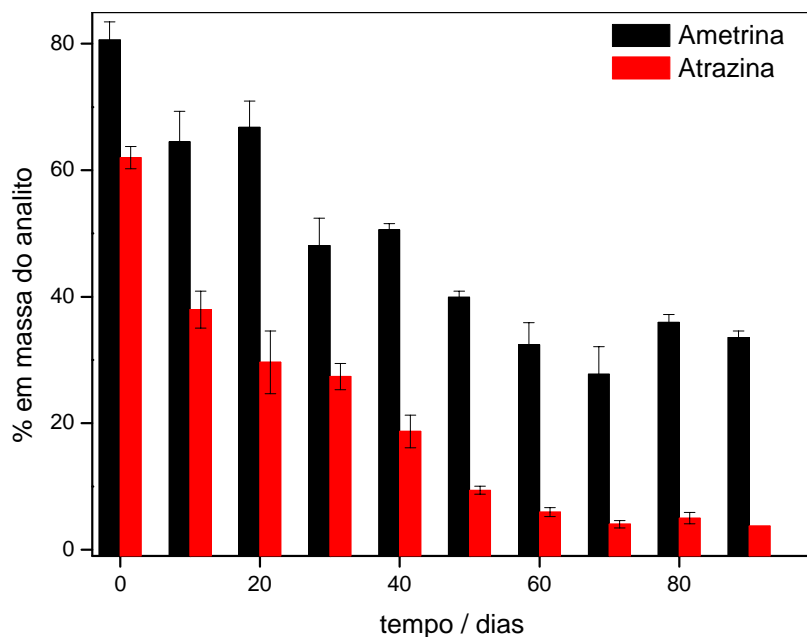
#### **4.7. Estudo da percolação de atrazine e ametryn**

A avaliação da percolação dos agroquímicos foi realizada em colunas de lixiviação. Foram construídas 40 colunas as quais foram preenchidas com solo, procurando reproduzir a mesma compactação do solo no campo. Sobre 30 colunas foram aplicados os produtos Siptran 500 (atrazine) e Metrimex 500 (ametryn). As outras 10 colunas em que não foram aplicados os herbicidas foram considerados como os controles. A cada dez dias, 469 mL de água foram aplicados em cada coluna e retiradas 4 colunas do experimento, três em que os herbicidas foram aplicados e um controle. Cada coluna foi desmontada em três partes, 0 a 5 cm, 5 a 10 cm e 10 a 15 cm, em cada uma delas os agroquímicos foram extraídos e analisados. A água que percolou as colunas também foi analisada, possibilitando o estudo da percolação em diferentes profundidades e na água percolada

##### **4.7.1 Quantificação do atrazine e ametryn na profundidade de 0 a 5 cm**

O experimento desenvolvido em laboratório teve a finalidade de reproduzir as condições de campo, deste modo foram realizadas adições de água destilada no topo das colunas em quantidades semelhantes ao que deveria atingir o solo no período de aplicação dos herbicidas nas culturas. O estudo do movimento dos agrotóxicos foi realizado pelo monitoramento em diferentes profundidades ao

longo de 90 dias. Na Figura 17 podem ser visualizados os resultados encontrados para o ametryn e atrazine na camada mais superficial do solo de 0 a 5 cm. As concentrações dos defensivos agrícolas detectadas foram transformadas para porcentagem em massa da quantidade inicial aplicada.



**Figura 17.** Porcentagem de ametryn e de atrazine detectada no solo, em profundidade de 0 a 5 cm ao longo de 90 dias.

Observa-se, Figura 17, que ocorre diminuição significativa da quantidade de ametryn e de atrazine detectadas ao longo do tempo. Para o atrazine, essa diminuição é mais acentuada do que para o ametryn em todas as análises realizadas. Valores de atrazine e de ametryn próximos, respectivamente, a 60 % e 80 % da quantidade inicialmente aplicada foram encontrados na camada superior de solo na primeira etapa, que correspondeu a aproximadamente 24 horas após a primeira simulação de chuva. Após 90 dias de simulação de chuva, a quantidade de atrazine detectada foi inferior a 5 % enquanto o ametryn ainda apresentava 33 % da quantidade inicial aplicada. Essa diminuição da quantidade de agroquímicos detectada é, em sua maior parte, resultado da degradação (fotodegradação, biótica ou abiótica), e também resultado da volatilização,

formação de compostos não extraíveis entre herbicida e solo, além da quantidade que percolou para as camadas mais profundas do solo.

As características do Latossolo Vermelho-Amarelo como alta porcentagem de matéria orgânica (5,9 %) e baixo valor de pH (4,7), contribuíram para uma grande retenção dos herbicidas na camada de 0 a 5 cm. Dentre os componentes do solo, os principais sítios de adsorção para os herbicidas básicos são a matéria orgânica (VIVIAN *et al.*, 2007 a). Segundo EMBRAPA (1996) a matéria orgânica mais oxidada como os ácidos húmicos, são responsáveis por até 70 % da sorção do atrazine no solo.

Nos solos brasileiros o pH também contribui na adsorção dos agrotóxicos. O predomínio de caulinita e óxidos de ferro e alumínio (goethita, hematita e gibbsita) nesta fração do solo podem apresentar cargas dependentes do pH em sua superfície, pela protonação e desprotonação dos grupamentos hidroxilas das bordas, provocando a retenção dos herbicidas (FONTES *et al.*, 2001). Em valores de pH baixo, o atrazine e o ametryn podem receber um íon hidrogênio no nitrogênio do anel heterocíclico sendo adsorvidas às superfícies negativas das partículas de solo.

Quanto menor o pH do solo, no caso do atrazine e do ametryn, mais protonadas vão estar as moléculas destes herbicidas apresentando cargas positivas, as quais são mais fortemente sorvidas pelas partículas de argila e matéria orgânica do solo que possuem cargas predominantemente negativas.

Weber (1970) observou que a sorção do atrazine aumenta com a diminuição do pH, alcançando valores máximos próximos ao valor do  $pK_a$ , que para o atrazine é 1,70. Para o ametryn comportamento semelhante deve ocorrer, uma vez que este princípio ativo também é um herbicida com características de uma base fraca como o atrazine e tem  $pK_a$  de 4,1.

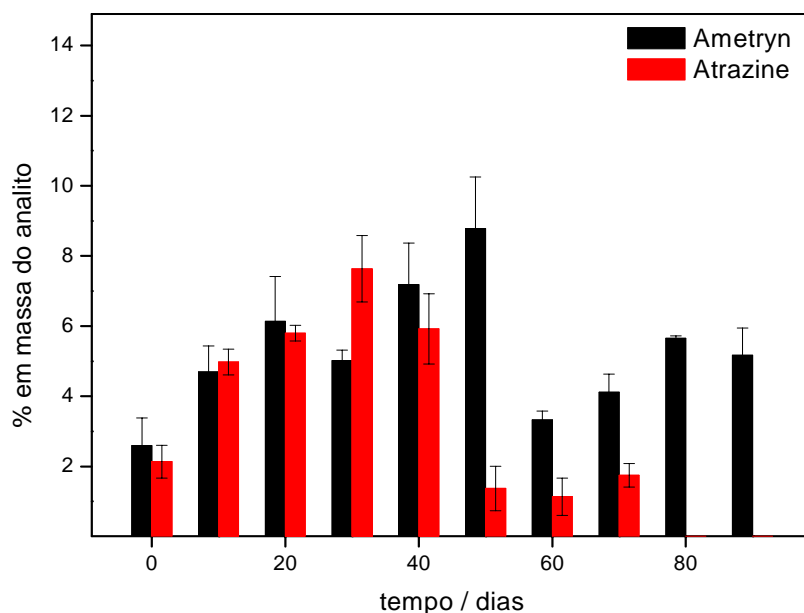
A maior retenção dos herbicidas na primeira camada de solo está de acordo com os resultados da literatura. Vivian, 2006 detectou a maior parte de ametryn aplicada no solo na camada de 0 a 10 cm, entretanto foi encontrado também resíduos na camada de 10 a 20 cm em período superior a 180 dias após a aplicação. Maiores capacidades de adsorção para o ametryn também foram

encontradas por este autor em solos que apresentavam altos teores de matéria orgânica e argila, enquanto solos com baixos teores desses constituintes apresentaram capacidade pequena de adsorção, caracterizando alta potencialidade de contaminação das águas subterrâneas. Resultados semelhantes foram encontrados por Abate *et al.* (2004) para o atrazine.

Devido ao solo em estudo apresentar um  $\text{pH}_{\text{água}}$  igual a 4,73 muito próximo do  $\text{pK}_a$  do ametryn que é de 4,1, este favorece em maior intensidade a sorção do ametryn em relação ao atrazine. Assim, este fato ajuda a elucidar a maior persistência, menor degradação do ametryn em comparação com a atrazine, uma vez que estando mais adsorvido, a molécula pode ter sua degradação dificultada.

#### 4.7.2 Quantificação do atrazine e ametryn na profundidade de 5 a 10 cm

Na Figura 18 observa-se os valores das porcentagens relativas dos agrotóxicos atrazine e ametryn quantificados por cromatografia gasosa na segunda camada de solo (5 a 10 cm de profundidade).



**Figura 18:** Porcentagem relativa de ametryn e atrazine no solo, em profundidade de 5 a 10 cm ao longo de 90 dias.

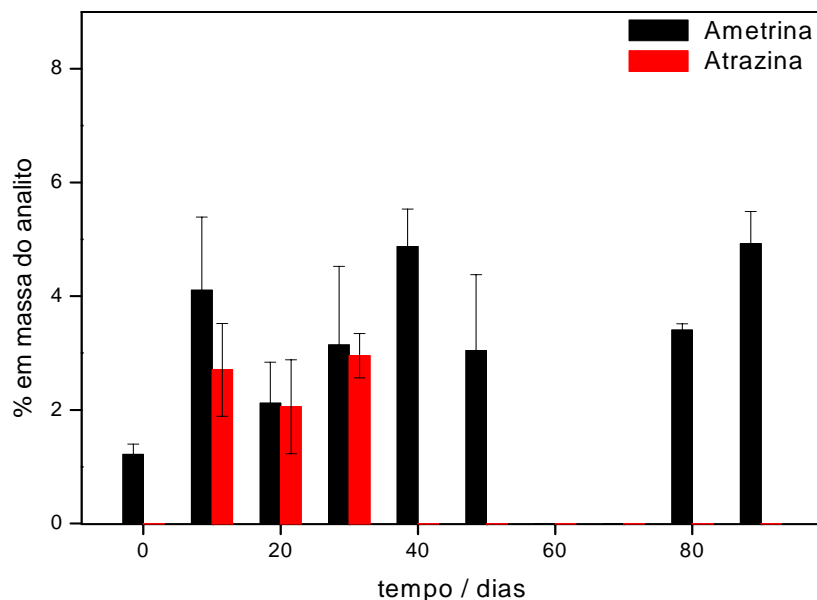
Verifica-se (Figura 18) que a porcentagem detectada não ultrapassou 9 % da quantidade aplicada para nenhuma das triazinas. Todavia, aos 30 dias após a aplicação dos herbicidas, a porcentagem máxima de atrazine correspondem a 7,64 % e a porcentagem máxima de ametryn foi de 8,78 % em 50 dias. Para o atrazine, existe tendência de aumento da quantidade até o 30º dia. Após esse período verificou-se diminuição, sendo encontrado atrazine até o 70º dia de monitoramento. Isto indica que após 80 e 90 dias de aplicação o princípio ativo não atingiu a segunda camada em concentração acima do limite de quantificação do método.

Quanto ao ametryn este apresentou comportamento semelhante ao atrazine, com uma tendência de aumento da quantidade detectada até 50 dias após sua aplicação, ocorrendo diminuição brusca em 60 dias e aumentando novamente aos 90 dias de monitoramento. Foi observado a presença de ametryn em todas as amostras da segunda camada de solo, evidenciando sua mobilidade para essa camada.

De acordo com os valores intermediários de  $K_{ow}$  (coeficiente de partição entre octanol e água) para o atrazine e o ametryn, 481 e 427 respectivamente, os herbicidas não apresentam características extremas de compostos hidrofílicos ou lipofílicos, assim eles podem apresentar mobilidade intermediária no solo. O atrazine e ametryn não são totalmente adsorvidas ao solo, não tendo uma capacidade muito grande de adsorção aos compostos orgânicos do solo (característica de compostos lipofílicos) e também não têm grande afinidade pela solução do solo (característica de compostos hidrofílicos).

#### **4.7.3 Quantificação do atrazine e ametryn na profundidade de 10 a 15 cm**

As quantidades de agrotóxicos encontrados na terceira camada de solo, ao longo de 90 dias, podem ser visualizadas na Figura 19.



**Figura 19.** Porcentagem de ametryn e atrazine detectadas no solo, em profundidade de 10 a 15 cm ao longo de 90 dias.

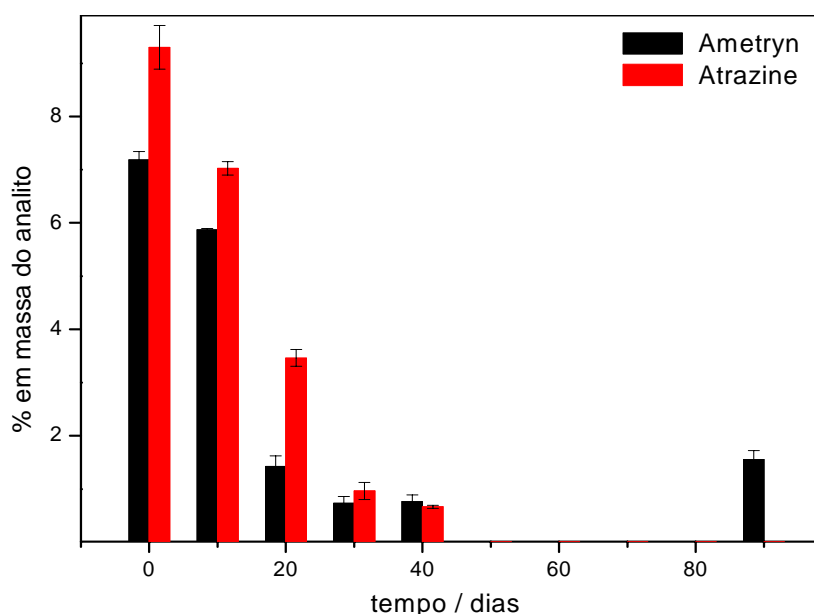
Verifica-se (Figura 19) que valores inferiores a 3 % da quantidade total de atrazine foram encontrados em 10, 20 e 30 dias após sua aplicação. Para o ametryn foram encontrados valores inferiores a 5 % do total aplicado até 50 dias de incubação. Em 60 e 70 dias a concentração de ametryn foi inferior ao limite de detecção do método, pois pode ter havido dessorção, voltando a ser quantificado em 80 e 90 dias após sua aplicação. Foi observado, na terceira camada, de maneira geral tendência no aparecimento tanto de atrazine quanto de ametryn nas análises referentes aos dias que foram encontradas as maiores concentrações desses princípios ativos na segunda camada de solo (Figura 18). O aparecimento dos herbicidas na terceira camada de solo é um indício de que os compostos estudados são potenciais contaminantes das águas subterrâneas.

No campo, quando encontra-se agrotóxicos em camadas mais profundas de solo atribui-se a eles grande perigo de contaminação de lençóis freáticos, uma vez que existe tendência de que os herbicidas se tornem mais persistentes e móveis no solo à medida que a profundidade aumenta. Com a maior profundidade nos solos, estes apresentam menor teor de matéria orgânica e deste modo a adsorção das moléculas herbicidas pelas partículas de solo é diminuída (VIVIAN

*et al.*, 2007). Também, a degradação microbiológica e a fotodegradação são reduzidas em horizontes mais profundos no solo.

#### 4.7.4 Quantificação do atrazine e ametryn na água percolada

Além do aparecimento dos herbicidas na segunda e terceira camada de solo, a presença destes na água percolada indica também a possibilidade de contaminação dos lençóis de água, em regiões onde eles são aplicados. Na Figura 20 estão representados os valores de atrazine e ametryn encontrados na água que percolou as colunas, após submeter a amostra à ELL-PBT e análise por cromatografia gasosa-DIC.



**Figura 20.** Porcentagem relativa de ametryn e atrazine detectadas na água percolada ao longo de 90 dias.

No tempo de 0 e 10 dias após a aplicação dos herbicidas observou-se a presença de atrazine e ametryn, a qual foi diminuindo até o 50º dia de experimento. Após esse período, a quantidade de atrazine e ametryn na água percolada foi inferior ao limite de quantificação e apenas no 90º dia o ametryn foi quantificado em 1,55 %.

A presença do ametryn no 90º dia na água percolada pode ser explicada pela tendência no aumento das quantidades detectadas de ametryn na segunda camada a partir de 60 dias e na terceira camada em 80 e 90 dias de experimento. Deste modo, o ametryn se movimentou a partir da segunda e terceira camadas para a água percolada no 90º dia de experimento, indicando o perigo de contaminação dos lençóis de água subterrânea pelo ametryn.

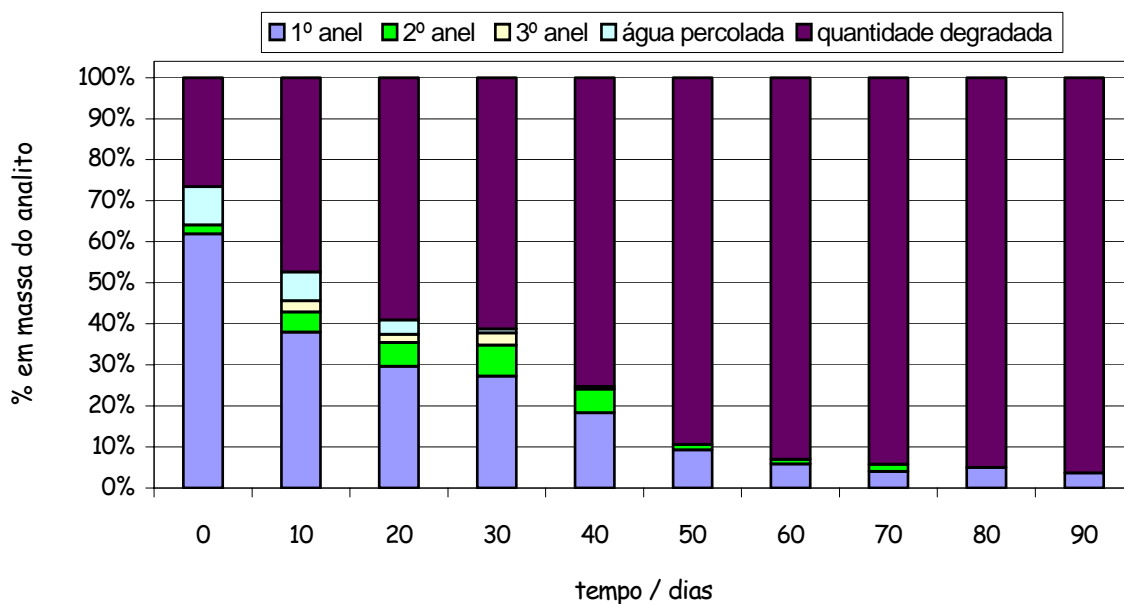
A presença das triazinas na água percolada até o quadragésimo dia, pode ser resultado da percolação das moléculas que não tiveram tempo suficiente para se adsorverem ao solo entre a sua aplicação e a simulação da 1ª chuva. Os produtos comerciais contendo ametryn e atrazine foram aplicados nas colunas de percolação e em seguida foi realizada a primeira simulação de chuva, com a adição de 469 mL de água em cada coluna.

A movimentação das triazinas para profundidades superiores a 15 cm de solo nas colunas foi resultado da sua distribuição entre as partículas e a água do solo e também do tempo de meia-vida dos compostos, considerado alto em especial no caso do ametryn.

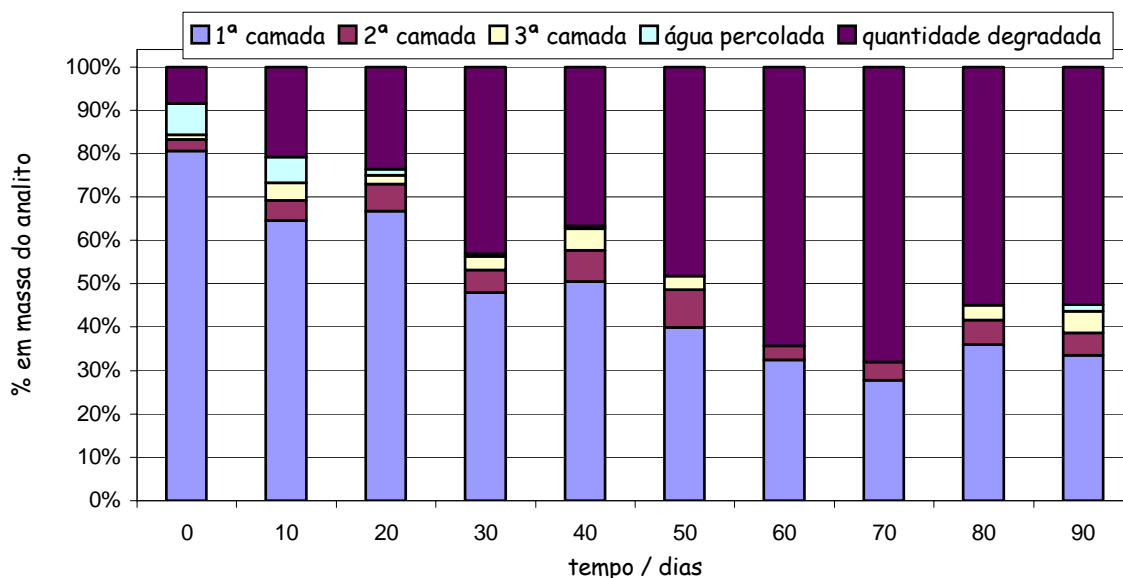
#### **4.7.5. Quantificação da percolação geral do atrazine e ametryn**

Nas Figuras 21 e 22 podem ser visualizados o comportamento geral do atrazine e do ametryn ao longo do perfil de um Latossolo Vermelho-Amarelo durante o período de 90 dias. Foram dispostos nas Figuras 21 e 22 as porcentagens relativas de atrazine e ametryn detectadas na primeira, segunda, terceira camada de solo, água percolada e a quantidade que não foi extraída do solo. A quantidade que não foi extraída é correspondente a parte que foi degradada por microorganismos, oxidação, hidrólise, fotodegradação, possível volatilização das moléculas e ainda o que foi adsorvido no solo e não foi passível de ser extraído. A quantidade não extraída foi obtida pela diferença entre o total aplicado (100 %) e a quantidade detectada nas colunas e na água percolada ao longo do tempo.

A quantidade de ametryn que foi quantificada no 60º e 70º dia foi inferior ao quantificado no 80º e 90º dia, essa diferença está relacionada com erros experimentais no desenvolvimento do experimento.



**FIGURA 21.** Porcentagem de atrazine detectada em relação à quantidade total aplicada ao longo de 90 dias na primeira, segunda, terceira camada de solo, água percolada e também a quantidade não extraída.



**FIGURA 22.** Porcentagem de ametryn detectada em relação à quantidade total aplicada ao longo de 90 dias na primeira, segunda, terceira camada de solo, água percolada e também a quantidade não extraída.

Existem alguns modelos empíricos que buscam prever o potencial dos agrotóxicos de contaminação dos rios, lagos e águas subterrâneas (SILVA e SILVA, 2007). Cohen *et al.* (1984) propuseram uma relação entre o coeficiente de sorção normalizado para teor de carbono orgânico do solo (Koc) e a meia-vida ( $t_{1/2}$ ) dos herbicidas, para classificá-los como lixiviáveis ( $Koc < 300 \text{ L kg}^{-1}$  e  $t_{1/2} > 21$  dias) e não lixiviáveis ( $Koc > 500 \text{ L kg}^{-1}$  e  $t_{1/2} < 14$ ). Em 1986, Widerson e Kim (1986) simplificaram essa caracterização e definiram que os herbicidas que possuísem valor de Koc menor que 512 ( $\text{L kg}^{-1}$ ) e meia-vida superior a 11 dias seriam classificados como lixiviáveis. Esse critério é ainda utilizado pelo California Department of Food and Agriculture (CDFA) (SILVA e SILVA, 2007).

Entre os critérios mais divulgados e aceitos para a classificação de herbicidas, conforme seu potencial de lixiviação, está o índice GUS (Groundwater UbiquityScore), proposto por Gustafson (1989), cuja equação estabelece que herbicidas com índice  $GUS < 1,8$  são considerados como não-lixiviáveis, ao passo que índices superiores a 2,8 representam produtos lixiviáveis. Aqueles com valores entre 1,8 e 2,8 são considerados de potencial lixiviador intermediário.

$$GUS = \log t_{1/2} * (4 - \log Koc)$$

A equação utiliza os valores de meia-vida ( $t_{1/2}$ ) do herbicida e o coeficiente de sorção normalizado para teor de carbono orgânico do solo (Koc), sendo utilizada em inúmeros estudos que buscam relacionar o potencial de lixiviação dos herbicidas no solo com a contaminação de lençóis freáticos.

Considerando os resultados obtidos neste trabalho verificou-se que o tempo de meia-vida no solo foi de 16 e 69 dias para o atrazine e o ametryn, respectivamente nas colunas de percolação. Associando esses dados a um modelo teórico para o cálculo do  $K_d$  (coeficiente de distribuição do composto entre as partículas e a água do solo) foi estabelecido por Briggs (1981), que relaciona o valor de  $K_{ow}$  (coeficiente de partição do composto entre octanol e água) e a porcentagem de matéria orgânica do solo.  $\log K_d = 0,52 \log K_{ow} + 0,62 + \log (MO/100)$ . Como os valores de  $K_{ow}$  são 481 e 427 para atrazine e ametryn

respectivamente e a porcentagem de matéria orgânica do solo em estudo foi de 5,9 %, o  $K_d$  foi estimado em 6,10 e 5,74 para atrazine e ametryn, respectivamente.

Com o valor de  $K_d$ , é possível calcular também o valor de  $K_{oc}$ , (coeficiente de sorção normalizado pelo conteúdo de carbono orgânico no solo),  $K_{oc} = 100 * K_d / f_{oc}$ , em que  $f_{oc}$  é quantidade de carbono orgânico do solo. Para a atrazine o  $K_{oc}$  foi de 167 e de 178 para o ametryn.

O índice de GUS foi calculado pela equação  $GUS = \log t_{1/2} * (4 - \log K_{oc})$  e os resultados são, GUS = 2,13 para o atrazine e 3,27 para o ametryn.

A tabela 6 resume os valores calculados de meia vida,  $K_{oc}$ , e GUS e relaciona com os modelos desenvolvidos por alguns autores para estimar se são lixiviáveis ou não.

**Tabela 6.** Classificação do atrazine e ametryn quanto a lixiviabilidade.

	$t_{1/2}$ (dias)	$K_{oc}$	GUS	Cohen	Widerson e Kim	Gustafson
Atrazine	16	167	2,13	Intermediário	lixiviáveis	médio
Ametryn	69	178	3,27	lixiviadores	lixiviáveis	lixiviáveis

De acordo com os valores encontrados para o atrazine ele é considerado de intermediária lixiviabilidade, segundo os critérios de Cohen (1984), uma vez que apresenta tempo de meia-vida entre 14 e 21 dias e com relação ao valor  $K_{oc} = 167$  é considerado lixiviável. Segundo os critérios de Widerson e Kim (1986) o atrazine é lixiviável tanto em relação a meia-vida quanto em relação ao valor de  $K_{oc}$ . Considerando Gustafson (1989), o atrazine é mediantemente lixiviável por apresentar o valor de GUS = 2,13 que é intermediário a 1,8 e 2,8.

O ametryn foi considerado lixiviável de acordo com os critérios de todos os autores citados na tabela 6, principalmente por sua grande persistência no ambiente, apresentando tempo de meia-vida de 69 dias.

## 5. CONCLUSÕES

A mobilidade dos herbicidas ametryn e atrazine foi avaliada no perfil de um Latossolo Vermelho-Amarelo por um período de 90 dias. Para a quantificação dos herbicidas nas colunas de percolação ao longo de 90 dias, a técnica de extração sólido-líquido com partição em baixa temperatura foi previamente otimizada e validada.

Na otimização da técnica de extração, parâmetros como a massa de solo, tempo de contato dos ingredientes ativos com o solo, tempo de extração em ultrassom ou agitador mecânico foram avaliados individualmente e em seguida foi realizado um planejamento experimental que possibilitou identificar quais fatores estudados influenciaram de forma significativa na resposta. Porcentagens de recuperação de 98 % para o atrazine e 93 % para o ametryn foram obtidos confirmando a eficiência da técnica de ESL-PBT. Além disso, a ESL-PBT apresentou baixo consumo de solventes e não necessitou de etapas de purificação para a análise dos extratos por cromatografia gasosa com detecção por DIC.

Após a otimização da ESL-PBT foi realizada a validação da técnica, em que algumas características de desempenho foram avaliadas, indicando que a técnica é eficiente na extração de atrazine e ametryn em solos. Foram encontradas quantidades de atrazine e ametryn em todas as camadas de solo analisadas e também na água que percolou as colunas. Isso indica que os herbicidas foram móveis no solo, sendo lixiviados no perfil de um Latossolo Vermelho-Amarelo.

Quanto à persistência dos herbicidas no solo, o ametryn apresentou meia-vida superior ao atrazine 69 e 16 dias, respectivamente.

A dissipação do atrazine foi maior que a do ametryn quando as amostras contaminadas com esses herbicidas foram deixadas ao sol, em comparação com as amostras deixadas à sombra, indicando maior estabilidade do ametryn também nessa situação.

Conclui-se que ambos os agrotóxicos avaliados apresentam potencial para alcançar os lençóis freáticos. Todavia, o ametryn apresenta maior potencial de contaminação do ambiente, pois apresenta maior meia-vida, persistência e mobilidade no Latossolo Vermelho-Amarelo.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABATE, G.; PENTEADO, J. C.; CUZZI, J. D.; VITTI, G. C.; LICHTIG, J.; MASINI, J.C. Influence of humic acid on adsorption on desorption of atrazine, hydroxyatrazine, deethylatrazine, and deisopropylatrazine onto a clay-rich soil sample. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.52, p. 6747-6754, 2004.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária. *Resolução RE n ° 899*, de 29/05/2003

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/toxicologia/monografias/a11.pdf>. Acesso em: 14 de março de 2006 a.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/toxicologia/monografias/a14.pdf>. Acesso em: 14 de março de 2006 b.

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/1469\\_00.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/portarias/1469_00.htm) Acesso em: 14 de março de 2006 c.

ARCHANGELO, E. R. **Sorção, desorção e potencial de lixiviação de atrazine e dimethenamid em solos brasileiros**. 2003. 63f. Tese (Doutorado em Fitotecnia)- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 2003.

ARIENZO, M.; CRISANTO, T.; MARTÍN, M.J.S.; CAMAZANO, M.S. Effect of soil characteristics on adsorption and mobility of (<sup>14</sup>C) diazinon. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, n. 8, p. 1803-1808, 1994.

ARMAS, E. D. ; MONTEIRO, R. T. R. ; AMÂNCIO, A. V. ; CORREA, R. M. L. ; GUERCIO, M. A. Uso de agrotóxicos em cana-de-açúcar na bacia do rio Corumbataí e o risco de poluição hídrica. **Química Nova**, v. 28, n. 6, p. 975-982, 2005.

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

BEST, J.A.; WEBER, J.B. Disappearance of s-triazines as affected by soil pH using a balance-sheet approach. **Weed Science**, v. 22, n. 4, p. 364-673, 1974.

BOTTONI, P. ; KEIZER, J. ; FUNARI, E. Leaching indices of some major triazine metabolites. **Chemosphere**, v. 32, n. 7, 1401-1411, 1996.

BOUAID, A.; RAMOS, L.; GONZALEZ, M. J.; FERNANDEZ, P.; CÂMARA, C. Solid-phase microextraction method for the determination of atrazine and four organophosphorus pesticides in soil samples by gas chromatography. **Journal of Chromatography A**, .v. 939, p. 13–21, 2001.

BRASIL, J. L.; VAGHETTI, J.C.P.; ROYER, B.; SANTOS Jr., A. A.; SIMON, N.; PAVAN, F.A.; DIAS, S.L.P.; LIMA, E.C. Planejamento estatístico de experimentos como uma ferramenta para otimização das condições de biossorção de Cu(II) em

batelada utilizando-se casca de nozes peça como biossorvente. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 548-553, mai / jun. 2007.

BRIGGS, G.G. Theoretical and experimental relationships between soil adsorption, octanol-water partition coefficients, water solubilities, bioconcentration factors, and parachor. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 29, n. 5, p 1050-1058, 1981.

BRONDI, S. H. G.; LANÇAS, F. M. Development and validation of a multi-residue analytical methodology to determine the presence of selected pesticides in water through liquid chromatography. **Journal of Brazilian Chemical Society**., v.16, n. 3B, p. 650-653, 2005.

CABRAL, M. F. ; SOUZA, D. ; ALVES, C. R. ; MACHADO, S. A. S. Estudo do comportamento eletroquímico do herbicida ametryn utilizando a técnica de voltametria de onda quadrada. **Eclética Química**, São Paulo, SP, v. 28, n. 2, p. 41-47, 2003.

CARDOSO, E. J. B. N.; TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. **Microbiologia do solo**. Campinas: SBCS, 1992. 360p.

COHEN, S.; CREEGER, S.; CARSEL, R.; ENFIELD, C. Potential for pesticide contamination of ground water resulting from agricultural uses. In: KRUEGER, R. F.; SEIBER, J. N. (Eds.). Treatment and disposal of wastes. **American Chemical Society Symposium. Series**, 1984. p.297-325.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Introdução a métodos cromatográficos**, 7. ed, Campinas: UNICAMP, 1997. 279 p.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Introdução a métodos cromatográficos**, 7. ed, Campinas: UNICAMP, 2006. 279 p.

DAGNAC, T.; JEANNOT, R.; MOUVET, C.; BARAN, N. Determination of oxanilic and sulfonic acid metabolites of acetochlor in soils by liquid chromatography–electrospray ionisation mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v.957, p. 69-77, 2005.

DARDENGO, R.P. Extração e análise multirresíduo de inseticidas em batata (*solanum tuberosum l.*). Viçosa – MG: UFV, 2007. 107f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa, 2007.

EISERT, R.; PAWLISZYN, J. Design of automated solid-phase microextraction for trace analysis of organic compounds in aqueous samples. **Journal of Chromatography A**, v. 776, p 293-303, 1997.

EISLER, R. 1989. Atrazine hazards to fish, wildlife, and invertebrates: a synoptic review. Service Biological. V. 85, n. 18, p 1-35, 1989.

EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Serviço nacional de levantamento e conservação dos solos. **Manual de métodos de análise de solo**. Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Ciência do solo, 1979. 205p.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Mecanismos de sorção da atrazine em solos: estudos espectroscópicos e polarográficos. **Comunicado técnico**. n. 14, p.1-7, dez. 1996.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Efeito de sistemas de cultivo com cana-de-açúcar sobre a lixiviação dos herbicidas do grupo das triazinas em região de recarga do Aquífero Guarani. **Boletim de pesquisa e desenvolvimento**. n. 32, 2005, 25p.

EMBRAPA - EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Disponível em: <http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/>, Acesso em: 07 de março de 2006.

EXTOXNET- Extension Toxicology Network. Disponível em: <http://extoxnet.orst.edu/pips/ametryn.htm>, Acesso em: 10 de março de 2006 a.

EXTOXNET- Extension Toxicology Network. Disponível em: <http://extoxnet.orst.edu/pips/atrazine.htm>. Acesso em: 10 de março de 2006 b.

FARIA, A. M. **Dissulfoton: avaliação da mobilidade e extração ponto nuvem**. Viçosa – MG: UFV, 2003. 121f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa, 2003.

FONTES, M.P.F; CAMARGO, O.A.; SPOSITO, G. Eletroquímica das partículas coloidais e sua relação com a mineralogia de solos altamente intemperizados. **Scientia Agrícola**, v. 58, n. 3, p. 627-646, 2001.

GARP - Associação Grupo de Analistas de Resíduos de Pesticidas. Manual de Resíduos de Pesticidas em Alimentos (apostila), 1999.

GOULART, S. M. **Extração de deltametryn e cipermetrina de leite e análise por cromatografia gasosa**. Viçosa – MG: UFV, 2003. 60f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa, 2003.

GUSTAFSON, D. I. Groudwater ubiquity score: a simple method for assessing pesticide leachability. **Environmental Toxicology and Chemistry**. v. 8, n. 4, p. 339-357, 1989.

HAMADA, M.; WINTERSTEIGER, R. Rapid screening of triazines and quantitative determination in drinking water. **Journal Biochemical Biophysical Methods**. v. 53, p. 229–239, 2002.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: [http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa\\_200708\\_4.shtm](http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/indicadores/agropecuaria/lspa/lspa_200708_4.shtm). Acesso em 18 de maio de 2007.

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos, DOQ-CGCRE-008, 2003.

KAMATSU, E.; VAZ, J. M. Otimização dos parâmetros de extração para determinação multiresíduo de pesticidas em amostras de água empregando microextração em fase sólida. **Química Nova**, v. 27, n. 5, p. 720-724, set / out. 2004.

KISS, A.; RAPI, S.; CSUTORÁS, Cs. GC/MS studies on revealing products and reaction mechanism of photodegradation of pesticides. **Microchemical Journal**, v. 85, p. 13-20, 2007.

KONTCHOU, C. Y.; GSCHWIND, N. Biodegradation of s-triazine compounds by a stable mixed bacterial community. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.43, p. 47-56, 1999.

KRUTZ, L.J.; SENSEMAN, S.A. SCIUMBATO, A. S. Solid-phase microextraction for herbicide determination in environmental samples. **Journal of Chromatography A**, v. 999, p 103-121, 2003.

LANÇAS, F. M. **Validação de métodos cromatográficos de análise – Métodos Cromatográficos de Análise 6**. Editora Rima, São Carlos, SP, 2004.

LANCHOTE, V.L.; BONATO, P.S. ; CERDEIRA, A.L. ; SANTOS, N.A.G.; CARVALHO, D.; GOMES, M.A.F. HPLC screening and GC-MS confirmation of

triazine herbicides residues in drinking water from sugar cane area in Brazil. **Water, Air and Soil Pollution**, v. 118, p. 329-337, 2000.

LANYI, K.; DINYA, Z. Photodegradation study of some triazine-type herbicides. **Microchemical Journal**, v. 75, p. 1–14, 2003.

LOPES, A. L. **Mobilidade do dissulfoton, de seus produtos de degradação e do triadimenol em latossolo vermelho-amarelo**. Viçosa – MG: UFV, 2000. 85f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) - Universidade Federal de Viçosa, 2000.

LOPES, N. P.; QUEIROZ, M. E. L. R.; NEVES, A. A.; ZAMBOLIM, L. Influência da matéria orgânica na adsorção do fungicida triadimenol pelo solo. **Quimica Nova** **25**: 544-547, 2002.

LUDOVICE, M. T. F. ; ROSTON, D. M. ; FILHO, J. T. Efeito da faixa-filtro na retenção de atrazine em escoamento superficial. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 7, n. 2, p.323-328, 2003.

MAGALHÃES, E. J. Adsorção do ametryn em frações de solo associadas à matéria orgânica. Viçosa- MG, 2007. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Universidade Federal de Viçosa, 2007.

McBRIDE, M. B. **Environmental chemistry of soil**. New York: Oxford University Press, 1994. 406p.

McDONALD, L.; JEBELLIE, S. J. MADRAMOOTOO, C. A.; DODDS, G. T. Pesticide mobility on a hillside soil in St. Lucia. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 72, p. 181-188, 1999.

MOORMAN, T.B. Pesticide degradation by soil microorganisms: environmental, ecological, and management effects. **Soil Biology**. Boca Ranton: CRC Press, 1994. p. 121-165.

NASCENTES, C. C.; KORN, M.; ARRUDA, M. A. Z. A fast ultrasound-assisted extraction of Ca, Mg, Mn and Zn from vegetables. **Microchemical Journal**, v. 69, p.37-43, 2001

PACÁKOVÁ, V.; STULFK, K.; JISKRA, J. High-performance separations in the determination of triazine herbicides and their residues. **Journal of Chromatography A.**, v. 754, p. 17 – 31,1996.

PEIXOTO, M. F. S. P. **Distribuição do herbicida 14c-atrazine na matéria orgânica de dois solos e remobilização de seus resíduos ligados em ácidos fúlvicos**. 1998. 80f. Tese (Doutorado em Agronomia)- Escola Superior de Agricultura “Luis de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP, 1998.

PEREIRA, W.E.; HOSTETTLER, F.D. Nonpoint source contamination of the Mississippi river and its tributaries by herbicides. **Environmental Science Technology**, v. 27, p. 1542-1552, 1993.

PINHO, G.P. **Extração de pesticidas em amostras de tomate pelas técnicas: extração sólido líquido e purificação em baixa temperatura (ESL-PBT) e dispersão de matriz em fase sólida (DMFS) para análise por cromatografia gasosa**. Viçosa – MG, 2007. 85f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Universidade Federal de Viçosa, 2007.

PINTO, G. M. F.; JARDIM, I. C. S. F. Use of solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography for the determination of triazine residues in water: validation of the method. **Journal of Chromatography A**, v. 869, p. 463–469, 2000.

PITELLI, R.A. Interferência de plantas daninhas em culturas agrícolas. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.11, n.129, p. 16-27, 1985.

PRATA, F.; LAVORENTI, A. Comportamento de herbicidas no solo: influência da matéria orgânica. **Revista Biociências**, Taubaté, SP, v. 6, n.2, II semestre. 2000.

PRATA, F.; LAVORENTI, A.; REGITANO, J. B.; TORNISIELO, V. L. Degradação e sorção de ametryn em dois solos com aplicação de vinhaça. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.36, p. 975-981, jul. 2001.

PRATA, F. **Comportamento do glifosato no solo e deslocamento miscível de atrazine**. Piracicaba– SP, 2002. 149f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade de São Paulo, 2002.

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

RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. **Guia de herbicidas**. 5.ed. Londrina, PR, 2005. 592 p.

SANTOS, H. M.; CAPELO, J.L. Trends in ultrasonic-based equipment for analytical sample treatment. **Talanta**, 2007 (PRELO)

SCHMITT,P.; FREITAG, D.; SANLAVILLE, Y.; LINTELMANN, J.; KETTRUP, A. Capillary electrophoretic study of atrazine photolysis. **Journal of Chromatography A**, v. 709, p. 215-225, 1995

SCOTTI, R.; LIMA, E.C.; BENVENUTTI, E.V.; PIATNICKI, C.M.S.; DIAS, S.L.P.; GUSHIKEM, Y.; KUBOTA, L.T. Azul de metileno imobilizado na celulose/TiO<sub>2</sub> e

SiO<sub>2</sub>/TiO<sub>2</sub>: propriedades eletroquímicas e planejamento fatorial. **Química Nova**, v. 29, n. 2, p. 208-212, mar / abr. 2006.

SHENG, G.; YANG, Y.; HUANG, M. YANG, K. Influence of pH on pesticide sorption by soil containing wheat residue-derived char. **Environmental Pollution**, v. 134, p. 457-463, 2005.

SILVA, A. A.;(org) SILVA, J.F.(org) **Tópicos em manejo de plantas daninhas**. 1. ed. Viçosa: Editora UFV, 2007. v. 1. 367 p.

SOARES, L.M.V. Como obter resultados confiáveis em cromatografia. **Inst. Adolfo Lutz**,v. 60, p.79-84, 2001

SORENSEN, B.A.; WYSE, D.L.; KOSKINEN, W.C.; BUHLER, D.D.; LUESCHEN, W.E.; JORGENSON, M.D. Formation and movement of <sup>14</sup>C-atrazine degradation products in sandy loam soil under field condition. **Weed Science**, v. 41, p. 239-245, 1993.

SPADOTTO, C. A. ; GOMES, M. A. F. ; LUCHINI, L. C. ; ANDRÉA, M.M. **Monitoramento do risco ambiental de agrotóxicos: princípios e recomendações**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 29 p, 2004.(Embrapa Meio Ambiente. Documentos, 42).

STOLP, N.B.; SHEA, P.J. Alachlor and atrazine degradation in Nebraska soil and underlying sediments. **Soil Science**, v. 160, n. 5, p. 359-370, 1995.

UETA, J. ; PEREIRA, N.L. ; SHUHAMA, I. K. ; CERDEIRA, A.L. Biodegradação de herbicidas e biorremediação: microrganismos degradadores de atrazine provenientes de solos da Região do Aquífero Guarani. **Plantio Direto**, Passo Fundo, RS, jan / fev. 2001.

VANDERHEIDEN, V.; DEBONGNIE, P.; PUSSEMIER, L. Accelerated degradation and mineralization of atrazine in surface and subsurface soil material. **Pesticide Science**, v. 49, p. 237-242, 1997.

VAZ, C. M. P. **Metodologia eletroanalítica para medida de atrazine em águas e solução de solos**, 1994. 97f. Tese (Doutorado em Ciência Energia Nuclear na agricultura) – Universidade de São Paulo, Piracicaba, SP: ESALQ/USP, 1994.

VEGA, A. B.; FRENICH, A. G.; VIDAL, J. L. M. Monitoring of pesticides in agricultural water and soil samples from Andalusia by liquid chromatography coupled to mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v.538, p. 117–127, 2005.

VIEIRA, H. P. **Otimização e validação da extração simultânea de piretróides em água e solo e análise por cromatografia gasosa**. Viçosa – MG, 2005. 65f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Universidade Federal de Viçosa, 2005.

VIEIRA, H. P.; NEVES, A. A.; QUEIROZ, M. E. L. R. Otimização e validação da técnica de extração líquido-líquido com partição em baixa temperatura (ESL-PBT) para piretróides em água análise por CG. **Química Nova**, v. 30, n. 3, p. 535-540, mai / jun. 2007

VIVIAN, R. **Comportamento de ametryn e trifloxysulfuron-sodium no cultivo da cana-de-açúcar e no solo**. Viçosa – MG, 2006. 128f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, 2006.

VIVIAN, R.; GUIMARÃES, A.A.; QUEIROZ, M.E.L.R.; SILVA, A.A.; REIS, M.R.; SANTOS, J.B. Adsorção e dessorção de trifloxysulfuron-sodium e ametryn em solos brasileiros. **Planta daninha**, v. 25, n.1,p. 97-109 Jan./Mar. 2007 a.

VIVIAN, R.; QUEIROZ, M.E.L.R.; JAKELAITIS, A.; GUIMARÃES, A.A.; REIS, M.R.; CARNEIRO, P.M.; SILVA, A.A. Persistência e lixiviação de ametryn e

trifloxysulfuron-sodium em solo cultivado com cana-de-açúcar. **Planta daninha**. v. 25, n.1, p. 111-124. Jan./Mar. 2007 b.

WAUCHOPE, R.D. The pesticide content of surface water draining from agricultural fields - a review. **Journal of Environmental Quality**, v. 7, p. 459-472, 1978.

WEBER, J.B. Adsorption of s-triazinas by montmorillonite as a function of pH and molecular structure. **Soil Science Society of America Proceedings**, v. 34, p. 403-404, 1970.

WIDERSON, M. R.; KIM, K. D. **The pesticide contamination prevention act: setting specific numerical values**. Sacramento: California Dep. Food and Agric., Environmental Monitoring and Pest Manage, 1986. 287 p.

ZAMBONIN, C. G.; PALMISANO, F. Determination of triazines in soil leachates by solid-phase microextraction coupled to gas chromatography–mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, V. 874, p.247–255, 2000.

ZHANG, M. ; GENG, S. ; USTIN, S.L. ; TANJI, K.K. Pesticide occurrence in groundwater in Tulare county. **Environmental Monitoring and Assessment**, California, v. 45, p. 101-127, 1997.

## 7. ANEXO

### MICROEXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA

#### 1. Introdução

Uma técnica alternativa, a microextração em fase sólida (MEFS), foi avaliada para extração dos herbicidas de amostras aquosas. Esta técnica foi otimizada para a extração de atrazine e ametryn simultaneamente em amostras de águas com determinação por cromatografia gasosa (CG-DIC).

#### 2. Materiais e Métodos

A fortificação das amostras de água foi realizada com a adição de quantidades conhecidas das soluções padrão dos princípios ativos, em acetonitrila para se obter uma concentração final de 50,0 mg L<sup>-1</sup>.

O estudo para otimização das condições de MEFS na determinação das triazinas em água foi realizado com uma fibra de poliacrilato (PA) da Supelco. Esta foi condicionada no injetor do cromatógrafo por 3 horas à temperatura de 300 °C, antes da sua utilização, conforme instrução do fabricante.

Frascos âmbar de borossilicato de 44,0 mL de capacidade com tampa e septo de teflon foram preenchidos com um volume de água fortificada variando de 10 a 30 mL. Essas amostras foram colocadas em banho termostático com temperatura controlada, sendo agitadas constantemente por uma barra magnética.

A fibra de poliacrilato foi inserida no septo de teflon e colocada em contato com a fase gasosa da amostra (“headspace”). Após o tempo que variou entre 10 e 60 min, a fibra foi retirada do frasco e inserida no injetor do cromatógrafo a gás, onde os analitos foram termicamente desorvidos e carregados para a coluna cromatográfica.

As condições cromatográficas para realização das análises das triazinas extraídas pela MEFS-HS foram semelhantes às utilizadas pela ESL-PBT, no entanto a temperatura do injetor foi elevada até 300 °C e foi utilizado o modo splitless, sem divisão de fluxo.

Alguns parâmetros foram estudados na otimização da micro-extração em fase sólida por “headspace” (MEFS-HS) e são descritos a seguir:

- Temperatura da amostra (°C)- 27 (temperatura ambiente), 40, 60 e 80.
- Tempo de equilíbrio (min)- 10, 20, 30 e 60.
- Adição de sal (% de KCl m/v)- 1,5, 8,0, 16,0, 24,0, 32,0.
- Volume de amostra (mL) - 10, 20 e 30.

O primeiro parâmetro estudado foi a temperatura, nesse estudo foi adicionado 20 % m/v de KCl a amostra, o tempo de contato entre a fibra e a fase gasosa foi de 20 minutos e o volume da amostra de 30 mL. Após o estudo dessa variável, a temperatura que proporcionou o melhor resultado foi fixada e utilizada nos estudos dos outros parâmetros. As condições utilizadas no estudo do tempo de equilíbrio, na quantidade de sal adicionada e no volume da amostra foram as mesmas do estudo da temperatura, entretanto a cada parâmetro estudado o valor que proporcionou o melhor resultado foi utilizado no estudo dos parâmetros seguintes.

Foi avaliado, também, a temperatura do injetor e o tempo de desorção dos analitos, uma vez que é necessário manter a fibra no injetor do cromatógrafo por certo período para evitar a desorção incompleta dos analitos adsorvidos na fibra.

### 3. Resultados e discussões

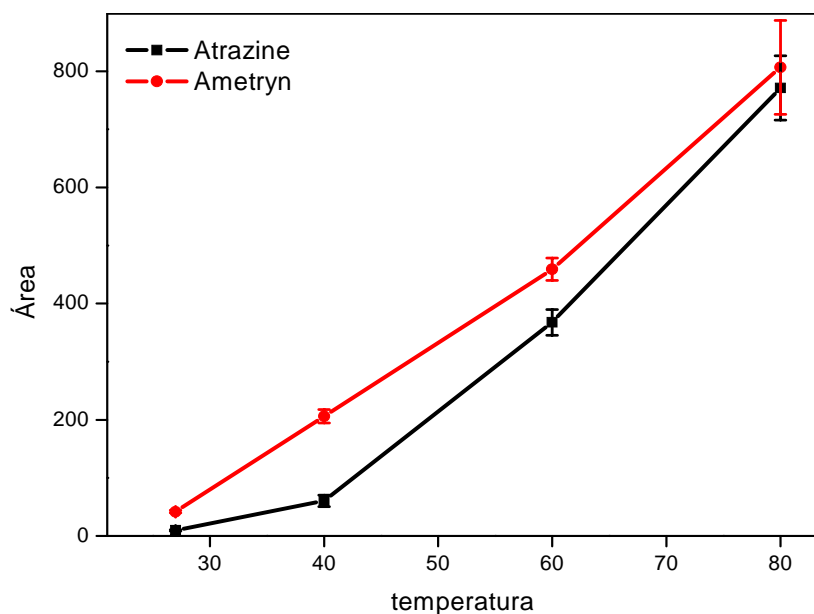
Muitos fatores podem influenciar a eficiência do método da microextração em fase sólida (MEFS) e devem ser avaliados na otimização da técnica (KRUTZ *et al.*, 2003; KAMATSU e VAZ, 2004). Nesse sentido foram realizados estudos preliminares para determinar qual o melhor tempo de equilíbrio, temperatura da amostra, volume da amostra, concentração iônica, temperatura do injetor e o tempo de dessorção dos analitos. Além desses parâmetros, um importante fator a ser avaliado é o tipo de fibra. Neste trabalho foi utilizado uma fibra de poliacrilato de 85  $\mu\text{m}$  de espessura, pois de acordo com os estudos de Zambonim e Palmisano, (2000) e Krutz *et al.* (2003) essa fibra apresenta os melhores resultados para a extração de triazinas.

Para a fibra de poliacrilato a temperatura de dessorção indicada varia entre 220 e 310  $^{\circ}\text{C}$ . A temperatura de 300  $^{\circ}\text{C}$  do injetor foi utilizada, pois proporcionou a melhor simetria dos picos cromatográficos quando comparada com temperaturas mais baixas. Em temperaturas inferiores, ocorre alargamento da base do pico cromatográfico, indicando que as moléculas dessorvidas chegam em diferentes tempos ao detector (DIC).

O tempo de dessorção dos analitos foi estabelecido em 5 minutos. Esse tempo assegurou que houvesse dessorção completa dos analitos na fibra.

Na avaliação da temperatura, no processo de MEFS alguns parâmetros foram fixados como força iônica do meio (20 % m/v de KCl), tempo de contato entre fibra e fase gasosa (20 minutos) e o volume da amostra (30 mL). As temperaturas avaliadas foram 27, 40, 60 e 80  $^{\circ}\text{C}$ . Os resultados, expressos pela área do pico, estão representados na Figura 1. Por esses resultados, verifica-se que a avaliação da temperatura é fundamental na otimização da técnica de MEFS. A extração das triazinas a 27  $^{\circ}\text{C}$  é muito inferior à realizada nas temperaturas superiores, tendo destaque a temperatura de 80  $^{\circ}\text{C}$  que apresentou os melhores resultados. Acima da temperatura de 80  $^{\circ}\text{C}$ , a MEFS-HS não deve ser efetuada, uma vez que na fase gasosa da amostra existe concentração muito alta de vapor

de água que pode prejudicar a extração, diminuir a vida útil da fibra, além de possibilitar o aumento da adsorção de interferentes à fibra.

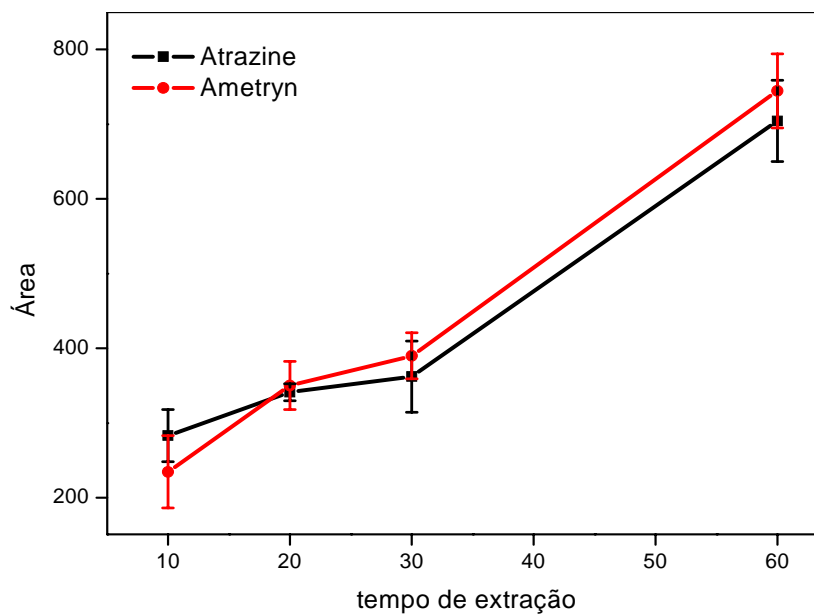


**Figura 1.** Efeito da temperatura na extração das triazinas por MEFS-HS

Devido à assimetria apresentada pelos picos cromatográficos com a utilização da temperatura de 80 °C e também o aumento significativo do desvio padrão nas extrações das amostras, resolveu-se fixar a temperatura em 60 °C, embora a extração seja menor que em 80 °C para os dois princípios ativos.

Com a temperatura definida, sob agitação constante e adição de 20 % (m/v) de KCl, foi avaliado o tempo de extração em 10, 20, 30 e 60 minutos que são apresentados na Figura 2.

Pela Figura 2 observa-se o aumento da área do pico cromatográfico tanto para o atrazine quanto para o ametryn com o aumento do tempo de extração. Entretanto, o tempo de extração estudado não foi suficiente para atingir o equilíbrio de adsorção entre os analitos e a fibra de poliacrilato. Para a utilização da MEFS-HS não é necessário que o equilíbrio seja atingido, desde que o tempo de extração seja cuidadosamente monitorado nas análises realizadas (KAMATSU e VAZ, 2004).



**Figura 2.** Avaliação do tempo de extração para atrazine e ametryn por MEFS-HS na temperatura de 60 °C.

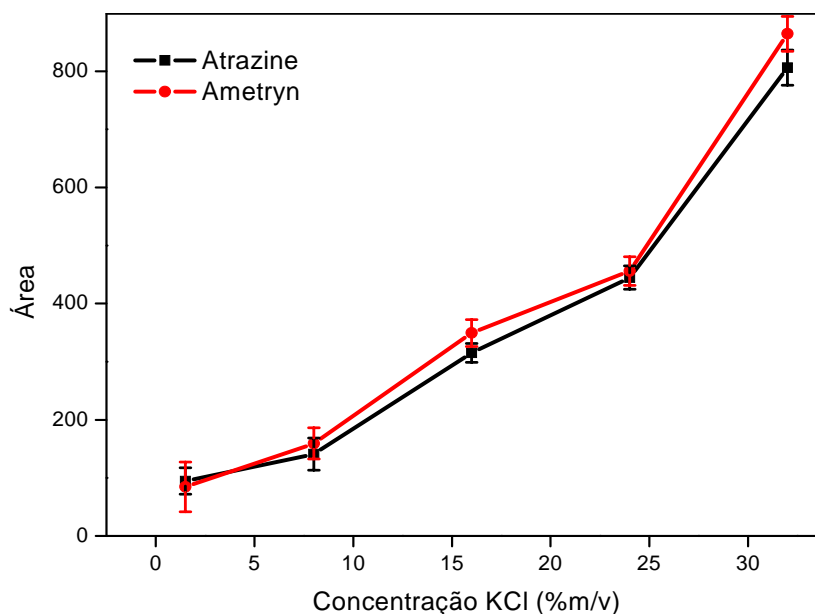
O tempo de extração de 30 minutos foi utilizado nos estudos posteriores para a otimização da MEFS-HS, devido a possibilidade da realização de um maior número de extrações dos herbicidas das amostras por dia.

O efeito da força iônica foi avaliado para a extração das triazinas pela MEFS-HS com o emprego de 30 minutos de extração, 60 °C de temperatura e volume de 30,0 mL de amostra, variando-se a concentração de KCl em 1,5, 8,0, 16,0, 24,0, 32,0% m/v. Os resultados são apresentados na Figura 3.

A adição de sal à amostra aumenta consideravelmente a extração com a utilização da técnica de MEFS (KAMATSU e VAZ, 2004). Com o aumento da concentração iônica na amostra aquosa, o equilíbrio existente entre os analitos na fase aquosa e gasosa tem um deslocamento para a fase gasosa. Deste modo, com a maior concentração dos analitos na fase gasosa ocorre um deslocamento no outro equilíbrio existente entre os analitos na fase gasosa e na fibra de poliácrlato, aumentando a quantidade sorvida na fibra.

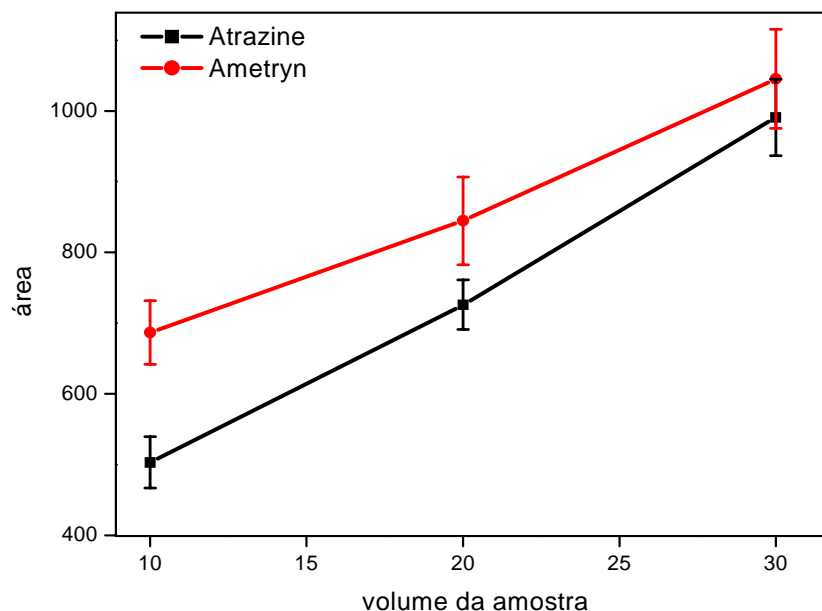
Na Figura 3, é observado que o aumento da concentração iônica na fase aquosa promove um acréscimo significativo na extração das triazinas. A área

correspondente aos picos sem a adição de sal é inferior a 100, e com a adição de 32 % m/v de KCl é superior a 800.



**Figura 3.** Efeito da adição de sal (KCl) na extração das triazinas por MEFS utilizando tempo de extração de 30 minutos e temperatura de 60 °C.

Na otimização da MEFS-HS o efeito do volume de amostra foi avaliado pelos resultados obtidos no processo de extração. Nesse estudo foram empregados os volumes de 10,0, 20,0, e 30,0 mL de amostra fortificada, temperatura de 60 °C, tempo de extração de 30 minutos e concentração de KCl de 32 % m/v. Os resultados são apresentados na Figura 4. Observou-se que, quando o tempo de equilíbrio é mantido constante e o volume de amostra é aumentando, aumenta-se a quantidade extraída. As áreas dos picos correspondentes ao atrazine e ao ametryn para o tempo de equilíbrio fixo foram de 503 e de 680 com o volume de 10,0 mL de amostra e de 990 e 1045 para o volume de 30,0 mL, respectivamente



**Figura 4.** Efeito do volume da amostra (fase aquosa) na extração das triazinas utilizando tempo de extração de 30 minutos, temperatura de 60 °C e concentração de KCl de 32% m/v.

Como a concentração dos analitos na fase aquosa e o tempo de extração foram os mesmos em todos os ensaios realizados, o volume de fase aquosa de 30,0 mL apresenta maior quantidade em massa de analitos presentes no frasco do que 10,0 e 20,0 mL. Deste modo, a fase gasosa também se enriquece com os analitos e ocorre o aumento da sorção na fibra. Associado a esse fato, 30,0 mL de fase aquosa no frasco de 44 mL de capacidade provocam a diminuição da fase gasosa da amostra em comparação com 10,0 e 20,0 mL de fase aquosa. Conseqüentemente, a concentração dos analitos na fase gasosa é maior com 30 mL de fase aquosa e a sorção das triazinas na fibra de poliacrilato aumenta.

De forma geral, o ametryn é um pouco mais sensível a MEFS e análise por cromatografia gasosa do que a atrazine e o comportamento das duas triazinas foi muito semelhante em toda a otimização da técnica de micro extração em fase sólida.

Após o estudo de alguns parâmetros da técnica de MEFS-HS o procedimento otimizado é descrito a seguir:

Em frasco de 44 mL de capacidade foi colocada a amostra aquosa contendo os herbicidas com volume de 30 mL e força iônica correspondente a 32 % m/v de KCl. O conjunto foi aquecido a 60 °C e pelo septo de teflon da tampa do frasco a fibra foi exposta à fase gasosa, com a ajuda de um holder, por 30 minutos. Após a adsorção, a fibra foi recolhida e exposta no injetor a 300 °C por 5 minutos, no modo splitless.

Essas condições apresentaram os melhores resultados no emprego da MEFS-HS e análise de atrazine e ametryn em amostras de água por cromatografia gasosa com detector FID