

**Método para Determinação de
Hexazinona e Diurom em Solo**

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 47

Método para Determinação de Hexazinona e Diurôm em Solo

Sonia C. N. Queiroz
Vera Lúcia Ferracini
Maria Aparecida Rosa
Antônio Luiz Cerdeira

Exemplares dessa publicação podem ser solicitados à:

Embrapa Meio Ambiente

Rodovia SP 340 - km 127,5 - Tanquinho Velho
Caixa Postal 69 13820-000, Jaguariúna, SP
Fone: (19) 3867-8750 Fax: (19) 3867-8740
sac@cnpma.embrapa.br
www.cnpma.embrapa.br

Comitê de Publicação da Unidade

Presidente: *Alfredo José Barreto Luiz*

Secretária-Executiva: *Heloísa Ferreira Filizola*

Secretário: *Sandro Freitas Nunes*

Bibliotecária: *Maria Amélia de Toledo Leme*

Membros: *Ladislau Araújo Skorupa, Ariovaldo Luchiari Júnior, Luiz Antônio S.Melo, Adriana M. M. Pires, Emília Hamada e Cláudio M. Jonsson*

Normalização Bibliográfica: *Maria Amélia de Toledo Leme*

Editoração Eletrônica: *Alexandre Rita da Conceição*

1ª edição eletrônica
(2007)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no seu todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

Método para determinação de hexazinona e diurom em solo / Sonia Cláudia Nascimento de Queiroz, Vera Lúcia Ferracini, Maria Aparecida Rosa, Antônio Luiz Cerdeira. – Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2007.
14 p. – (Embrapa Meio Ambiente. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento; 47).

1. Herbicida. 2. Resíduo. 3. Solo. I. Queiroz, Sonia C. N. II. Ferracini, Vera Lúcia. III. Rosa, Maria Aparecida. IV. Cerdeira, Antônio Luiz. V. Título. VI. Série.

CDD 631.4

© Embrapa 2007

Sumário

Resumo	05
Abstract	06
1. Introdução	07
2. Material e Métodos	08
2.1 Reagentes e Solventes	08
2.2 Preparo das Soluções Analíticas	08
2.3 Equipamentos	08
2.4 Método Analítico	09
3. Resultados e Discussão	10
4. Conclusão	12
Referências	13

Método para Determinação de Hexazinona e Diurom em Solo

Sônia C. N. Queiroz¹

Vera Lúcia Ferracini²

Maria Aparecida Rosa³

Antônio Luiz Cerdeira⁴

Resumo

A utilização de herbicidas no manejo de plantas daninhas é uma prática comum na agricultura. Devido ao fato de serem potencialmente tóxicos aos organismos, o destino destes produtos no ambiente deve ser investigado. Para isso torna-se necessário a disponibilização de metodologias rápidas e eficientes para a detecção e quantificação destes produtos nos diversos compartimentos ambientais.

Este trabalho descreve um método para a determinação simultânea de hexazinona e diurom em amostras de solo. A extração foi feita em metanol e as análises por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), usando coluna de fase-reversa, C-18, fase móvel metanol/água 70:30, v/v, detecção e quantificação a 247 nm.

Os seguintes parâmetros de validação foram obtidos: limite de detecção do método de 0,016 e 0,014 mg kg⁻¹, limite de quantificação do método de 0,070 e 0,056 mg kg⁻¹, linearidade de 0,010–2,50 mg L⁻¹ ($r^2 \geq 0,999$); recuperação de 80 a 90% e 83 a 88%; precisão intermediária (%RSD) < 9 e < 10%, para hexazinona e diurom, respectivamente. O método mostrou ser simples, eficiente e confiável para a determinação simultânea de resíduos dos herbicidas hexazinona e diurom em amostras de solo.

¹Química, Ph. D. em Química, Embrapa Meio Ambiente, Rod. SP 340, km 127,5 - Caixa Postal 69, Tanquinho Velho, 13.820-000 Jaguariúna, SP. sonia@cnpma.embrapa.br

²Química, Ph. D. em Química, Embrapa Meio Ambiente, Rod. SP 340, km 127,5 - Caixa Postal 69, Tanquinho Velho, 13.820-000 Jaguariúna, SP. veraf@cnpma.embrapa.br

³Química, Doutora em Química, Embrapa Meio Ambiente, Rod. SP 340, km 127,5 - Caixa Postal 69, Tanquinho Velho, 13.820-000 Jaguariúna, SP. rosa@cnpma.embrapa.br

⁴Engenheiro Agrônomo, Ph. D. em Fisiologia e Bioquímica, Embrapa Meio Ambiente, Rod. SP 340, km 127,5 - Caixa Postal 69, Tanquinho Velho, 13.820-000 Jaguariúna, SP. cerdeira@cnpma.embrapa.br

Method for Determination of Hexazinone and Diuron in Soil

Abstract

This work presents an method for determination of the herbicides hexazinone and diuron in soil. The extraction was made with methanol and the analyses by high performance liquid chromatography (HPLC), using reversed-phase column, C-18, mobile phase methanol/water 70:30, v/v, detection and quantification at 247 nm. The following validation parameter were obtained: limit of detection of method 0.016 and 0.014 mg kg⁻¹, limit of quantification of method 0.070 and 0.056 mg kg⁻¹; linearity from 0.010 to 2.50 mg L⁻¹ ($r^2 \geq 0.999$); recoveries from 80 to 90% and 83 to 88%; intermediary precision (%RSD) < 9 and < 10%, for hexazinone and diuron, respectively. The method showed be efficient and reliable for determination of the herbicides in soil.

Keywords: Herbicides; High Performance Liquid Chromatoghaphy; Soil.

1. Introdução

O uso de herbicidas de diferentes grupos químicos na cultura da cana-de-açúcar constitui prática comum no manejo das plantas daninhas, tanto em aplicações de pré-emergência como de pós-emergência. Misturas de herbicidas são amplamente utilizadas para aumentar o espectro de controle.

Os herbicidas hexazinona (classe das triazinonas) e o diurom (classe das fenilureas)⁷ são nomes comuns para 3-ciclohexil-6-(dimetilamino)-1-metil-1,3,5-triazina-2,4-(1*H*,3*H*)-diona e *N'*-(3,4-diclorofenil)-*N,N*-dimetilurea, respectivamente (Figura 1). Estes produtos químicos são aplicados no campo comumente na forma de mistura, sendo que o diuron possui maior eficiência sobre as latifoliadas, ao passo que a hexazinona controla as gramíneas.

Como a cultura de cana está em expansão no Brasil e tais herbicidas são bastante utilizados, mas ainda pouco conhecidos nas condições climáticas brasileiras, uma avaliação mais detalhada desses herbicidas no ambiente é imprescindível (ROBERTS & KEARNEY, 1995). Para isso torna-se necessário a disponibilização de metodologias rápidas e eficientes para a detecção e quantificação destes princípios ativos nos diversos compartimentos ambientais.

Existem vários métodos na literatura descrevendo técnicas para a determinação de hexazinona e seus metabólitos em diversas matrizes, incluindo, eletroforese capilar (KUBILIUS & BUSHWAY, 1998) cromatografia gasosa com detector seletivo para nitrogênio (HOLT, 1981), cromatografia líquida com detector de UV/Vis (BOUCHARD & LAVY, 1983) e acoplada a espectrometria de massas (FISCHER & MICHAEL, 1995). O diurom também tem sido determinado por cromatografia líquida (LA PENA et al, 2003), (MISZCZYK & PYKA, 2002).

O presente trabalho descreve um método para a determinação simultânea de hexazinona e diurom em amostras de solo, baseado em extração com metanol, seguida de análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). A vantagem de se realizar a análise em uma única corrida cromatográfica é o menor tempo e custo. Este método pode ser utilizado em estudos de degradação desses herbicidas no solo.

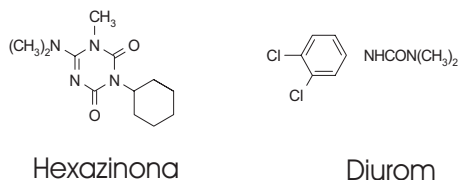


Fig. 1. Estruturas dos herbicidas

2. Material e Métodos

2.1 Reagentes e Solventes

Os padrões de agrotóxicos foram hexazinona (99,9%), doado pela DuPont e diurom (99,0%) adquirido da CHEM-SERVICE.

Os solventes utilizados foram metanol PR, grau resíduo (99,9%) e metanol HPLC, grau cromatográfico, ambos da TEDIA COMPANY INC.

2.2 Preparo das Soluções Analíticas

As soluções estoque dos padrões foram preparadas em metanol PR, individualmente, na concentração de 1000 mg L^{-1} . A partir destas, foram preparadas soluções individuais por diluições sucessivas dos padrões, também em metanol PR, utilizadas nas fortificações das amostras. Posteriormente, uma solução contendo os dois padrões a 100 mg L^{-1} foi preparada a partir da diluição da solução estoque e a partir desta, foram obtidas as soluções intermediárias por meio de diluições sucessivas em fase móvel (metanol HPLC:água 70:30, v/v). Estas soluções foram utilizadas na determinação da linearidade do detector e na obtenção das curvas analíticas.

2.3 Equipamentos

Cromatógrafo líquido da Agilent (Palo Alto, CA, USA), modelo 1100 Series; constituído de uma bomba quaternária, autoamostrador, desgaseificador, e um detector espectrofotométrico de absorção no UV/Vis, de comprimento de onda variável.

Incubadora refrigerada com agitador orbital Tecnal, modelo T-424 (Piracicaba, SP, Brasil).

2.4 Método Analítico

Vinte gramas de amostra de solo, latossolo vermelho, foram pesadas e transferidas para erlenmeyers de 250 mL com tampa. Em seguida foram adicionados 75 mL de metanol PR em cada amostra, deixadas sob agitação por 60 min, utilizando uma incubadora refrigerada com agitador orbital, com temperatura controlada a 25°C e rotação de 160 rpm.

As amostras foram deixadas em repouso por 30 min. e em seguida o sobrenadante foi filtrado a vácuo utilizando um sistema de filtração constituído de kitassato de 250 mL, funil de bücher e filtro de fibra de vidro de 70 mm de diâmetro, GF/C da Whatman. O processo foi repetido mais duas vezes usando 35 mL de metanol PR, agitado por 30 min, sendo que a última filtração foi feita imediatamente após a agitação e o solo totalmente transferido para o funil, lavando com pequenas quantidades de metanol PR.

O filtrado foi transferido para um balão de 250 mL e o solvente foi totalmente evaporado em rotaevaporador, a 30°C $\pm$ 1°C e 120 rpm. O resíduo foi ressuspenso com 10 mL de fase móvel metanol HPLC:água (70:30); v/v, com o auxílio de uma pipeta volumétrica. Com o auxílio de uma micropipeta calibrada uma alíquota de 1 mL foi transferida para um tubo graduado e adicionado mais 3 mL da fase móvel, com auxílio de uma pipeta volumétrica de 3 mL (volume final = 4 mL). O tubo foi agitado vigorosamente e em seguida as amostras foram filtradas em filtros Millipore de 0,45 μ m e injetadas no cromatógrafo líquido de alta eficiência. Utilizou-se coluna C₁₈ Synergi Fusion de 15 cm e 4,6 mm x 4 mm de diâmetro interno. A fase móvel empregada foi metanol HPLC: água (70:30) v/v; vazão 1 mL min⁻¹, detector ultra violeta (UV) com comprimento de onda 247 nm e volume de injeção de 20 μ L.

Para validação 20 g de amostras de solo, isentas dos herbicidas, foram fortificadas nas concentrações 0,07; 0,14 e 0,7 mg kg⁻¹ para a de hexazinona e 0,056; 0,112 e 0,560 para o diurom com auxílio de uma micropipeta calibrada, espalhando 1 mL da solução padrão em metanol sobre as amostras. As amostras fortificadas foram homogeneizadas e deixadas em repouso por 15 min para evaporação do solvente e agregação do herbicida no solo. Amostras não fortificadas foram analisadas como testemunhas.

Os resultados foram avaliados por análise de variância (ANOVA) com o auxílio do aplicativo Excel. Para o estudo de precisão do método, os coeficientes de variação obtidos a partir dos valores referentes ao ensaio de recuperação são considerados adequados quando iguais ou inferiores a 15%, conforme recomendado GARP, 2002, Tabela 2. Os desvios padrão relativo de repetitividade e precisão intermediária (RSD) foram calculados para $n = 3$ utilizando-se da mistura padrão nas concentrações de 0,07; 0,14 e 0,7 mg kg^{-1} para a hexazinona e de 0,056; 0,112 e 0,560 para o diurom.

3. Resultados e Discussão

A Fig. 2 mostra os cromatogramas referentes às amostras testemunha e fortificada. As curvas analíticas do hexazinona e do diurom (Tabela 1) mostraram ser lineares na faixa de 0,01 - 2,5 mg L^{-1} , pois apresentaram valores de coeficiente de determinação, $r^2 \geq 0,999$ e os gráficos de resíduos não demonstraram tendências. Os limites de detecção (LOD) e de quantificação (LOQ) foram calculados utilizando a razão sinal/ruído de 3 e 10 vezes, respectivamente, conforme descrito no GARP (2002). Os valores do método de LOD obtidos foram 0,016 mg Kg^{-1} e 0,014 mg Kg^{-1} e de LOQ foram 0,070 mg Kg^{-1} e 0,056 mg Kg^{-1} para a hexazinona e o diurom, respectivamente. Após a pré-concentração, estes valores correspondem a uma concentração final na solução de 0,035 mg L^{-1} e de 0,028 mg L^{-1} , respectivamente. Estes resultados indicam que o método é suficientemente sensível para detectar a presença do herbicida em níveis baixos de concentração. A exatidão do método foi determinada por meio da obtenção da % de recuperação média das amostras fortificadas, em 3 níveis (1x LOQ, 2x LOQ e 10 x LOQ), em triplicatas (Tabela 2). O valor médio foi de 92 e 88 %, para a hexazinona e diurom, respectivamente, e se encontram dentro da faixa de 70-120%, que é a considerada aceitável (GARP, 2002). Os desvios padrão relativo de repetitividade para a hexazinona e para o diurom foram ≤ 9 e 10%, respectivamente. As precisões intermediárias para a hexazinona e para o diurom foram ≤ 3 e 13%, respectivamente. Estes valores de precisão indicam que o método está em consonância com a literatura, onde valores $< 15\%$ são considerados aceitáveis (GARP, 2002).

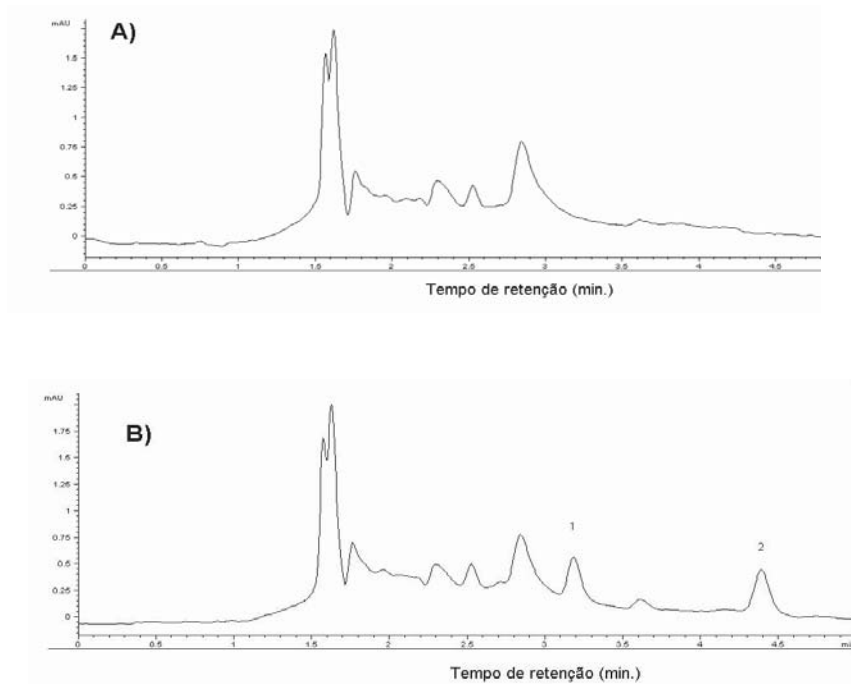


Fig. 2. Cromatogramas das amostras: A) Testemunha e B) Fortificada inicialmente em $0,070 \text{ mg kg}^{-1}$ e $0,056 \text{ mg kg}^{-1}$ para: 1 = HEXAZINONA 2 = DIUROM; respectivamente.

Tabela 1. Curvas Analíticas por Herbicidas

Herbicida	a	Curvas analíticas	
		b	r^2
Hexazinona			
0,01 – $0,5 \text{ mg L}^{-1}$	0,0	0,0691	0,999
0,10 – $2,5 \text{ mg L}^{-1}$	0,0	0,0719	0,999
Diurom			
0,01 – $0,5 \text{ mg L}^{-1}$	0,0	0,1118	0,999
0,10 – $2,5 \text{ mg L}^{-1}$	0,0	0,1149	0,999

Nota: $Y = a + bx$, a = coeficiente linear, b = coeficiente angular, r^2 = coeficiente de determinação

Tabela 2. Recuperações e Precisões (RSD%) dos Herbicidas Hexazinona e Diuron (N = 3)

Herbicida	Fortificação (mg kg ⁻¹)	Recuperações Médias (%)	Repetitividade ^a R.S.D. (%)	Precisão intermediária ^b R.S.D. (%)
Hexazinone	0,070	80	9	3
	0,140	90	3	
	0,700	89	7	
Diuron	0,056	83	10	13
	0,112	86	3	
	0,560	88	2	

a = mesmo dia , mesmo analista e mesmo equipamento.
b = três dias diferentes, mesmo analista e mesmo equipamento.

4. Conclusão

O método proposto mostrou, por meio dos parâmetros de validação, ser simples, eficiente e confiável para a determinação simultânea de resíduos dos herbicidas em amostras de solo.

Referências

- BOUCHARD , D. C.; LAVY, T. L. High-performance liquid chromatographic determination of hexazinone residues in soil and water. **J. Chromatogr. A**, v. 270, p.396-401, 1983.
- FISCHER, J. B.; MICHAEL, J. L. Thermospray ionization liquid chromatography-mass spectrometry and chemical ionization gas chromatography-mass spectrometry of hexazinone metabolites in soil and vegetation extracts. **J. Chromatogr. A**, v. 704, p. 131-139, 1995.
- GARP: **Critérios Mínimos para a Condução de Estudos de Resíduos. Manual.** Garp: Associação Grupo de Analistas de Resíduos de Pesticidas, 2002, 117p.
- HOLT, R. Determination of hexazinone and metabolite residues using nitrogen-selective gas chromatography, **J. Agric. Food Chem.**, v. 29, p. 165-172, 1981.
- KUBILIUS, D. T.; BUSHWAY, R. J. Determination of hexazinone and its metabolites in groundwater by capillary electrophoresis. **J. Chromatogr. A**, v. 793, p. 349-355, 1998.
- LA PENA, A.M.; MAHEDERO M.C.; BAUTISTA-SANCHEZ A., Monitoring of phenylurea and propanil herbicides in river water by solid-phase-extraction high performance liquid chromatography with photoinduced-fluorimetric detection, **Talanta**, p. 279-285, v. 60 (2-3), 2003.
- ROBERTS, T. R.; KEARNEY, P. C. **Environmental behaviour of agrochemicals.** West Sussex: John Wiley & Sons Ltd., 1995, 328 p.
- MISZCZYK M, PYKA A, Separation of selected pesticides by an HPLC technique. I. **Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies**, p. 3227-3237, v. 25 (20), 2002.



Meio Ambiente

Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento

