

## Capítulo 8

---

# **Procedimentos analíticos e avaliação da presença de herbicidas em áreas de recarga do Aquífero Guarani na região das nascentes do Rio Araguaia, MT/GO**

*Isabel Cristina Sales Fontes Jardim*

*Lais Sayuri Ribeiro de Moraes*

*Sônia Cláudia do Nascimento de Queiroz*

*Vera Lúcia Ferracini*

*Marco Antonio Ferreira Gomes*

## Introdução

Atualmente grandes esforços estão sendo feitos para aumentar a produtividade agrícola em áreas cada vez menores, bem como a utilização de técnicas e práticas agrícolas sofisticadas envolvendo mecanização ou seleção de variedades de plantas mais resistentes e adaptadas a condições climáticas e ambientais adversas (HOFF; van ZONEN, 1999). Entretanto, o uso de agrotóxicos é ainda a principal estratégia para o combate e a prevenção de pragas e doenças no meio agrícola, garantindo alimento suficiente para a população. Esses agrotóxicos, porém, são potencialmente prejudiciais ao homem, podendo causar efeitos adversos ao sistema nervoso central e periférico, ter ação imunodepressora ou serem cancerígenos, entre outros (CALDAS; SOUZA, 2000).

Uma grande parte dos agrotóxicos é adsorvida pela matéria orgânica, impedindo que alcancem o lençol freático via percolação (FILIZOLA et al., 2002). Entretanto, os agrotóxicos que são aplicados na lavoura e que permanecem no solo, eventualmente, são transportados para as águas superficiais por meio de vários mecanismos, e seus resíduos podem acumular e permanecer no meio ambiente, causando riscos potenciais aos ecossistemas aquáticos e à saúde humana (FONT et al., 1993; IBANEZ et al., 1996). Na maior parte dos casos, não são observados as distâncias mínimas necessárias entre as plantações e as margens dos rios e não são construídos sistemas de drenagem que impeçam o acesso de águas de enxurrada a esses mananciais (DORES; DE-LAMONICA-FREIRE, 2001). Dessa forma, os recursos hídricos, sejam superficiais ou subterrâneos, atuam como o principal destino final dos agrotóxicos (FERRACINI et al., 2001).

Os métodos de separação, como Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e Cromatografia Gasosa (CG), têm um papel importante na determinação de resíduos de agrotóxicos, seus metabólitos e produtos de transformação (HATRÍK; TEKEL, 1996). Independentemente da técnica de separação empregada, a análise de agrotóxicos, em geral, envolve várias etapas como a amostragem, o preparo da amostra, a análise cromatográfica e o tratamento dos dados. No preparo da amostra é realizada a concentração dos agrotóxicos presentes, que normalmente se encontram em baixas concentrações, a fim de adequá-los ao nível de detecção do equipamento; também é feita a eliminação de compostos interferentes. Esta etapa, que inclui o isolamento e a concentração dos analitos, é a que ocupa a maior

parte do tempo total de análise. A extração em fase sólida (EFS) é uma das técnicas de isolamento e concentração mais utilizadas na análise de água devido ao fato de ser rápida, de consumir pequenos volumes de solvente, ser de fácil automação e permitir a concentração de baixos níveis de pesticidas em soluções muito diluídas, como a água, para gerar concentrações detectáveis do analito (LANÇAS, 2004). A EFS utiliza uma coluna contendo um sorvente sólido para reter o analito, como resinas poliméricas, grupos C8, C18, amino ou ciano ligados ao suporte de sílica, de carbono grafitizado ou de alumina. O sorvente mais popular de EFS é o grupo octadecil (C18) ligado à sílica (SABIK et al., 2000).

Dessa forma, o objetivo deste capítulo é apresentar uma metodologia de análise rápida e eficiente, desenvolvida e validada para a determinação multirresidual dos herbicidas atrazina, imazetapir e nicossulfurom por CLAE, para a análise de amostras de água do lençol freático de áreas de recarga direta do Aquífero Guarani na região das nascentes do Rio Araguaia, MT/GO, bem como mostrar os resultados de monitoramento desses compostos na região citada.

## **Materiais e Métodos**

### **Padrões dos herbicidas e solventes**

Os herbicidas atrazina (6-cloro-N2-etil-N4-isopropil-1,3,5-triazina-2,4-diamina), imazetapir (ácido nicotínico (RS)-5-etil-2-(4-isopropil-4-metil-5-oxo-2-imidazolina-2-il), nicossulfurom (2-(4,6-dimetoxipirimidina-2-ilcarbamoil sulfamoil)-N,N-dimetilnicotinamida) foram adquiridos da ChemService, com grau de pureza > 99 %.

Os solventes utilizados para extração foram de grau PA ou pesticida, e os empregados para análise cromatográfica, como acetonitrila, foram grau cromatográfico. A água foi deionizada no sistema Milli-Q, Millipore.

### **Equipamentos**

- Agitador magnético Corning Glass Works, modelo PC-351.
- Agitador Roto Torque Cole-Parmer Instruments Company, modelo 7637-10.

- Agitador vórtex Phoenix, modelo AP 56.
- Balança analítica, Fischer Scientific (sensibilidade de 0,0001 g), modelo A-250.
- Sistema Milli-Q Plus, Millipore.
- Sistema de ultra-som Thornton, modelos T14 e T50.
- pHmetro Digimed, modelo DM21.
- Cromatógrafo a líquido, Shimadzu, composto por:
  - Bomba de alta pressão, tipo recíproca de pistão duplo, modelo LC-10AT.
  - Detector espectrofotométrico de absorção no UV/Vis, de comprimento de onda variável entre 190 nm e 900 nm, cela de 8  $\mu$ L de volume, 10 mm de caminho ótico, modelo SPD-M10<sup>3</sup>.
  - Injetor automático, amostragem programada de 10  $\mu$ L, modelo SIL-10AF.
  - Sistema de aquisição de dados: microcomputador, com software de aquisição de dados cromatográficos Class VP.
  - Forno para coluna, modelo CTO-10AS.
  - Controlador de sistema SCL-10A.

### **Localização da área de estudo, coordenadas geográficas e caracterização dos pontos de coleta de água**

As amostras de água do lençol freático foram coletadas, no mês de dezembro de 2005 e nos meses de fevereiro e março de 2006, pelo pesquisador da Embrapa Meio Ambiente, Marco Antonio Gomes, em três propriedades rurais, sendo uma delas no Estado de Goiás e as demais no Estado de Mato Grosso, considerando três pontos em cada uma delas, totalizando nove locais de amostragem. As amostras de água, livre de agrotóxicos (brancos ou testemunhas), foram coletadas na Fazenda Chitolina no Estado de Goiás. Na Tabela 1 estão listadas as localizações e as profundidades dos pontos onde foram realizadas as coletas de água.

### **Procedimento de amostragem da água superficial**

Em cada ponto, a coleta das amostras de água foi realizada por meio de coletores tipo piezômetros (tubos de PVC) com 70 mm de diâmetro, em

**Tabela 1.** Localização e profundidade dos pontos de coleta de água em Mineiros, Goiás.

Pontos	Profundidade (m)	Localização (coordenadas)	
		Latitude	Longitude
1 – Fazenda Três Irmãos (GO)	1	17°83'.969	53°09'.247
	2	17°83'.971	53°09'.250
	3	17°83'.973	53°09'.254
2 – Fazenda Holândia (MT)	1	18°00'.836	53°06'.920
	2	18°00'.838	53°06'.929
	3	18°00'.843	53°06'.935
3 – Fazenda Graúna (MT)	1	17°94'.414	53°13'.561
	2	17°94'.413	53°13'.563
	3	17°94'.412	53°13'.566

Fonte: Embrapa (2004).

três profundidades distintas (1 m, 2 m e 3 m), instalados à jusante da área cultivada. Após a coleta, as amostras foram colocadas em frascos âmbar de 1.000 mL. Estes frascos foram então vedados e resfriados com gelo em recipiente de isopor para transporte até o laboratório, onde foram armazenados à temperatura de 4 °C até o momento da extração.

Todas as amostras foram filtradas em filtro de fibra de vidro de 7 µm e membrana de PVDF de 0,22 µm utilizando-se uma bomba de vácuo, para remoção de material particulado e colóide.

### **Método analítico para a determinação dos herbicidas em água**

Foram testados quatro procedimentos de extração em fase sólida, com dois tipos de cartuchos.

**Lichrolut EN (E-DVB)** – resina do copolímero estireno/divinilbenzeno, área superficial de 1200 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>. Cartuchos de 3 mL (500 mg), Merck.

DVB 1 – Os cartuchos foram condicionados com 5 mL de metanol e 5 mL de água (pH ajustado em 3,0 com ácido fosfórico). 300 mL da amostra (pH ajustado em 3,0 com ácido fosfórico) foram passados pelos cartuchos,

sob vácuo, a uma vazão de 10 mL min<sup>-1</sup>. Os cartuchos foram secos, sob vácuo, por 30 min. Após a secagem, a eluição foi feita com 5 mL de metanol. O extrato foi seco sob fluxo de nitrogênio e ressuspensão em 1 mL de fase móvel.

DVB 2 – Os cartuchos foram condicionados com 2 mL de metanol e 2 mL de água (pH ajustado em 3,0 com ácido fosfórico). 300 mL da amostra (pH ajustado em 3,0 com ácido fosfórico) foram passados pelos cartuchos, sob vácuo, a uma vazão de 10 mL min<sup>-1</sup>. Os cartuchos foram secos, sob vácuo, por 30 min. Após a secagem, a eluição foi feita com 0,5 mL de metanol e duas porções de 3 mL metanol:acetato de etila 1:1 (v/v). O extrato foi seco sob fluxo de nitrogênio e ressuspensão em 1 mL de fase móvel.

**Supelclean LC-18** – Grupo octadecil ligado à sílica, tamanho de partícula 45 µm, 60 Å de tamanho de poro. Cartuchos de 3 mL (500 mg), Supelco.

C18 1 – Os cartuchos foram condicionados com 2 mL de metanol e 2 mL de água (pH ajustado em 3,0 com ácido fosfórico). 300 mL da amostra (pH ajustado em 3,0 com ácido fosfórico) foram passados pelos cartuchos, sob vácuo, a uma vazão de 10 mL min<sup>-1</sup>. Os cartuchos foram secos, sob vácuo, por 30 min. Após a secagem, a eluição foi feita com 2 mL de metanol. O extrato foi seco sob fluxo de nitrogênio e ressuspensão em 1 mL de fase móvel.

C18 2 – Os cartuchos foram condicionados com 2 mL de acetato de etila, 2 mL de água e 2 mL de água com pH ajustado em 2,5 com ácido fosfórico. 300 mL da amostra (pH ajustado em 2,5 com ácido fosfórico) foram passados pelos cartuchos, sob vácuo, a uma vazão de 10 mL min<sup>-1</sup>. Os cartuchos foram secos sob vácuo por 30 min. Após a secagem, a eluição foi feita com 5 mL de acetonitrila e 2 mL de acetato de etila. O extrato foi seco sob fluxo de nitrogênio e ressuspensão em 1 mL de fase móvel.

## **Análise cromatográfica**

A separação dos herbicidas foi feita usando as seguintes colunas :

- Coluna de fase reversa Nova-Pak RP-18, Waters, partículas de 5 µm, dimensões: 3,9 x 150 mm.
- Coluna de guarda Nova-Pak RP-18, Waters, partículas de 5 µm, dimensões: 3,9 x 20 mm.

A separação dos compostos foi feita em uma vazão de 0,8 mL min<sup>-1</sup> e no comprimento de onda de 220 nm, no qual todas as espécies apresentaram máxima absorvância. Para a separação foi utilizada a eluição por gradiente com acetonitrila e água em pH 3 ajustado com ácido fosfórico. A composição inicial do gradiente foi de 25 % de acetonitrila até 2 min, 25 % a 50 % de acetonitrila em 6 min, 50 % de acetonitrila durante 7 min, 50 % a 25 % de acetonitrila em 5 min e 25 % de acetonitrila por 5 min.

### **Preparação das soluções estoque e de trabalho**

As soluções estoque individuais dos herbicidas foram preparadas em acetonitrila na concentração de 1.000 mg L<sup>-1</sup>. As soluções de trabalho de todos os herbicidas (10 mg L<sup>-1</sup> e 50 mg L<sup>-1</sup>) foram obtidas a partir da diluição das soluções estoque em acetonitrila. Essas soluções estoque foram utilizadas para as fortificações e também para construir a curva analítica.

### **Validação do método**

O método foi validado de acordo com as diretrizes para validação de procedimentos analíticos da International Conference on Harmonization (1995a, 1995b), da Anvisa (2002) e da Associação Grupo de Analistas de Resíduos de Pesticidas (1999).

Os parâmetros de detectabilidade, limite de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ) do método foram determinados com base no sinal/ruído da linha de base de três e dez, respectivamente. As curvas analíticas foram obtidas usando seis diferentes concentrações de padrões dissolvidos em água destilada, cada uma em triplicata, para cada um dos analitos. A linearidade foi obtida pela regressão linear da curva.

Para a avaliação da recuperação e precisão do método, as amostras foram fortificadas em três níveis de concentração. As concentrações usadas para obterem as curvas analíticas e para as fortificações foram baseadas nos valores de LOQ de cada herbicida: as seis concentrações da curva analítica foram de 1 x, 2 x, 3 x, 5 x, 10 x e 15 x LOQ do instrumento, e os três níveis de fortificação foram 1 x, 2x e 10 x o LOQ do método.

A exatidão foi determinada através da percentagem recuperada (R) de herbicida nos três níveis de fortificação, calculada usando a seguinte equação:

onde:  $C_1$  = Concentração inicial do pesticida antes da extração;  
 $C_2$  = Concentração do pesticida após a extração.

A precisão foi avaliada em termos de repetitividade e precisão intermediária. A repetitividade foi determinada em um mesmo dia e consistiu de três séries de três replicatas de cada um dos níveis de concentração. A extração dos três cartuchos de cada um dos níveis de fortificação foi realizada em conjunto com uma testemunha para certificação da integridade dos dados obtidos. A precisão intermediária foi calculada com três replicatas em uma única concentração (2 x LOQ do método) em três diferentes dias. A repetitividade (entre cartuchos, em um mesmo dia) e a precisão intermediária (entre cartuchos, em dias diferentes) foram expressas como estimativa de desvio padrão relativo (RSD) ou coeficiente de variação (CV) de três medidas de recuperação dos analitos, usando a equação:

$$CV (\%) = \frac{\text{estimativa do desvio padrão absoluto}}{\text{recuperação média}} \times 100$$

onde: estimativa do desvio padrão absoluto =  $[\sum (x_i - x_m)^2 / n-1]^{1/2}$ ,  
 $n$  = o número total de medidas,  
 $x$  = o valor medido,  
 $X_m$  = a média das medidas.

## Resultados e Discussão

### Otimização do procedimento de extração

Os valores de percentagem de recuperação (%) dos herbicidas obtidos usando os cartuchos de divinilbenzeno (Lichrolut EN) e de C18 e diferentes procedimentos encontram-se na Tabela 2.

A Agência de Proteção ao Meio Ambiente dos Estados Unidos (US-EPA) considera aceitáveis as recuperações que fiquem no intervalo de



**Tabela 2.** Porcentagens de recuperações dos herbicidas e coeficientes de variação, obtidos nas extrações de água fortificada, utilizando diferentes procedimentos e cartuchos de EFS.

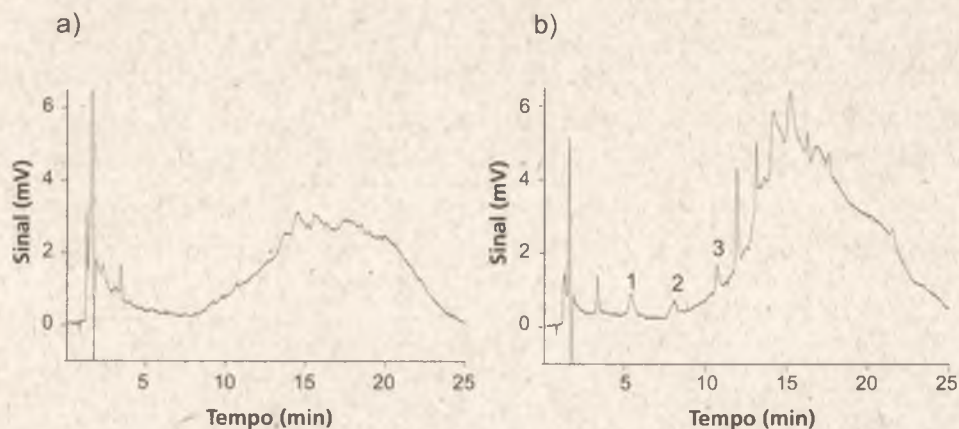
Cartucho/ Procedimento	Recuperação (%)			Coeficiente de variação (CV) (%)		
	Imaz	Nico	Atraz	Imaz	Nico	Atraz
DVD 1	88	63	76	1,3	6,4	10,9
DVB 2	91	99	64	8,6	1,4	8,8
C18 1	84	90	73	15,5	11,6	10,7
C18 2	93	103	81	3,8	2,1	2,3

70 % a 130 % (TOLOSA et al., 1996). Os cartuchos DVB 1 e 2 apresentaram recuperações abaixo de 70 % para os herbicidas nicossulfurom e atrazina, respectivamente. O cartucho C18 1 apresentou recuperações para os três herbicidas dentro da faixa aceitável, entretanto, o coeficiente de variação para o imazetapir ficou acima do limite aceitável que é de 15 % (HUBER, 1998). Com o cartucho C18 2, as recuperações para todos os herbicidas ficaram dentro do limite aceitável, com ótimos valores de coeficiente de variação. Foram feitos mais testes com este último procedimento, que confirmaram os resultados obtidos; dessa forma, o próximo passo foi a validação da metodologia com o procedimento de extração 2 e cartucho C18.

### Validação do método

A seletividade foi avaliada através da comparação dos extratos da matriz isenta de herbicidas e a matriz fortificada com os padrões dos herbicidas. A Fig. 1a mostra um cromatograma obtido para o extrato de uma amostra de água testemunha (isenta de herbicidas) da região estudada; a Fig. 1b mostra um cromatograma correspondente ao extrato de um branco fortificado. Ao se comparar as duas figuras, verifica-se a ausência de interferentes nos tempos de retenção dos herbicidas e, também, uma boa separação dos picos de interesse dos demais interferentes da amostra.

Os resultados de LOD e LOQ do método e do instrumento estão apresentados na Tabela 3. As extrações foram feitas partindo-se de



**Fig. 1.** Cromatogramas de extratos de (a) água testemunha livre de herbicidas e (b) água testemunha fortificada com os três herbicidas. Herbicidas: 1 = imazetapir; 2 = nicossulfurom; 3 = atrazina. Condições cromatográficas: coluna analítica de 150 mm x 3,9 mm, C18, tamanho de partícula de 4  $\mu\text{m}$ , Waters. Vazão 0,8 mL  $\text{min}^{-1}$ , eluição por gradiente com FM acetonitrila:H<sub>2</sub>O pH = 3 (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>); volume de injeção 10  $\mu\text{L}$ ; detecção UV, 220 nm. Gradiente: 25 % de acetonitrila até 2 min, 25 % a 50 % de acetonitrila em 6 min, 50 % de acetonitrila durante 7 min, 50 % a 25 % de acetonitrila em 5 min e 25 % de acetonitrila por 5 min.

**Tabela 3.** Limites de detecção (LOD) e quantificação (LOQ) do instrumento<sup>a</sup> e do método<sup>b</sup> para os herbicidas estudados.

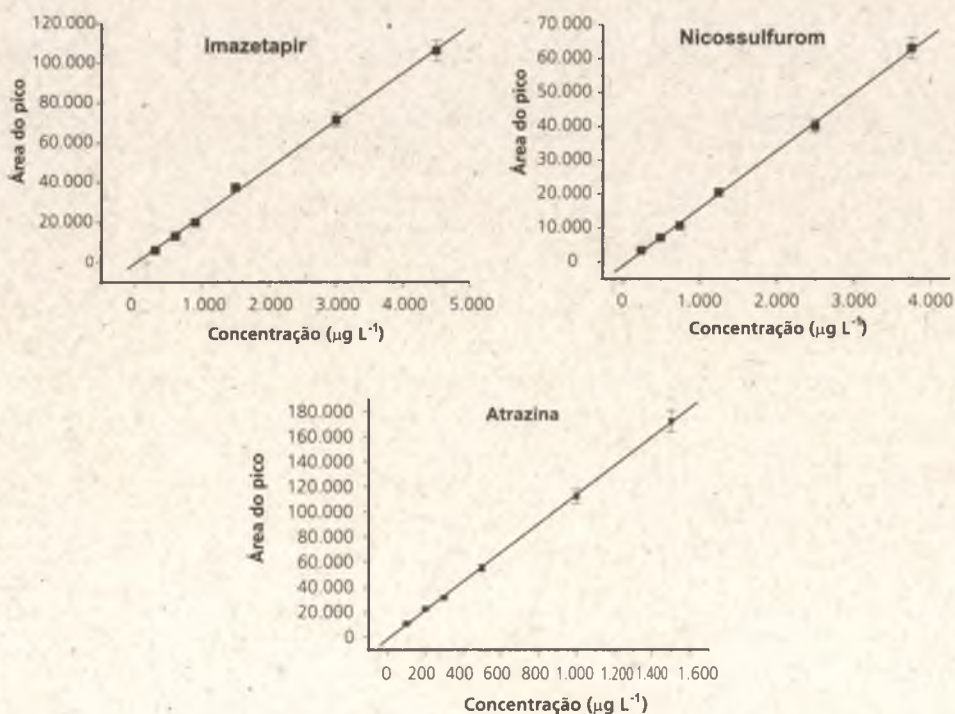
Herbicida	LOD <sup>a</sup> ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	LOQ <sup>a</sup> ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	LOD <sup>b</sup> ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	LOQ <sup>b</sup> ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )
Imazetapir	90	300	0,3	1,0
Nicossulfurom	75	250	0,2	0,8
Atrazina	30	100	0,09	0,3

300 mL de água, que foram concentrados a 1 mL, resultando em um fator de concentração de 300 vezes. Os valores de LOQ do método para cada pesticida foram calculados com base nesse fator de concentração. O LOQ do método desenvolvido deve estar abaixo do Limite Máximo de Resíduo (MRL) definido pelas legislações de cada país, para cada matriz e para cada herbicida. A US-EPA definiu para a atrazina um MRL, em água potável, de 3  $\mu\text{g L}^{-1}$  (EPA, 2006).

Não foram encontrados em nenhuma legislação nacional ou internacional os MRL para os três herbicidas individuais, tanto em águas subterrâneas quanto em águas superficiais. Para águas superficiais, foi encontrado apenas uma faixa de tolerância para agrotóxicos individuais que, em geral, varia de 1 a 3  $\mu\text{g L}^{-1}$  (BROUWER et al., 1994; SLOBODNÍK et al., 1997). Os LOQ do método para os três herbicidas estão abaixo dessa faixa, sendo portanto aceitáveis.

Na Fig. 2. São apresentadas as curvas analíticas construídas para cada um dos padrões dos herbicidas.

Os parâmetros de regressão linear, o coeficiente de correlação ( $r$ ) e os parâmetros das curvas analíticas estão apresentados na Tabela 4.



**Fig. 2.** Curvas analíticas, obtidas com os pontos 1, 2, 3, 5, 10 e 15 x o LOQ do instrumento para (a) Imazetapir, (b) Nicossulfurom e (c) Atrazina.

**Tabela 4.** Curva analítica e linearidade para os herbicidas estudados.

Herbicida	Curva analítica			Linearidade ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )
	a (intercepto)	b (inclinação)	r	
Imazetapir	-617	24	0,9995	300 – 4.500
Nicossulfurom	-1.382	17	0,9995	250 – 3.750
Atrazina	-1.788	115	0,9998	100 – 1.500

O valor do parâmetro r permite uma estimativa da qualidade da curva obtida, pois quanto mais próximo de 1,0, menor a dispersão do conjunto de pontos experimentais e menor a incerteza dos coeficientes de regressão estimados. Um coeficiente de correlação maior que 0,999 é considerado como evidência de um ajuste ideal dos dados para a linha de regressão (RIBANI et al., 2004). A Anvisa recomenda um coeficiente de correlação (ANVISA, 2002). Os resultados obtidos estão de acordo com ambos requisitos. A curva analítica mostrou um bom intervalo de linearidade.

A Tabela 5 mostra os resultados de recuperações e precisão (repetitividade e precisão intermediária) do método desenvolvido.

Os valores de recuperação foram muito bons, pois variaram de 91 % a 105 %, ficando dentro da faixa aceitável (70 % – 130 %). Os resultados de repetitividade e precisão intermediária mostraram boa precisão, com valores de CV de 0,9 % a 4,2 % ( $n = 3$ ) e 1,8 % a 2,5 % para os três pesticidas estudados, respectivamente.

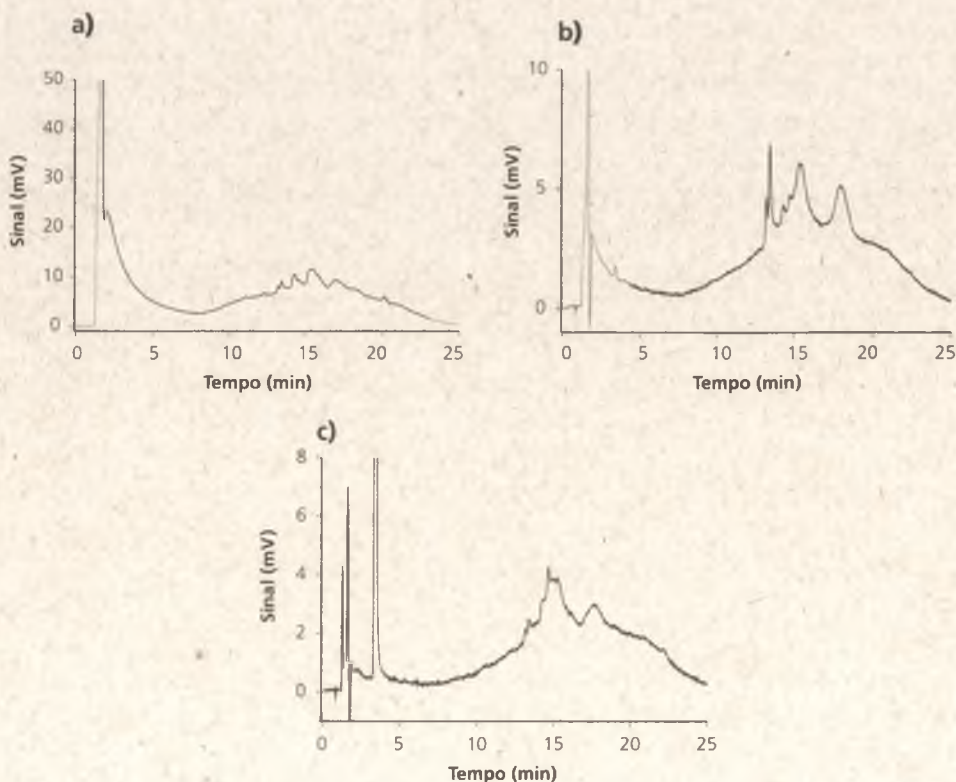
**Tabela 5.** Recuperações ( $n = 3$ ), precisão (repetitividade,  $n = 3$ ) e precisão intermediária ( $n = 3$ ) para os herbicidas em água; níveis de fortificação: F1 (1 x LOQ), F2 (2 x LOQ), F3 (10 x LOQ).

Herbicida	Recuperação (%)			Repetitividade CV (%)			Precisão intermediária CV (%)
	F1	F2	F3	F1	F2	F3	
Imazetapir	96	94	100	3,1	4,2	0,9	2,5
Nicossulfurom	91	94	105	3,1	1,4	1,4	2,0
Atrazina	101	96	88	2,5	2,1	2,7	1,8

O método desenvolvido para a determinação dos herbicidas estudados apresentou-se eficiente e atingiu os requisitos necessários para que pudesse ser utilizado nas suas análises em águas superficiais.

### Monitoramento dos herbicidas

Nas Fig. 3a, 3b e 3c são mostrados os cromatogramas de três amostras de água coletadas em março de 2005, na profundidade de 1 m, nos seguintes pontos: a) P1 - Três Irmãos, b) P2 - Holândia e c) P3 - Graúna.



**Fig. 3.** Cromatogramas de extratos de águas coletadas em março de 2005, na profundidade de 1 m, nos pontos: a) P1 – Faz. Três Irmãos, b) P2 – Faz. Holândia e c) P3 – Faz. Graúna. Condições cromatográficas semelhantes às da Fig. 1.

Observando-se os cromatogramas, pode-se perceber que não foi encontrado nenhum dos herbicidas estudados. Todas as amostras descritas na Tabela 1 foram analisadas e em nenhuma delas foi detectada a presença dos herbicidas, como pode ser visto na Tabela 6.

**Tabela 6.** Concentrações ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) dos herbicidas imazetapir, nicossulfurom e atrazina nas amostras de água do lençol freático coletadas nas nascentes do Rio Araguaia, GO/MT.

Pontos <sup>(1)</sup>	Herbicidas		
	Imazetapir	Nicossulfurom	Atrazina
1 – Três Irmãos (GO)	< LOD	< LOD	< LOD
2 – Holândia (MT)	< LOD	< LOD	< LOD
3 – Graúna (MT)	< LOD	< LOD	< LOD

<sup>(1)</sup> Resultados obtidos para amostras coletadas em dezembro de 2005 e em fevereiro e março de 2006 nas profundidades de 1 m, 2 m e 3 m em cada ponto.

LOD – limite de detecção do equipamento.

## Conclusões

Após a otimização de variáveis como condições de separação no cromatógrafo a líquido e do procedimento de extração, EFS, o método para separação e identificação dos herbicidas imazetapir, nicossulfurom e atrazina foi desenvolvido e validado, preenchendo os requisitos básicos para sua aplicação na análise de amostras reais.

Utilizando a CLAE com detector por arranjo de diodos, foi possível fazer a separação e quantificação dos pesticidas. As vantagens da CLAE em relação à CG devem-se principalmente às dificuldades da CG em analisar algumas classes de resíduos que possuem instabilidade térmica e que não são voláteis, como é o caso do imazetapir e do nicossulfurom. O emprego do detector por arranjo de diodos proporcionou o registro simultâneo dos cromatogramas no comprimento de onda de máxima absorção para cada componente, permitindo a sua quantificação na maior detectabilidade, forneceu o espectro de absorção no UV de cada composto, que auxiliou na sua identificação, e também avaliou a pureza do pico cromatográfico.

O procedimento de extração utilizado proporcionou uma boa limpeza (retenção dos interferentes no cartucho) da amostra e também possibilitou o isolamento e a concentração dos analitos, com fator de concentração de 300 vezes. A EFS mostrou-se vantajosa em relação à ELL, que é técnica mais simples e instituída há mais tempo, a mais utilizada pelos métodos padronizados de análise e baseia-se na partição dos analitos entre uma fase aquosa e um solvente orgânico de baixa polaridade. A EFS apresentou as vantagens de ser mais rápida, de utilizar menores volumes de solvente orgânico e de não ter problemas com a formação de emulsão.

O cartucho C18 forneceu melhores recuperações em relação ao cartucho de DVB. Os pesticidas imazetapir, nicossulfurom e atrazina e outros foram determinados em água por Vigna et al. (2006), utilizando cartuchos lab-made C8 imobilizado. O método também foi validado com ótimos resultados de exatidão (recuperação) e precisão, mostrando que o cartucho lab-made C8 pode ser uma boa alternativa ao cartucho C18 comercial usado neste trabalho.

As recuperações obtidas na validação, nos três níveis de fortificação, ficaram dentro da faixa aceitável (70 %–130 %), variando apenas de 91 % a 105 %. Os ensaios de repetitividade e precisão intermediária para os três pesticidas apresentaram coeficientes de variação bem abaixo do limite aceito de 15 %. Os resultados de LOQ do método para o imazetapir, nicossulfurom e atrazina,  $1 \mu\text{g L}^{-1}$ ,  $0,8 \mu\text{g L}^{-1}$  e  $0,3 \mu\text{g L}^{-1}$  respectivamente, foram satisfatórios, considerando que se trata de água superficial e não potável. Recentemente, algumas publicações reportaram a quantificação desses mesmos pesticidas, em água, em níveis de nanogramas por litro, utilizando-se a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada à Espectrometria de Massas (LAGANÀ et al., 1998; BATTASGLIN et al., 2000; FURLONG et al., 2000). Entretanto, esse equipamento é de alto custo e apresenta baixa disponibilidade na maioria dos laboratórios de análises ambientais. Dessa forma, neste projeto foram utilizados equipamentos de menor custo, que possibilitaram o desenvolvimento de um método analítico suficientemente seletivo e sensível, o qual pode ser empregado para o monitoramento rotineiro de agrotóxicos estudados em amostras de água do lençol freático.

As análises de amostras reais de água do lençol freático coletadas na região das nascentes do Rio Araguaia, GO/MT, não detectaram a presença dos herbicidas estudados até dezembro de 2006, quando foram encerradas as atividades de monitoramento.

## Referências

- ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RE nº 475, de 19 de março de 2002. Determina a publicação do Guia para validação de métodos analíticos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 20 mar. 2002.
- ASSOCIAÇÃO GRUPO DE ANALISTAS DE RESÍDUOS DE PESTICIDAS. **Manual de resíduos de pesticidas em alimentos**. São Paulo: GARP, 1999. Apostila.
- BATTAGLIN, W. A.; FURLOG, E. T.; BURKHARDT, M. R.; PETER, C. J. Occurrence of sulfonylurea, sulfonamide, imidazolinone, and other herbicides in rivers, reservoirs and ground water in the Midwestern United States, 1998. **Science of the Total Environment**, [Amsterdam] v. 248, n. 2, p. 123-134, 2000.
- BROUWER, E. R.; STRUYS, E. A.; VREULS, J. J.; BRINKMAN, U. A. Th. Automated determination of pyrethroid insecticides in surface water by column liquid chromatography with diode array UV detection, using on-line micelle-mediated sample preparation. **Fresenius Journal for Analytical Chemistry**, [Berlin], v. 350, n. 7-9, p. 487-495, 1994.
- CALDAS, E. D.; SOUZA, L. C. K. R. Avaliação de risco crônico da ingestão de resíduos de pesticidas na dieta brasileira. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v. 34, n. 5, p. 529-537, 2000.
- EPA. Environmental Protection Agency.. **Consumer fact sheet on: Atrazine**. Disponível em: <<http://www.epa.gov/safewater/dwh/c-soc/atrazine.html>>. Acesso em: 15 fev. 2006.
- DORES, E. F. G. C.; DE-LAMONICA-FREIRE, E. M. Contaminação do ambiente aquático por pesticidas. estudo de caso: águas usadas para consumo humano em primavera do leste, mato grosso – análise preliminar. **Química Nova**, São Paulo, v. 24, n.1, p. 27-36, 2001.
- FERRACINI, V. L.; PESSOA, M. C. Y. P.; SILVA, A. S.; SPADOTTO, C. A. Análise de risco de contaminação das águas subterrâneas e superficiais da região de Petrolina (PE) e Juazeiro (BA). **Pesticidas; Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 11, p. 1-6, 2001.
- FILIZOLA, H. F.; FERRACINI, V. L.; SANS, L. M. A.; GOMES, M. A. F.; FERREIRA, C. J. A. Monitoramento e avaliação do risco de contaminação por pesticidas em água superficial e subterrânea na região de Guairá. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, DF, v. 37, n. 5, p. 659-667, 2002.
- FONT, G.; MAÑES, J.; MOLTÓ, J. C.; PICO, Y. Solid-phase extraction in multi-residue pesticide analysis of water. **Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 642, n. 1, p. 135-161, 1993.
- FURLONG, E. T.; BURKHARDT, M. R.; GATES, P. M.; WERNER, S. L.; BATTAGLIN, W. A. Routine determination of sulfonylurea, imidazolinone, and sulfonamide herbicides at nanogram-per-liter concentrations by solid-phase extraction and liquid chromatography/mass spectrometry. **Science of the Total Environment**, [Amsterdam], v. 248, n. 2, p. 135-146, 2000.



HATRÍK, S.; TEKEL, J. Extraction methodology and chromatography for the determination of residual pesticides in water. **A Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 733, p. 217-233, 1996.

HUBER, L. Validation of analytical methods: review and strategy. **LC/GC International**, v. 11, n. 2, p. 96-105, 1998.

IBÁÑEZ, M.; PICÓ, Y.; MAÑES, J. On-line liquid chromatographic trace enrichment and high performance liquid chromatographic determination of diquat, paraquat and difenzoquat in water. **A Journal of Chromatography**, [Chester], v. 728, n. 1, p. 325-331, 1996.

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONIZATION. **Validation of analytical procedures**: definitions and terminology. London: EMEA, 1995a. Q2A (CPMP/ICH/381/95),

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONIZATION (ICH). **Validation of analytical procedures**: methodology. London: EMEA, 1995b. Q2B (CPMP/ICH/281/95),

LAGANÀ, A.; FAGO, G.; MARINO, A. Simultaneous determination of imidazolinone herbicides from soil and natural waters using soil column extraction and off-line solid-phase extraction followed by liquid chromatography with UV detection or liquid chromatography/electrospray mass spectroscopy. **Analytical Chemistry**, Washington, v. 70, n. 1, p. 121-130, 1998.

LANÇAS, F. M. **Extração em fase sólida - SPE**. São Carlos: Ed. Rima, 2004. 93 p.

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**, São Paulo, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

SABIK, H.; JEANNOT, R.; RONDEAU, B. Multiresidue methods using solid-phase extraction techniques for monitoring priority pesticides, including triazines and degradation products, in ground and surface waters. **A Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 885, p. 217-236, 2000.

SLOBODNÍK, J.; LOUTER, A. J. H.; VREULS, J. J.; LISKA, I.; BRINKMAN, U. A. Th. Monitoring of organic micropollutants in surface water by automated on-line trace-enrichment liquid and gas chromatographic systems with ultraviolet diode-array and mass spectrometric detection. **A Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 768, n. 2, p. 239-258, 1997.

TOLOSA, I.; READMAN, J. W.; MEE, L. D. Comparison of the performance of solid-phase extraction techniques in recovering organophosphorus and organochlorine compounds from water. **A Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 725, n. 1, p. 93-106, 1996.

HOFF, R. G. van der; VAN ZONEN, P. Trace analysis of pesticides by gas chromatography. **A Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 843, n. 1, p. 301-322, 1999.

VIGNA, C. R. M.; MORAIS, L. S. R.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F. Poly(Methyloctylsiloxane) immobilized on silica as a sorbent for solid-phase extraction of some pesticides. **A Journal of Chromatography**, Amsterdam, v. 1114, n. 2, p. 211-215, 2006.