

1 Professor Doutor, Departamento de Agronomia, Universidade Estadual de Maringá. CEP 87020-900, Maringá, PR.

2 - Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, 36571-000, Viçosa, MG

3 - Departamento de Química, Universidade Federal de Viçosa, 36571-000, Viçosa, MG.

Aceito para publicação em: 01/12/2001.

## RESUMO

Este trabalho descreve um procedimento analítico por colorimetria com a finalidade de detectar baixas concentrações do herbicida ametrine. A partir de amostras de água, foi feita a extração sequencial com n-pentano, HCl e diclorometano, utilizando-se um padrão técnico de ametrine (98,19% puro). A absorvância na faixa do UV (200-300 nm) foi estabelecida, com um pico característico em 240 nm. Uma curva de calibração foi preparada, demonstrando o relacionamento linear entre absorvância e a concentração de ametrine na faixa de concentração de 1 a 4 ppm. O método descrito pode potencialmente ser utilizado para detectar resíduos de ametrine em amostras de água ou solo.

**Palavras-chave:** Ametrine, herbicida, resíduos.

## ABSTRACT

### COLORIMETRIC TECHNIQUE TO DETECT LOW CONCENTRATIONS OF AMETRYN HERBICIDE

This paper describes a colorimetric analytical procedure developed to detect low concentrations of the herbicide ametryn. From water samples, a sequential water extraction was undertaken with n-pentane, HCl and methyl chloride, using ametryn analytical grade (98.19% pure). Absorbance in UV range (200-300 nm) was established, with a typical peak at 240 nm. A calibration curve prepared showed a linear relationship between absorbance and ametryn concentration within the concentration range of 1 to 4 ppm. The described method may potentially be used to detect residues of ametryn in water or soil samples.

**Key-words:** Ametryn, herbicide, residues.

## INTRODUÇÃO

A introdução do grupo das triazinas como herbicidas comercialmente importantes ocorreu a partir de 1955, embora elas já tivessem sido sintetizadas desde 1855. Estes compostos atuam, de maneira geral, inibindo a fotossíntese em doses muito baixas. A exposição das raízes a concentrações de 0,25 a 1,00 ppm pode parar toda a atividade fotossintética (HIGGINS & BURNS, 5).

No ambiente edáfico, os microrganismos são responsáveis pela degradação destes compostos, mas o processo é lento, uma vez que a meia-vida das triazinas no solo pode chegar a 10-12 meses (BAILEY et al., 1978). Resíduos de herbicidas do grupo das triazinas têm sido detectados em vários compartimentos da biosfera como o solo (SNEGAROFF, 1979) sedimentos aquáticos (TUCKER & BOYD, 1981), águas provenientes de escoamento superficial (HIRANPRADIT & FOY, 6), lençol freático (LAWERENZ, 1983) e águas fluviais (BENADIKOVA & KALVODA, 1984).

A larga utilização das triazinas resultou na necessidade de desenvolvimento de métodos sensíveis, rápidos

e confiáveis para a determinação de seus resíduos. Diversos métodos têm sido utilizados para a detecção destes resíduos, entre eles a cromatografia líquido gasosa (GREEN et al., 1977), cromatografia gasosa (RAMSTEINER et al., 1974), cromatografia de camada fina (LAWERENZ, 1983) e a polarografia (BENADIKOVA & KALVODA, 1984; LIPPOLIS & CONCIALINI, 1988).

Entre os métodos disponíveis, o colorimétrico é um dos mais simples, rápidos e baratos. KNÜSLI et al. (1964) foram os primeiros a apresentar esta técnica, a qual sofreu posteriormente contribuições de RAGAB & McCOLLUM (1968). VICKREY et al. (1980) demonstraram que, no caso das triazinas, o método colorimétrico pode ser tão ou mais eficiente do que o método cromatográfico de alta performance na detecção de resíduos.

O objetivo deste trabalho foi o de desenvolver o espectro de absorção de ametrine, e preparar a curva padrão obedecendo à Lei de Beer, verificando a possibilidade de aplicação desta curva à detecção analítica de resíduos do produto em amostras de água.

## MATERIAL E MÉTODOS

### 1. Obtenção do espectro de absorção do padrão de ametrine

O presente método foi desenvolvido a partir da metodologia proposta por KNÜSLI et al. (1964), com modificações. O padrão de ametrine (98,19% de pureza) foi fornecido pela Milenia Agrociências. Uma amostra de 1 mg de ametrine foi pesada e posteriormente diluída para 100 ml em balão volumétrico (10 ppm) e agitada vigorosamente para garantir completa solubilização. Usando-se 50 ml desta solução como amostra, foi seguida a seguinte sequência:

A. 1ª extração: A amostra foi colocada num primeiro funil de separação de 500 ml contendo 200 ml de n-pentano. A seguir, adicionou-se 70 ml de HCl 0,1 N, agitando-se três vezes. Formou-se, então, uma mistura heterogênea bifásica: na parte superior encontrava-se o n-pentano e abaixo a mistura homogênea de ácido+amostra. Após filtração, coletou-se o primeiro extrato. Repetiu-se a extração com HCl por mais duas vezes, coletando-se os extratos separadamente. Num segundo funil de separação, contendo 100 ml de n-pentano, colocou-se um extrato por vez, agitando-se três vezes e filtrando a seguir. Os três filtrados foram, então, combinados num único recipiente (~ 260 ml).

B. 2ª Extração: A re-extração foi feita com a adição de 50 ml de diclorometano destilado aos extratos combinados num terceiro funil de separação, seguindo-se agitação vigorosa por três vezes. Formou-se, novamente, uma mistura heterogênea de duas fases: a superior era constituída pelo filtrado ácido e a inferior pelo diclorometano com ametrine. A extração com diclorometano foi repetida por mais duas vezes da mesma forma. Os três extratos (~150 ml) são coletados num

único balão de fundo chato de capacidade de 250 ml.

C. **Evaporação:** O balão contendo o diclorometano foi levado ao rota- evaporador a 40 °C até total evaporação.

D. **Solubilização do resíduo seco:** Ao resíduo seco foi acrescentado exatamente 10 ml de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1 N. O balão foi levado ao banho-maria (55 °C) por três horas. Durante este período o balão deve ser agitado com certa frequência e mantido com tampa frouxa, principalmente no início do período, de modo que se evite a formação de pressão no interior do balão.

E. **Leitura de absorvância:** Após a retirada do banho-maria, deve-se agitar a amostra e deixá-la resfriar (5'). A amostra foi diluída (1:10) e levada para leitura de absorvância. Em função da rápida degradação da cor, a leitura deve ser feita imediatamente. O espectro de absorção na faixa do ultra-violeta (200 a 300 nm) foi determinado em espectrofotômetro modelo Hitachi 2000, de duplo feixe, medindo-se a absorvância em intervalos de 2 nm, com célula de quartzo de 1 cm de largura. Neste comprimento de onda, o aparelho trabalha com uma lâmpada de deutério, sendo o detector composto de fotodiodos de sílica.

F. **"Branco":** Adotou-se, neste trabalho, um volume de 50 ml de água deionizada para servir como "branco" na leitura de absorvância, passando-o pelo processo anteriormente descrito.

## 2. Curva de calibração

A curva de calibração foi feita a partir de uma solução-padrão de ametrine de 5 mg/100 ml (50 ppm). A partir de uma amostra de 50 ml, obteve-se a solução de ametrine hidrolisada em H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (10 ml). Tomou-se uma alíquota de 5 ml e completou-se o volume com água deionizada para 25 ml (concentração: 10 ppm); uma segunda alíquota de 2 ml foi diluída para 10 ml (10 ppm). Da primeira diluição, procedeu-se a novas diluições tomando-se alíquotas de 1, 2, 3, 4, 5 e 6 ml, completando-se o volume para 10 ml (respectivamente 1, 2, 3, 4, 5 e 6 ppm). O volume restante foi utilizado como uma amostra de 10 ppm. Da segunda diluição (10 ppm), retira-se 7 ml, colocando-se num outro balão de 10 ml e completando o volume (7 ppm).

A absorvância foi lida a 240 nm, obtendo-se leituras de 9 pontos (0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 10 ppm). Os valores de absorvância obtidos foram analisados por regressão linear de modo a estabelecer os limites de linearidade entre absorvância e concentração da amostra, segundo a lei de Lambert-Beer.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

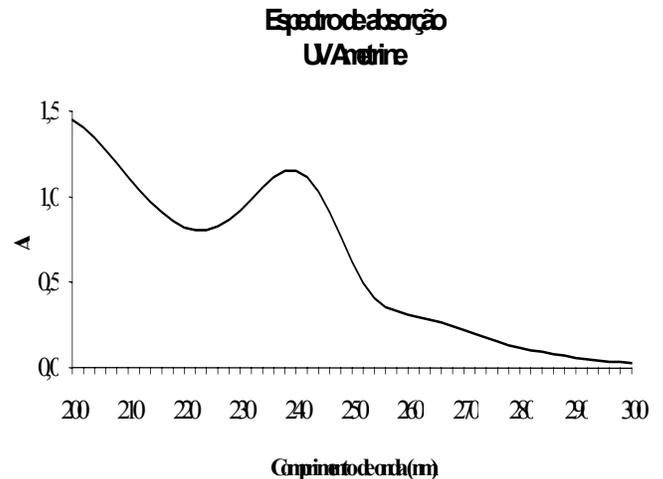
O espectro de absorção do ametrine no ultra-violeta encontra-se na Figura 1, onde é possível observar-se um pico bastante pronunciado em 240 nm.

BENVENUTO (1983) utilizando esta mesma técnica para estudar a adsorção e a lixiviação de fluometuron em alguns tipos de solos e sedimentos, encontrou pico semelhante. Considera-se que este tipo de determinação pode ser utilizada para outros compostos aromáticos orgânicos, cuja estrutura molecular contenha o anel benzeno para sistemas heterocíclicos (WEBER & WILKINSON, 1971).

Verificando os coeficientes de determinação obtidos por diferentes equações de regressão linear (Tabela 1) e levando-se em conta a faixa de erro mínimo para leituras espectrofotométricas, estabeleceu-se que entre os limites de 1 e

4 ppm a absorvância estaria diretamente relacionada à concentração da solução em análise, pela relação  $Y = -0,21 + 0,3784 X$ , onde  $Y =$  Concentração de ametrine, em mol/L e  $X =$  Absorvância.

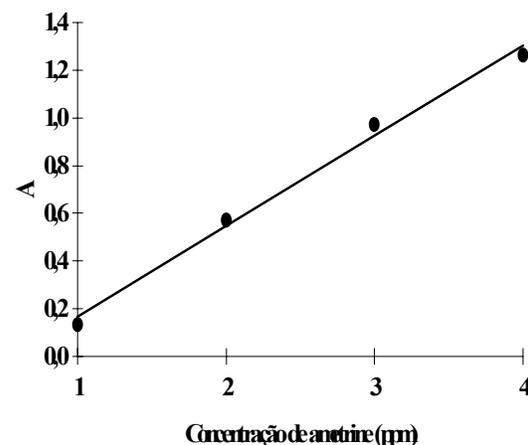
**Figura 1** - Espectro de absorção no ultra-violeta (200-300 nm) de um padrão de ametrine.



Na Figura 2 encontra-se a curva-padrão de absorvância de ametrine a 240 nm, a qual foi estabelecida após a análise de diferentes combinações das concentrações das soluções-padrão (Tabela 1).

Com base nas absorvâncias registradas nas soluções-padrão (Tabela 2), determinou-se a absorvidade molar média (63606,49). Segundo este princípio, a absorvância (A) de um composto específico é diretamente proporcional à absorvidade molar (a), ao tamanho da célula pelo qual o feixe luminoso deve atravessar (b), e à concentração molar do soluto, segundo a equação  $A = abc$ .

**Figura 2** - Curva-padrão de absorvância de ametrine a 240 nm.



Como o tamanho da célula é fixo (1 cm), as concentrações são conhecidas e as absorvâncias foram determinadas, a absorvidade molar pode ser facilmente determinada. Houve uma variação grande para as

absortividades das diferentes concentrações. Sabe-se, no entanto, que para um mesmo composto este deveria ser um valor constante. BENVENUTO (3) sugeriu que pequenas variações na temperatura ou no pH da solução por efeito da

ionização de compostos poderiam interferir nas leituras de absorvância, e, conseqüentemente, na determinação da absortividade.

**Tabela 1** - Parâmetros do ajuste de diferentes equações de regressão para os valores de absorvância observados em função da concentração nas soluções-padrão.

Pontos considerados (ppm)									Parâmetros da regressão				
0	1	2	3	4	5	6	7	10	r <sup>2</sup>	a	b	t*	F <sub>regressão</sub> *
X	X	X	X	X	X	X	X	X	97,32	0,0270	0,2744	15,95	254,44
X	X	X	X	X	X	X	X		97,18	-0,0402	0,2994	14,38	206,95
X	X	X	X	X	X	X			96,65	-0,0002	0,2794	12,02	144,63
X	X	X	X	X	X				95,43	-0,0177	0,2899	9,14	83,55
X	X	X	X	X					97,75	-0,0762	0,3338	11,42	130,44
X	X	X	X						95,55	-0,0742	0,3318	6,55	42,03
	X	X	X	X	X	X	X	X	96,43	-0,0341	0,2733	12,73	162,07
		X	X	X	X	X	X	X	96,02	0,1488	0,2563	10,99	120,93
			X	X	X	X	X	X	94,63	0,2277	0,2453	8,40	70,61
				X	X	X	X	X	92,48	0,2162	0,2468	6,07	36,91
	X	X	X	X	X	X	X		96,19	-0,0782	0,3070	11,24	126,52
		X	X	X	X	X	X		94,30	-0,0217	0,2883	8,13	66,18
	X	X	X	X	X	X			94,87	-0,0117	0,2821	8,60	74,01
	X	X	X	X	X				92,89	-0,0516	0,2992	6,26	39,23
	X	X	X	X					99,20	-0,2100	0,3784	15,80	249,66

\* Todos os valores são significativos a 5% de probabilidade, respectivamente pelo teste t e pelo teste F.

**Tabela 2.** Teste da equação de Lambert-Beer (A=abc) para determinação da absortividade molar das soluções de ametrine (Dados: comprimento da célula 1 cm; P.M. ametrine 228,34).

Soluções-padrão utilizadas		Absorvância a 240 nm	Absortividade molar
Ppm	mol/L		
0	0	0,013	-
1	4,38 x 10 <sup>-6</sup>	0,135	30826,17
2	8,76 x 10 <sup>-6</sup>	0,573	65419,98
3	13,14 x 10 <sup>-6</sup>	0,973	74058,92
4	17,52 x 10 <sup>-6</sup>	1,263	72098,98
5	21,89 x 10 <sup>-6</sup>	1,286	73411,95
6	26,27 x 10 <sup>-6</sup>	1,624	61804,56
7	30,65 x 10 <sup>-6</sup>	2,196	71634,15
10	43,79 x 10 <sup>-6</sup>	2,610	59597,26
			média = 63606,49

## CONCLUSÕES

O espectro de absorção de ametrine na faixa do ultravioleta mostrou um pico característico em 240 nm. A absorvância tomada neste comprimento de onda possibilitou a elaboração de uma curva-padrão na faixa de 1 a 4 ppm, com elevado coeficiente de determinação. Em função de sua simplicidade, o método colorimétrico de determinação de ametrine pode potencialmente ser usado para detecção deste composto em baixas concentrações.

## AGRADECIMENTO

Os autores expressam seu agradecimento à Milenia Agrocências pela cessão do padrão analítico de ametrine.

## LITERATURA CITADA

- BAILEY, R.A.; H.M. CLARKE; J.P. FERRIS; S. KRAUSE; R.L. STRONG, 1978. **Chemistry of the environment**. New York, Academic Press. p.183-184.
- BENADIKOVA, H. e R. KALVODA, 1984. Adsorptive stripping voltammetry of some triazine- and nitro-group

- containing pesticides. **Analytical Letters**, 17(13):1519-1531.
- BENVENUTO, J.G. **Efeito de componentes mineralógicos e orgânicos de alguns latossolos na adsorção do herbicida fluometuron**. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1983. 94 p. (Dissertação de mestrado)
- GREEN, R.E; K.P. GOSWAMI; M. MUKHTAR; H.Y. YOUNG, 1977. Herbicides from cropped watersheds in stream and estuarine sediments in Hawaii. **Journal of Environmental Quality**, 6(2):145-154.
- HIGGINS, I.J. e R.G. BURNS, 1975. **The chemistry and microbiology of pollution**. New York, Academic Press. p.24.
- HIRANPRADIT, H. e C.L. FOY, 1974. Atrazine in run-off water and effects of four triazines on selected non-target species. In: ANNUAL MEETING OF THE WEED SCIENCE SOCIETY OF AMERICA, 24., **Abstracts**, Lawrence, WSSA. p.70-71.
- KNÜSLI, E. Atrazine. In: ZWEIG, G., 1964. **Analytical methods for pesticides, plant growth regulators, and food additives. Vol. IV**. New York, Academic Press. p. 33-36.
- LAWERENZ, A., 1983. Analysis of triazine herbicides in water by thin-layer chromatography. **Acta Hydrochimica et Hydrobiologica**, 11(3):347-350.
- LIPPOLIS, M.T. e V. CONCIALINI, 1988. Differential pulse polarographic determination of the herbicides atrazine, prometryne and simazine. **Talanta**, 35(3):235-236.
- RAGAB, M.T.H. e J.P. McCOLLUM, 1968. Colorimetric methods for the determination of simazine and related chloro-s-triazines. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, 16(2):284-289.
- RAMSTEINER, K.; W.D. HORMANN e D.O. EBERLE, 1974. English multiresidue method for the determination of triazine herbicides in field-grown agricultural crops, water, and soils. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, 57(1):192-201.
- SNEGAROFF, J., 1979. Pesticide residues in lysimeters in a humiferous sandy soil of the Landes. **Phytiatrie Phytopharmacie**, 28(2):123-132.
- TUCKER, C.S. e C.E. BOYD, 1981. Relationships between pond sediments and simazine loss from waters of laboratory systems. **Journal of Aquatic Plant Management**, 19:55-57.
- VICKREY, T.M.; D.L. KARLESKY e G.L. BLACKMER, 1980. Colorimetry and high performance liquid chromatography of atrazine residues in soil: comparison of methods. **Journal of the Association of Official Analytical Chemists**, 63(3):506-510.
- WEBER, J.B. e R.E. WILKINSON, 1971. Chemical analysis of herbicides. In: WILKINSON, R.E. **Research methods in Weed Science**. Southern Weed Science Society, USA. p.121-144.
-