EMANUEL CARVALHO DE ASSIS

SORÇÃO, DESSORÇÃO E LIXIVIAÇÃO DO PICLORAM EM SOLOS BRASILEIROS

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
2009

Livros Grátis

http://www.livrosgratis.com.br

Milhares de livros grátis para download.

EMANUEL CARVALHO DE ASSIS

SORÇÃO, DESSORÇÃO E LIXIVIAÇÃO DO PICLORAM EM SOLOS BRASILEIROS

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: 18 de dezembro de 2009.

Prof. Cláudio Ferreira Lima
(Coorientador)

Prof. Luiz Cláudio de Almeida Barbosa
(Coorientador)

Dr. Leonardo D'Antonino

Profª. Maria Eliana L. R. de Queiroz

Prof. Antonio Alberto da Silva
(Orientador)

Aos meus pais Sebastião e Sara,

A minha irmã Camila,

E a todos meus familiares e amigos

Pela confiança, apoio e torcida,

Dedico este trabalho.

AGRADECIMENTOS

A Deus que me deu força, inteligência e proteção durante todo o tempo. Agradeço também a minha grande companheira de todos os momentos e que foi fundamental na realização desse curso, minha motocicleta. Andamos juntos milhares de quilômetros nesse período.

Ao Professor Antônio Alberto da Silva, pela oportunidade, confiança, compreensão nos momentos difíceis, e principalmente, por todos os incentivos e elogios que me estimulavam ainda mais.

Aos Professores Luiz Cláudio de Almeida Barbosa e Cláudio Ferreira Lima, pela Co-orientação.

Aos professores Maria Eliana L. R. de Queiroz e Antônio Augusto Neves pela cessão das dependências do LAQUA para realização de parte dos experimentos, pela atenção sempre que necessária, pelos momentos de aprendizado e de descontração, e ainda mais pela grande amizade.

Ao CNPq, pela concessão de bolsa de estudo.

Ao grande companheiro Leonardo d'Antonino na execução dos experimentos, resolução de imprevistos e pela orientação.

À equipe do Laboratório de Química Analítica (LAQUA).

À equipe do Laboratório de Análise e Síntese de Agroquímicos (LASA).

À todos meus amigos da UFV pelo companherismo – Flaviane, Vânia, Juliana, Odilaine, Gevany, Simone, Elenice.

À Marisa, pela atenção e prontidão ao atender-me sempre que precisei.

À Shisley por todas as gargalhadas e todos os ensinamentos.

À Érica, por todas as orientações, discussões e várias gargalhadas inesquecíveis.

Ao técnicos Luís Henrique Lopes de Freitas e José Luís Pereira, pela boa vontade e disponibilidade de sempre ajudar nas montagens de experimento e execução das análises.

A um grande amor, que se foi, mas foi importante.

À minha família e a todos que torceram e torcem por mim.

Muito obrigado a todos.

BIOGRAFIA

EMANUEL CARVALHO DE ASSIS, filho de Sebastião de Assis Pacheco e Sara Maria Carvalho de Assis, nascido na cidade de Caratinga, Minas Gerais, em 03 de agosto de 1981.

Em dezembro de 2005, graduou-se em Química e em Dezembro de 2006 concluiu sua especialização Lato Sensu em Ensino de Química, ambos pelo Centro Universitário de Caratinga, Minas Gerais, Brasil.

Em Fevereiro de 2007 Iniciou o Programa de Pós-Graduação em Agroquímica/ Química Analítica em nível de Mestrado, na Universidade Federal de Viçosa, submetendo-se à defesa de dissertação em 18 de Dezembro de 2009.

ÍNDICE

Observa-se nas figuras acima que os cromatogramas referentes aos brancos das matrizes isentas do herbicida não apresentam picos interferentes no mesmo tempo de retenção do composto analisado o que torna a metodologia seletiva. 30

RESUMO

ASSIS, Emanuel Carvalho de, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, dezembro de 2009. **Sorção, dessorção e lixiviação do picloram em solos brasileiros.** Orientador: Antônio Alberto da Silva. Coorientadores: Luiz Cláudio de Almeida Barbosa e Cláudio Ferreira Lima.

Neste trabalho, a técnica de extração sólido-líquido para a determinação do herbicida picloram em solos foi otimizada e validada. Em seguida avaliou-se a sorção, dessorção e lixiviação do picloram em solos brasileiros cultivados com pastagens. Na etapa de otimização da técnica, foi empregado um Argissolo Vermelho-Amarelo, com 3,10 dag kg^{-1} de matéria orgânica e pH igual a 4,96. Alguns parâmetros como a proporção solo: solução extratora, tipo e tempo de agitação, força iônica e pH da solução extratora foram otimizados. O método otimizado foi validado determinando-se a seletividade, linearidade, limites de detecção e quantificação, precisão e exatidão. A metodologia ESL mostrou-se eficiente para análise dos resíduos do agrotóxico estudado, com porcentagens de recuperação acima de 90 %. Além disso, a metodologia apresentou extratos limpos, não necessitando de etapas de *"clean up"* para análise cromatográfica. Os parâmetros avaliados no processo de validação (seletividade, limite de detecção, limite de quantificação, linearidade, precisão e exatidão) indicaram que a metodologia ESL é eficiente para a extração dos resíduos de picloram nos solos estudados, apresentando limites de detecção e quantificação iguais a 20,0 e 66,0 µg kg^{-1} para o solo AVA assim como 40,0 e 132,0 µg kg^{-1} para o solo LVA respectivamente. Os coeficientes de variação (CV) foram iguais a 2,32 e 2,69 para

os solos AVA e LVA respectivamente. Para os estudos de sorção foi utilizado o método "*Batch equilibrium*" onde, soluções padrão do herbicida foram preparadas em $CaCl_2$ 0,01 mol L^{-1} e adicionadas a 2,00 g de solo com posterior agitação por 24 h. Após isso, o sobrenadante foi filtrado e o picloram, nele contido, quantificado por cromatografia líquida de alta eficiência. O coeficiente de sorção (Kf_a) e de dessorção (Kf_d) foram determinados com a utilização das isotermas de Freundlich. A ordem crescente dos coeficientes de sorção foi: LVA < AVA. Essa ordem confirma a influência do pH do solo e do teor de matéria orgânica na sorção do picloram. Observou-se também que os valores de Kf_d observados foram superiores aos Kf_a, e que o oposto foi verificado para o parâmetro n caracterizando assim o fenômeno de Histerese (H). A ordem crescente para o índice de histerese do picloram nos solos estudados foi LVA < AVA, significando que o solo AVA apresenta menor dessorção do herbicida anteriormente sorvido. No estudo da lixiviação do picloram foram utilizadas colunas de PVC de 10 cm de diâmetro por 50 cm de comprimento, preenchidas com amostras do solo em estudo sendo estas umedecidas próximas à capacidade de campo para posterior aplicação do herbicida. Foram simuladas chuvas (20, 40 e 80 mm) no topo dessas colunas. Após a drenagem das colunas, foram coletadas amostras do solo para a análise cromatográfica e para a semeadura da planta indicadora (*Cucumis sativus*) para o teste biológico. As amostras de solo coletadas em diferentes profundidades das colunas foram conduzidas ao laboratório para extração e quantificação do herbicida. Foram encontrados resíduos de picloram até 10, 15 e 25 cm de profundidade nas colunas submetidas a 20, 40 e 80 mm de chuva respectivamente. Concluiu-se que maiores volumes de chuva resultaram numa maior lixiviação do picloram pelas colunas de solo. Verificou-se boa concordância entre o bioensaio e a análise cromatográfica, sendo possível quantificar o herbicida nas profundidades onde foi possível perceber intoxicação das plantas indicadoras. Concluiu-se também que o picloram apresenta baixa sorção e alta mobilidade, sendo um importante contaminante ambiental, com grande potencial de contaminação de águas superficiais e subterrâneas.

ABSTRACT

ASSIS, Emanuel de Carvalho, M.Sc., Unversidade Federal de Viçosa, December, 2009. **Sorption, desorption and leaching of picloram in Brazilian soils.** Advisor: Antonio Alberto da Silva. Co- Advisors: Luiz Claudio de Almeida Barbosa and Claudio Ferreira Lima.

In this work, the technique of solid-liquid extraction for the determination of the herbicide picloram in soils has been optimized and validated. Then we evaluated the sorption, desorption and leaching of picloram in Brazilian soils planted with grass. In step optimization technique, was used an Ultisol, with 3.10 dag kg-1 of organic matter and pH 4.96. Some parameters as the ratio soil: solution extraction, type and time of agitation, ionic strength and pH of extraction solution were optimized. The optimized method was validated by determining the selectivity, linearity, limits of detection and quantification, precision and accuracy. The ESL methodology proved efficient for analysis of residues of pesticides studied, with percentages of recovery above 90%. Furthermore, the methodology presented cleaner extracts, which requires no steps to "clean up" for chromatography. The parameters evaluated in the validation process (selectivity, detection limit, quantification limit, linearity, precision and accuracy) indicated that the ESL methodology is efficient for the extraction of residues of picloram in soils, with limits of detection and quantification of 20.0 and 66.0 mg kg^{-1} soil for the AVA as well as 40.0 and 132.0 mg kg^{-1} soil for the LVA respectively. The coefficients of variation (CV) were equal to 2.32 and 2.69 for soils AVA and LVA respectively. For sorption studies were performed using the "Batch

equilibrium" where the herbicide standard solutions were prepared in $CaCl_2$ 0.01 mol L^{-1} and added to 2.00 g soil with subsequent shaking for 24 h. After that, the supernatant was filtered and picloram, contained therein, quantified by liquid chromatography with high efficiency. The sorption coefficient (Kf_A) and desorption (Kf_D) were determined using the Freundlich isotherms. The order of the sorption coefficients were: LVA < AVA. This order confirms the influence of soil pH and organic matter on sorption of picloram. It was also observed that the values of Kf_D were observed above the Kf_A, and that the opposite was found for the parameter n characterizing the phenomenon of hysteresis (H). The increasing order for the index of hysteresis of picloram in soils was LVA < AVA, meaning that the soil has less AVA desorption of previously sorbed herbicide. In the study of leaching of picloram were used PVC columns of 10 cm in diameter and 50 cm long, filled with soil samples in this study is wetted to field capacity for subsequent herbicide application. Were simulated rainfall (20, 40 and 80 mm) on top of these columns. After drainage of the columns were collected soil samples for chromatographic analysis and for the sowing of the indicator plant (Cucumis sativus) for biological testing. Soil samples collected at different depths of the columns were sent to the laboratory for extraction and quantification of the herbicide. Residues have been found picloram to 10, 15 and 25 cm depth in columns subjected to 20, 40 and 80 mm of rain respectively. It was concluded that larger amounts of rain resulted in a greater leaching of picloram by soil columns. There was good correlation between the bioassay and chromatographic analysis, it is possible to quantify the herbicide in the depths where it was possible to detect intoxication of indicator plants. It was also concluded that picloram low sorption and high mobility, is an important environmental contaminant, with great potential for contamination of surface water and groundwater.

1. INTRODUÇÃO GERAL

O agronegócio é hoje a principal atividade econômica brasileira, respondendo por cerca de 34% do produto interno produto (PIB) e também por cerca de 38% dos empregos formais. Tanto a pecuária de corte quanto a de leite têm contribuído para tais resultados, e de acordo com o levantamento realizado pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, o Brasil produziu em 2008, 27,579 bilhões de litros de leite que juntamente com a carne bovina e a carne de frango, formam juntos o grupo dos principais produtos de origem animal produzidos no Brasil (IBGE, 2009). O rebanho bovino brasileiro é formado por cerca de 202 milhões de cabeças, tendo grande possibilidade de aumentar ainda mais. A produção pecuária seja de corte ou de leite, tem como base de sustentação as pastagens, pois, essas representam fonte de alimento de menor custo e eficiente energeticamente. (Paulino et al. 2002).

A carne brasileira possui boa aceitação no mercado internacional já que é vista como carne barata, "verde", segura e de qualidade. As condições naturais propícias ao desenvolvimento da pecuária de corte, aliadas à melhoria das técnicas de produção, modernização das indústrias, combate a enfermidades, trabalhos de promoção e marketing, levaram o Brasil em 2003, ao posto de maior exportador de carne bovina do mundo (Pires, W., 2006). Já que a base de sustentação dessa atividade é a pastagem, é de suma importância sua manutenção em condições adequadas de produção. Porém, o que se observa na prática é a predominância de pastagens degradadas (Santos, M.V. et al., 2006).

Dentre os vários fatores que contribuem para a degradação das pastagens e, a consequente baixa produtividade, destaca-se o seu manejo inadequado. Isso ocorre devido a falta de assistência técnica especializada, plantio de espécies forrageiras não adaptadas ao solo e ao clima, perda de fertilidade dos solos por erosão e por falta de adubação, pragas e doenças, e principalmente infestação das pastagens por plantas daninhas de folhas largas (Pires, W., 2006).

O problema da infestação das pastagens por plantas daninhas está ligado à grande capacidade que essas possuem de competir pelos fatores de crescimento, como luz, água, gás carbônico e nutrientes. Além dessas características, a grande

produção de sementes e facilidade de propagação, a germinação desuniforme das mesmas durante o ano e dormência, o crescimento mais rápido e a reprodução por partes vegetativas fazem com que as plantas causem grandes prejuízos às pastagens (Silva e Silva, 2007). Desta forma, essas plantas promovem a queda da capacidade de suporte da pastagem, aumentando o tempo de formação e de recuperação do pasto, podendo causar ferimentos e/ou intoxicação aos animais, além de comprometerem a estética da propriedade (Tuffi Santos, L.D. et al. 2004; Silva et al., 2002).

No manejo de plantas daninhas em qualquer cultura ou em pastagens, objetiva-se inibir seu desenvolvimento e/ou provocar sua morte mantendo a integridade da lavoura ou das plantas forrageiras. Segundo Silva e Silva (2007), o manejo dessas plantas pode ser realizado através do controle preventivo, cultural, mecânico, físico, biológico e químico. De acordo com os autores, estes diferentes tipos de controle devem ser realizados de maneira integrada, constituindo-se o que se denomina manejo integrado de plantas daninhas.

Todavia, devido ao baixo custo e eficácia do método químico, este vem sendo empregado de forma intensa e abusiva, gerando grande preocupação devido aos problemas de contaminação ambiental (Santos, M.V. et al., 2006). A utilização de herbicidas em pastagens gera ainda mais preocupação, pois, a maioria desses produtos apresenta baixa sorção e longo período residual no solo, podendo causar danos às culturas subsequentes, contaminar águas superficiais e subsuperficiais. Podem também intoxicar outras culturas cuja adubação foi realizada com esterco bovino proveniente de pastagens tratadas com esses produtos (Silva et al., 2007).

O Brasil é um dos maiores consumidores de agrotóxicos do mundo tendo as vendas alcançado R$ 8,6 bilhões no mercado brasileiro de janeiro a dezembro deste ano. Aproximadamente 45,0% deste total pertence à classe dos herbicidas (ANDEF, 2009).

Após a aplicação, grande parte dos herbicidas terá como destino final o solo, onde ficarão sujeitos a processos de degradação, sorção e movimentação tendo como resultados a absorção do produto pelas plantas, a lixiviação para camadas subsuperficiais do solo, a degradação ou a formação de resíduos ligados (Prata e Lavorenti, 2000).

Dentre os componentes do solo a matéria orgânica parece ter importante papel na persistência, degradação, biodisponibilidade e lixiviação de muitos herbicidas (Javaroni, R. et al. 1999). Outro fator físico-químico importante na sorção e meia-vida de herbicidas em solos é o pH (Ferri et al., 2000 e Barcelos, 2008). O pH altera o estado de ionização das moléculas de herbicidas iônicos, gerando cargas elétricas positivas e/ou negativas, influenciando a adsorção dos herbicidas aos colóides orgânicos e minerais do solo (Silva e Silva, 2007). Em consequência disso, a degradação, a persistência e a atividade do herbicida são afetados pelo pH do solo, pois este altera a quantidade de produto que poderá estar disponível para a absorção das plantas (Bailey e White, 1970; Locke e Bryson, 1997).

Dentre os herbicidas registrados para pastagens no Brasil, destaca-se o picloram. Este normalmente é aplicado em misturas com os herbicidas 2,4-D ou fluroxypyr (Silva e Silva, 2007).

O picloram é fisicamente adsorvido em partículas de argila e matéria orgânica presentes nos solos. Se o solo é pobre em argila ou em matéria orgânica, pode ser facilmente escorrido superficialmente ou lixiviado para águas subterrâneas (US EPA, 1999; D'Antonino, L. et al. 2009). Adsorção crescente do picloram tem sido associada a solos com baixos valores de pH e a níveis altos de matéria orgânica (Hamaker et al., 1966; Grover, 1971).

O risco ambiental de um determinado herbicida é determinado pela sua toxicidade à vida selvagem, sua mobilidade e a sua persistência no ambiente, condições climáticas, freqüência e taxa de aplicação. Com o objetivo de avaliar todos esses riscos, métodos analíticos sensíveis e seletivos são necessários. Os métodos cromatográficos para a determinação de resíduos de picloram no solo e água são os mais comumente utilizados (Cheng,H.H., 1971; McCaall et al., 1972; Biggar & Cheung, 1973; McKone, C.E. et al., 1974; Wells, M.J.M. et al., 1984; Wells, M.J.M. et al., 1987; Krzyszowska, A.J. et al., 1994; Bovey & Richardson, 1991; Lavy, et al., 1996; Bruner, F. et al., 1996; Tan, L.K. et al., 1996; Wells, M.J.M. et al., 2000; Celis, R. et al., 2002; Celis, R. et al., 2005). Técnicas espectroscópicas (Cheng, H.H., 1969; Hang, S.B. et al., 1996), de cintilação líquida (Farmer, W.J. et al., 1974), voltametria de onda quadrada (Santos, L. B. O. et al., 2007) e ensaios biológicos são também utilizados.

No Brasil a preocupação com o processo de distribuição e degradação de um herbicida após a sua aplicação é recente (Oliveira Jr. et al., 2001; Andréa & Luchini, 2002). Esse problema se torna ainda mais grave quando se constata que são raros os estudos de comportamento de herbicidas em solos tropicais (D'Antonino, L. et al. 2009).

O objetivo deste trabalho inicialmente foi adaptar, otimizar e validar a técnica de extração sólido-líquido para a determinação do picloram em solos. Numa segunda etapa avaliou-se a sorção e potencial de lixiviação desse herbicida em solos brasileiros, visando definir quais os riscos de contaminação dos mananciais de águas subterrâneas por esse herbicida.

1.1 LITERATURA CITADA

ANDEF - Associação Nacional de Defesa Vegetal. Disponível em: <http://www.andef.com.br/home/>. Acesso em: 08.12.2009.

ANDREA; M.M.; LUCHINI, L. C. Comportamento de pesticidas em solos brasileiros: a experiência do Instituto Biológico/SP. Sociedade Brasileira de Ciência do Solo - Boletim Informativo, v.27, n.2, p.22-24, 2002.

BAILEY, G. W.; WHITE, J. L. Factors influencing the adsorption, desorption and movement of pesticides in soil. Residue Reviews, v. 32, n.1, p. 29-92, 1970.

BARCELOS, S. R. A. Avaliação da sorção, dessorção, meia vida e lixiviação do ametryn em Argissolo Vermelho-Amarelo e Latossolo Vermelho-Amarelo. 2008. 82p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.

BIGGAR, J. W.; CHEUNG, M. W. Adsorption of picloram (4-amino-3,5,6-trichloropicolinic acid) on Panoche, Ephrata, and Palouse soils: a thermodynamic approach to the adsorption mechanism. Soil Sci. Soc. Amer. Proc., v. 37, p. 863-868, 1973.

BOVEY, R. W.; RICHARDSON, C. W. Organic Chemicals in the Environment. Dissipation of clopyralid and picloram in soil and seep flow in the Blacklands of Texas. J. Environ. Qual., v. 20, n. 3, p. 528-531, 1991.

BRUNER, F.; BERLONI, A.; PALMA, P. Determination of acidic chlorinated pesticides in water: comparison of official EPA method 515.1 and liquid-solid extraction HPLC/UV and HPLC/PBMS analyses. Chromatographia, v. 43, n. 5/6, p. 279-284, 1996.

CELIS, R.; HERMOSIN, M. C.; CORNEJO, L.; CARRIZOSA, M. J.; CORNEJO, J. Clay-herbicide complexes to retard picloram leaching in soil. Intern. J. Environ. Anal. Chem., v. 82, n. 8-9, p. 503-517, 2002.

CELIS, R.; HERMOSIN, M. C.; REAL, M.; CORNEJO, J. Sorption and leaching behavior of polar aromatic acids in agricultural soils by batch and column leaching tests. European Journal of Soil Science, v. 56, p. 287-297, 2005.

CHENG, H. H. Extraction and colorimetric determination of picloram in soil. J. Agr. Food Chem, v. 17, n. 6, p. 1174-1175, 1969.

CHENG, H. H. Picloram in soil: extraction and mechanism of adsorption. Bulletin of Environmental Contamination & Toxicology, v. 6, n. 1, p. 28-33, 1971.

D'ANTONINO, L., SILVA, A.A., FERREIRA, L.R., CECON, P.R., FRANÇA, A.C., SILVA, G.R. Lixiviação do picloram em Argissolo-Vermelho Amarelo e Latossolo Vermelho-Amarelo com diferentes valores de pH. Planta Daninha, Viçosa-MG, v. 27, n. 3, p. 589-600, 2009.

FARMER, W. J.; AOCHI, Y. Picloram sorption by soils. Soil Sci. Soc. Amer. Proc., v. 38, p. 418-423, 1974.

FERRI, M. V. W., VIDAL, R. A., MEROTTO JR., A. FLECK, N. G. Atividade dos herbicidas flumetsulam e trifluralin em diferentes valores de pH e densidade do solo. Ciência Rural, v.30, n.1, p. 11-14, 2000.

GROVER, R. Adsorption of picloram by soil colloids and various other adsorbents. Weed Science, v. 19, p. 417-418, 1971.

HAMAKER, J. W., GORING, C. A. I., YOUNGSON, C. R. Sorption and leaching of 4-amino-3,5,6-trichloropicolinic acid in soils. Advan. Chem. Ser. V. 60, p. 23-37, 1966.

HANG, S. B., FERREIRO, E. A., BUSSETTI, S. G. Picloram adsorption-desorption by soils and other pure adsorbents. Eurasian Soil Science, v. 29, n. 7, p. 775-782, 1996.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: < http://www.ibge.gov.br/home/>. Acesso em: 01.11.2009.

JAVARONI, R.C.A; LANDGRAF, M.D. e REZENDE, M.O.O. Comportamento dos herbicidas atrazina e alachlor aplicados em solo preparado para o cultivo de cana-de-açúcar. Quimica Nova, v. 22, n. 1, p. 58-64, 1999.

KRZYSZOWSKA, A.J.; VANCE, G. F. Solid-phase extraction of dicamba and picloram from water and soil samples for HPLC analysis. J. Agric. Food. Chem., v. 42, p. 1693-1696, 1994.

LAVY, T. L.; MATTICE, J. D.; MASSEY, J. H.; SKULMAN, B. W.; SENSEMAN, S. A.; GBUR, Jr., E. E.; BARRETT, M. R. Long-term in situ leaching and degradation of six herbicides aged in subsoils. J. Environ. Qual., v. 25, n. 6, p. 1268-1279, 1996.

LOCKE, M. A.; BRYSON, C. T. Herbicide-soil interactions in reduced tillage and plant residue management systems. Weed Science, v. 45, n. 2, p. 307-320, 1997.

MACEDO, M. C. M.; RICHEL, A. N.; ZIMMER, A. H. Z. Degradação e alternativas de recuperação e renovação de pastagens. Campo Grande: EMBRAPA – MCNPGC, 2000. 4 p. (Comunicado Técnico 62).

McCALL, H. G.; BOVEY, R. W.; McCULLY, M. G.; MERKLE, M. G. Asorption and desorption of picloram, trifluralin, and paraquat by ionic and nonionic exchange resins. Weed Science, v. 20, n. 3, 1972.

McKONE, C. E.; COTTERILL, E. G. Extraction of picloram residues from a sandy loam soil. Bulletim of Environmental Contamination & Toxicology, v. 11, n. 3, 233-237, 1974.

OLIVEIRA JR., R. S; KOSKINEN, W. C; FERREIRA, F. A. Sorption and leaching potential of herbicides in brazilian soils. Weed Res. v. 41, p. 97-110, 2001.

PIRES, W. Manual de pastagem: formação, manejo e recuperação. Aprenda Fácil Editora, 1ª ed. Viçosa, MG, 2006.

PRATA, F. e LAVORENTI, A. Comportamento de herbicidas no solo: influência da matéria orgânica. Rev. Biociênc., v.6, n.2, p.17-22, 2000.

SANTOS, L. B. O.; MASINI, J. C. Determination of picloram in natural waters employing sequential injection square wave voltammetry using the hanging mercury drop electrode. Talanta, v. 72, p. 1023–1029, 2007.

SANTOS, M.V., FREITAS, F.C.L., FERREIRA, F.A., VIANA, R.G., TUFFI SANTOS, L.D. E FONSECA, D.M. Eficácia e Persistência no Solo de Herbicidas Utilizados em Pastagem. Planta Daninha, Viçosa-MG, v. 24, n. 2, p. 391-398, 2006.

SILVA, A. A.; WERLANG, R. C.; FERREIRA, L. R. Controle de plantas daninhas em pastagens. In: Simpósio sobre Manejo Estratégico da Pastagem, 1., 2002, Viçosa. Anais...Viçosa: SBZ, 2002. p. 273-310.

SILVA, A.A.; SILVA, J. F. Tópicos em manejo de plantas daninhas. Editora UFV, 1ª ed. Viçosa, MG, 2007.

TAN, L. K.; HUMPHRIES, D.; YEUNG, P. Y. P.; FLORENCE, L. Z. Determinations of clopyralid, picloram, and silvex at low concentration is soils by

calcium hydroxide-water extraction and gas chromatography measurement. J. Agric. Food Chem., v. 44, p. 1135-1143, 1996.

TUFFI SANTOS, L.D., SANTOS, I.C., OLIVEIRA, C.H., SANTOS, M.V., FERREIRA, F.A. E QUEIROZ, D.S. Levantamento fitossociológico em pastagens degradadas sob condições de várzea. Planta Daninha, Viçosa-MG, v. 22, n. 3, p. 343-349, 2004.

U.S. EPA (United States Environmental Protection Agency). Picloram: Time-Limited Pesticide Tolerances. Federal Register. 64(2), p. 418-425, 1999.

WELLS, M. J. M.; MICHAEL, J. L.; NEARY, D. G. Determination of picloram in soil and water by reversed-phase liquid chromatography. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, v. 13, p. 231-235, 1984.

WELLS, M. J. M.; MICHAEL, J. L. Recovery of picloram and 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid from aqueous samples by reversed-phase solid-phase extraction. Anal. Chem., v. 59, p. 1739-1742, 1987.

WELLS, M. J. M.; YU, L. Z. Solid-phase extraction of acidic herbicides. Journal of Chromatography A, v. 885, p. 237-250, 2000.

2 - OTIMIZAÇÃO E VALIDAÇÃO DA TÉCNICA EXTRAÇÃO SÓLIDO-LÍQUIDO PARA A DETERMINAÇÃO DO PICLORAM EM SOLOS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA.

2.1 RESUMO

O objetivo deste trabalho foi otimizar e validar a técnica extração sólido-líquido (ESL) para a determinação de resíduos do herbicida picloram em amostras de solos. Na etapa de otimização, as condições ideais para extração em amostras de solo foram determinadas de forma univariada. Foram avaliados a proporção solo:solução extratora, tipo e tempo de agitação, força iônica e pH da solução extratora. A partir dos parâmetros otimizados, propõe-se como metodologia de extração e análise do picloram pesar 2,00 g de solo seco ao ar e passado por uma peneira de malha de 2,0 mm de poro, adicionar 20,0 mL de solução de KCl na concentração igual a 0,5 mol L^{-1}, agitar o frasco em agitador vortex por 10 segundos para a formação da suspensão e ajustar o pH desta para 7,00, com solução alcalina KOH 0,1 mol L^{-1}. Agitar o sistema em agitador vertical por 60 minutos e posteriormente deixar em repouso por 10 minutos. Em seguida, os frascos são centrifugados durante 10 minutos a 3.500 rpm. Após a decantação das partículas do solo e a limpeza do extrato sobrenadante, uma alíquota é retirada e encaminhada à análise por cromatografia líquida de alta eficiência. O método otimizado foi validado determinando-se a seletividade, linearidade, limites detecção e quantificação, precisão e exatidão. A metodologia ESL mostrou-se eficiente para análise dos resíduos do agrotóxico estudado, com porcentagens de recuperação acima de 90 %. Apresentou limites de detecção e quantificação iguais a 20,0 e 66,0 µg kg^{-1} para o solo AVA assim como 40,0 e 132,0 µg kg^{-1} para o solo LVA. Os coeficientes de variação (CV) foram iguais a 2,32 e 2,69 para os solos AVA e LVA respectivamente. Além disso, a metodologia apresentou baixo consumo de solventes orgânicos e extratos limpos, não necessitando de etapas de purificação para análise cromatográfica. Os parâmetros avaliados no processo de validação indicaram que a metodologia ESL é eficiente para a extração dos resíduos de picloram nos solos estudados, apresentando baixos limites de detecção e quantificação.

2.2 ABSTRACT

OPTIMIZATION AND VALIDATION OF TECHNICAL SOLID-LIQUID EXTRACTION FOR THE DETERMINATION OF PICLORAM IN SOIL BY HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY.

The objective of this study was to optimize and validate the technique solid-liquid extraction (ESL) for the determination of residues of the herbicide picloram in soil samples. In the optimization stage, the optimal conditions for extraction of soil samples were determined using univariate analysis. We evaluated the ratio soil: solution extraction, type and time of agitation, ionic strength and pH of extraction solution. From the optimized parameters, is proposed as a method of extraction and analysis of picloram weigh 2.00 g of soil dried and passed through a sieve mesh of 2.0 mm pore, add 20.0 mL of KCl concentration of 0.5 mol L-1, shake the bottle in the vortex for 10 seconds to form the suspension and adjust to the pH of 7.00, with alkaline KOH 0.1 mol L-1. Shake the shaker system for 60 minutes and then let stand for 10 minutes. Then, the bottles are centrifuged for 10 minutes at 3,500 rpm. After settlement of soil particles and cleaning of the extract supernatant, an aliquot is withdrawn and sent to analysis by liquid chromatography with high efficiency. The optimized method was validated by determining the selectivity, linearity, detection and quantification limits, precision and accuracy. The ESL methodology was efficient for analysis of residues of pesticides studied, with percentages of recovery above 90%. Presented limits of detection and quantification of 20.0 and 66.0 mg kg-1 soil for the AVA as well as 40.0 and 132.0 mg kg-1 soil for the AVL. The coefficients of variation (CV) were equal to 2.32 and 2.69 for soils AVA and TH respectively. Furthermore, the methodology presented low organic solvent consumption and cleaner extracts, which requires no purification steps for chromatographic analysis. The parameters evaluated in the validation process indicated that the ESL methodology is efficient for the extraction of residues of picloram in soils, with low limits of detection and quantification.

2.3 INTRODUÇÃO

Uma das principais características da pecuária brasileira é a grande disponibilidade de pastagens naturais, a qual permite a produção de carne e leite de forma competitiva em termos de qualidade e com menor custo de produção (Santos, M.V. et al., 2006). Porém grande parte dessas pastagens apresenta algum estágio de degradação. Isso vem ocorrendo devido ao manejo inadequado, perda de fertilidade do solo e falta de adubação, além da carência de assistência especializada. (Pires, W, 2006).

A degradação das pastagens favorece o aparecimento de inúmeras espécies de plantas daninhas. Essas plantas competem pelos fatores de crescimento tais como água, macro e micronutrientes, dióxido de carbono e luz. Essa competição é muito forte porque as plantas daninhas apresentam características inatas que as tornam mais eficientes em relação às culturas. Essas plantas produzem quantidade de sementes com germinação desuniforme, apresentam dormência, têm grande facilidade de propagação, reproduzem-se por partes vegetativas e têm capacidade de liberar substâncias alelopáticas no solo, as quais podem inibir o desenvolvimento de outras espécies em suas proximidades (Silva e Silva, 2007).

Um dos principais herbicidas registrados no Brasil para o combate de plantas daninhas em pastagens é o picloram (ácido-4-amino-3,5,6-tricloro-2-piridinocarboxílico - Figura 1). Esse herbicida é amplamente utilizado sozinho ou em combinações para controlar plantas daninhas dicotiledôneas de porte arbóreo, arbustivo e sub-arbustivo (Rodrigues e Almeida, 2005).

O picloram é um herbicida piridínico que atua como regulador do crescimento de plantas, mimetizando hormônios auxínicos naturais ou o hormônio ácido indolacético, inibindo a síntese de proteínas. É considerado um herbicida de caráter aniônico. O picloram é tóxico às plantas de folhas largas, apresentando seletividade nas culturas gramíneas (D'Antonino, L. et al. 2009), sendo o herbicida mais persistente da família das piridinas (Santos, L.B.O. et al., 2007). Apresenta longa persistência no solo, com meia-vida de 90 dias (Rodrigues & Almeida, 2005), podendo ser encontrado até dois ou três anos após a aplicação em área total (Deubert & Corte-Real, 1986). Por apresentar alta solubilidade em água (430 mg L^{-1}) e apresentar longa persistência é considerado um herbicida com alto potencial de contaminação de águas subterrâneas (Silva e Silva, 2007; Inoue et al. 2003).

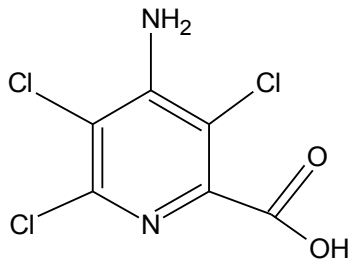


Figura 1 - Picloram: fórmula estrutural.

Estima-se que 1-3% do total de herbicida aplicado chegue ao local de ação (C. Lourencetti et al., 2008). A maior parte desse total atinge o solo e estará sujeita a processos químicos, físicos e biológicos devido à interação com esta matriz. Esses processos afetarão sua persistência, degradação química e microbiológica, que consequentemente afetarão sua mobilidade, adsorção, absorção pelas plantas, volatilização, deriva, escorrimento superficial e lixiviação (C. Lourencetti et al., 2008; Silva et al., 2007).

A avaliação do comportamento de pesticidas nos solos apresenta-se como alternativa na prevenção da contaminação de culturas sucedâneas, de águas superficiais e subterrâneas.

O desenvolvimento e aplicação de metodologias para a determinação de pesticidas no solo encontram alguns obstáculos tais como a concentração dessas substâncias após sua aplicação que pode ser baixa ou alta, os diferentes tipos de interação existentes entre essas moléculas e os colóides do solo, que podem formar interações fracas ou fortes. Podem também ocorrer a falta de padrões analíticos desses pesticidas e principalmente de seus produtos de degradação. Outros fatores que podem afetar a eficácia de um método estão ligados às propriedades dos próprios solos como pH, textura e mineralogia, teor de matéria orgânica e outros componentes presentes no solo que podem ser co-extraídos (C. Lourencetti et al.; 2008).

São várias as metodologias de extração e análise do herbicida picloram em solos e águas encontrados na literatura. No geral, as técnicas cromatográficas são as mais utilizadas (Cheng,H.H., 1969; Cheng,H.H., 1971; McCaall et al., 1972; Biggar & Cheung, 1973; McKone, C.E. et al., 1974; Wells,M.J.M. et al., 1984; Wells,M.J.M. et al., 1987; Bovey & Richardson, 1991; Krzyszowska, A.J. et al., 1994; Lavy, et al., 1996; Bruner, F. et al., 1996; Tan,L.K. et al., 1996;

Wells,M.J.M. et al., 2000; Celis, M. R. et al., 2002; Celis, M. R. et al., 2005). A grande maioria desses trabalhos foi realizada em solos de clima temperado. Esses solos que de certa forma são relativamente jovens e menos intemperizados, apresentam algumas características diferentes daqueles solos mais intemperizados, como os solos brasileiros de clima tropical.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi adaptar, otimizar e validar a técnica de extração sólido-líquido proposta por Cheng, H.H., 1969 e a metodologia de análise proposta por Krzyszowska, A.J. et al., 1994, para a determinação deste herbicida em solos brasileiros, por cromatografia líquida de alta eficiência.

2.4. MATERIAIS E MÉTODOS

2.4.1 Reagentes

O padrão analítico do herbicida picloram (98,5% de pureza) foi obtido através da ChemService (West Chester, PA). Solução estoque (100 mg L^{-1}) e soluções de trabalho em diferentes concentrações foram preparadas em solução de ácido acético 25% e foram estocadas em local escuro e em temperatura ambiente. Ácido Acético (Vetec/HPLC), acetonitrila (Vetec/HPLC), água e reagentes como KCl, NaCl, $CaCl_2$, HCl e NaOH eram todos de grau analítico para análise.

2.4.2 Coleta e Tratamento das Amostras de Solo

As amostras de solo Argissolo Vermelho-Amarelo (AVA) e Latossolo Vermelho-Amarelo (LVA) foram coletadas na profundidade de 0 - 20 cm, em pastagens degradadas sem histórico de aplicação de herbicidas, na região de Viçosa, MG. Esses solos foram escolhidos devido às suas diferenças em relação ao teor de matéria orgânica e pH. Após a coleta, essas amostras foram peneiradas em malha de 4 mm e armazenadas em caixas de polietileno de 1 m^3 de capacidade. Para a otimização e validação da técnica de extração, 500 g de cada solo (terra fina seca ao ar - TFSA), passados em peneira de malha de 2,0 mm e estocados em sacos plásticos até o início dos trabalhos. Essas amostras foram caracterizadas química e fisicamente (Tabela 1).

Tabela 1 - Caracterização físico-química e classificação textural das amostras de solo utilizadas no experimento. Viçosa – MG.

Análise granulométrica					
Solo	Argila	Silte	Areia fina	Areia Grossa	Classificação textural
AVA	26	16	29	29	Franco Argilo-Arenosa
LVA	35	21	30	14	Argilo Arenosa

Análise química										
Solo	pH	P	K^+	Ca^{++}	Mg^{++}	H + Al	CTC total	V	m	MO
	H_2O	(cmol dm^{-2})						(%)		dag kg^{-1}
AVA	4,96	12,1	61	3,2	1,6	4,79	4,96	51	0	3,10
LVA	6,33	124,2	59	12,0	6,6	3,14	18,75	86	0	1,70

Análises realizadas no Laboratório de Análises de Solo Viçosa, segundo a metodologia da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA (1997).

2.4.3 Fortificação das Amostras e Extração

Amostras do solo AVA foram pesadas em balança analítica (Sartorius BP 2215 com precisão de 0,0001 g) em tubos plásticos de tampa rosqueável e fundo cônicos. A massa de solo utilizada nos trabalhos realizados por Cheng (1969) e Krzyszowska, A.J. et al., 1994, era 100,00 g. Com o objetivo de reduzir todos os parâmetros propostos por estes trabalhos, adotou-se neste a massa de 2,00 g de solo.

Essas amostras foram fortificadas com 0,100 mL da solução de trabalho de concentração igual a 10,0 mg L^{-1} , afim de se obter no extrato final, uma concentração igual a 50,0 µg L^{-1} .

Após a fortificação, as amostras foram deixadas em repouso por uma hora para que ocorresse maior interação entre as moléculas do herbicida e o solo. Em seguida, essas amostras foram submetidas ao processo de extração e por fim, definidas as melhores condições para a determinação desse herbicida por cromatografia líquida.

2.4.4 Otimização da Técnica de Extração Sólido-Líquido

Na otimização da técnica de extração, alguns dos principais parâmetros propostos por Cheng, H.H., 1969, foram avaliados separadamente, no que se denomina análise univariada. O solo AVA foi utilizado durante as etapas de otimização.

A solução extratora proposta por Cheng (1969), era uma solução salina formada por KCl, de concentração igual a 2,0 mol L^{-1}, pH igual a 7,00. A proporção solo: solução extratora era de 1:1, utilizando-se 100,0 g de solo e 100,0 mL de solução. O objetivo da otimização foi reduzir a massa de amostras e o volume de solução extratora utilizados na etapa de extração e também os resíduos gerados. Todos os ensaios preliminares foram realizados em triplicata.

2.4.4.1 Parâmetros Otimizados

Para o primeiro ensaio preliminar, foi fixada a massa de 2,00 g de solo AVA, mantida a concentração de 2,0 mol L^{-1} da solução de KCl, pH igual a 5,50 (pH original da solução preparada em água destilada) e então, variou-se a proporção solo:solução extratora. Três diferentes proporções foram avaliadas, 1:2,5, 1:5 e 1:10.

O segundo parâmetro avaliado foi a concentração da solução extratora. Quatro diferentes níveis foram testados, 2,0, 1,0, 0,5, e 0,0 mol L^{-1} de KCl. A massa de 2,00 g e pH igual a 5,50 foram mantidos

O terceiro parâmetro avaliado está relacionado ao pH da solução extratora. Foram testados oito níveis de pH: 1,0, 2,0, 3,0, 4,0, 5,0, 6,0, 7,0 e 8,0. O melhor resultado obtido do ensaio anterior foi mantido.

Outros parâmetros avaliados estão ligados à etapa de agitação, onde dois tipos foram testados, agitação horizontal (mesa agitadora Tecnal TE - 420) e agitação vertical, e o tempo de agitação necessário para a obtenção de melhores porcentagens de extração, que foram de 30 e 60 min. Após a etapa de agitação, os extratos adquiriam coloração alaranjada intensa e inadequada para análise imediata. Como última etapa deste processo as amostras eram centrifugadas por 10 minutos a 3.500 rotações por minuto (rpm) para decantação das partículas e limpeza do extrato.

Em seguida, 1,5 mL do extrato sobrenadante foram retirados, transferidos para uma seringa de vidro de 5,0 mL de capacidade com um filtro milipore de

membrana 0,45 µm de poro anexado em sua ponta. A filtragem do extrato foi feita diretamente em vidros de 1,8 mL de capacidade, armazenados em caixas de isopor em ambiente escuro e temperatura ambiente até o momento da análise por cromatografia líquida.

2.4.5 Análise Cromatográfica

Para a determinação do picloram utilizou-se um aparelho de cromatografia líquida de alta eficiência (Shimadzu LC 20AT), equipado com quatro bombas de saída de solvente, injetor automático (Shimadzu SIL 10AF) com loop de 50µL , detector UV-vis (Shimadzu SPD 20A), forno da coluna (Shimadzu CTO 10ASVP), coluna de aço inox (Shimadzu VP- ODS Shim-pack 150 mm x 4,6 mm i.d.) mantida a temperatura constante de 26 °C. A fase móvel consistia em uma mistura de solução aquosa de ácido acético a 4% e acetonitrila (85:15, v/v) e foi eluída em modo isocrático em taxa de fluxo igual a 1,2 mL min^{-1}. Antes de ser utilizada, a fase móvel foi filtrada em membrana Milipore (Bedford, MA, USA) 0,45 µm. A detecção do pesticida foi realizada a 254 nm.

2.4.6 Análise Qualitativa e Quantitativa

A identificação do picloram nos extratos foi realizada por comparação do tempo de retenção do mesmo nos cromatogramas dos extratos, com o tempo de retenção da solução padrão contendo o mesmo princípio ativo, analisado nas mesmas condições cromatográficas.

A quantificação foi realizada por comparação das áreas dos picos encontrados nas análises com padrões preparados no extrato das matrizes.

2.4.7 Validação do Método Analítico

Para garantir que um novo método analítico gere informações confiáveis e interpretáveis sobre a amostra, ele deve sofrer uma avaliação denominada validação (Ribani, 2004). Existem diversas formas de se conduzir a validação de um método analítico e os principais parâmetros são: seletividade, linearidade de resposta do detector, limite de detecção e quantificação, precisão, exatidão e robustez (INMETRO, 2003).

2.4.7.1 Seletividade

A seletividade do método foi avaliada através da comparação de cromatogramas dos extratos obtidos de amostras de solo isentas do herbicida, denominados brancos, com os cromatogramas dos extratos obtidos da matriz fortificada com o picloram submetida ao procedimento otimizado.

2.4.7.2 Linearidade de resposta do método proposto

A linearidade de resposta do método proposto foi determinada pela injeção de extratos obtidos de amostras fortificadas com o princípio ativo em concentrações crescentes: 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 10,0; 15,0; 20,0; 25,0; 50,0; 100,0 μg L^{-1}. Esses valores de concentração eram valores esperados para o extrato considerando % de recuperação igual a 100 %. Após a análise cromatográfica, foram construídas curvas analíticas, relacionando as áreas do analito com suas respectivas concentrações. A linearidade foi avaliada através da regressão linear destas curvas analíticas.

2.4.7.3 Limite de detecção e limite de quantificação do método

Os Limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) do método foram determinados usando o método da relação sinal/ruído, onde a menor concentração detectada ou quantificada deve ser aquela onde a área é 3 e 10 vezes, respectivamente, a área do ruído do equipamento. Amostras dos solos foram fortificadas para obtenção de extratos nas concentrações decrescentes de 5,0; 4,0; 3,0; 2,0 e 1,0 μg L^{-1}. Esses extratos foram injetados até ser observada a relação sinal/ruído nas proporções de 3:1 e 10:1.

2.4.7.4 Precisão

A precisão do método ESL, foi estimada por um estudo intralaboratorial, avaliando-se a repetitividade e a precisão intermediária.

2.4.7.4.1 Repetitividade

A repetitividade do método ESL para análise de resíduos do picloram em solos brasileiros foi determinada realizando-se a extração do herbicida de amostras fortificadas, cujo extrato final apresentaria concentrações iguais a 10 μg L^{-1} e 20 μg L^{-1} para os solos AVA e LVA respectivamente, valores estes próximos aos limites de quantificação para cada solo seguindo o procedimento

otimizado, em sete repetições, para o cálculo da estimativa do desvio padrão relativo, conforme recomendações do INMETRO (2003).

2.4.7.4.2 Precisão intermediária

Para determinar a precisão intermediária do método ESL, foi realizada em triplicata, nas condições pré-estabelecidas, a extração do herbicida em amostras de solo fortificado, cujo extrato final apresentaria concentrações iguais a 10 $\mu g\ L^{-1}$ e 20 $\mu g\ L^{-1}$ para os solos AVA e LVA respectivamente em três dias diferentes (1°, 7° e 30° dia). A precisão intermediária foi avaliada pela porcentagem de recuperação, estimativa do desvio padrão e do coeficiente de variação, determinados para cada ensaio.

2.4.7.5 Exatidão

Entre as maneiras de avaliar a exatidão de um método do método ESL pode-se recorrer aos ensaios de recuperação.

2.4.7.5.1 Ensaio de recuperação

Nos ensaios de recuperação o picloram foi adicionado aos solos em concentrações próximas a 1, 2 e 5 vezes o limite de quantificação (LQ) do método. Desta forma, os testes foram realizados extraindo-se o analito das amostras de solo. Os valores das recuperações obtidas nos ensaios foram utilizados para avaliar este parâmetro.

2.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.5.1 Análise Cromatográfica

A cromatografia é uma técnica de análise que permite a separação, identificação e quantificação de compostos orgânicos. Neste trabalho, como se trabalhou apenas com um composto de interesse, o processo de separação na verdade envolvia somente a distinção entre os compostos co-extraídos da matriz e o picloram. Estão apresentados na tabela 2, os parâmetros iniciais para a análise propostos por Krzyszowska & Vance, 1994, assim como os parâmetros otimizados neste trabalho.

Tabela 2 - Condições para a análise em cromatografia líquida de alta eficiência propostas por Krzyszowska & Vance, 1994 (A) e por esse trabalho (B).

Fase Móvel	A) Solução ácido acético 4%/acetonitrila (95/5 v/v)	B) Solução ácido acético 4%/acetonitrila (85/15 v/v)
Taxa de Fluxo (mL min^{-1})	1,5	1,2
Comprimento de onda (nm)	254	254
Alcance de absorbância	0,01	0,01
Tempo de Retenção (min)	17	8.10
Loop (µL)	100	50

A otimização de uma técnica visa principalmente, reduzir o tempo, custo e obter maior eficiência. No processo de otimização da análise, com o objetivo de reduzir o volume de solvente utilizado e o tempo de análise, alguns parâmetros foram avaliados e modificados. O primeiro deles foi a taxa de fluxo. O volume de fase móvel eluído por minuto pela coluna proposto por Krzyszowska & Vance, 1994 (1,5 mL min^{-1}) fazia com que substâncias co-extraídas da matriz de solo eluíssem em tempos de retenção muito próximos ao do picloram, fato que dificultava o processo de integração e obtenção da área. Outro fato era a grande pressão gerada na entrada da coluna que, em médio prazo, poderia danificar a coluna de separação, diminuindo seu tempo de vida útil. Portanto, optou-se por diminuir essa taxa de fluxo para 1,2 mL min^{-1}.

O segundo e principal parâmetro modificado foi a composição da fase móvel. Três diferentes proporções foram testadas: 95/5; 90;10 e 85/15 (solução ácido acético 4%/acetonitrila). A composição da fase móvel que proporcionou melhor separação de picos e diminuiu o tempo de retenção de 17 min para 8.10 min foi a proporção 85/15. Esta diminuição no tempo de retenção foi muito importante, pois, além de menor tempo gasto para a realização das análises, menores volumes de resíduos foram gerados para descarte.

O picloram foi identificado pela comparação entre dois cromatogramas, o primeiro gerado pela injeção de um branco, ou seja, solução de ácido acético 25% isenta do herbicida, com outro gerado por uma solução padrão, analisados nas mesmas condições cromatográficas.

A análise cromatográfica dos padrões e da amostra foi realizada de acordo com as condições descritas na tabela 2. Na Figura 2, está apresentado um

cromatograma obtido pela análise de uma solução padrão na concentração de 30,0 µg L^{-1} preparada em solução de ácido acético 25%, com o tempo total de análise de 10 minutos.

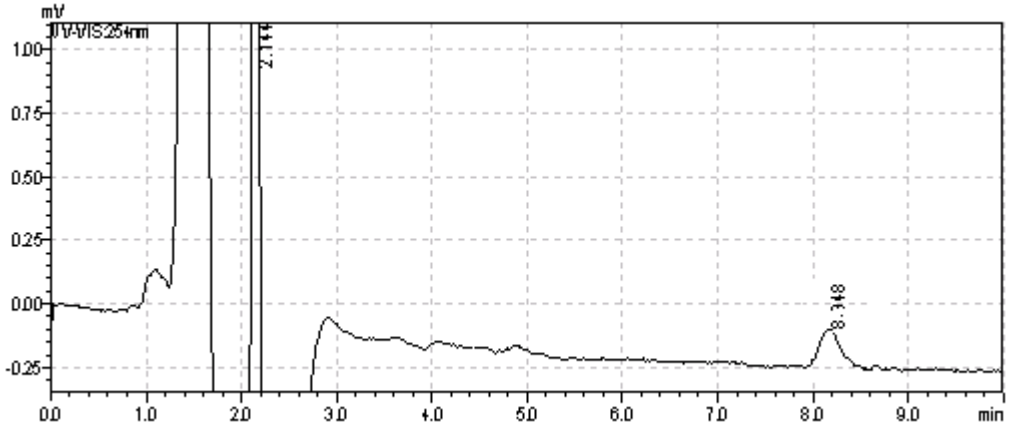


Figura 2 – Resposta do detector em função do tempo em minutos. Cromatograma de uma solução padrão de 30,0 µg L^{-1} do princípio ativo em solução de ácido acético 25%, onde t_R= 8,10 é o picloram.

2.5.2 Curva analítica e linearidade de resposta do detector

A quantificação do picloram foi realizada pelo método de padronização externa, onde se relaciona a área do pico e sua respectiva concentração. Para isto, várias soluções-padrão de diferentes concentrações são preparadas, injetadas no aparelho de cromatografia e as áreas correspondentes às diferentes concentrações são relacionadas e plotadas num gráfico para a obtenção da curva analítica.

As curvas analíticas foram obtidas pela injeção de soluções-padrão em concentrações crescentes (1,0 a 100,0 µg L^{-1}) do picloram preparadas no extrato das matrizes de solo isentas do princípio ativo submetidas ao método de extração otimizado. As curvas analíticas são apresentadas nas figuras 3 e 4.

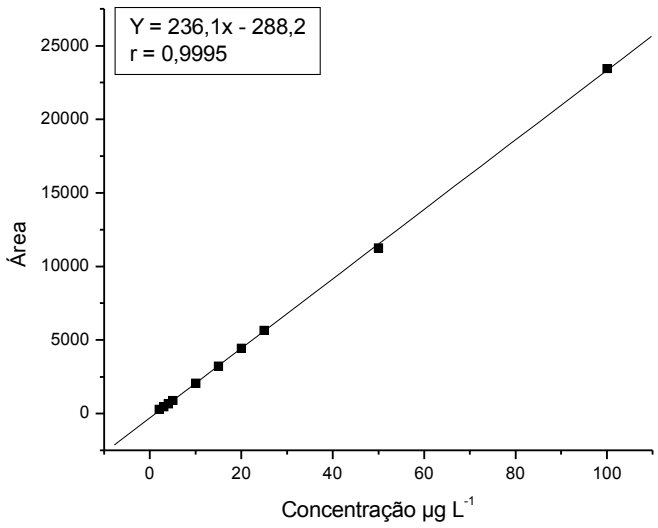


Figura 3 – Curva analítica do picloram preparada no extrato do solo AVA.

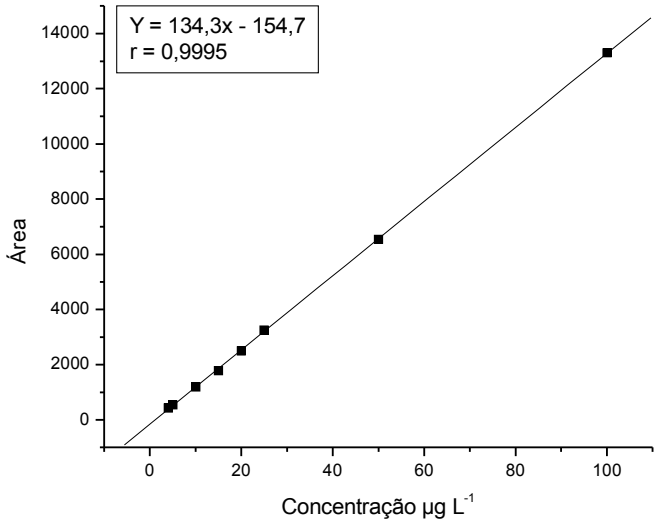


Figura 4 – Curva analítica do picloram preparada no extrato do solo LVA.

A Linearidade da resposta do sistema de detecção foi verificada através da regressão linear dos dados das curvas analíticas.

Um coeficiente de correlação (r) maior que 0,999 é considerado como evidência de um ajuste ideal dos dados para a linha de regressão. A ANVISA recomenda um coeficiente de correlação igual a 0,99 (ANVISA, 2003, Ribani et al, 2004). Logo, observa-se que os valores de r obtidos são maiores que 0,99, indicando que existe uma resposta linear (uma relação direta sinal/concentração) do detector na faixa de 1,0 a 100,0 µg L^{-1} para o analito estudado.

2.5.3 Otimização da técnica extração sólido-líquido

No processo de otimização da técnica de extração sólido-líquido para a determinação do herbicida picloram em solos brasileiros, o primeiro parâmetro otimizado foi a proporção solo:solução extratora. A proposta de Cheng (1969), era a proporção de 1:1 utilizando-se 100,0 g de solo para 100,0 mL de solução extratora. Com o objetivo principal de reduzir o volume de resíduos gerados, adotou-se a massa de 2,00 g de solo mesmo porque, de acordo com (Paula, R. T., 2007), trabalhando-se com elevadas massas de solo, ocorre uma grande extração de substâncias interferentes.

Três diferentes volumes de solução extratora foram avaliados, 5,0 mL, 10,0 mL e 20,0 mL, gerando proporções de 1:2,5, 1:5 e 1:10 respectivamente. O volume de solução extratora que proporcionou melhores porcentagens de recuperação foi 20,0 mL. Isto se deve ao fato de que este volume favoreceu melhor dispersão das partículas do solo na solução, favorecendo o contato entre as moléculas herbicidas e a solução. Volumes menores não permitiram essa melhor dispersão e, portanto foram menos eficazes no processo de extração. As porcentagens de recuperação obtidas estão descritas na tabela 3.

Tabela 3 – Porcentagens de recuperação em relação à proporção solo:solução extratora.

Proporção Solo:Solução Extratora	% Recuperação
1:2,5	37,1
1:5	46,4
1:10	53,9

O segundo parâmetro otimizado foi a concentração da solução extratora. Cheng, H.H., 1969, utilizava uma solução de KCl na concentração de 2 mol L^{-1}.

Foram testadas então quatro concentrações diferentes, 0,0; 0,5; 1,0 e 2,0 mol L^{-1}. Os resultados obtidos são apresentados na tabela 5.

Tabela 4 – Porcentagens de recuperação em relação à concentração da solução extratora.

Concentrações KCl (mol L^{-1})	% de recuperação
2,0	52,4
1,0	56,5
0,5	60,8
0,0	-

Observou-se que à medida que a concentração da solução extratora aumentava as porcentagens de extração diminuíam. Estes resultados são coincidentes com os resultados obtidos por Farmer & Aochi, 1974. A adição de sal ao sistema afeta a força iônica do sobrenadante, o pH, composição catiônica do complexo de troca, espessura da dupla camada difusa, natureza e conformação dos colóides orgânicos, e a solubilidade do picloram (Farmer & Aochi, 1974). Sendo assim, estes fatores em conjunto, influenciam numa maior adsorção das moléculas do picloram às partículas do solo, dificultando sua liberação para a solução e consequentemente reduzindo a eficiência do processo de extração.

Já a ausência de força iônica, impossibilitou a decantação das partículas do solo, gerando após a etapa de agitação, suspensões de coloração amarelada intensa, sem a menor possibilidade de análise destes sobrenadantes. A presença de íons em solução favorece a decantação das partículas do solo devido à insolubilidade destas na água, e à maior interação entre as moléculas de água e estes íons pelo fenômeno da solvatação.

O terceiro parâmetro otimizado foi o tipo de agitação mecânica e o tempo de agitação. Dois tipos de agitação foram avaliados, agitação horizontal e agitação vertical. A primeira delas, realizada em mesa agitadora Tecnal TE – 420, não favorecia a dispersão das partículas do solo na solução extratora. O movimento circular horizontal não possibilitava completo envolvimento entre a solução extratora e o solo. O contrário foi conseguido na agitação vertical. Este tipo de agitação favorecia a completa dispersão das partículas do solo em meio à solução extratora, fato que possibilitava maior contato entre a fase sólida e líquida,

permitindo uma maior liberação das moléculas do herbicida para a solução. Dois tempos de agitação foram testados, 30 e 60 min. O maior tempo melhorou as porcentagens de extração em torno de 8%. Os dados referentes a este parâmetro são apresentados nas tabelas 6 e 7.

Tabela 5 – Porcentagens de recuperação em relação ao tipo de agitação.

Tipo de agitação	% de recuperação
Horizontal	59,8
Vertical	70,1

Tabela 6 – Porcentagens de recuperação em relação ao tempo de agitação.

Tempo de agitação (min)	% de recuperação
30	69,9
60	75,4

O último parâmetro avaliado foi o pH da solução extratora. Segundo Cheng, H.H., 1969, o valor de pH ótimo para a obtenção das melhores porcentagens de recuperação é igual a 7,0. O picloram é um herbicida ácido fraco cuja forma aniônica predomina na maioria dos solos e sedimentos (Celis, R. M. et al., 2005). Mas com o objetivo de se confirmar o dado proposto e também para compreender o comportamento deste herbicida em condições variadas de pH, avaliou-se a extração deste herbicida em diferentes valores de pH da solução extratora.

O pH das soluções extratoras foram ajustados com a adição de gotas de solução de KOH e HCl de concentrações iguais a 0,01 e 0,1 mol L^{-1}. O ajuste era realizado com esta base e este ácido para não inserir diferentes íons em solução.

Os valores de pH testados foram: 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 5,0; 6,0; 7,0 e 8,0. Os resultados obtidos são apresentados na tabela 8. A avaliação das porcentagens de extração do picloram em solos utilizando-se soluções extratoras com diferentes valores de pH foi realizada de forma proposital, pois, de acordo com o trabalho proposto por Cheng (1969), as maiores taxas de extração seriam alcançadas utilizando-se solução extratora com pH igual a 7,0. Com o objetivo de confirmar essa informação e obter uma melhor compreensão do comportamento deste

herbicida em solos sob diferentes condições de pH, optou-se por realizar a extração em outros valores de pH.

Tabela 7 – Porcentagens de recuperação em relação à concentração da solução extratora.

pH	% de recuperação
1,0	-
2,0	35,8
3,0	42,3
4,0	52,8
5,0	69,3
6,0	82,4
7,0	95,9
8,0	65,2

Pode-se observar pelos dados da tabela que realmente o valor de pH que favorece a obtenção de melhores porcentagens de recuperação do picloram é 7,00. Em pH igual a 1,0, não foi possível analisar o extrato obtido devido a alta concentração de substâncias co-extraídas do solo. O extrato apresentava coloração bastante amarelada que, provavelmente se deve à presença de ácidos húmicos de matéria orgânica. Em meio alcalino, pH igual a 8,0, a coloração do extrato também era de cor amarelada, porém menos intensa, e também se deve à presença de ácido húmicos e fúlvicos de material orgânico (Carter,M.R. 1993; Tan, L.K. et al., 1996). Este extrato foi analisado, embora a porcentagem de extração encontrada tenha sido inferior aos 95,9 % encontrados em pH 7,0. Pode-se inferir que essa redução se deve à interferência de substâncias co-extraídas.

Num processo de extração, as interações entre as moléculas herbicidas e a matriz devem ser rompidas, para que o pesticida se desloque para a solução extratora. Cheung & Biggar, 1974, estudaram a solubilidade do picloram em água em diferentes valores de temperatura e pH. Este trabalho se baseou no valor de pKa para o picloram proposto por Hamarker et al., 1968, igual a 4,1. Aliás, são vários os valores de pKa para o picloram apresentados na literatura (pKa = 4,1, Hamarker et al., 1968; pKa = 3,4, Volk and Kuo, 1970; pKa = 2,3, R.Celis et al., 2005). Esses valores são conflitantes e bem diferentes. No trabalho de Cheung & Biggar, são elucidadas as possíveis espécies do picloram em solução em diferentes valores de pH. São quatro espécies apresentadas: picloram não-

ionizado, forma aniônica, forma catiônica e forma dipolar. Estas espécies são apresentadas na figura 5.

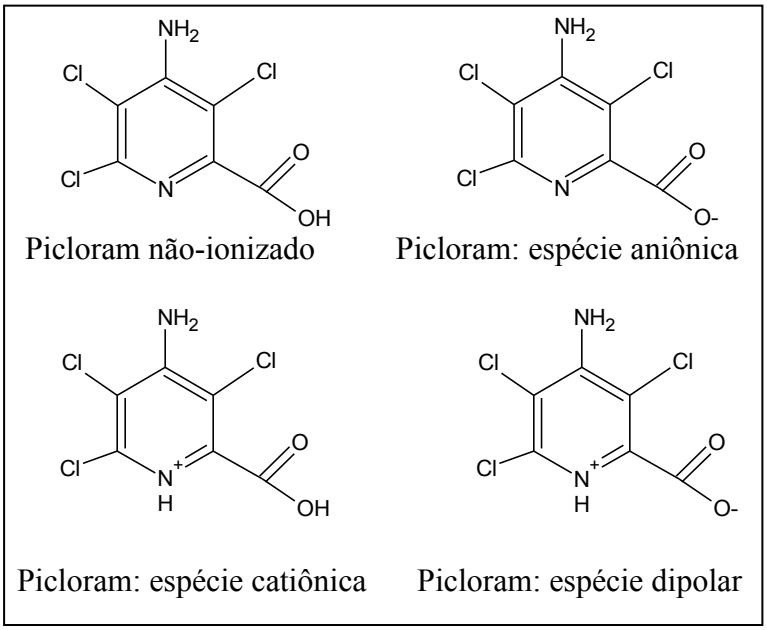


Figura 5 – Possíveis espécies do picloram em solução (Cheung & Biggar, 1974).

Segundo os autores, em pH 4,2 e 4,8, respectivamente 86,3% e 95,2% das moléculas do herbicida se encontram na forma aniônica. Já as porcentagens das espécies protonadas (catiônica e dipolar) em pH 2,8; 2,0; 1,1 e 0,2 são, respectivamente 79,9%, 96,2%, 99,5% e 99,9%. Estes valores explicam os resultados obtidos na tabela 7. Em baixos valores de pH, as espécies protonadas estarão mais abundantes, a adsorção dessas espécies nas superfícies carregadas negativamente das argilas e colóides orgânicos do solo é favorecida energeticamente, portanto, estarão mais fortemente adsorvidas aos colóides do

solo, dificultando sua extração. Já em valores de pH acima de 5,0, a espécie aniônica será a espécie predominante, sendo assim, devido à repulsão entre as cargas negativas dos colóides do solo e essa forma aniônica, as moléculas do herbicida estarão presentes preferencialmente na solução do solo, facilitando o processo de extração.

2.5.4 Método otimizado da ESL e análise por cromatografia líquida do herbicida picloram em solos brasileiros

A partir de todos os parâmetros otimizados descritos anteriormente, propõe-se como metodologia de extração e análise do picloram pesar 2,00 g de solo, seco ao ar e passado por uma peneira de malha de 2,0 mm de poro, adicionar 20,0 mL de solução de KCl na concentração igual a 0,5 mol L^{-1}, agitar o frasco em agitador vortex por 10 segundos para a formação da suspensão e ajustar o pH desta para 7,0, com gotas de solução alcalina KOH 0,1 mol L^{-1}.

Agitar o sistema em agitador vertical por 60 minutos e posteriormente deixar em repouso por 10 minutos. Em seguida, os frascos são centrifugados durante 10 minutos a 3.500 rpm.

Após a decantação das partículas do solo e a limpeza do extrato, 1,5 mL do sobrenadante é retirado e transferido para uma seringa de vidro de 5,0 mL de capacidade com um filtro Milipore de 0,45 µm de poro, e filtrados diretamente em frascos de vidro de 1,8 mL de capacidade e encaminhados então à análise por cromatografia líquida.

A metodologia otimizada apresentou resultados satisfatórios para os solos estudados, apresentando extratos limpos sem necessidade de etapas de clean up nem etapa de concentração, além de pequeno consumo de solvente e por ser uma técnica relativamente rápida e simples.

2.5.5 Validação do Método Analítico

2.5.5.1 Seletividade

Este parâmetro foi avaliado utilizando a ESL do herbicida picloram em Argissolo Vermelho-Amarelo e Latossolo Vermelho-Amarelo, comparando-se os cromatogramas de extratos obtidos dessas matrizes isentas do herbicida com os extratos das matrizes fortificadas com o composto.

Nas Figuras 6 e 7, são apresentadas as comparações dos cromatogramas para Argissolo Vermelho-Amarelo e Latossolo Vermelho-Amarelo respectivamente.

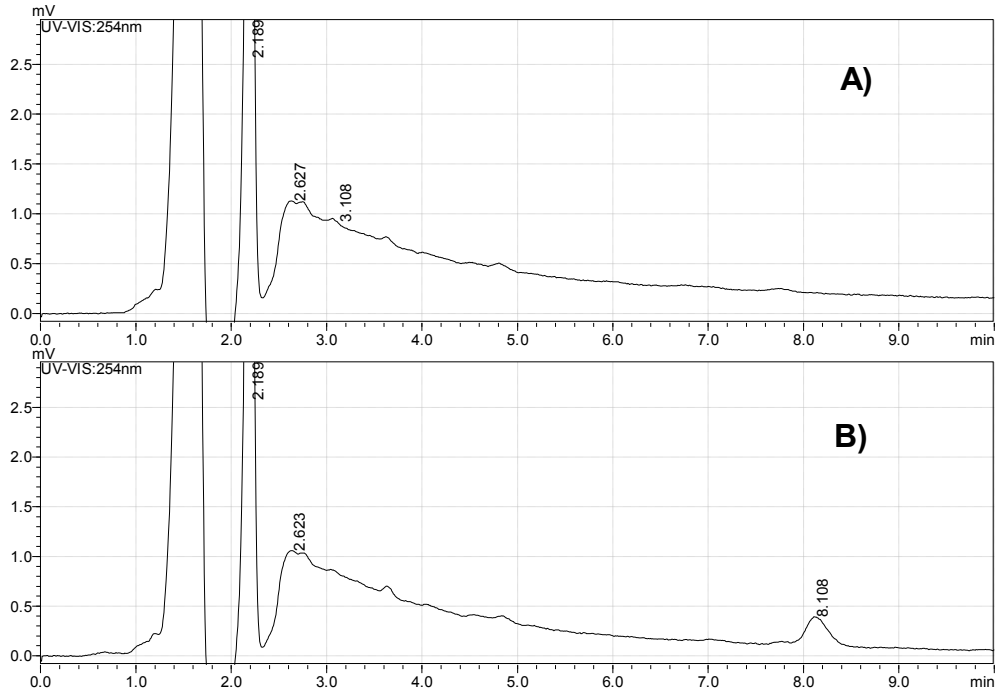


Figura 6 - Resposta do detector em função do tempo em minutos. (A) Cromatograma do extrato obtido do solo AVA isento do herbicida e (B) cromatograma do extrato do mesmo solo fortificado com 50,0 µg L^{-1} do herbicida estudado, onde: t_R= 8,1: picloram.

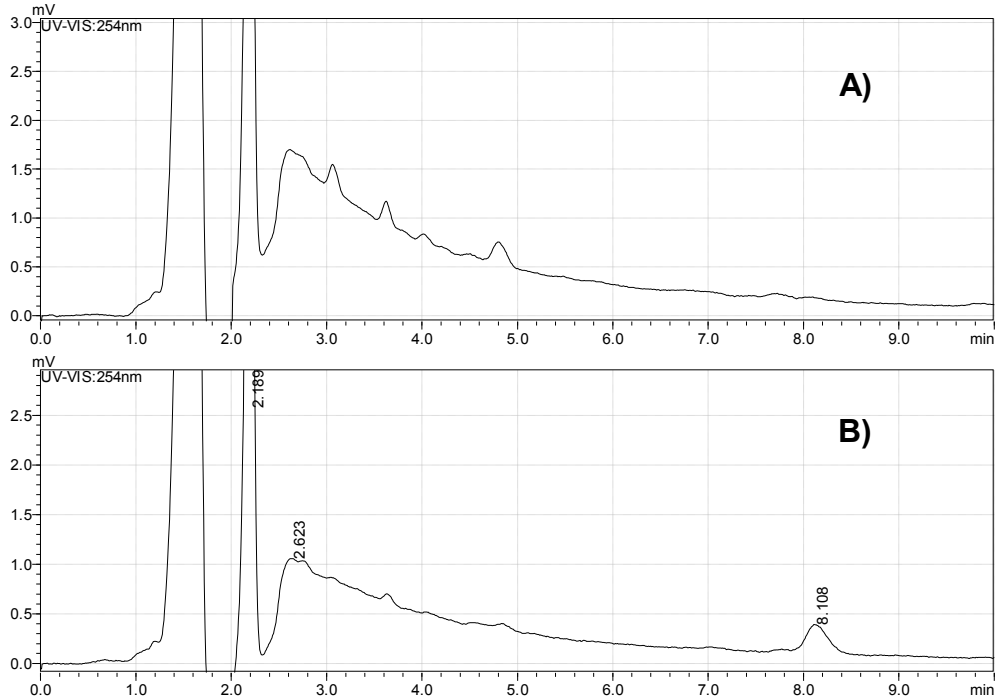


Figura 7 – Resposta do detector em função do tempo em minutos. (A) Cromatograma do extrato obtido do solo LVA isento do herbicida e (B) cromatograma do mesmo solo fortificado com 50,0 µg L^{-1} do herbicida estudado, onde: t_R= 8,1: picloram.

Observa-se nas figuras acima que os cromatogramas referentes aos brancos das matrizes isentas do herbicida não apresentam picos interferentes no mesmo tempo de retenção do composto analisado o que torna a metodologia seletiva.

2.5.5.2 Curva analítica e linearidade do método

A linearidade é a capacidade de um método fornecer resultados diretamente proporcionais à concentração da substância em exame, dentro de uma faixa de aplicação (Ribani et al, 2004). Inicialmente foi determinada a linearidade da resposta do detector para concentrações de 1,0 a 100,0 µg L^{-1}, pela injeção de soluções-padrão preparadas nos extratos das matrizes onde foram obtidos coeficientes de correlação de 0,999 para o picloram em ambos os solos (Tabela 3).

Para a verificação da linearidade do método de extração proposto, amostras dos diferentes solos foram fortificadas em concentrações crescentes para obter no extrato concentrações entre 1,0 e 100 µg L^{-1}e em seguida submetidas ao método de extração. Os extratos obtidos foram então injetados e novas curvas de calibração foram preparadas (Figura 8 e 9).

A obtenção de uma curva linear significa que em todas as faixas de concentração trabalhadas, as porcentagens de recuperação são equivalentes.

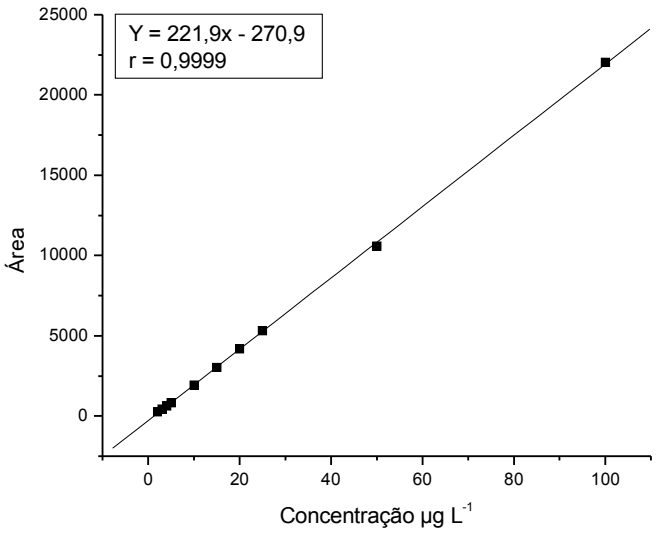


Figura 8 - Curva analítica obtida a partir da aplicação da técnica ESL em amostras de solo AVA fortificadas com diferentes concentrações do picloram para obtenção de extratos finais em concentrações de 1,0 a 100,0 µg L^{-1}.

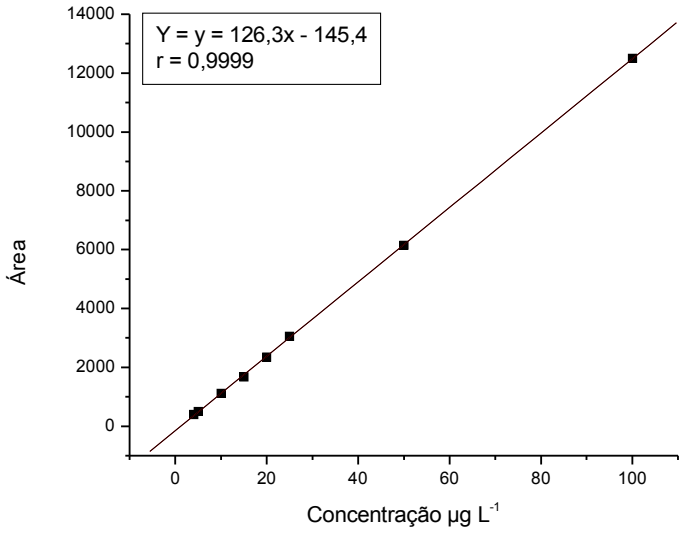


Figura 9 - Curva analítica obtida a partir da aplicação da técnica ESL em amostras de solo LVA fortificadas com diferentes concentrações do picloram para obtenção de extratos finais em concentrações de 1,0 a 100,0 µg L^{-1}.

Os coeficientes de correlação encontrados são maiores que 0,999 caracterizando um ajuste ideal dos dados para a regressão linear de acordo com a ANVISA (2003) e o INMETRO (2003).

Em comparação com as curvas obtidas pela injeção de padrões preparados nos extratos das matrizes (Tabela 4), verifica-se que os coeficientes angulares e

lineares possuem valores semelhantes, o que demonstra boa concordância entre os extratos e padrões e a sensibilidade do sistema de detecção. O uso da curva preparada no extrato ajudou a eliminar o efeito de matriz.

A metodologia aplicada para amostras do solo AVA apresenta linearidade de resposta na faixa de concentração de 2,0 a 100,0 μg L^{-1}. Para o LVA, a metodologia aplicada apresenta linearidade de resposta na faixa de 4,0 a 100,0 μg L^{-1}.

2.5.5.3 Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ)

O limite de detecção (LD) para métodos cromatográficos corresponde à menor concentração da substância de interesse que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada com exatidão. O limite de quantificação (LQ) corresponde à menor concentração da substância de interesse que pode ser quantificada com exatidão (INMETRO, 2003).

Os limites de detecção e quantificação foram determinados pelo método da relação sinal-ruído, em que o LD encontrado foi referente à 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, comparando com um branco injetado anteriormente. Esse método é visual, onde as concentrações detectáveis e quantificáveis das substâncias de interesse são determinadas visualmente, considerando-se a quantidade de composto capaz de produzir um sinal analítico três e dez vezes maior que o nível do ruído de fundo (Collins et al, 1997).

Como não existe um limite máximo de resíduos (LMR) estabelecido pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) para este herbicida em solos, e baseando-se na taxa de aplicação que varia de 1 a 4L por hectare do produto comercial contendo 240 g do ingrediente ativo, e considerando as mais diversas possibilidades de dissipação, degradação e retenção deste composto no solo, buscou-se trabalhar com os limites próximos aos limites do aparelho.

Os limites de detecção e quantificação obtidos para os extratos dos solos são apresentados na tabela 11.

Tabela 11 – Limites de detecção e quantificação do método proposto para os solos estudados μg L^{-1}.

Solo	LD (µg L^{-1})	LQ (µg L^{-1})
AVA	2,0	6,6
LVA	4,0	13,2

Levando-se em consideração a massa de amostra utilizada (2,00 g) e 20,0 mL de solução extratora, convertendo os limites de µg L^{-1} do extrato para µg kg^{-1} de solo, obtém-se os novos valores de LD e LQ apresentados na tabela 12.

Tabela 12 – Limites de detecção e quantificação do método proposto para os solos estudados em µg Kg^{-1}.

Solos	LD (µg kg^{-1})	LQ (µg kg^{-1})
AVA	20,0	66,0
LVA	40,0	132,0

Os limites de detecção e quantificação obtidos neste trabalho são menores que àqueles obtidos por Krzyszowska & Vance (1994), o que demonstra um avanço e uma melhoria na técnica utilizada.

2.5.5.4 Precisão

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

2.5.5.4.1 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 pela estimativa do desvio padrão de sete repetições ou mais (INMETRO, 2003).

Tabela 13 - Porcentagens de recuperação (% R), desvio padrão (DP) e coeficientes de variação (CV) obtidos após sete extrações do picloram em solos fortificados, cujos extratos finais apresentariam concentrações iguais a 10 µg L^{-1} e 20 µg L^{-1}

para os solos AVA e LVA respectivamente.

Solo	% R	DP	CV (%)
AVA	95,94	2,19	2,32
LVA	92,13	2,47	2,69

Os resultados do coeficiente de variação (CV) obtidos para as amostras de solo variam entre 2,32 e 2,69 % (Tabela 13). Esses valores demonstram repetitividade, uma vez que os coeficientes de variação se encontram abaixo do recomendado. Segundo Ribani et al (2004), são aceitáveis CV de até 20 % para amostras complexas.

2.5.5.4.2 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 equipamentos diferentes (Ribani et al, 2004). A precisão intermediária do método foi verificada pelas porcentagens de recuperação do analito e respectivos coeficientes de variação (CV) analisados em três dias diferentes. As análises foram realizadas no 1º, 7º e 30º dia, pelo mesmo analista e mesmo equipamento. As análises foram feitas em triplicata. Os resultados obtidos estão dispostos na Tabela 14.

Tabela 14 - Porcentagens de extração e coeficientes de variação (CV) obtidos após análise em diferentes dias, pelo mesmo analista. Análise de amostras dos solos fortificados, cujos extratos finais apresentariam concentrações iguais a 10 μg L^{-1} e 20 μg L^{-1} para os solos AVA e LVA respectivamente.

Solo	Primeiro dia	Sétimo dia	Trigésimo dia	CV (%)
	% R	% R	% R	
AVA	92,6 ± 1,4	96,3 ± 1,3	92,8 ± 1,5	2,35
LVA	89,6 ± 0,6	94,2 ± 1,4	90,3 ± 1,8	2,70

Observa-se (Tabela 14) que os valores do coeficiente de variação encontrados para o herbicida são menores que 20,0 %, indicando que o método ESL apresenta boa precisão intermediária.

2.5.5 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 na eficiência 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 10,0, 20,0 e 100,0 µg L^{-1} para o solo AVA e 15,0, 30,0 e 150,0 µg L^{-1} para o LVA, que são aproximadamente 1, 2 e 10 vezes o limite de quantificação. A porcentagem de recuperação (%R) e o coeficiente de variação são indicados na tabela 15.

Tabela 15 - Avaliação da exatidão do método de ESL, para os ensaios de recuperação e coeficiente de variação.

Solo	Concentrações µg L^{-1}					
AVA	10,0		20,0		100,0	
	%R	CV	%R	CV	%R	CV
	88,0	2,62	93,3	1,66	95,7	1,04
LVA	15,0		30,0		150,0	
	%R	CV	%R	CV	%R	CV
	86,7	4,08	89,7	1,99	91,3	1,20

Os intervalos de recuperação e os coeficientes de variação encontrados são aceitáveis, levando em consideração que 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 % (AGARP, 1999).

2.5.6 Comparação entre Métodos

Cheng, 1969, propôs uma técnica colorimétrica para a determinação do

picloram em solos. O limite de detecção alcançado era de 500 μg L^{-1}, ou seja, não suficiente para a análise de resíduos. Krzyszowska & Vance, 1994, em sua adaptação propõem uma etapa de clean-up, ao processo de extração proposto por Cheng, 1969, ou seja, purificação dos extratos utilizando-se EFS (extração em fase sólida) com o auxílio de cartuchos com material adsorvente apolar, o C-18, e alcançando limite de detecção igual a 10 μg L^{-1}, limite suficiente para a análise de resíduos, porém incluiu uma etapa a mais no processo onde o analito pode ser perdido além de aumentar o trabalho e o consumo de solventes orgânicos.

2.6 CONCLUSÃO

Neste trabalho foi otimizada e validada a técnica ESL para a determinação do herbicida picloram em dois solos brasileiros, um Argissolo Vermelho-Amarelo e um Latossolo Vermelho-Amarelo. Durante a fase inicial do processo de otimização da técnica foram avaliados separadamente as principais variáveis que influenciavam na eficiência do processo de extração. As variáveis otimizadas foram: proporção solo-solução extratora, força iônica e pH da solução extratora, tempo e tipo de agitação.

A metodologia ESL mostrou-se eficiente para análise dos resíduos do agrotóxico estudado, com porcentagens de recuperação acima de 90 %. Além disso, a metodologia apresentou baixo consumo de solventes orgânicos durante a análise e extratos limpos, não necessitando de etapas de purificação para análise cromatográfica. Os parâmetros avaliados no processo de validação, tais como: seletividade, limite de detecção, limite de quantificação, linearidade, precisão e exatidão indicaram que a metodologia ESL é eficiente para a extração dos resíduos de picloram nos solos estudados, apresentando baixos limites de detecção e quantificação.

Portanto, com a otimização e validação da técnica aplicada neste trabalho foi possível reduzir as etapas, facilitando o processo e ainda, reduziu-se o consumo de solventes orgânicos durante a análise e conseguiu-se abaixar o limite de detecção nos extratos para 2 μg L^{-1}.

2.7 LITERATURA CITADA

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

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). Resolução nº 899, de 29/05/2003. Guia para Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos. Brasília, 2003.

BIGGAR, J. W.; CHEUNG, M. W. Adsorption of picloram (4-amino-3,5,6-trichloropicolinic acid) on Panoche, Ephrata, and Palouse soils: a thermodynamic approach to the adsorption mechanism. Soil Sci. Soc. Amer. Proc., v. 37, p. 863-868, 1973.

BOVEY, R. W.; RICHARDSON, C. W. Organic Chemicals in the Environment. Dissipation of clopyralid and picloram in soil and seep flow in the Blacklands of Texas. J. Environ. Qual., v. 20, n. 3, p. 528-531, 1991.

BRUNER, F.; BERLONI, A.; PALMA, P. Determination of acidic chlorinated pesticides in water: comparison of official EPA method 515.1 and liquid-solid extraction HPLC/UV and HPLC/PBMS analyses. Chromatographia, v. 43, n. 5/6, p. 279-284, 1996.

CARTER, M. R. Soil Sampling and Methods of Analysis. Ed. Canadian Society of Soil Science, 1ª Ed., Saskatoon, Canadá, 1993.

CELIS, R.; HERMOSIN, M. C.; CORNEJO, L.; CARRIZOSA, M. J.; CORNEJO, J. Clay-herbicide complexes to retard picloram leaching in soil. Intern. J. Environ. Anal. Chem., v. 82, n. 8-9, p. 503-517, 2002.

CELIS, R.; HERMOSIN, M. C.; REAL, M.; CORNEJO, J. Sorption and leaching behavior of polar aromatic acids in agricultural soils by batch and column leaching tests. European Journal of Soil Science, v. 56, p. 287-297, 2005.

CHENG, H. H. Extraction and colorimetric determination of picloram in soil. J. Agr. Food Chem, v. 17, n. 6, p. 1174-1175, 1969.

CHENG, H. H. Picloram in soil: extraction and mechanism of adsorption. Bulletin of Environmental Contamination & Toxicology, v. 6, n. 1, p. 28-33, 1971.

CHEUNG, M. W.; BIGGAR, J. W. Solubility and molecular structure of 4-amino-3,5,6-trichloropicolinic acid in relation to pH and temperature. J. Agr. Food Chem., v. 22, n. 2, p. 202-206, 1974.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. Introdução a métodos cromatográficos. Editora da Unicamp, 7ª ed. Campinas, SP, 1997.

D'ANTONINO, L., SILVA, A.A., FERREIRA, L.R., CECON, P.R., FRANÇA, A.C., SILVA, G.R. Lixiviação do picloram em Argissolo-Vermelho Amarelo e Latossolo Vermelho-Amarelo com diferentes valores de pH. Planta Daninha, Viçosa-MG, v. 27, n. 3, p. 589-600, 2009.

DEUBERT, K. H.; CORTE-REAL, I. Soil residues of picloram and triclopyr after selective foliar application on utility rights-of-way. Journal of Arboriculture, v. 12, p. 269-272, 1986.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos (Rio de Janeiro, RJ). Manual de métodos de análise de solos. 2ª.ed. Rio de Janeiro, 1997. 212p.

FARMER, W. J.; AOCHI, Y. Picloram sorption by soils. Soil Sci. Soc. Amer. Proc., v. 38, p. 418-423, 1974.

HAMAKER, J. W.; GORING, C. A. I., YOUNGSON, C.R., “Organic Pesticides in Environment,” Advances in Chemistry Series 60, American Chemical Society, Washington, D. C., p. 23-37, 1968.

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

INOUE, M. H. et al. Critérios para avaliação do potencial de lixiviação dos herbicidas comercializados no Estado do Paraná. Planta Daninha, Viçosa, v. 21, n. 2, 2003.

KRZYSZOWSKA, A.J.; VANCE, G. F. Solid-phase extraction of dicamba and picloram from water and soil samples for HPLC analysis. J. Agric. Food. Chem., v. 42, p. 1693-1696, 1994.

LANÇAS, F. M. Extração em fase sólida (SPE), São Carlos: ed. Rima, 2004a. 96 p.

LAVY, T. L.; MATTICE, J. D.; MASSEY, J. H.; SKULMAN, B. W.; SENSEMAN, S. A.; GBUR, Jr., E. E.; BARRETT, M. R. Long-term in situ leaching and degradation of six herbicides aged in subsoils. J. Environ. Qual., v. 25, n. 6, p. 1268-1279, 1996.

LOURENCETTI, C.; MARCHI, M. R. R.; RIBEIRO, M. L. Determination of sugar cane herbicides in soil and soil treated with sugar cane vinasse by solid-phase extraction and HPLC-UV. Talanta, v. 77, p. 701–709, 2008.

McCALL, H. G.; BOVEY, R. W.; McCULLY, M. G.; MERKLE, M. G. Asorption and desorption of picloram, trifluralin, and paraquat by ionic and nonionic exchange resins. Weed Science, v. 20, n. 3, 1972.

McKONE, C. E.; COTTERILL, E. G. Extraction of picloram residues from a sandy loam soil. Bulletim of Environmental Contamination & Toxicology, v. 11, n. 3, 233-237, 1974.

PAULA, R. T. de. Mobilidade de atrazine e ametryn em latossolo vermelho amarelo. Viçosa – MG, 2007. 85f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Universidade Federal de Viçosa.

PIRES, W. Manual de pastagem: formação, manejo e recuperação. Aprenda Fácil Editora, 1ª ed. Viçosa, MG, 2006.

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, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. Guia de herbicidas. Grafmarke, 5ª ed. Londrina, PR, 2005.

SANTOS, L. B. O.; MASINI, J. C. Determination of picloram in natural waters employing sequential injection square wave voltammetry using the hanging mercury drop electrode. Talanta, v. 72, p. 1023–1029, 2007.

SANTOS, M. V.; FREITAS, F. C. L.; FERREIRA, F. A.; VIANA, R. G.; TUFFI SANTOS, L. D.; FONSECA, D. M. Eficácia e persistência no solo de herbicidas utilizados em pastagens. Planta Daninha, v. 24, n. 2, 2006.

SILVA, A.A.; SILVA, J. F. Tópicos em manejo de plantas daninhas. Editora UFV, 1ª ed. Viçosa, MG, 2007.

TAN, L. K.; HUMPHRIES, D.; YEUNG, P. Y. P.; FLORENCE, L. Z. Determinations of clopyralid, picloram, and silvex at low concentration is soils by

calcium hydroxide-water extraction and gas chromatography measurement. J. Agric. Food Chem., v. 44, p. 1135-1143, 1996.

VOLK, V. V.; KUO, E. C. Y. Contributing report from Oregon State University to Western Regional Research Project W-82, "Pesticide Mobility and Degradation in Soil-Water Systems," presented in Denver, Colorado, Dec 2-3, 1970.

WELLS, M. J. M.; MICHAEL, J. L. Recovery of picloram and 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid from aqueous samples by reversed-phase solid-phase extraction. Anal. Chem., v. 59, p. 1739-1742, 1987.

WELLS, M. J. M.; MICHAEL, J. L.; NEARY, D. G. Determination of picloram in soil and water by reversed-phase liquid chromatography. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, v. 13, p. 231-235, 1984.

WELLS, M. J. M.; YU, L. Z. Solid-phase extraction of acidic herbicides. Journal of Chromatography A, v. 85, p. 237-250, 2000.

3 - SORÇÃO E DESSORÇÃO DO PICLORAM EM DOIS TIPOS DE SOLOS CULTIVADOS COM PASTAGENS NO BRASIL.

3.1 RESUMO

O objetivo deste trabalho foi determinar os coeficientes de sorção e dessorção do picloram em Argissolo Vermelho-Amarelo (AVA) e Latossolo Vermelho- Amarelo (LVA) com diferentes características físico-químicas. As amostras desses solos foram coletadas na profundidade de 0 - 20 cm em áreas de pastagens degradadas, na região de Viçosa, MG. Primeiramente, determinou-se o tempo de equilíbrio entre o herbicida em solução e aquele que ficou adsorvido no solo através do método "Batch Equilibrium". O tempo necessário foi de 24 hs. Para os estudos de sorção e dessorção foi realizado o método "Batch Slurry" realizado sob condições laboratoriais controladas que consistia em adicionar 10 mL de solução herbicida em diferentes concentrações em tubos contendo 2,00g de solo, permanecendo sob agitação rotatória vertical por 24 hs (tempo de equilíbrio pré-determinado). Após centrifugação, limpeza do extrato sobrenadante e filtração, a concentração do herbicida foi determinada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), com detector UV a 254 nm. A dessorção foi avaliada utilizando as amostras contidas nos tubos após os ensaios de sorção. O modelo de Freundlich foi utilizado para a interpretação do processo sortivo. O Argissolo Vermelho-Amarelo apresentou maior coeficiente de adsorção (Kf_a) quando comparado com o Latossolo Vermelho-Amarelo (LVA). Este fato foi atribuído ao menor pH deste solo e ao seu maior teor de matéria orgânica. O processo de dessorção ocorreu em ambos os solos, sendo que o LVA permitiu maior liberação das moléculas anteriormente sorvidas.

3.2 ABSTRACT

SORPTION AND DESORPTION OF PICLORAM IN TWO TYPES OF

SOILS UNDER PASTURES IN BRAZIL.

The objective of this study was to determine the coefficients of sorption and desorption of picloram in Ultisol (AVA) and Oxisol (LVA) with different physical and chemical characteristics. Samples of soil were collected in the 0 - 20 cm in areas of degraded pastures in the region of Viçosa, MG. First, we determined the time of balance between the herbicide in solution and one that was adsorbed in the soil by the method of Batch Equilibrium ". The time required was 24 hours. For studies of sorption and desorption was carried out method "Batch Slurry" carried out under controlled laboratory conditions, which consisted in adding 10 mL of herbicide solutions at different concentrations in tubes containing 2.00 g soil, remaining vertical rotary agitation for 24 hours (equilibrium time pre-determined). After centrifugation, the extract supernatant cleaning and filtration, the concentration of herbicide was determined by high performance liquid chromatography (HPLC) with UV detection at 254 nm. Desorption was evaluated using the samples in the tubes after sorption tests. The Freundlich model was used for the interpretation of the sorption process. The Ultisol showed higher adsorption coefficient (KFA) when compared with the Oxisol (LVA). This was attributed to the lower pH of the soil and its higher content of organic matter. The desorption process occurred in both soils, and the LVA allowed greater release of previously sorbed molecules.

3.3 INTRODUÇÃO

A pecuária brasileira caracteriza-se pela exploração extensiva das pastagens. O Brasil detém o maior rebanho comercial de bovinos do mundo, com cerca de 202 milhões de cabeças, sendo que 88% da carne bovina produzida no

país têm origem nos rebanhos mantidos exclusivamente em pastos (IBGE, 2009).

Como qualquer outra cultura, as pastagens devem ser manejadas de forma que se possa alcançar a sustentabilidade do ponto de vista agronômico, econômico e ambiental. Porém, baixas produtividades e rentabilidades das pastagens observadas, principalmente na região do cerrado, podem ser explicadas pelo gerenciamento deficiente de empreendimentos, manejo inadequado do sistema solo-planta forrageira-animal e também devido ao pouco cuidado em relação à fertilidade do solo (Pires et al., 2006). Esses fatores associados promovem a degradação das pastagens e consequente infestação de plantas daninhas.

Dentre os diversos métodos de controle de plantas daninhas, o controle químico sem dúvida tem sido o mais amplamente utilizado. Das formulações indicadas para o controle de plantas daninhas em pastagens, o princípio ativo mais utilizado é o picloram [ácido 4-amino-3,5,6-tricloro-2-piridinocarboxílico], (Figura 1). Pertencente ao grupo químico dos ácidos piridinocarboxílicos, este herbicida seletivo e sistêmico apresenta absorção foliar e radicular, pertence ao grupo dos herbicidas mimetizadores da auxina provocando distúrbios no metabolismo de ácidos nucléicos, aumento da atividade enzimática e destruição do floema por provocar alongamento, turgescência e rompimento das células. As raízes perdem sua habilidade de absorver água e nutrientes provocando o esgotamento das reservas energéticas da planta e finalmente sua morte (Silva, A. A., 2007). Apresenta solubilidade em água de 430 mg L^{-1} e pKa: 2,3 (Rodrigues e Almeida, 2005). Apresenta adsorção crescente de acordo com a diminuição do pH e aumento da matéria orgânica, sendo altamente lixiviável. (Farmer, 1974; EPA, 1995). Pode ser degradado por ação microbiana e por fotodecomposição. Apresenta meia-vida média no campo do picloram é de 90 dias, variando de 20 a 300 dias, e dependente de condições de climáticas e microbiológicas (Rodrigues e Almeida, 2005). Todavia segundo a EPA (1995), em solos com atividade aeróbica, o picloram apresenta meia-vida variando entre 167 e 513 dias, já em solos anaeróbicos ele é pouco degradado, mantendo-se após um ano cerca de 90% da concentração original. Seu principal produto de degradação é o CO_2. É um dos herbicidas mais persistentes do seu grupo podendo ser encontrado em solos por períodos superiores a 2 anos após sua aplicação (Dowler et al, 1968).

Por ser um herbicida ácido fraco e de caráter aniônico em valores de pH da

maioria dos solos e águas ambientais, o picloram é pouco sorvido pelas partículas do solo e apresenta elevada mobilidade (U.S. EPA, 1995). Sua sorção está fracamente relacionada ao conteúdo argiloso do solo e sim, mais significativamente relacionado ao conteúdo de matéria orgânica (Farmer, 1974). Tem sido mostrado também que o picloram é preferencialmente adsorvido em sua forma catiônica ou dipolar e crescente com o decréscimo do pH (Celis, R. et al, 2002; Cheung & Biggar, 1974).

Em solos agricultáveis com valores típicos de pH variando de 5 a 8, a forma predominante do picloram é a forma aniônica em 99% das moléculas dissolvidas na solução do solo, o que explica a baixa sorção deste herbicida na maioria dos solos que apresentam cargas elétricas predominantemente negativas. Este fato associado à sua alta persistência faz com que a grande parte das moléculas herbicidas possa sofrer lixiviação no solo ou escoamento superficial contaminando águas superficiais e subterrâneas (Celis et a, 2002).

Embora existam vários estudos relacionados ao comportamento desse herbicida em solos (McCall et al., 1972; Biggar et al., 1973; Farmer et al., 1974; Hang et al., 1996; Lu et al., 2002; Celis, R et al., 2002), estes foram realizados em solos de clima temperado e estudos de comportamento e distribuição deste herbicida em solos de clima tropical como o Brasil ainda são escassos.

Considerando que os solos são constituídos de materiais de origens diferentes, formando um complexo argilo-orgânico com características físico-químicas variáveis as quais interagem com os herbicidas, estudos ainda precisam ser realizados para que este produto seja recomendado com segurança, mantendo sua eficácia no controle de plantas daninhas e reduzindo o perigo de contaminação ambiental. Sendo assim, objetivou-se nesse trabalho determinar os coeficientes de sorção e dessorção do picloram em um Latossolo Vermelho-Amarelo e num Argissolo Vermelho-Amarelo largamente utilizados com pastagens no Brasil.

3.4 MATERIAIS E MÉTODOS

Os ensaios foram realizados no Laboratório de Herbicida no Solo no Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa (UFV). As amostras de Argissolo Vermelho-Amarelo (AVA) e Latossolo Vermelho-Amarelo (LVA) foram coletadas à profundidade de 0 a 20 cm em áreas de pastagens degradadas isentas de herbicidas na região de Viçosa, MG. Essas amostras foram

peneiradas em malha de 4 mm e armazenadas em caixas de polietileno de 1 m^3 de capacidade. Para a realização do experimento, amostras dos dois solos foram peneiradas em malha de 2 mm e secas ao ar até a obtenção de massa constante. As características físico-químicas e a classificação textural dos solos estão apresentadas na tabela 1.

Tabela 1 - Caracterização físico-química e classificação textural das amostras de solo utilizadas no experimento. Viçosa – MG.

Análise granulométrica					
Solo	Argila	Silte	Areia fina	Areia Grossa	Classificação textural
AVA	26	16	29	29	Franco Argilo-Arenosa
LVA	35	21	30	14	Argilo Arenosa

Análise química										
Solo	pH	P	K^+	Ca^{++}	Mg^{++}	H + Al	CTC total	V	m	MO
	H_2O	(cmol dm^{-2})						(%)		dag kg^{-1}
AVA	4,96	12,1	61	3,2	1,6	4,79	4,96	51	0	3,10
LVA	6,33	124,2	59	12,0	6,6	3,14	18,75	86	0	1,70

Análises realizadas no Laboratório de Análises de Solo Viçosa, segundo a metodologia da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA (1997).

3.4.1 Determinação do tempo de equilíbrio para os ensaios de sorção e dessorção

O tempo de equilíbrio necessário para a sorção entre o picloram e os solos foi determinado segundo o método "*batch equilibrium*" (OECD, 1993). Preparou-se uma solução de picloram (pureza 98,5%) na concentração de 100 µg L^{-1} foi preparada em solução de $CaCl_2$ 0,01 mol L^{-1}. Em seguida, 10 mL desta solução foram adicionados a tubos de polipropileno de fundo cônicos contendo 2,00 g de solo. Cada tubo contendo o solo e a solução do herbicida foi colocado sob agitação vertical por diferentes intervalos de tempo (1, 4, 8, 12, 16, 18, 20, 24 e 36

horas) à uma temperatura de 27 °C. Após a agitação, as amostras foram centrifugadas a 3.500 rpm por 10 minutos. Um pequeno volume do sobrenadante foi filtrado em membrana Milipore 0,45 μm de poro e em seguida analisado por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). O tempo de equilíbrio foi considerado aquele no qual a concentração da solução sobrenadante permaneceu constante. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

3.4.2 Sorção e dessorção

Para avaliar a sorção do picloram nos solos, foram preparadas soluções do herbicida em $CaCl_2$ 0,01 mol L^{-1}, nas concentrações de 60, 120, 180, 240, 300 e 360 μg L^{-1}. Em tubos de poplipropieleno de fundo cônico e tampa rosqueável, foram colocados 2,00 g de solo e adicionados 10,0 mL da solução-padrão, numa proporção de 1:5. Em seguida, estes tubos foram submetidos à agitação vertical a 27 °C pelo tempo considerado como o tempo de equilíbrio determinado anteriormente. Após a agitação, as amostras foram centrifugadas a 3.500 rpm durante 10 minutos. Do sobrenadante foram retirados 5 mL, filtrados em membrana Milipore 0,45 μm de poro e encaminhados para análise cromatográfica. Para o ensaio de dessorção, aos mesmos tubos foram adicionados outros 5 mL de solução $CaCl_2$ 0,01 mol L^{-1} isenta do herbicida para promover o deslocamento do equilíbrio e observar sobre a reversibilidade do processo de sorção. Esses tubos foram submetidos à nova agitação, pelo mesmo tempo e na mesma temperatura nos quais foram realizados os ensaios de adsorção. Após agitação, as amostras foram centrifugadas a 3.500 rpm, por 10 minutos. Mais uma vez, 5 mL do sobrenadante foram retirados, filtrados em filtro *milipore* de 0,45 μm, para posterior análise cromatográfica. Calculou-se em seguida, a quantidade de herbicida sorvido ao solo (Cs) em μg kg^{-1} por diferença entre a quantidade de solução padrão inicialmente adicionada ao solo (Cp) em μg L^{-1} e a quantidade encontrada na solução de equilíbrio (Ce) em μg L^{-1}. De posse dos valores de Ce e de Cs, fez-se uso da equação de Freundlich ($Cs = K_f\ Ce^n$) para obtenção dos coeficientes de adsorção, onde K_f e 1/n são constantes empíricas que representam a capacidade e intensidade de sorção, respectivamente, e são parâmetros de regressão característicos para cada sistema solo-herbicida (Vieira, E. M., 1998; Archangelo, E. R., 2004; Farmer e Aochi, 1974; Hang et al., 1996). As isotermas de Freundlich são utilizadas para esse tipo de ensaio para que o processo sortivo possa ser interpretado. O índice de histerese (H) que representa a capacidade do

composto em permanecer adsorvido também foi calculado utilizando-se a equação $H = n_a/n_d$, sendo n_a e n_d as curvaturas das curvas representadas nos gráficos de sorção e dessorção, respectivamente. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

3.4.3 Quantificação

Para a determinação do picloram utilizou-se um aparelho de cromatografia líquida de alta eficiência (Shimadzu LC 20AT), equipado com quatro bombas de saída de solvente, injetor automático (Shimadzu SIL 10AF) com loop de 50µL , detector UV-VIS (Shimadzu SPD 20A), forno da coluna (Shimadzu CTO 10ASVP) e coluna de aço inox (Shimadzu VP- ODS Shim-pack 150 mm x 4,6 mm i.d.) mantida constante a 26 °C. A fase móvel consistia em uma mistura de solução aquosa de ácido acético a 4% e acetonitrila (85:15, v/v) sendo eluída em modo isocrático em taxa de fluxo igual a 1,2 mL min^{-1} . Antes de ser utilizada, a fase móvel foi filtrada em membrana Milipore (Bedford, MA, USA) 0,45 µm. A detecção do pesticida foi realizada a 254 nm. A solução estoque do herbicida foi preparada a partir do padrão com 98,5 % de pureza na concentração de 10 mg L^{-1} e as soluções de trabalho preparadas em solução de $CaCl_2$ 0,01 mol L^{-1} a partir da diluição da solução estoque, em concentrações crescentes (60, 120, 180, 240, 300 e 360 µg L^{-1}). A quantificação foi realizada por meio da comparação das áreas obtidas nos cromatogramas para cada ensaio pelo método de calibração externa (padrão externo) e a identificação, pelo tempo de retenção.

3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A curva analítica obtida pela injeção de soluções-padrão do picloram preparados em solução $CaCl_2$ 0,01 mol L^{-1} nas concentrações de 30 a 360 µg L^{-1} assim como o cromatograma obtido nessas injeções com seu respectivo tempo de retenção estão apresentados nas figuras 2 e 3 respectivamente.

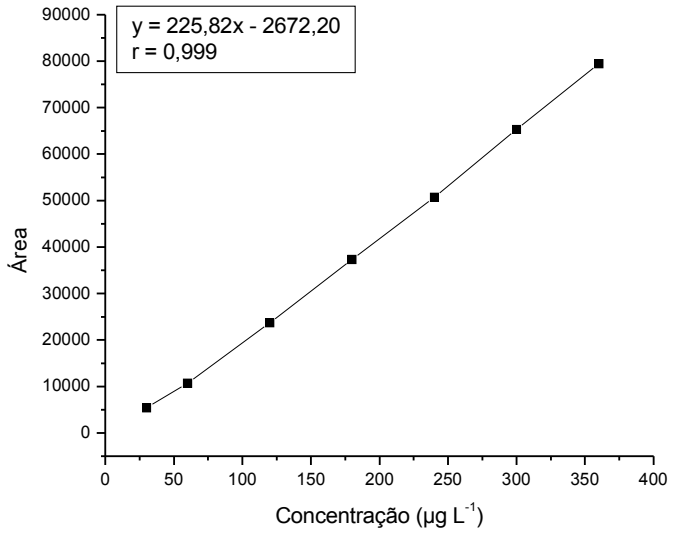


Figura 2 – Curva padrão do picloram em solução de $CaCl_2$ 0,01 mol L^{-1}.

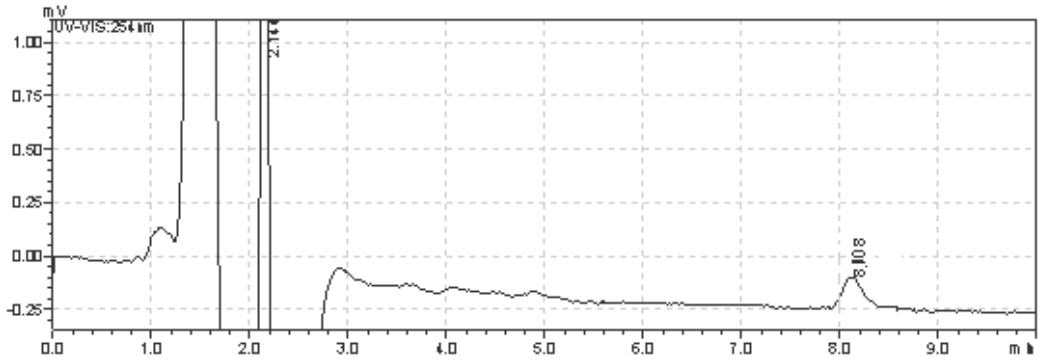


Figura 3 – Resposta do detector em relação ao tempo em minutos. Cromatograma de uma solução padrão do picloram (30,0 µg L^{-1}), preparada em solução de $CaCl_2$ 0,01 mol L^{-1} com seu respectivo tempo de retenção (8,10 min.)

Para que os estudos de sorção e dessorção pudessem ser realizados foi necessário determinar o tempo de equilíbrio entre a concentração do herbicida em solução e sua concentração sorvida no solo. Durante 36 horas de agitação do sistema solo/solução herbicida, observou-se que o tempo necessário para atingir o equilíbrio foi de 24 horas, pois a partir daí não houve mais variação na concentração do herbicida na solução sobrenadante. O tempo encontrado é um pouco maior que o encontrado por Biggar & Cheung, 1973 que realizaram este trabalho com solos californianos de clima temperado e cujo tempo necessário foi de 18 horas, mesmo empregando concentrações diferentes da solução herbicida. O

tempo necessário para alcançar o equilíbrio entre a solução do herbicida e os solos AVA e LVA está apresentado na figura 4.

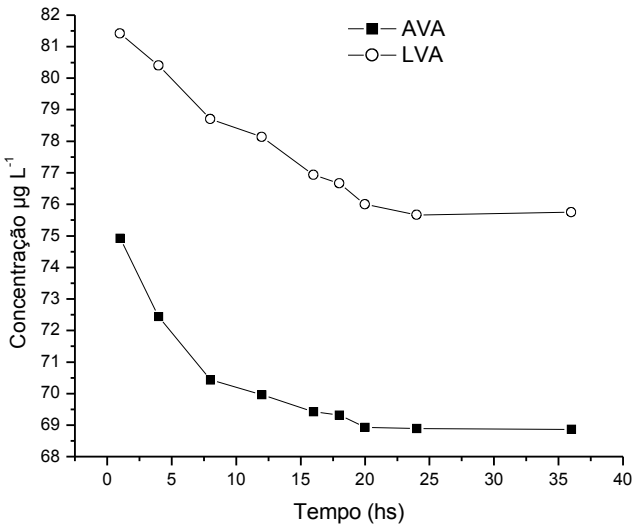


Figura 3 – Sorção do picloram em AVA e LVA em função do tempo de agitação em horas.

Quando entram em contato com o solo, vários tipos de interações podem ocorrer entre as moléculas herbicidas e os colóides do complexo organo-argiloso. Diferentes fatores colaboram para uma maior ou menor sorção dessas moléculas na matriz do solo, dentre os quais existem aqueles ligados às características físico-químicas das moléculas herbicidas, tais como, o coeficiente de partição octanol-água (Kow), a capacidade de dissociação eletrolítica (pKa), o caráter ácido-base, massa molecular e a solubilidade juntamente com características dos solos como matéria orgânica, textura e mineralogia e pH (Silva et al., 2007).

Os processos de degradação, movimentação pelo solo e também a absorção pelas plantas e sua eficácia no controle de plantas daninhas, principalmente dos herbicidas utilizados em pré-emergência estão diretamente ligados aos processos de sorção e dessorção que essas moléculas podem sofrer no solo (Oliveira et al. 2005). Outros fatores ligados aos solos como força iônica, capacidade de troca catiônica (CTC) e espessura da dupla camada difusa também podem influenciar nos processos de sorção e dessorção de herbicidas (Farmer & Aochi, 1974).

As isotermas de adsorção do picloram nos solos AVA e LVA estão apresentadas na figura 5 e 6. No solo AVA, os níveis de concentração avaliados variaram entre 60 e 360 µg L^{-1}, já no LVA os níveis variaram de 60 a 300 µg L^{-1}. Esses altos níveis de concentração foram escolhidos, pois podem ocorrer em determinadas condições de aplicação (Farmer & Aochi, 1974).

O processo de adsorção do herbicida nos solos estudados pode ser descrito pela equação de Freundlich, $C_s = K_f \cdot C_e^n$ ou na forma linearizada $\log C_s = \log K_f + n \log C_e$, onde C_s = µg do herbicida adsorvido por kg de solo, C_e = concentração da solução em equilíbrio com o solo em µg L^{-1}, K_f e n são constantes. Plotando $\log C_s$ x $\log C_e$ obtem-se uma relação linear. O coeficiente angular ou inclinação da reta equivale ao n e K_f é o coeficiente linear. Nas condições experimentais estudadas, K_f e n são conhecidos como fator de capacidade e intensidade de adsorção respectivamente. O K_f é a quantidade de pesticida adsorvido quando a concentração no equilíbrio é igual a 1 µg L^{-1}. O coeficiente de distribuição K_d médio também foi avaliado.

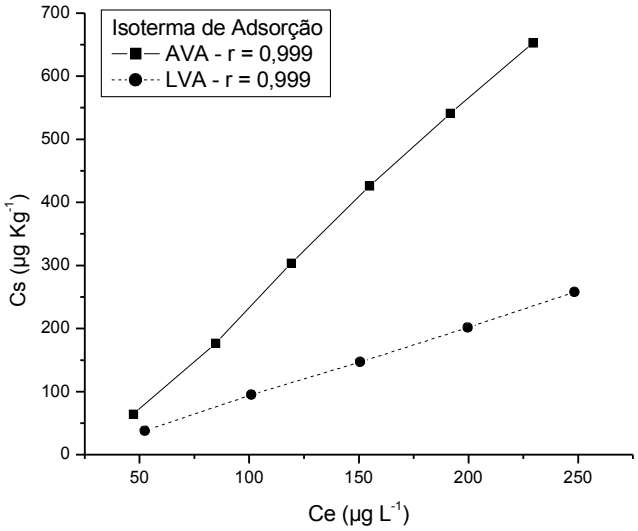


Figura 5 – Isotermas de adsorção do picloram em AVA (Y = 3,277x – 91,21) e LVA (Y = 1,113x – 19,59) em função da concentração em equilíbrio (C_e).

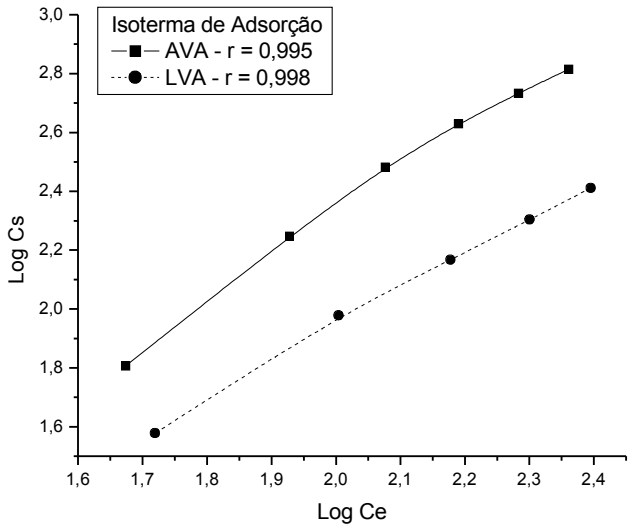


Figura 6 – Isotermas de adsorção do picloram em AVA (Y = 1,47272x - 0,61873) e LVA (Y = 1,22473x – 0,50797) em função do logaritmo da concentração em equilíbrio (Ce) obtidas a partir do modelo linearizado de Freundlich.

É possível perceber pela comparação entre as isotermas e pelos parâmetros de Freundlich obtidos que o solo AVA possui uma capacidade maior de sorção que o LVA. Segundo a classificação de Giles et al. (1960), as isotermas de Freundlich (Figuras 5 e 6) apresentaram comportamento do tipo C. s Elas são consideradas deste tipo quando o parâmetro n da equação de Freundlich for > 1,0. Embora se saiba que esse comportamento pode variar em função da faixa de concentração utilizada nos ensaios de adsorção, Archangelo et al., 2004 verificou um maior número de curvas do tipo L para herbicidas com elevada tendência de adsorção à matéria orgânica.

Relacionando a capacidade sortiva dos solos com seus constituintes principais os quais são determinantes na sorção de herbicidas ácidos-fracos como pH e matéria orgânica, observou-se que os valores de K_f variaram entre 0,310 a 0,420 para LVA e AVA respectivamente e se relacionaram positivamente com o aumento do material orgânico e com a diminuição do pH do solo. Esses resultados são semelhantes àqueles obtidos por Biggar & Cheung, 1973, Farmer & Aochi, 1974, Hang et al., 1996.

O K_f representa a quantidade de herbicida adsorvido quando a concentração em equilíbrio for igual a 1 μg L^{-1}. Isso significa que nessa

concentração 1 kg do solo AVA é capaz de adsorver 0,420 µg do herbicida contra 0,310 µg do solo LVA. Portanto, o solo AVA possui uma capacidade de adsorção superior ao LVA e este fato está ligado à quantidade de sítios sortivos disponíveis para a adsorção. Esses sítios de adsorção estão ligados à presença de maiores quantidades de matéria orgânica que possui sítios tridimensionais os quais atuam na retenção de compostos iônicos e não-iônicos (Brusseau e Rao, 1989). A maior capacidade de adsorção de herbicidas ácido-fraco em solos com elevados teores de matéria orgânica é relatada por muitos autores (D'Antonino, L., 2009; Rocha et al., 2003). No entanto, existe uma grande complexidade e variabilidade da matéria orgânica presente em diferentes solos. Essas diferenças podem interferir não só na retenção dos herbicidas, mas também na sua transformação e transporte (Vivian et al., 2007).

Sabe-se também que, além do carbono orgânico, o pKa do herbicida, o tipo e a quantidade de óxidos presentes são extremamente importantes na adsorção em solos tropicais altamente intemperizados. Sabe-se que, para os herbicidas de caráter ácido, quanto menor o pH do solo em relação ao pKa do herbicida, maior será a tendência do herbicida em permanecer na forma molecular (neutra) e de se adsorver nas partículas coloidais do solo (Silva et al., 2007).

Sítios de adsorção na superfície das argilas também determinam adsorção de compostos orgânicos. Essas superfícies apresentam carga dependente do pH do solo. Segundo Biggar & Cheung, 1973, a molécula do picloram pode interagir de várias maneiras com os colóides do solo. Podem ocorrer interações com íons metálicos (Al^{3+}, Fe^{2+}, $Mn^{2+,4+}$), pontes formadas por íons metálicos ligando o picloram às superfícies das argilas ou material orgânico, adsorção das formas protonada ou dipolar a partir do deslocamento de prótons ligados às superfícies e ocupação de seus sítios sortivos, ligações de hidrogênio, interações de Van der Waals e interações eletrostáticas.

Segundo resultados obtidos por Cheung & Biggar, 1974, avaliando a solubilidade do picloram e sua estrutura molecular em diferentes valores de pH, este herbicida se encontra sempre em formas ionizadas, ou seja, em baixos valores de pH ele se encontra preferencialmente nas formas catiônica ou dipolar e em valores mais elevados de pH ele se encontra preferencialmente na forma aniônica. Seu caráter aniônico predomina nas condições naturais dos solos de uso agrícola

(pH de 5,0 a 9,0) e levando em consideração a presença de cargas negativas dos colóides do solo, isto preocupa, pois estando menos sorvido no solo estará mais passível de ser lixiviado e com isso contaminar águas subterrâneas.

A dependência do pH do solo e a reversibilidade do processo de adsorção indicam que a adsorção do picloram é em geral um fenômeno de superfície e não necessariamente envolve sítios específicos de adsorção (Cheng, H.H., 1971). Outro estudo, que avaliou a sorção do picloram em solos em diferentes temperaturas, também comprovou que a adsorção deste herbicida acima de 36 °C é pouco provável ou não acontece, isso devido ao acréscimo de energia interna das moléculas. Este aumento da energia reduz as interações entre as moléculas herbicidas e a superfície adsorvente, além de aumentar sua solubilidade em água (Hang et al. 1996).

A dessorção representa a liberação da molécula herbicida anteriormente sorvida de volta para a solução do solo, sendo que sua intensidade reflete o grau de reversibilidade do processo sortivo. A permanência do herbicida sorvido origina o fenômeno denominado histerese (H) verificado na maioria de herbicidas em solos. Altos índices de histerese indicam maior dificuldade do herbicida de retornar para a solução do solo, possibilitando maior persistência deste no solo (Silva et al., 2007).

As isotermas de dessorção nos solos AVA e LVA estão apresentadas na figura 7. As constantes de Freundlich obtidas nos ensaios de sorção-dessorção K_{fa}, n_a, K_{fd}, n_d, assim como o coeficiente de distribuição K_d dos solos estudados estão apresentados na tabela 2. As constantes de Freundlich K_{fa} dos solos seguiram a tendência de seus coeficientes de distribuição K_d, ou seja, o solo que apresentou maior capacidade de sorção também apresentou maior coeficiente de distribuição.

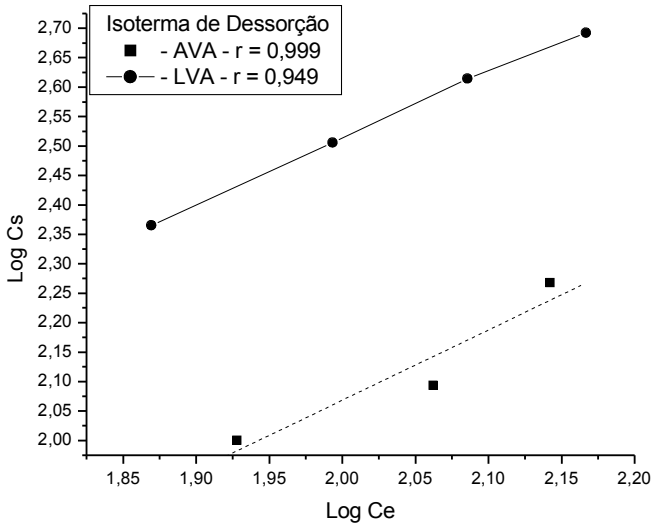


Figura 7 - Estimativa das isotermas de dessorção do picloram em LVA ($\hat{Y}$ = 1,19314x - 0,31797) e em AVA ($\hat{Y}$ = 1,10982x + 0,29287) em função do logaritmo da concentração em equilíbrio (Ce). As curvas representam o modelo linearizado de Freundlich.

Os valores determinados para os coeficientes de sorção (Kf_a) e dessorção (Kf_d), assim como o coeficiente de distribuição (K_d) do picloram para os solos estudados, estão apresentados na tabela 2. Coeficientes de correlação obtidos superiores a 0,99 indicam boa conformidade com a relação de Freundlich.

Tipos de Solos	**Sorção**				**Dessorção**			**H**
	K_d	Kf_a	n_a	R^2	Kf_d	n_d	r	**(n_a/n_d)**
AVA pH 4.96	2,400	0,420	1,472	0,995	1,962	1,109	0,999	1,327
LVA pH 6.33	0,924	0,310	1,224	0,998	0,480	1,193	0,949	1,025

Tabela 2 – Valor experimental encontrado para K_d e valores das estimativas dos coeficientes de adsorção (Kf_a e n_a), dessorção (Kf_d e n_d), segundo a equação de Freundlich e índice de histerese (H) do picloram em Latossolo Vermelho-Amarelo (LVA) e em Argissolo Vermelho-Amarelo (LVA).

É possível observar na tabela 2, que todos os coeficientes de dessorção K_{fd} foram superiores aos de adsorção K_{fa}, assim como o oposto foi observado para o parâmetro n, sendo os estimados na dessorção (n_d) inferiores aos de adsorção (n_a).

A intensidade do processo de dessorção se correlacionou com o baixo pH do solo e o aumento do conteúdo orgânico, isso significa que em solos com maior teor de matéria orgânica e menores valores de pH o processo dessortivo é menor (Farmer et al.1974, Hang et al., 1996).

Pode-se observar que o AVA apresentou maiores valores de Kf_d e n_d, significando que esse solo apresentou maior dificuldade em liberar o herbicida de volta à solução do solo. Esse fato se evidencia também pela diferença expressiva entre os Kf_a e Kf_d. Já no LVA, a diferença entre o Kf_a e Kf_d é pequena, indicando que grande parte do herbicida anteriormente sorvido se deslocou para a solução do solo, mantendo as condições de equilíbrio próximas às condições iniciais do experimento de adsorção. O índice de histerese (H) obtido no AVA também foi superior ao obtido no LVA, evidenciando sua maior capacidade de retenção do herbicida.

3.6 – CONCLUSÃO

O processo de sorção do herbicida picloram foi maior no AVA que no LVA. Este fato está ligado ao maior teor de matéria orgânica e menor pH do AVA. Quanto ao processo de dessorção concluiu-se que este processo também foi influenciado pela matéria orgânica e pH dos solos. O picloram foi dessorvido em ambos os solos, sendo que o LVA permitiu maior liberação dessas moléculas. O índice de histerese do picloram foi maior no AVA que no LVA, evidenciando maior capacidade de retenção do herbicida no AVA.

3.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARCHANGELO, E. R., KARAM, D., FERREIRA, F. A., PRATES, H. T., FERREIRA, L. R., CARDOSO, A. A. Sorção, dessorção e potencial de lixiviação de dimethenamid em solos brasileiros. Planta Daninha, v. 22, n. 3, p. 467-477, 2004.

BIGGAR, J. W., CHEUNG, M. W. Adsorption of picloram (4-amino-3,5,6-trichloropicolinic acid) on Paloche, Ephrata, and Palouse soils: a thermodynamic approach to the adsorption mechanism. Soil Sci. Soc. Amer. Proc., v. 37, p. 863-868, 1973.

BRUSSEAU, M. L.; RAO, P. S. C. The influence of sorbate-organic matter interactions on sorption nonequilibrium. Chemosphere, v. 18 n. 9/10, p. 1691-1706, 1989.

CELIS, R.; HERMOSIN, M. C.; CORNEJO, L.; CARRIZOSA, M. J.; CORNEJO, J. Clay-herbicide complexes to retard picloram leaching in soil. Intern. J. Environ. Anal. Chem., v. 82, n. 8-9, p. 503-517, 2002.

CHENG, H. H. Picloram in soil: extraction and mechanism of adsorption. Bulletim of Environmental Contamination & Toxicology, v. 6, n. 1, p. 28-33, 1971.

CHEUNG, M. W.; BIGGAR, J. W. Solubility and molecular structure of 4-amino-3,5,6-trichloropicolinic acid in relation to pH and temperature. J. Agr. Food Chem., v. 22, n. 2, p. 202-206, 1974.

D'ANTONINO, L., SILVA, A.A., FERREIRA, L.R., CECON, P.R., FRANÇA, A.C., SILVA, G.R. Lixiviação do picloram em Argissolo-Vermelho Amarelo e Latossolo Vermelho-Amarelo com diferentes valores de pH. Planta Daninha, Viçosa-MG, v. 27, n. 3, p. 589-600, 2009.

DOWLER, C. C., FORESTIER, W., TSCHIRLEY, F. H. Effect and persistence of herbicides applied to soil in Puerto Rican forests. Weed Science, v. 16, p. 45-50, 1968.

FARMER, W. J.; AOCHI, Y. Picloram sorption by soils. Soil Sci. Soc. Amer. Proc., v. 38, p. 418-423, 1974.

GILES, C.H. et al. Studies in adsorption: part XI. A system of classification of solution adsorption isotherms, and its use in diagnosis of adsorption mechanism

and in measurement of specific surface areas of solids. J. Chem. Soc., v. 111, p. 3973-3993, 1960.

HANG, S. B., FERREIRO, E. A., BUSSETTI, S. G. Picloarm adsorption-desorption by soils and other pure adsorbents. Eurasian Soil Science, v. 29, n. 7, p. 775-782, 1996.

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Disponível em: http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/noticia_visualiza.php?id_noticia=1499&id_pagina=1. Acesso em 22 de novembro de 2009.

LU, J., WU, L.,LETEY, J., FARMER, W. J. Anionic polyacrylamide effects on soil sorption and desorption of metolachlor, atrazine, 2,4-D, and picloram. J. Environ. Qual., v. 31, July-August, p. 1226-1233, 2002.

McCALL, H. G., BOVEY, R. W., McCULLY, M. G., MERKLE, M. G. Adsorption and desorption of picloram, trifluralin, and paraquat by ionic and nonionic exchange resins. Weed Science, v. 20, n-3, p. 250-255, 1972.

OECD – Organization for Economic Co-operation and Development. OECD guidelines for testing of chemicals, adsorption, 106. OECD, Paris, France, 1993.

OLIVEIRA, M. F. et al. Sorção e hidrolise do herbicida Flazasulfuron. Planta Daninha, v.23, n.1, p. 101-113, 2005.

PIRES, W et al. Manual De pastagem : formação, manejo e recuperação. Ed. Aprenda Fácil, Viçosa, MG, 2006.

ROCHA,W. S. D.; ALLEONI, L. R. F.; REGITANO, J. B. Energia livre da sorção de imazaquin em solos ácricos. Rev. Bras. Ciência do Solo, v. 27, p. 239-246, 2003.

RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. Guia de herbicidas. Grafmarke, 5ª ed. Londrina, PR, 2005.

SILVA, A.A.; SILVA, J. F. Tópicos em manejo de plantas daninhas. Editora UFV, 1ª ed. Viçosa, MG, 2007.

U. S. EPA (United States Environmental Protection Agency). 1995. Reregistration Eligibility Decision (RED): Picloram. Prevention, Pesticides, and Toxic Substances, EPA 738-R95-019. 1995.

VIEIRA, E. M., PRADO, A. G. S., LANDGRAF, M. D., REZENDE, M. O. O. Estudo da adsorção/dessorção do ácido 2,4 diclorofenoxiacético (2,4-D) em solo na ausência e presença de matéria orgânica. Química Nova, v. 22, n. 3, p. 305-308, 1999.

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, 2007.

4 – LIXIVIAÇÃO DO PICLORAM EM COLUNAS COM ARGISSOLO VERMELHO-AMARELO SUBMETIDAS A DIFERENTES VOLUMES DE CHUVA E DETERMINAÇÃO POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA.

4.1 - RESUMO

Objetivou-se com este trabalho, avaliar o potencial de lixiviação do picloram em colunas com um Argissolo Vermelho-Amarelo submetidas a diferentes volumes de chuva. Para isso, foram avaliados 30 tratamentos (um solo associado a três intensidades de chuva e dez profundidades). Utilizou-se o esquema de parcela subdividida em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. A montagem do experimento consistiu em preencher com amostras do solo, colunas de PVC de 10 cm de diâmetro por 50 cm de comprimento, preparadas para estudos de lixiviação de herbicidas. Estas colunas foram preenchidas com os solos, umedecidas e colocadas na posição vertical por 48 horas para drenagem do excesso de água, aplicando a seguir o herbicida e as chuvas simuladas no topo destas em intensidades especificadas de acordo com o tratamento para forçar a lixiviação do picloram. Após 72 horas todas as colunas foram dispostas na posição horizontal e abertas longitudinalmente, realizando-se amostragens de solo a cada intervalo de 5 cm de profundidade para posterior extração e quantificação do herbicida e análise por cromatografia líquida de alta eficiência. Em seguida, no restante das amostras de solo, semeou-se em potes plásticos nas respectivas profundidades a espécie indicadora *Cucumis sativus.* Aos 21dias após a emergência das plantas indicadoras (DAE) foram realizadas avaliações para verificação dos sintomas de intoxicação provocados pelo picloram nas plantas. Concluiu-se que o picloram apresentou sua lixiviação diretamente dependente do volume de chuva aplicado. O herbicida atingiu regiões mais profundas no solo cuja intensidade de chuva foi maior. Houve boa concordância entre os resultados obtidos pelo bioensaio e o método cromatográfico. Onde foi possível visualizar intoxicação nas plantas pôde-se também detectar e quantificar o herbicida estudado.

4.2 - ABSTRACT

PICLORAM LEACHING OF COLUMNS WITH A ULTISOL UNDER DIFFERENT VOLUMES OF RAIN AND DETERMINATION BY HIGH-PERFORMANCE LIQUID PERFORMANCE.

The objective of this study was to evaluate the potential leaching of picloram in columns of an Ultisol under different amounts of rain. For this, we assessed 30 treatments (one soil associated with three levels of rainfall and ten depths). We used a split-plot in a completely randomized design with four replications. The experimental design was to fill with soil samples, PVC columns of 10 cm in diameter and 50 cm in length were prepared for studies of leaching of herbicides. These columns were filled with soil, moistened and placed upright for 48 hours to drain the excess water, then applying the herbicide and the simulated rain on top of these intensities specified according to the treatment to force the leaching of picloram . After 72 hours, all the columns were arranged in a horizontal position and opened lengthwise, performing soil samples at each interval of 5 cm depth for subsequent extraction and quantification of the herbicide and analysis by high performance liquid chromatography. Then the rest of the soil samples was sown in plastic pots in their depths the indicator species Cucumis sativus. At 21 days after the emergence of indicator plants (DAE) evaluations were conducted to verify the symptoms of poisoning caused by picloram in plants. It was concluded that picloram leaching directly dependent on the volume of rain applied. The herbicide reached the deepest regions in the soil which the rain intensity was higher. There was good agreement between the results obtained by bioassay and liquid chromatography. Where possible view intoxication in plants could also detect and quantify the herbicide studied.

4.3 INTRODUÇÃO

A participação brasileira no agronegócio mundial vem crescendo bastante nos últimos anos, e, em conseqüência disso, os recursos naturais vêm sendo cada vez mais explorados. Nesse setor, a pecuária tem se tornado cada vez mais uma atividade empresarial, representada pela pecuária extensiva (Pineda et al., 2002).

Uma das principais características da pecuária brasileira é a grande disponibilidade de pastagens, fato que contribui para a produção de carne e leite de forma competitiva em termos de qualidade e custo de produção. No entanto, pastagens degradadas, com alta infestação de plantas daninhas, constituem-se atualmente em um dos maiores problemas do sistema de produção de bovinos no Brasil (Santos et al, 2006). Estimam-se mais de 40 milhões de hectares de pastagens degradadas só nos cerrados (Kluthcouski et al, 2006).

No combate a essas plantas o controle químico, com a aplicação de herbicidas, tornou-se um dos métodos mais utilizados por seu baixo custo e boa eficiência. Dentre os herbicidas registrados para pastagens no Brasil, destacam-se 2,4-D + picloram, fluroxypyr + picloram e triclopyr (Silva et al., 2007). O picloram se caracteriza por ser um produto extremamente ativo em dicotiledôneas, sendo comum seu uso em misturas com os herbicidas citados anteriormente. Apresenta longa persistência no solo, com meia-vida de 90 dias (Rodrigues & Almeida, 2005), podendo ser encontrado até dois ou três anos após a aplicação em área total (Deubert & Corte-Real, 1986; WSSA, 1994). Segundo Inoue et al. (2003), por apresentar longa persistência, é considerado um herbicida com alto potencial de contaminação de águas subterrâneas.

Um dos grandes problemas associados à utilização de agrotóxicos altamente móveis no solo é a contaminação de águas superficiais e subterrâneas. Herbicidas aniônicos como o picloram, constituem um problema particular porque são fracamente retidos pela maioria dos componentes dos solos e sedimentos, e podem ser facilmente dissolvidos na solução do solo (Celis, R. et al., 2002).

O destino de herbicidas no ambiente depende muito das propriedades químicas e físicas da substância em questão, sendo as principais propriedades a sorção e a persistência do produto. A sorção regula o potencial de um herbicida a ser perdido com sedimentos ou lixiviação e a persistência está relacionada à meia vida do herbicida que é o tempo necessário para a dissipação de 50% da quantidade inicial aplicada (Silva, A. A. et al, 2007).

Segundo Silva, A. A. (2007), o processo de lixiviação refere-se ao movimento descendente dos herbicidas na matriz dos solos em decorrência do fluxo de água. Sua intensidade dependerá das interações de características físico-químicas do produto, do solo e do clima. Desta forma, as propriedades dos solos

tais como conteúdo orgânico, porcentagem e tipo de argila mineral, capacidade de troca catiônica, total de bases trocáveis e pH, influenciam diretamente na sorção desses compostos no solo e, consequentemente, seu potencial de lixiviação e de contaminação de águas subterrâneas (Celis, R. et al., 2002; Silva, A. A. et al.; 2007; Biggar et al, 1974).

Programas de monitoramento ambiental, realizados por meio de estudos de campo bem planejados, são considerados por diversos autores como o melhor procedimento de avaliação e de minimização da poluição de águas subterrâneas (Cohen et al., 1995; Albanis S et al., 1998; Azevedo et al., 2000; Filizola A et al., 2002). Esses estudos podem ser realizados analisando-se diretamente a água e/ou o solo, uma vez que o potencial de contaminação da água subterrânea por pesticidas depende da sua mobilidade no solo.

A avaliação da lixiviação de pesticidas no solo pode envolver abordagens diretas ou indiretas. Estimativas diretas incluem a aplicação desses produtos no campo (condições naturais) ou em colunas de solo, podendo-se, portanto, controlar as condições ambientais com análises de amostras do solo em diferentes profundidades (Racke et al., 1997; Oliveira Jr, R. S. et al, 2001). Já as estimativas indiretas são baseadas na medida de parâmetros que utilizam modelos de avaliação do potencial de lixiviação dos pesticidas no solo (Oliveira Jr, R. S. et al, 2001) .

Alguns dos modelos de previsão da lixiviação de pesticidas apresentados na literatura são: o fator de retardamento RF (Retardation Factor) e o fator de atenuação AF (Attenuation Factor), o índice GUS (Groundwater Ubiquity Score) proposto por Gustafson (1989), os critérios de screening da EPA (Cohen, 1995), o LIX (Leaching IndeX) proposto por Spadoto (2002) e o modelo TLPI (Temperature Leaching Potenctial Index). Esses métodos podem ser utilizados para selecionar quais substâncias devem merecer maior atenção durante estudos específicos de estimativa da lixiviação de pesticidas no solo e também na obtenção de indicadores ambientais (Lourencetti, C. et al., 2005).

Objetivou-se neste trabalho avaliar, por métodos biológico e cromatográfico, o potencial de lixiviação do herbicida picloram em Argissolo Vermelho-Amarelo utilizando colunas de solo submetidas a diferentes volumes de chuva.

4.4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.4.1 Caracterização dos solos

Foram coletadas na profundidade de 0 – 20 cm, na região de Viçosa, MG, amostras de um Argissolo Vermelho-Amarelo em uma área de pastagem degradada, sem histórico de aplicação de herbicidas. Esse solo foi peneirado com peneira de malha de 10 mm e armazenado numa caixa de polietileno. A amostra foi submetida à análise físico-química e classificação textural (Tabela 1).

Tabela 1 – Caracterização físico-química e classificação textural da amostra de solo utilizada no experimento. Viçosa – MG.

Análise granulométrica					
Solo	**Argila**	**Silte**	**Areia fina**	**Areia Grossa**	**Classificação textural**
AVA	26	16	29	29	Franco Argilo-Arenoso

Análise química										
Solo	**pH**	**P**	**K^+**	**Ca^{++}**	**Mg^{++}**	**H + Al**	**CTC total**	**V**	**m**	**MO**
	H_2O	**(cmol dm^{-2})**						**(%)**		**dag kg^{-1}**
AVA	4,96	12,1	61	3,2	1,6	4,79	4,96	51	0	3,10

Análises realizadas no Laboratório de Análise de Solo e Folha Viçosa Ltda, segundo a metodologia da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA (1997).

4.4.2 Montagem do experimento e amostragem

Colunas de PVC de 10 cm de diâmetro interno por 50 cm de comprimento foram parafinadas internamente para evitar escorrimento lateral interno da água a ser utilizada para promover a lixiviação do picloram. Essas colunas possuíam tampa lateral removível e foram marcadas a cada 5 cm de distância. Em sua base inferior foi colocada uma tela de nylon com papel de filtro para evitar a perda de solo, e anexada em um pequeno vaso preenchido com brita para mantê-la na posição vertical. Cada coluna foi preenchida com aproximadamente 3,5 kg de solo umedecido próximo à capacidade de campo, e posteriormente deixadas em

repouso por 24 horas para drenagem do excesso de água. Na parte superior da coluna foi aplicado o herbicida na dose de 720 g ha^{-1}, equivalente a 3 L ha^{-1} do produto comercial (Padron®). Essa aplicação se deu através de um pulverizador de precisão, equipado com dois bicos XR 110.02, espaçados por 50 cm, mantidos a pressão de 2,5 bar. Em seguida, as colunas foram levadas à casa de vegetação do departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, onde foram mantidas durante o período experimental.

Imediatamente após a aplicação do herbicida, foram simuladas chuvas de 20, 40 e 80 mm de acordo com o tratamento específico. Na simulação das chuvas, na parte superior das colunas foi anexado um pluviômetro para o acompanhamento do volume de chuva desejado. O tempo necessário das simulações foi de 40, 80 e 180 minutos, respectivamente. Após a simulação de chuva as colunas foram deixadas na posição vertical por 72 horas para a completa infiltração da água nas mesmas.

Em seguida, as colunas foram colocadas na posição horizontal, suas tampas laterais removidas e procedeu-se a retirada das amostras de solo. A amostragem foi realizada de forma que todo o conteúdo de solo presente em cada profundidade (5 em 5 cm) fosse transferido para sacos plásticos onde os mesmos foram homogeneizados e secos.

Parte do solo foi então submetido à extração e análise por cromatografia líquida e o restante foi submetido ao bioensaio, onde se fez o semeio do pepino (*cucumis sativus*) como planta indicadora.

Foram avaliados 30 tratamentos: 1 solo (AVA) associado a 3 volumes de chuva (20, 40 e 80 mm) e 10 profundidades (0-5, 5-10, 10-15, 15-20, 20-25, 25-30, 30-35, 35-40, 40-45 e 45-50 cm) em delineamento inteiramente casualizado com 4 repetições e 1 branco para cada volume de chuva. Ao todo foram montadas 15 colunas das quais 12 receberam o produto e as 3 restantes representaram o branco.

No bioensaio, amostras de solo das 10 diferentes profundidades foram colocadas em potes plásticos pequenos onde se fez o semeio de três sementes de pepino em cada um deles. Esses potes eram regularmente irrigados visando o bom crescimento das plantas. A avaliação do índice de intoxicação das plantas-teste pelo herbicida foi realizada aos 21 dias após a emergência das mesmas,

atribuindo-se notas de 0 (ausência de intoxicação) a 10 (morte da planta) de acordo com a escala da EWRC (1964) modificada (Tabela 2).

Tabela 2 – Escala de sintomas de intoxicação provocados pelo picloram em plantas de pepino (Cucumis sativus).

Nota	Descrição dos sintomas
0	Ausência de intoxicação nas plantas
2	20% de intoxicação nas plantas
4	40% de intoxicação nas plantas
6	60% de intoxicação nas plantas
8	80% de intoxicação nas plantas
10	Todas as plantas mortas

Fonte: Escala EWRC (1964), modificada.

A descrição dos sintomas e a avaliação do índice de intoxicação das plantas foi realizada comparando-se com plantas semeadas sob as mesmas condições experimentais, porém sem a aplicação do herbicida, as testemunhas (Anexos).

4.4.3 Análise Cromatográfica

Na determinação do picloram utilizou-se um cromatógrafo a líquido de alta eficiência (Shimadzu LC 20AT), equipado com quatro bombas de saída de solvente, injetor automático (Shimadzu SIL 10AF) com loop de 50µL , detector UV-vis (Shimadzu SPD 20A), forno da coluna (Shimadzu CTO 10ASVP), coluna de aço inox (Shimadzu VP- ODS Shim-pack 150 mm x 4,6 mm i.d) com temperatura mantida constante a 26°C. A fase móvel consistia em uma mistura de solução aquosa de ácido acético a 4% e acetonitrila (85:15, v/v) e foi eluída em modo isocrático em taxa de fluxo igual a 1,2 mL min^{-1}. Antes de ser utilizada, a fase móvel foi filtrada em membrana Milipore (Bedford, MA, USA) 0,45 µm. A detecção do pesticida foi realizada a 254 nm.

4.4.4 Solução Padrão

O padrão analítico do herbicida picloram (98,5% de pureza) foi obtido através da ChemService (West Chester, PA). Solução estoque (100 mg L^{-1}) e

soluções de trabalho em diferentes concentrações foram preparadas em solução de ácido acético 25%, estocadas em local escuro e em temperatura ambiente.

4.4.5 Técnica de Extração

Na extração do picloram nas amostras de solo, foi utilizada a técnica de extração sólido-líquido proposta por Cheng, H. H. (1969) adaptada. Esta técnica consiste em colocar 2,00 g de solo, seco ao ar e passado por uma peneira de malha de 2,0 mm de poro, em tubos plásticos de fundo cônico e tampa rosqueável. Em seguida, adiciona-se 20,0 mL de solução de KCl na concentração igual a 0,5 mol L^{-1}, agita-se o frasco em agitador vortex por 10 segundos para a formação da suspensão e ajusta-se o pH dessa para 7,0, com gotas de solução alcalina KOH 0,1mol L^{-1}.

Posteriormente, agita-se o sistema em agitador vertical por 60 minutos e posteriormente deixa-se em repouso por 10 minutos. Em seguida, os frascos são centrifugados durante 10 minutos a 3.500 rpm.

Concluída a decantação das partículas do solo e a limpeza do extrato, 1,5 mL do sobrenadante é retirado e transferido para uma seringa de vidro de 5,0 mL de capacidade com um filtro Milipore de 0,45 μm de poro. Finalmente, os conteúdos das seringas são filtrados diretamente em frascos de vidro de 1,8 mL de capacidade e analisados por cromatografia líquida de alta eficiência equipada com um detector UV-vis.

A técnica proposta por Cheng, 1969, foi otimizada e foram avaliados alguns parâmetros de validação propostos pelo ANVISA (2003), INMETRO (2003) e Ribani et al., 2004, dos quais podem ser citadas a seletividade, linearidade de resposta do detector, limites de detecção (LD) e quantificação (LQ), precisão e exatidão.

4.4.6 Fortificação das Amostras de Solo e Curva Padrão

Para construção da curva analítica, amostras do solo foram fortificadas com o princípio ativas em concentrações crescentes (μg L^{-1}) e em seguida submetidas ao método de extração. As concentrações dos extratos estavam na faixa de 2,0 a 100,0 μg L^{-1}. Os extratos obtidos foram então injetados e a curva analítica foi obtida relacionando as concentrações do picloram e suas respectivas

áreas. A quantificação do analito foi realizada a partir da equação da reta obtida pela curva analítica do método.

4.5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.5.1 Validação do Método Proposto

É essencial que os estudos de validação sejam representativos e conduzidos de modo que a variação da faixa de concentração e os tipos de amostras sejam adequados. De acordo com a dose aplicada equivalente a 720 g/ha, o que corresponde a 3 vezes a dose recomendada, em colunas de solo com aproximadamente 3,5 kg, caso houvesse uma perfeita homogeneização do herbicida pelo solo contido na coluna, a concentração do herbicida estaria em torno de 161,4 $\mu g\ kg^{-1}$. Como o processo de dissipação do herbicida pelo solo ocorre de maneira heterogênea e desuniforme, as concentrações encontradas poderiam ser em alguns pontos inferiores ou superiores ao valor estimado. Portanto, a faixa de trabalho escolhida foi o intervalo de 2,0 a 100,0 $\mu g\ L^{-1}$, o que corresponde a 20,0 a 1000,0 $\mu g\ kg^{-1}$.

Os principais parâmetros avaliados no processo de validação do método analítico estão descritos na tabela 4, onde se verifica que os valores se encontram em conformidade com o descrito na literatura para a análise de pesticidas (INMETRO, 2003; Ribani et al., 2004): média de recuperação entre 70 e 120% e CV < 20%.

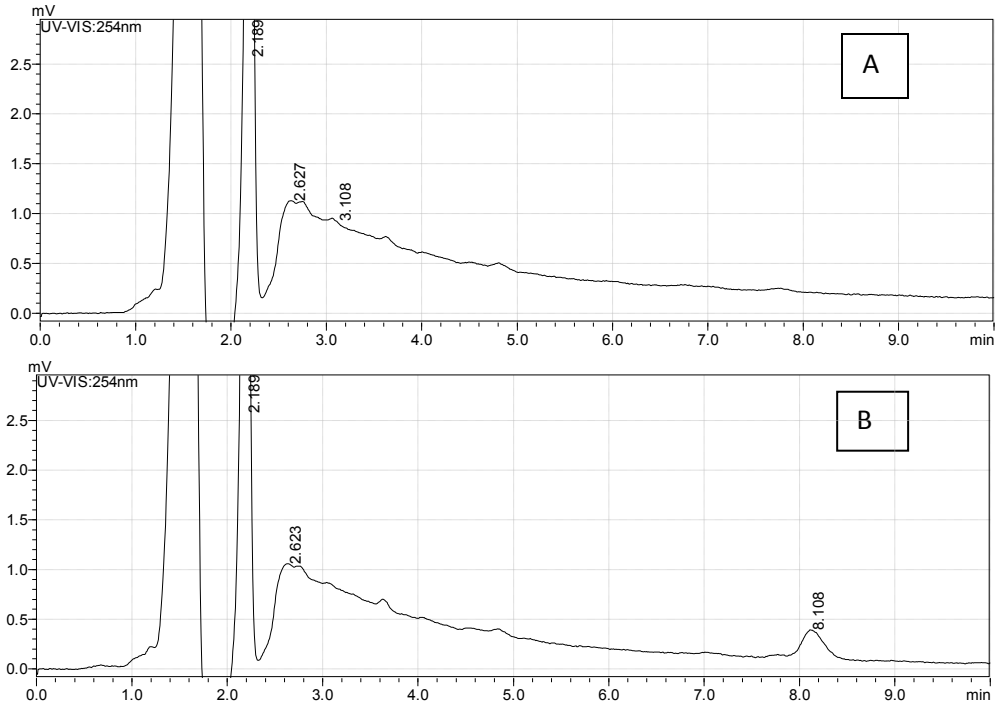
Tabela 3 - Parâmetros avaliados no processo de validação do método analítico.

Limite de Detecção (LD) $\mu g\ Kg^{-1}$	20,0
Limite de Quantificação (LQ) $\mu g\ Kg^{-1}$	66,0
Porcentagem de Recuperação (%R)	95,94
Coeficiente de Variação (CV)	2,32
Curva Analítica	y = 221,9x - 270,9
Coeficiente de Correlação (r)	0,999

Os cromatogramas correspondentes ao extrato da matriz isenta de herbicida e do padrão 50,0 $\mu g\ L^{-1}$ do picloram preparado no extrato da matriz do herbicida estudado estão apresentados nas figuras 2 e 3.

Comparando-se os cromatogramas obtidos pelo extrato da matriz isenta do herbicida (branco) e aquele obtido pelo padrão preparado no extrato da matriz, é possível afirmar, que o pico presente no tempo de retenção igual a 8,10 min refere-se ao picloram, o que torna a técnica seletiva. A identificação do analito foi feita por comparação entre os tempos de retenção. A quantificação do herbicida nas amostras reais foi realizada a partir da curva padrão.

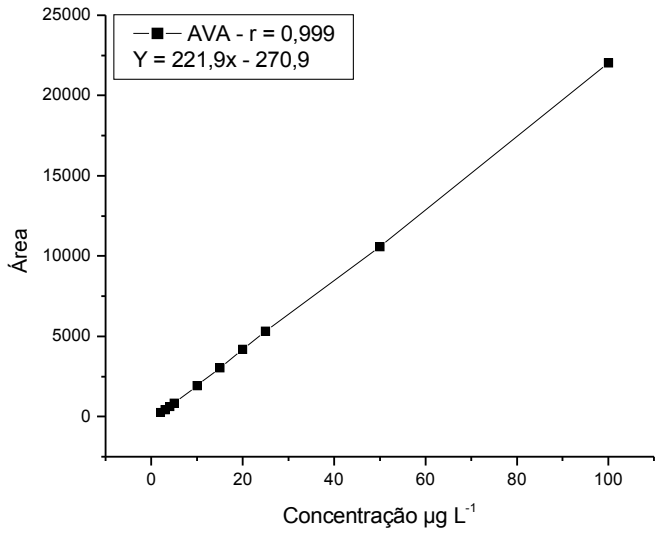
Figura 1 – Resposta do detector em função do tempo em minutos. (A) Cromatograma do extrato obtido do solo AVA isento do herbicida e (B) cromatograma do mesmo solo fortificado com 50,0 µg L^{-1} do herbicida estudado, onde: tR= 8,10: picloram.



4.5.2 Quantificação do picloram nas amostras de solo

A curva padrão do picloram obtida pela extração de amostras fortificadas em diferentes concentrações de acordo com o método proposto está representada na figura 2.

Figura 2 – Curva padrão do picloram obtida pela injeção de extratos obtidos por amostras fortificadas em concentrações de 2,0 a 100,0 µg L^{-1} e submetidas ao método proposto e determinados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).



A quantificação do picloram nas amostras de solo AVA em diferentes profundidades nas colunas submetidas a diferentes intensidades de chuva está apresentada na tabela 4.

Tabela 4 – Concentração do picloram determinada por cromatografia líquida de alta eficiência, em amostras de solo coletadas em diferentes profundidades das colunas após simulação de chuvas.

	Profundidades (cm)						Conc. Total $\mu g\ kg^{-1}$
	0 - 5	5 - 10	10 - 15	15 -20	20 - 25	25 - 50	
Volume de Chuva	Concetração $\mu g\ kg^{-1}$						
20 mm	647,7	99,5	ND	ND	ND	ND	747,2
40 mm	476,8	250,3	65,2	ND	ND	ND	792,3
80 mm	160,2	138	207,6	174,1	60,9	ND	740,8

ND = Não Detectado

A lixiviação do picloram através das colunas de solo foi influenciada pelos volumes de chuva aplicados. Foi possível quantificar o herbicida até a profundidade de 10, 15 e 25 cm nas colunas submetidas a 20, 40 e 80 mm de chuva respectivamente. Observou-se o nítido deslocamento do herbicida através do solo.

Resultados semelhantes foram observados quando se utilizou o método biológico (Figura 5). Observa-se nesta figura que a porcentagem de intoxicação das plantas variou de 90 a 100% nas profundidades indicadas anteriormente. Não foi observada intoxicação nas plantas semeadas em amostras de solo nas outras profundidades das respectivas colunas. Estes resultados confirmam a possibilidade do uso do teste biológico como teste rápido de lixiviação desse herbicida no perfil de solos (D'Antonino, L. et al. 2009). Nas profundidades onde foi possível detectar e quantificar o herbicida pela cromatografia, foi possível, também, observar intoxicação das plantas indicadoras. A análise visual foi realizada 21 dias após a emergência das plantas (Anexo).

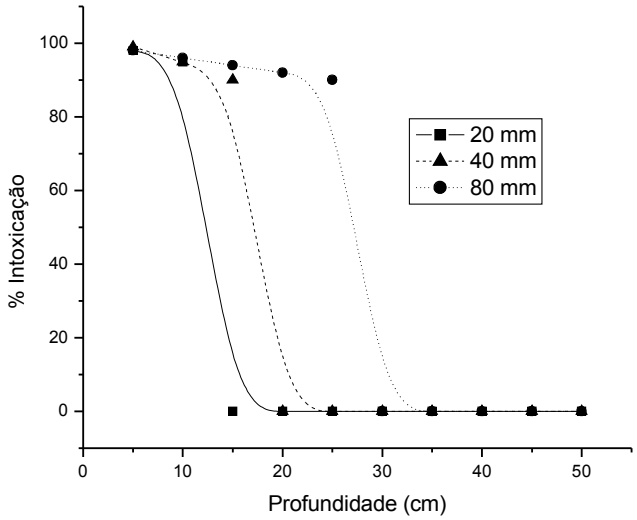


Figura 5 - Porcentagem de intoxicação de plantas de pepino cultivadas em amostras de Argissolo Vermelho-Amarelo (pH 4,96), em função de diferentes profundidades das colunas após a aplicação de picloram e simulação de chuvas de 20, 40 e 80 mm. Viçosa, MG. 2007

Através do bioensaio e pela comparação com o método cromatográfico, foi possível perceber que a menor concentração necessária para causar intoxicação nas plantas de pepino foi equivalente a 60 $\mu g\ kg^{-1}$ de solo.

De acordo com os dados apresentados e também devido a elevada persistência no solo apresentada pelo picloram, pode-se presumir que, num período de chuvas intensas ou periódicas, esse herbicida possa vir a atingir grandes profundidades e contaminar águas subterrâneas. Isso mostra a importância dos cuidados envolvidos na aplicação de herbicidas, tais como dosagem adequada, observação das condições climáticas, equipamentos calibrados e mão-de-obra especializada (Silva et al., 2007).

Segundo a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (US EPA, 1999), o picloram é considerado de mobilidade intermediária a muito móvel nos solos em geral. Pode ser lixiviado em solos com pequeno teor de matéria orgânica, alcalinos e altamente permeáveis. Estudos conduzidos pelo centro de Pesquisas Geológicas dos Estados Unidos (USGS, 1998) mostraram a presença de resíduos do picloram em 0,11 - 0,20 % das águas subterrâneas pesquisadas. O nível máximo detectado foi de 2,2 $\mu g\ L^{-1}$. Segundo Stoner et al., (1998), este pesticida foi detectado em 3% de amostras de águas subterrâneas na bacia do Red

River no estado do Minnesota, norte e sul de Dakota, em concentrações abaixo de 10 µg L^{-1}. Estudos realizados por Celis, M. R. et al. (2005), onde foi avaliada a lixiviação do picloram em quatro diferentes solos de diferentes regiões edafoclimáticas da Europa com pH variando de 6,3 a 7,3, foi observada a lixiviação deste herbicida ao longo de toda a coluna preparada com os quatro solos estudados. A grande lixiviação do picloram está relacionada à sua baixa sorção na maioria dos solos e a grande persistência.

Os resultados obtidos estão em concordância com aqueles obtidos por Celis, M. R. et al., (2005) e D'Antonino, L. et al.(2009). Esse herbicida tem sua mobilidade muito dependente do teor de matéria orgânica e pH dos solos. De acordo com Cheung, M. W. et al, 1974, em pH acima de 5,0, cerca de 95,2 a 100,0 % das moléculas do picloram estarão na espécie aniônica, desta forma, essas moléculas estarão menos sorvidas pelas partículas negativas das argilas e matéria orgânica do solo, portanto, estarão presentes preferencialmente na solução do solo e mais passíveis de serem lixiviadas.

Os solos brasileiros são muito variados devido à grande extensão territorial, porém, Latossolos e Argissolos são predominantes em áreas de pastagens onde esse herbicida é muito utilizado. Segundo Hamarker, J. W., et al., (1966), conteúdos mais elevados de material orgânico nos solos reduzem a movimentação do picloram a grandes profundidades por lixiviação. Considerando-se que a maioria dos solos de pastagens tem pouca cobertura vegetal devido ao manejo inadequado dessas áreas e são bastante intemperizados, a aplicação do picloram deverá ser realizada com conhecimento técnico. Em decorrência, é exigida grande cautela visando evitar a contaminação de águas superficiais e subterrâneas e também o efeito tóxico (*carryover*) em culturas posteriores e/ou adjacentes.

4.6 - CONCLUSÃO

O herbicida picloram amplamente utilizado no combate de plantas daninhas em pastagens apresentou lixiviação diretamente dependente do volume de chuva aplicado. O herbicida atingiu regiões mais profundas nas colunas de solo cuja intensidade de chuva foi maior. Houve boa concordância entre os resultados obtidos pelo bioensaio, utilizando como planta indicadora o pepino, e o método

cromatográfico. Onde foi possível visualizar intoxicação nas plantas pôde-se também detectar e quantificar o herbicida estudado.

Aplicações do picloram sem conhecimento técnico e planejamento prévio, a utilização de equipamentos descalibrados, mão-de-obra não-qualificada, e a não observação das condições climáticas, podem resultar em casos desastrosos de contaminação de águas superficiais e subterrâneas.

4.7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBANIS, T. A.; HELA, D. G.; SAKELLARIDES, T. M.; KONSTANTINOU, I. K. Monitoring of pesticide residues and their metabolites in surface and underground waters of Imathia (N. Greece) by means of solidphase extraction disk and gas chromatography. Journal of Chromatography A, v. 823, p. 59-71, 1998.

AZEVEDO, D. A.; LACORTE, S.; VINHAS, T.; VIANA, P.; BARCELÓ, D. Monitoring of priority pesticides and other organic pollutants in river water from Portugal by gas chromatography-mass spectrometry and liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. Journal of Chromatography A, v. 79, p. 13-26, 2000.

BIGGAR, J. W., CHEUNG, M. W. Adsorption of picloram (4-amino-3,5,6-trichloropicolinic acid) on Paloche, Ephrata, and Palouse soils: a thermodynamic approach to the adsorption mechanism. Soil Sci. Soc. Amer. Proc., v. 37, p. 863-868, 1973.

CELIS, R.; HERMOSIN, M. C.; CORNEJO, L.; CARRIZOSA, M. J.; CORNEJO, J. Clay-herbicide complexes to retard picloram leaching in soil. Intern. J. Environ. Anal. Chem., v. 82, n. 8-9, p. 503-517, 2002.

CELIS, R.; HERMOSIN, M. C.; REAL, M.; CORNEJO, J. Sorption and leaching behavior of polar aromatic acids in agricultural soils by batch and column leaching tests. European Journal of Soil Science, v. 56, p. 287-297, 2005.

CHENG, H. H. Extraction and colorimetric determination of picloram in soil. J. Agr. Food Chem, v. 17, n. 6, p. 1174-1175, 1969.

CHEUNG, M. W.; BIGGAR, J. W. Solubility and molecular structure of 4-amino-3,5,6-trichloropicolinic acid in relation to pH and temperature. J. Agr. Food Chem., v. 22, n. 2, p. 202-206, 1974.

COHEN, S. Z.; WAUCHOPE, R. D.; KLEIN, A. W.; EADSFORTH, C. V.; GRANEY, R. Offsite transport of pesticides in water mathematical models of pesticide leaching and runoff. International Union of Pure and Applied Chemistry, v. 67, n. 12, p. 2109-2148, 1995.

D'ANTONINO, L., SILVA, A.A., FERREIRA, L.R., CECON, P.R., FRANÇA, A.C., SILVA, G.R. Lixiviação do picloram em Argissolo-Vermelho Amarelo e Latossolo Vermelho-Amarelo com diferentes valores de pH. Planta Daninha, Viçosa-MG, v. 27, n. 3, p. 589-600, 2009.

DEUBERT, K. H.; CORTE-REAL, I. Soil residues of picloram and triclopyr after selective foliar application on utility rights-of-way. Journal of Arboriculture, v. 12, p. 269-272, 1986.

EUROPEAN WEED RESEARCH COUNCIL – EWRC. Report of the 3rd and 4th meetings of EWRC - Comittee of Methods in Weed Research. Weed Res., v. 4, n. 1, p. 88, 1964.

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 Guaíra. Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, v. 37, n. 5, p. 659-667, 2002.

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

INOUE, M. H. et al. Critérios para avaliação do potencial de lixiviação dos herbicidas comercializados no Estado do Paraná. Planta Daninha, Viçosa, v. 21, n. 2, 2003.

KLUTHCOUSKI, J.; STONE, L.F.; AIDAR, H. Cobertura de solo em integração lavoura-pecuária. IN: V SIMPÓSIO DE PRODUÇÃO DE GADO DE CORTE, 5, 2006. Anais...Viçosa, UFV, DZO, 2006. p. 81-156.

LOURENCETTI, C.; MARCHI, M. R. R.; RIBEIRO, M. L. Avaliação do Potencial de Contaminação de Águas Subterrâneas por Pesticidas: Comparação entre Métodos de Previsão de Lixiviação. Pesticidas: r. ecotoxicol. e meio ambiente, Curitiba, v. 15, p. 01–14, 2005.

OLIVEIRA Jr, R. S.; KOSHINEN, W. C.; FERREIRA, F. A. Sorption and leaching potential of herbicides on Brazilian soils. Weed Research, v. 41, p. 97-110, 2001.

PINEDA, N. R.; ROCHA, J. C. N. C. Estratégias de marketing e alianças mercadológicas na cadeia produtiva da carne bovina. In: Simpósio de Produção de Gado de Corte, 3., 2002, Viçosa. Anais.... Viçosa, MG: SBZ, 2002. p. 1-22.

RACKE, K. D.; SKIDMORE, M. W.; HAMILTON, D. J.; UNSWORTH, J. B.; MIYAMOTO, J.; COHEN, S. Z. Pesticides fate and tropical soils. International Union of Pure and Applied Chemistry, v. 69, n. 6, p. 1349-1371, 1997.

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, v. 27, n. 5, p. 771-780, 2004.

RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. Guia de herbicidas. Grafmarke, 5ª ed. Londrina, PR, 2005.

SILVA, A.A.; SILVA, J. F. Tópicos em manejo de plantas daninhas. Editora UFV, 1ª ed. Viçosa, MG, 2007.

STONER, J. D.; LORENZ, D. L.; GOLDSTEIN, R. M.; BRIGHAM, M. E.; COWDERY, T. K. Water Quality in the Red River of the North Basian, Minnesota, North Dakota, and South Dakota, 1992-95. U. S. Geological Survey Circular 1169, 1998.

U.S. EPA (United States Environmental Protection Agency). Picloram: Time-Limited Pesticide Tolerances. Federal Register. 64(2), p. 418-425, 1999.

USGS (U.S. Geological Survey). 1998. Data on Pesticides in Surface and Ground Water of the United States., Results of the National Water Quality Assessment Program (NAWQA). 1998.

WEED SCIENCE SOCIETY OF AMERICA – WSSA. Herbicide handbook. Champaign: 1994. 352 p.

5 – ANEXOS

Figura 1 – Intoxicação em plantas de pepino em solo tratado com picloram, proveniente de colunas de lixiviação após a simulação de 20 mm de chuva.

Figura 2 – Intoxicação em plantas de pepino em solo tratado com picloram, proveniente de colunas de lixiviação após a simulação de 40 mm de chuva.

Figura 3 – Intoxicação em plantas de pepino em solo tratado com picloram, proveniente de colunas de lixiviação após a simulação de 80 mm de chuva.

Livros Grátis

(http://www.livrosgratis.com.br)

Milhares de Livros para Download:

Baixar livros de Administração
Baixar livros de Agronomia
Baixar livros de Arquitetura
Baixar livros de Artes
Baixar livros de Astronomia
Baixar livros de Biologia Geral
Baixar livros de Ciência da Computação
Baixar livros de Ciência da Informação
Baixar livros de Ciência Política
Baixar livros de Ciências da Saúde
Baixar livros de Comunicação
Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE
Baixar livros de Defesa civil
Baixar livros de Direito
Baixar livros de Direitos humanos
Baixar livros de Economia
Baixar livros de Economia Doméstica
Baixar livros de Educação
Baixar livros de Educação - Trânsito
Baixar livros de Educação Física
Baixar livros de Engenharia Aeroespacial
Baixar livros de Farmácia
Baixar livros de Filosofia
Baixar livros de Física
Baixar livros de Geociências
Baixar livros de Geografia
Baixar livros de História
Baixar livros de Línguas

Baixar livros de Literatura
Baixar livros de Literatura de Cordel
Baixar livros de Literatura Infantil
Baixar livros de Matemática
Baixar livros de Medicina
Baixar livros de Medicina Veterinária
Baixar livros de Meio Ambiente
Baixar livros de Meteorologia
Baixar Monografias e TCC
Baixar livros Multidisciplinar
Baixar livros de Música
Baixar livros de Psicologia
Baixar livros de Química
Baixar livros de Saúde Coletiva
Baixar livros de Serviço Social
Baixar livros de Sociologia
Baixar livros de Teologia
Baixar livros de Trabalho
Baixar livros de Turismo