

<https://eventos.utfpr.edu.br/sei/sei2018>

Desenvolvimento de metodologia analítica por espectrofotometria para determinação dos herbicidas Jaguar e Trueno

Development of analytical methodology by spectrophotometry for the determination of the herbicides jaguar and trueno

William Júnior Ribeiro dos Santos

Junior10k2@hotmail.com

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil

Andréia Anschau

andreaanschau@utfpr.edu.br

Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil

RESUMO

O número de produtos químicos produzidos no mundo vem aumentando, principalmente os voltados para aplicações agrícolas, nos quais herbicidas destacam-se por serem os agroquímicos mais comercializados. Entretanto, são produtos constituídos por moléculas com alto grau de toxicidade, que causam lixiviação ao solo e contaminação de recursos hídricos. Conseqüentemente metodologias eficientes e de baixo custo estão sendo desenvolvidas para determinar a concentração desses produtos no ambiente. O objetivo do presente trabalho foi desenvolver uma metodologia para determinação dos herbicidas Jaguar e Trueno, cujos princípios ativos são aminopiralde, fluroxipir e ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D). A técnica visa o cumprimento dos parâmetros exigidos pela ANVISA para sua validação. Para leituras utilizou-se o comprimento de onda máximo encontrado na varredura para o Jaguar (290 nm) e o Trueno (270 nm). O método apresentou especificidade, seletividade, linearidade e limite de quantificação. Já nos testes de intervalo, repetibilidade, precisão e exatidão não houve validação. Demonstrando que a metodologia desenvolvida no presente estudo por mais fácil que seja sua execução, baixo custo, baixo consumo de reagentes e geração mínima de resíduos, não se mostrou efetiva.

PALAVRAS-CHAVE: Espectrofotometria UV. Contaminação. Agrotóxico.

ABSTRACT

The number of chemicals produced in the world has been increasing, mainly the ones turned for agricultural applications, which herbicides are the most commercialized agrochemicals. However, they are products composed of molecules with high degree of toxicity, which cause leaching the soil and contamination of water resources. Consequently, efficient and low cost methodologies are being developed to determine the concentration of these products in the environment. The objective of the present work was to develop a methodology for the determination of the herbicides Jaguar and Trueno, whose active principles are aminopyralid, fluroxypyr and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D). The technique aims at fulfilling the parameters required by ANVISA for its validation. For readings, the maximum wavelength found in the scan for Jaguar (290 nm) and Trueno (270 nm) was used. The method presented specificity, selectivity, linearity and limit of quantification. Within the range studied. Already in the tests of interval, repeatability, precision and accuracy there was no validation. Demonstrating that the methodology developed in the present study, however easy it is to execute, low cost, low reagent consumption and minimal waste generation, was not effective.

KEYWORDS: UV spectrophotometry. Contamination. Agrototoxic.

Recebido: 02 set. 2018.

Aprovado: 12 set. 2018.

Direito autorial:

Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.



INTRODUÇÃO

A contaminação de águas e solos caracterizada pela distribuição ou dispersão de agrotóxicos no meio ambiente, é particularmente preocupante devido aos níveis de poluição ambiental decorrentes da intensificação de atividades agrícolas. Os sinais da presença desse tipo de poluição só se tornam perceptíveis quando esta já se encontra em estágio bem avançado. É o que ocorre com herbicidas inorgânicos e organometálicos, por exemplo, que tiveram seu uso proibido, principalmente os que envolviam os elementos químicos cobre e arsênio em sua formulação por serem considerados bioacumulativos ao longo da cadeia alimentar (BAIRD; CANN, 2011).

Devido à persistência desses metais no ambiente e o interesse no aumento da produção de alimentos, para suprir as necessidades básicas, e atender o crescimento populacional, novos produtos químicos foram desenvolvidos. Em consequência disso, surgiu a preocupação, por parte da população, com o uso em larga escala desses produtos nos alimentos, devido à grande quantidade de irregularidades encontradas na sua aplicação, bem como a necessidade de informações sobre a qualidade dos produtos que estão sendo consumidos (ANVISA, 2006).

Popularmente conhecidos como defensivos agrícolas, pesticidas ou praguicidas, os agrotóxicos são compostos químicos que contêm em sua composição substâncias que interferem na atividade biológica dos seres vivos alvo de controle (Domingues et al., 2004). O uso abusivo de defensivos agrícolas afeta, principalmente, a população rural e circunvizinha, já que podem desenvolver distúrbios neurológicos, respiratórios, cardíacos, pulmonares e no sistema endócrino (SILVA, 2012).

No ambiente, esses compostos podem promover desequilíbrio no ecossistema devido à extinção de algumas espécies de animais, erosão de solos e desertificação, contaminação de águas potável e águas de rio e ar, além do alimento produzido contendo resíduos dessas substâncias (CABRERA; PINHO; GILBERTO, 2008).

Aminopiridina, fluroxipir e ácido 2,4-diclorofenoxyacético (2,4-D) são ingredientes ativos de herbicidas, indicados para o controle em pós-emergência de plantas daninhas dicotiledôneas herbáceas e semi-arbustivas. O 2,4-D destaca-se entre os herbicidas por ser um dos mais empregados no setor agrícola (MERINI et al., 2007). Esse herbicida altamente seletivo, sistêmico e pós-emergente, é bastante utilizado em diversas culturas agrícolas. O 2,4-D pertence à família dos organoclorados, que são compostos extremamente tóxicos e que apresentam longa persistência (HIGARASHI, 1999). A elevada toxicidade desse herbicida e de seu produto de degradação exige que se encontrem formas de eliminá-lo sem causar e/ou minimizar seus danos ao ambiente.

A degradação biológica da molécula do contaminante (herbicida) em produtos menos tóxicos representa uma das formas de proteger o ambiente e de recuperar locais já contaminados. Nesse processo, denominado de biorremediação, a molécula degrada-se completamente a moléculas inorgânicas de ocorrência universal, como CO₂, CO, H₂O, NH₃, H₂S e HCl (MELO; AZEVEDO, 2008). A biorremediação constitui solução eficaz e tem despertado o interesse de muitos pesquisadores (UQAB; MUDASIR; NAZIR, 2016).

Para identificação dessas moléculas no ambiente envolvido, métodos quali-quantitativos devem ser estabelecidos e validados, para que seja possível sua determinação. Assim, havendo critérios pré-estabelecidos para o processo de validação do método analítico (SILVA, 2009).

A validação garante através desses meios experimentais que o método atenda as exigências de aplicações analíticas, que por sua vez, asseguram a confiabilidade dos resultados. Além disso, trata-se de uma tecnologia robusta e célere e que fornece resultados confiáveis.

Há diversos órgãos e instituições, como ANVISA, MAPA e USA-FDA que descrevem através de diretrizes, os parâmetros e critérios que se devem ser cumpridos, para que o método seja validado e aceito pela comunidade científica (SILVA, 2009). No quais, são descritos como: especificidade e seletividade, intervalo de trabalho, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), função da resposta, precisão, linearidade, exatidão, sensibilidade e robustez.

Com base no exposto, esse estudo objetiva desenvolver uma metodologia espectrofotométrica para determinação dos herbicidas Jaguar e Trueno, cujos princípios ativos são aminopiridina, fluroxipir e ácido 2,4-diclorofenoxyacético (2,4-D). Com isso, o trabalho propõe a utilização de métodos analíticos simples, rápidos, eficientes e de baixo custo que possam ser aplicados à determinação dos herbicidas, visando assim a aplicação dos princípios da Química Verde, ou seja, reduzir ao máximo a utilização de substâncias tóxicas e/ou à produção de resíduos que necessitam de tratamento de custo elevado e profissional especializado.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para cumprir com objetivo do presente trabalho, os métodos empregados seguiram as exigências pré-estabelecidas pela ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária) para sua validação, (RESOLUÇÃO – RE Nº 899, DE 29 DE MAIO DE 2003). Os testes incluem especificidade, seletividade, linearidade, intervalo, repetibilidade, limite de quantificação precisão e exatidão.

No estudo de especificidade foi feita uma varredura em espectrofotômetro na região do UV-Vis (190-900 nm) com soluções (333,33 µg/mL), isoladas dos herbicidas de referência para selecionar o melhor comprimento de onda UV- is (λ_{max}) para a detecção dos herbicidas Jaguar, Trueno e Imazapyr em uma solução aquosa.

A utilização do Imazapyr representa a averiguação do grau de especificidade e seletividade das moléculas estudadas, onde a capacidade de leitura do espectrofotômetro, determina se os compostos estudados são capazes de serem lidos na presença de outros compostos, sendo eles, impurezas, produtos de degradação ou moléculas com altos grau de similaridade.

Foram feitas análises espectrofotométricas no comprimento de onda determinado anteriormente para cada herbicida, mas na presença de 1000 µg/mL do composto Imazapyr, para averiguar sua especificidade diante da presença do Imazapyr, que possui comprimento de onda de 260 nm.

O método foi feito através da leitura em espectrofotômetro na região do UV, de soluções padrão dos herbicidas, em um intervalo que compreende

concentrações entre 33,33 – 1000 µg/mL, para o Jaguar e 256,4 – 1000 µg/mL, para o Trueno.

A partir dos resultados obtidos, foi construído um gráfico de concentração versus absorvância utilizando-se como critério de aceitação um coeficiente de correlação (R²) maior ou igual a 0,99 e obtendo-se uma equação de reta:

$$Y = A + BX \quad (1)$$

Em que Y é a linearidade, A é o coeficiente linear (também chamado intercepto, é o valor que Y assume quando X for zero), B é o coeficiente angular (é a inclinação da reta, mede o aumento ou redução em Y para cada aumento de uma unidade em X).

A partir dessa curva de calibração, foi calculado o coeficiente angular da reta (B) e o seu ponto de intersecção no eixo Y.

O Limite de Quantificação (LQ) Equação (2), é baseada no desvio padrão (σ) da resposta e no coeficiente angular (S) da curva de calibração conforme a equação:

$$LQ = \left(\frac{10\sigma}{S} \right) \quad (2)$$

Foram utilizadas amostras de cada um dos herbicidas a 1000 µg/mL. Este parâmetro foi avaliado em dois níveis: Repetibilidade (precisão intracorrída) e (precisão intermediária).

Na precisão intracorrída a repetibilidade do método foi determinada através de 4 repetições, contendo três replicatas, realizadas pelo mesmo analista, no mesmo laboratório, em períodos alternados (manhã e tarde), verificando-se os resultados se encontram dentro da máxima diferença aceitável.

A precisão intermediária foi realizada através de variações dentro do mesmo laboratório, em dias diferentes e por analistas diferentes. O ensaio foi realizado com três replicatas, em 2 dias diferentes com 2 analistas diferentes.

Nessa metodologia foi utilizado o método de adição de padrão. Quantidades conhecidas de diferentes concentrações de cada herbicida foram adicionadas a quantidades conhecidas de igual concentração de padrão externo Imazapyr.

Após o preparo das soluções, foram feitas as análises em espectrofotômetro na região do UV em 290 nm, para Jaguar e 287 nm para Trueno. A exatidão foi expressa pela Equação (3), onde DPR é o desvio padrão relativo (ou coeficiente de variação), DP é o desvio padrão e CMD é a concentração média determinada experimentalmente, multiplicados por 100. O teste descreve se os parâmetros encontrados nos testes anteriores batem com leituras de concentrações analisadas no mesmo.

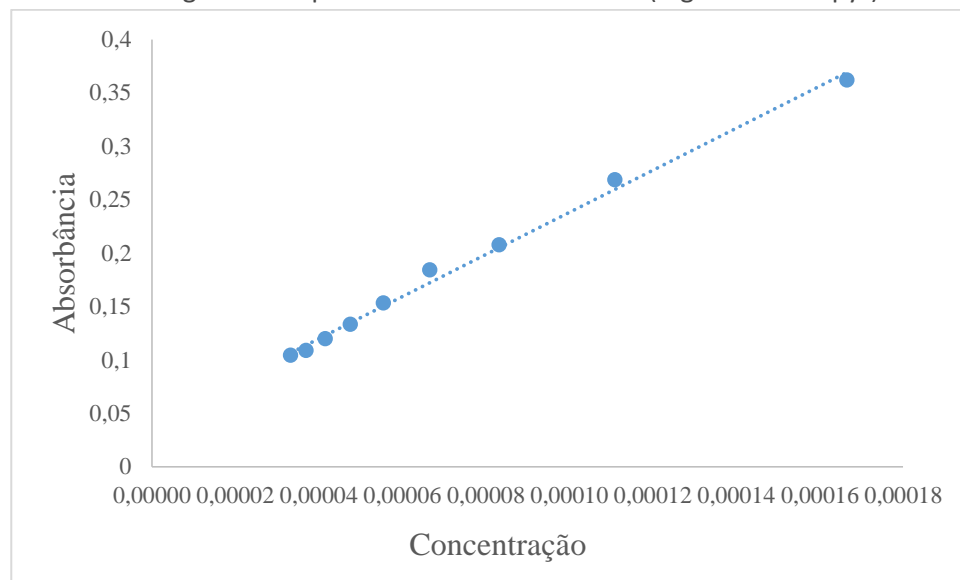
$$DPR = \frac{DP}{CMD} 100 \quad (3)$$

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na especificidade, determinou-se o comprimento de onda para cada herbicida: 290 nm para o Jaguar, 287 nm para o Trueno e 260 nm para o Imazapyr.

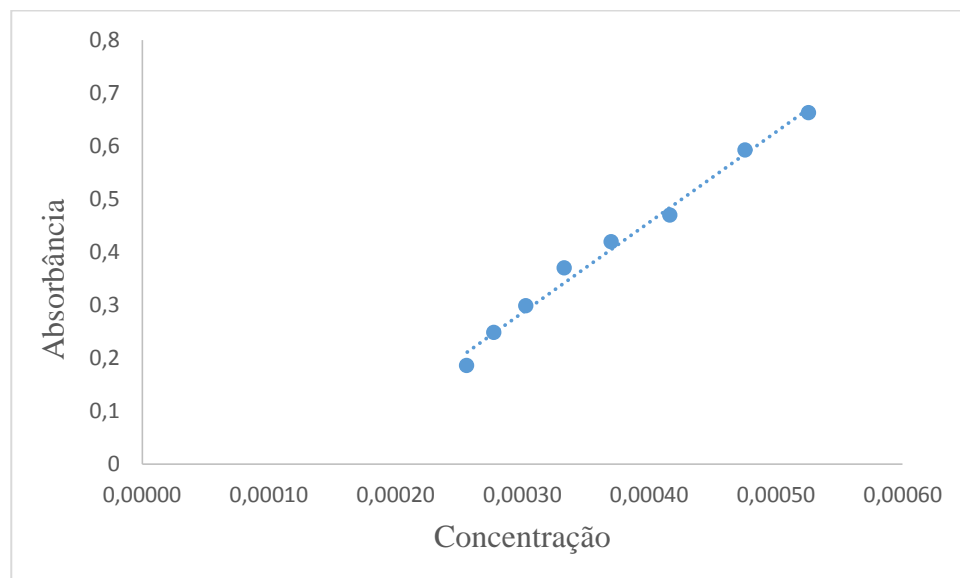
As Figuras (1) e (2) apresentam os resultados da análise de seletividade.

Figura 1 – Especificidade de seletividade (Jaguar + Imazapyr).



Fonte: próprio autor (2018).

Figura 2 – Especificidade de seletividade (Trueno + Imazapyr).



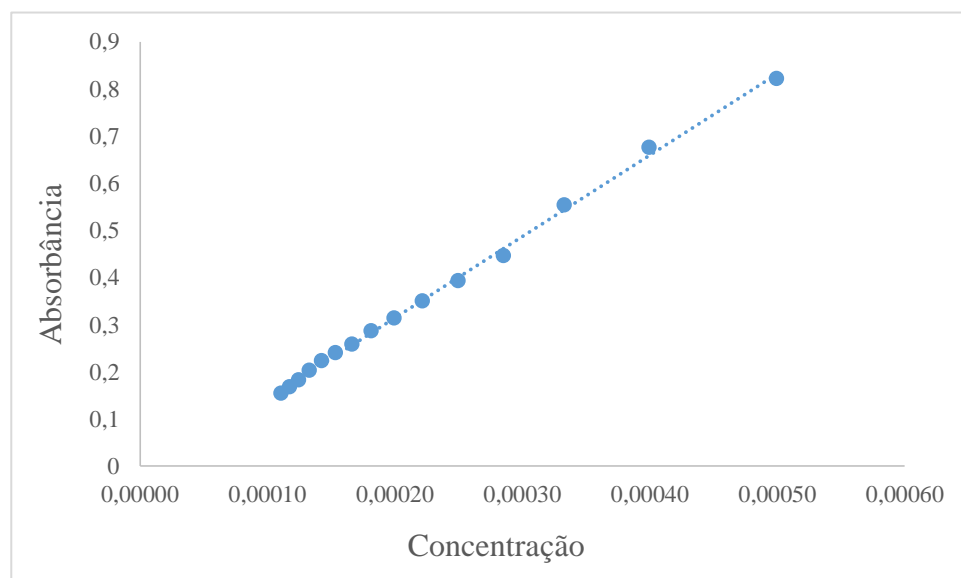
Fonte: próprio autor (2018).

No teste de linearidade, foi feita uma curva da calibração utilizando diferentes concentrações dos herbicidas Jaguar e Trueno. A partir da curva-padrão obteve-se a equação da reta para cada herbicida, sendo possível determinar o valor de concentração para os herbicidas analisados por espectrofotometria. As análises em espectrofotômetro na região do UV, demonstraram que o critério mínimo de aceitação do coeficiente de correlação (R2) foi alcançado, sendo 0,9982 para o Jaguar e 0,9976 para o Trueno. Dentre as

soluções preparadas, o intervalo especificado para o Jaguar foi de 100 – 500 $\mu\text{g/mL}$, e para o Trueno foi de 400 – 600 $\mu\text{g/mL}$, apresentou leituras de absorção diretamente proporcionais à concentração do analito, confirmando a linearidade do método nas curvas de calibração.

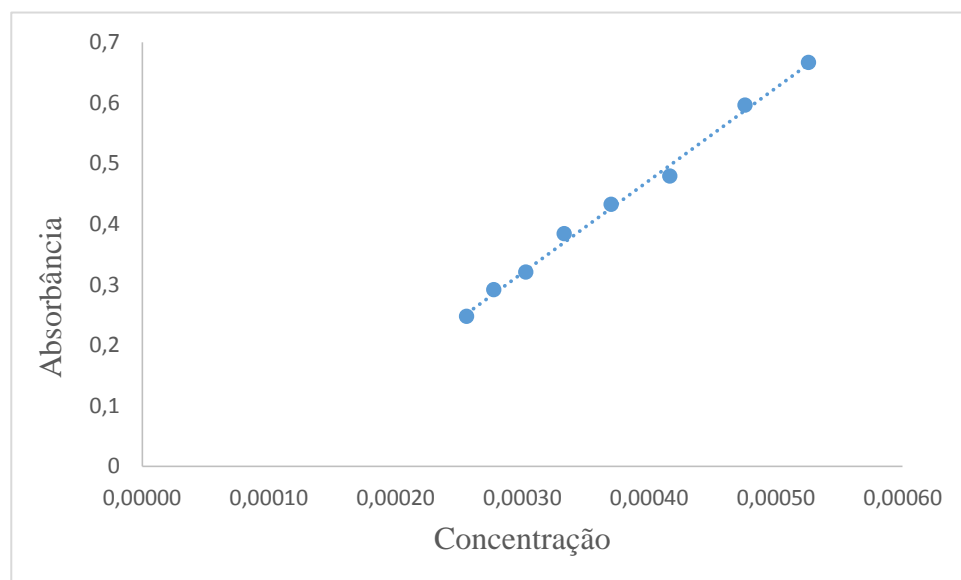
De acordo com a Figura (3) e a Figura (4), observa-se que os herbicidas Jaguar e Trueno apresentam linearidade no intervalo da concentração testada. Seus respectivos coeficientes angulares (B) correspondem a 1772,8 para o Jaguar e 1526,9 para o Trueno, e o valor do intercepto em ambos os herbicidas obtido (A) são diferentes de zero.

Figura 3. Curva padrão do herbicida Jaguar.



Fonte: próprio autor (2018).

Figura 4. Curva padrão do herbicida Trueno.



Fonte: próprio autor (2018).

Através da Eq. (2) vemos que o valor calculado para o limite de quantificação foi de 1143,52 $\mu\text{g/mL}$ para o Jaguar e 1081,41 $\mu\text{g/mL}$ para o Trueno. Assim, verifica-se que baixas concentrações dos herbicidas podem ser determinadas com precisão e exatidão aceitáveis, sob condições experimentais.

Com os dados dos testes de precisão intracorrida, em dias e períodos diferentes, e precisão intermediária, em dias e analistas diferentes, podemos ver através da Eq. (3) que os resultados obtidos classificam as análises em níveis de confiança, gerando seu grau de repetibilidade, precisão e reprodutibilidade. Os resultados foram expressos como desvio padrão relativo (DPR). O DPR calculado foi de 6,19 %, para o Jaguar e 6,84 % para o Trueno no teste de precisão intracorrida. Já no teste de precisão intermediária, o DPR calculado foi de 8,86 % para o jaguar e 8,73 % para o Trueno. Assim, demonstrando que as análises influenciam no período em que foram realizadas, como analista, que os executaram. Na qual, não cumpriram com o padrão estabelecido para validação do teste, pois o DPR máximo permitido pela ANVISA é igual ou inferior a 5 % (RDC nº 899 de 29 de maio de 2003).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O método desenvolvido no presente estudo, não cumpriu com seu objetivo, pois apesar de vários testes como: especificidade, seletividade, linearidade e limite de quantificação, apresentarem dados experimentais e estatísticos que refletem a eficiência do método, os testes de intervalo, repetibilidade, precisão e exatidão foram falhos. Demonstrando que a metodologia desenvolvida possa estar sofrendo com erros sistemáticos e/ou experimentais.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, que me deu energia e benefícios para participar deste projeto. Também agradeço a minha orientadora Dra. Andréia Anschau pela oportunidade, assim, como a UTFPR pela infraestrutura e o auxílio financeiro para que o mesmo fosse possível. Enfim, agradeço a tudo, e a todos.

REFERÊNCIAS

ANVISA. 2006. **Resíduos de agrotóxicos em alimentos**. Rev Saúde Pública, v. 40, n. 2, p. 361–363, 2006.

BAIRD, C.; CANN, M. **Química ambiental**. 4. ed. Porto Alegre: Bookman, 2011.

CABRERA, L.; PINHO, F.; GILBERTO, E. Artigo. v. 31, n. 8, p. 1982–1986, 2008.

HIGARASHI, M. M. **Processos oxidativos avançados aplicados a remediação de solos brasileiros contaminados com pesticidas**. 1999. 186 f. Tese (Doutorado em Química Analítica) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1999. Disponível em: <http://www.biq.igq.unicamp.br/arquivos/teses/ficha38515.htm>. Acesso em: 02 set. 2018.

MELO, I. S.; AZEVEDO, J. L. **Microbiologia Ambiental**. 2.ed. rev. ed. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2008.

MERINI, L. J. et al. **Dissipation of 2,4-D in soils of the Humid Pampa region, Argentina: A microcosm study**. Chemosphere, v. 68, n. 2, p. 259–265, 2007.

RESOLUÇÃO – RE Nº 899, DE 29 DE MAIO DE 2003 - O Adjunto da Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância sanitária, no uso da atribuição, que lhe confere a Portaria n.º 238, de 31 de março de 2003.

SILVA, A. S. **Desenvolvimento de métodos quantitativos e de sistemas de screening para a determinação de glifosato**. 2012. 210 f. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Estadual Paulista, Araraquara, 2012. Disponível em: https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/105723/silva_as_dr_araiq.pdf?sequence=1&isAllowed=y Acesso em: 02 set. 2018.

SILVA, B. M. **Desenvolvimento de metodologia simples, rápida e sem etapa de clean-up para determinação de glifosato em amostras ambientais de água e solo por hplc/uv-vis**. 2009. 96 f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) – Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/75/75132/tde-25082009-172803/pt-br.php> Acesso em: 02 set. 2018

UQAB, B.; MUDASIR, S.; NAZIR, R. **Review on Bioremediation of Pesticides**. *Journal of Bioremediation & Biodegradation*. v. 7, n. 3, p. 3–7, 2016.