



Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul  
Unidade Universitária de Dourados  
Programa de Pós- Graduação em Recursos Naturais

---

**DEGRADAÇÃO E SORÇÃO DE AGROTÓXICOS EM SOLOS  
COM ADIÇÃO DE RESÍDUOS DA CULTURA DE CANA-DE-  
AÇÚCAR EM MATO GROSSO DO SUL**

**Raquel de Oliveira Silva**

Dourados – MS

Fevereiro/ 2015





# **DEGRADAÇÃO E SORÇÃO DE AGROTÓXICOS EM SOLOS COM ADIÇÃO DE RESÍDUOS DA CULTURA DE CANA-DE-AÇÚCAR EM MATO GROSSO DO SUL**

**Acadêmica: Raquel de Oliveira Silva**

**Orientador: Prof. Dr. Rômulo Penna Scorza Júnior**

**Coorientadora: Prof<sup>a</sup>. Dra. Claudia Andréa Lima Cardoso**

“Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação em Recursos Naturais, área de concentração em Recursos Naturais, da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Recursos Naturais”.

Dourados – MS

Fevereiro/ 2015

S583d Silva, Raquel de Oliveira

Degradação e sorção de agrotóxicos em solos com adição de resíduos da cultura de cana-de-açúcar em Mato Grosso do Sul/  
Raquel de Oliveira Silva. Dourados, MS: UEMS, 2015.  
47f. ; 30cm

Dissertação (Mestrado) – Recursos Naturais – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul, 2015.

Orientador: Prof. Dr. Rômulo Penna Scorza Júnior

1. Fipronil 2. Atrazina 3. Cromatografia I. Título

CDD 23.ed. - 631.41

*“As pessoas estão sempre a culpar as circunstâncias por aquilo que se tornam. Não acredito em circunstâncias. As pessoas que estão mais adiantadas neste mundo são as pessoas que se levantam e procuram as circunstâncias que desejam, e se não as encontram, criam-nas.”*

**George Bernard Shaw**

Dedico este trabalho a Deus, meu alicerce  
e a minha família.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente a Deus pela oportunidade concedida.

Ao Dr. Rômulo Penna Scorza Júnior pela orientação, confiança, ensinamentos e atenção.

A Dra. Cláudia Andrea Lima Cardoso pela coorientação, atenção, paciência, incentivo e amizade.

Ao meu noivo Adriano Santos de Jesus pelo amor, carinho, compreensão e incentivo.

A minha família, pelo apoio, amor, carinho e incentivo.

A Dra. Ieda de Carvalho Mendes pela colaboração.

A Dra. Maricy Raquel Lidenbah Bonfá pela colaboração.

Aos professores do curso de pós-graduação em Recursos Naturais pelo conhecimento transmitido e incentivo.

Ao colega Klerisson de Souza Duro, que me ajudou no desenvolvimento desse trabalho.

Aos funcionários da Embrapa Agropecuária Oeste que, de alguma maneira, me auxiliaram no decorrer do desenvolvimento desse estudo.

A UEMS por me proporcionar condições ao estudo.

A Embrapa Agropecuária Oeste e a Embrapa Cerrados por me proporcionar condições para a realização deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela bolsa de estudo.

## Sumário

<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>vii</b>
<b>LISTA DE TABELAS .....</b>	<b>viii</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>ix</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>x</b>
<b>CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS.....</b>	<b>1</b>
1.1 Introdução geral.....	1
1.2 Referências bibliográficas .....	3
<b>CAPÍTULO 2 - VALIDAÇÃO DE UM MÉTODO PARA QUANTIFICAÇÃO DE FIPRONIL E SEUS PRODUTOS DE DEGRADAÇÃO E DA ATRAZINA EM SOLOS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA .....</b>	<b>6</b>
2.1 Introdução.....	7
2.2 Material e métodos .....	9
2.3 Resultados e discussão .....	11
2.4 Conclusão .....	16
2.5 Agradecimentos .....	16
2.6 Referências bibliográficas .....	16
<b>CAPÍTULO 3 – DEGRADAÇÃO E SORÇÃO DO INSETICIDA FIPRONIL E DO HERBICIDA ATRAZINA EM LATOSSOLOS DE MATO GROSSO DO SUL COM ADIÇÃO DE RESÍDUOS ORGÂNICOS DA CULTURA DE CANA –DE - AÇÚCAR.....</b>	<b>22</b>
3.1 Introdução.....	23
3.2 Material e métodos .....	25
3.3 Resultados e discussão .....	30
3.3.1 Degradação .....	30
3.3.2 Sorção .....	38
3.4 Conclusão .....	39
3.5 Agradecimentos .....	40
3.6 Referências bibliográficas .....	40
<b>CAPÍTULO 4 – CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>46</b>

## LISTA DE FIGURAS

### **CAPÍTULO 2 - VALIDAÇÃO DE UM MÉTODO PARA QUANTIFICAÇÃO DE FIPRONIL E SEUS PRODUTOS DE DEGRADAÇÃO E DA ATRAZINA EM SOLOS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA**

**Figura 1:** Estruturas químicas do fipronil e seus produtos de degradação amida, dessulfenil, sulfeto e sulfona.....8

**Figura 2:** Estrutura química da atrazina.....9

**Figura 3:** Espectro de absorção da análise por CLAE-DAD da solução de fipronil, dessulfenil, sulfeto, sulfona e atrazina na concentração de 5,0  $\mu\text{g mL}^{-1}$  em metanol.....12

**Figura 4:** Cromatogramas das amostras testemunha (branco): Latossolo Vermelho Distrófico típico de textura média - LVd (A) e Latossolo Vermelho Distroférico típico de textura argilosa - LVdf (B), padrões analíticos atrazina (10  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ), fipronil e seus produtos de degradação (20  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ).....13

**Figura 5:** Cromatogramas dos padrões analíticos de fipronil (A), atrazina (B), sulfona (C), sulfeto (D), dessulfenil (E) e amostras fortificadas com os padrões de fipronil e atrazina (F) e dessulfenil, sulfeto e sulfona (G).....15

### **CAPÍTULO 3 – DEGRADAÇÃO E SORÇÃO DO INSETICIDA FIPRONIL E DO HERBICIDA ATRAZINA EM LATOSSOLOS DE MATO GROSSO DO SUL COM ADIÇÃO DE RESÍDUOS ORGÂNICOS DA CULTURA DE CANA-DE-AÇÚCAR**

**Figura 1:** Estrutura química do fipronil e da atrazina.....25

**Figura 2:** Quantidades remanescentes de fipronil e atrazina, em função do tempo, no Latossolo Vermelho Distroférico típico de textura argilosa, Dourados-MS, no solo estéril (A), sem adição de resíduo ou controle (B), e após adição dos resíduos; torta de filtro (C), palha (D), cinza (E) e vinhaça (F).....32

**Figura 3:** Quantidades remanescentes de fipronil e atrazina, em função do tempo, no Latossolo Vermelho Distrófico típico de textura média, Ponta Porã-MS, no solo estéril (A), sem adição de resíduo ou controle (B), e após adição dos resíduos; torta de filtro (C), palha (D), cinza (E) e vinhaça (F).....33

## LISTA DE TABELAS

### **CAPÍTULO 2 - VALIDAÇÃO DE UM MÉTODO PARA QUANTIFICAÇÃO DE FIPRONIL E SEUS PRODUTOS DE DEGRADAÇÃO E DA ATRAZINA EM SOLOS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA**

**Tabela 1:** Atributos químicos e físicos do Latossolo Vermelho Distroférico típico de textura argilosa - LVdf e do Latossolo Vermelho Distrófico típico de textura média - LVd.....11

**Tabela 2:** Parâmetros analíticos de validação do método.....13

**Tabela 3:** Percentuais de recuperação e seus coeficientes de variação em três níveis de fortificação para atrazina, fipronil e seus produtos de degradação em dois solos de Mato Grosso do Sul Latossolo Vermelho Distroférico típico de textura argilosa - LVdf e Latossolo Vermelho Distrófico típico de textura média - LVd..... 14

### **CAPÍTULO 3 – DEGRADAÇÃO E SORÇÃO DO INSETICIDA FIPRONIL E DO HERBICIDA ATRAZINA EM LATOSSOLOS DE MATO GROSSO DO SUL COM ADIÇÃO DE RESÍDUOS ORGÂNICOS DA CULTURA DE CANA-DE-AÇÚCAR**

**Tabela 1:** Atributos químicos e físicos do Latossolo Vermelho Distroférico típico de textura argilosa - LVdf e do Latossolo Vermelho Distrófico típico de textura média - LVd.....26

**Tabela 2:** Características químicas dos resíduos torta de filtro, palha, cinza e vinhaça.....27

**Tabela 3:** Quantidades remanescentes ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) de fipronil e atrazina no solo após 20 dias da aplicação para atrazina e 40 dias para fipronil.....31

**Tabela 4:** Parâmetros do modelo de cinética de primeira ordem para degradação do fipronil e atrazina e estimativas dos valores de meia-vida ( $DT_{50}$ ).....34

**Tabela 5:** Contagem de fungos e bactérias no Latossolo Vermelho Distroférico típico de textura argilosa - LVdf, e no Latossolo Vermelho Distrófico típico de textura média - LVd, antes e depois da fortificação com fipronil e atrazina.....36

**Tabela 6:** Atividade das enzimas  $\beta$ -Glicosidase e arilsulfatase no Latossolo Vermelho Distroférico típico de textura argilosa - LVdf, e no Latossolo Vermelho Distrófico típico de textura média - LVd, antes e depois da fortificação com fipronil e atrazina.....37

**Tabela 7:** Coeficiente de sorção  $K_d$  ( $\text{mL g}^{-1}$ ) do fipronil no Latossolo Vermelho Distroférico típico de textura argilosa - LVdf, e no Latossolo Vermelho Distrófico típico de textura média - LVd.....38

**Tabela 8:** Coeficiente de sorção  $K_d$  ( $\text{mL g}^{-1}$ ) da atrazina no Latossolo Vermelho Distroférico típico de textura argilosa - LVdf, e no Latossolo Vermelho Distrófico típico de textura média - LVd.....39

## RESUMO

O uso de agrotóxicos na cultura de cana-de-açúcar tem aumentado significativamente nos últimos anos, principalmente no estado de Mato Grosso do Sul, devido ao aumento da área plantada. Com o aumento na produção da cana-de-açúcar, cresce também a geração de subprodutos ou resíduos, como a vinhaça, palha, torta de filtro e cinza, que são utilizados como fertilizantes devido ao alto teor de nutrientes e matéria orgânica. A utilização desses resíduos como fertilizantes pode alterar o comportamento dos agrotóxicos no solo, principalmente nos processos de degradação e sorção. O presente trabalho teve como objetivo geral avaliar a influência de resíduos orgânicos na degradação e sorção do inseticida fipronil e do herbicida atrazina em solos de texturas contrastantes utilizados na cultura da cana-de-açúcar no estado de Mato Grosso do Sul. Esta dissertação é composta de quatro capítulos com os seguintes objetivos: validação de um método de quantificação de fipronil e seus produtos de degradação e da atrazina em solos por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência – CLAE e degradação e sorção do inseticida fipronil e do herbicida atrazina em Latossolos de Mato Grosso do Sul com adição de resíduos orgânicos da cultura de cana-de-açúcar. Na validação do método analítico para a quantificação dos resíduos de atrazina e de fipronil e seus produtos de degradação (dessulfenil, sulfeto, sulfona) no solo foi empregado CLAE com detector de arranjo de diodos (DAD). O método desenvolvido mostrou-se satisfatório e consiste em agitação por uma hora do solo com metanol, centrifugação por 30 min, seguido de filtração. O método apresentou recuperações médias para o fipronil, dessulfenil, sulfeto, sulfona e atrazina entre 72 e 110% e coeficientes de variação menores que 13%. A vantagem de utilização desse método é a praticidade e a rapidez, pois não é necessário a purificação das amostras. Para avaliação da degradação dos agrotóxicos, amostras de solo (0-10 cm) foram coletadas e incubadas a 28° C e a 70% da capacidade de campo, juntamente com os resíduos orgânicos (torta de filtro, palha, cinza e vinhaça). O experimento de degradação foi conduzido por 40 dias, em triplicata, sendo as amostras analisadas aos 0, 7, 14, 20, 27, 34, e 40 dias após a fortificação. As quantidades remanescentes dos agrotóxicos no solo em função do tempo foram ajustados ao modelo de cinética de primeira ordem. A adição de vinhaça acelerou o processo degradação do fipronil e atrazina no solo, enquanto a torta de filtro tornou esse processo mais lento. O fipronil se mostrou mais persistente com tempo de meia vida de 15 a 105 dias, enquanto a atrazina apresentou tempo de meia vida de 7 a 17 dias. Concluiu-se que a degradação do fipronil é predominantemente biológica, pois em solo estéril praticamente não ocorreu degradação. Para a atrazina, observou-se que não houve diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos controle e solo estéril, mostrando que a degradação foi prioritariamente química. Para avaliação da sorção utilizou-se o método da batelada conforme o protocolo OECD 106. Os valores do coeficiente de sorção ( $K_d$ ) variaram de 5,12 a 13,15 mL g<sup>-1</sup> para o fipronil e de 0,48 a 1,45 mL g<sup>-1</sup> para atrazina. Os resíduos palha e torta de filtro aumentaram a sorção do fipronil, enquanto para atrazina todos os resíduos adicionados ao solo aumentaram a sorção.

**PALAVRAS-CHAVE:** fipronil, atrazina e cromatografia.

## ABSTRACT

Pesticide use in sugarcane crops has increased significantly during the last years, mainly at Mato Grosso do Sul State because of the increase in planted area. Due to the increase of sugarcane production, there is also an increase of residues as vinasse, straw, filter cake and boiler ash. These residues are used as fertilizer due to their high content of nutrients and organic matter. The use of these residues as fertilizer can modify pesticide behaviour in soil, mainly the processes of degradation and sorption. This work had the main aim to assess the influence of organic residues in the degradation and sorption of the insecticide fipronil and the herbicide atrazine in contrasting soils used for sugarcane crops at Mato Grosso do Sul State. This M.Sc. thesis has four chapters with the following aims: validation of a quantification method for fipronil and its metabolites, and atrazine in soils using High Performance Liquid Chromatography – HPLC and degradation and sorption of the insecticide fipronil and the herbicide atrazine in Latossols of Mato Grosso do Sul State after incorporation of organic residues from sugarcane crop. During validation of the analytical method for residues quantification of atrazine and fipronil and its metabolites (desulfinyl, sulfide and sulfone) in soil, we used HPLC with diode array detector. This developed method was satisfactory and consists in shaking soil + methanol for one hour and, thereafter, leaving for decantation for more 30 minutes and extract filtration. This method did show average recoveries for fipronil, desulfinyl, sulfide, sulfone and atrazine between 72 and 110% and variation coefficients below 13%. The advantage of using this method is its practicability and quickness, as there is no need for sample purification. For assessment of pesticide degradation, soil samples (0-10 cm) were collected and incubated at 28°C and 70% of field capacity, after incorporation of organic residues (cake filter, straw, boiler ash and vinasse). The degradation experiment was carried out for 40 days, in triplicate, and samples analyzed at 0, 7, 14, 20, 27, 34, and 40 days after spiking. Remaining amounts of the pesticides as a function of time were fitted to first-order kinetics model. The incorporation of vinasse did enhance fipronil and atrazine degradation in soil whereas the incorporation of cake filter did decrease degradation rate. Fipronil was the most persistent pesticide with half-life values between 15 and 105 days whereas for atrazine half-life values were between 7 and 17 days. We did observe that fipronil degradation is mainly microbial, as we did almost not observe degradation in sterile soil. For atrazine degradation, there was not significantly difference ( $p > 0.05$ ) between control and sterile soil, which indicates that degradation was mainly chemical. To assess sorption, we used the batch equilibration method based on OECD 106 guideline. Sorption coefficients ( $K_d$ ) ranged from 5.12 to 13.15 mL g<sup>-1</sup> for fipronil and from 0.48 to 1.45 mL g<sup>-1</sup> for atrazine. Straw and cake filter incorporation in soil did increase fipronil sorption. For atrazine, we observed that incorporation of all sugarcane residues evaluated did increase sorption.

KEY WORDS: fipronil, atrazina and chromatography.

## **CAPÍTULO 1 – CONSIDERAÇÕES GERAIS**

### **1.1 Introdução geral**

A cultura da cana-de-açúcar ocupa, aproximadamente, 9.004 mil hectares em área plantada no Brasil, com estimativa de 642 milhões de toneladas de cana-de-açúcar moída para a safra de 2014/15. O estado de Mato Grosso de Sul é o quarto estado com maior área plantada, chegando a 668 mil hectares, com produção de 45.293 mil toneladas de cana moída. A produção da cana-de-açúcar na safra 2014/15 aumentou 15% em relação à safra 2008/09 (CONAB, 2014).

Com esse aumento na produção da cana-de-açúcar, aumentam-se os subprodutos ou resíduos gerados, como a vinhaça, palha, torta de filtro, cinza e outros. Assim, há uma necessidade urgente da destinação correta desses resíduos. Está cada vez mais frequente a utilização desses resíduos como fertilizantes na agricultura, por serem ricos em nutrientes e matéria orgânica (BEBÉ et al., 2009; OSSOM & DLAMINI, 2012). Devido a essas características, esses resíduos podem melhorar a qualidade do solo e aumentar a produtividade da cultura. Diversos estudos mostram que a utilização da vinhaça (RESENDE et al., 2006), da torta de filtro (FRAVET et al., 2010) e da palha (SOUZA et al., 2005) aumentam a produtividade da cana-de-açúcar.

Juntamente com os resíduos da colheita e do processamento da cana-de-açúcar, contribuem com o aumento da produtividade desta cultura a utilização de agrotóxicos (FERREIRA et al., 2011). Os agrotóxicos são compostos químicos, sintéticos ou naturais, usados no tratamento de sementes, controle de insetos, pragas, doenças e plantas daninhas decorrentes do desequilíbrio dos ambientes (ALMEIDA & CENTENO, 2007). O uso intensivo de agrotóxicos pode contaminar os recursos hídricos e ocorrer deposição de grande quantidade no solo. Após serem aplicados, diversos processos podem influenciar no comportamento ambiental dos agrotóxicos como a degradação química e microbiológica, sorção, volatilização, fotodegradação, lixiviação, escoamento superficial e a absorção pelas plantas (OLIVEIRA & REGITANO, 2009).

A degradação, de modo geral, reduz os níveis de resíduos dos agrotóxicos no solo (OLIVEIRA & BRIGHENTI, 2011) e se refere à quebra dessas moléculas em outras menores, de forma biótica ou abiótica, tornando-as, na maioria dos casos, menos tóxicas

que as moléculas originais (SILVA & FAY, 2004). A degradação química é dependente de processos químicos como hidrólise e reações de oxi-redução, os quais não envolvem a presença de organismos vivos (SOUZA, 2006). A degradação biótica ou biodegradação (processo biológico) ocorre pela ação do metabolismo de micro-organismos, sendo esse o principal mecanismo de desaparecimento de agrotóxicos no solo (DAMIN, 2005).

A sorção é um fenômeno físico-químico que ocorre naturalmente nos solos e refere-se a um processo de retenção de forma generalizada, pois não distingue processos específicos como adsorção, absorção e precipitação. Assim, a sorção de agrotóxicos no solo é um processo que diminui a degradação, a volatilização e o potencial de lixiviação. As principais características do solo responsáveis pelo potencial de sorção são os teores de argila e areia e, principalmente, o teor de matéria orgânica e pH da solução do solo para compostos ionizáveis (PRATA, 2002)

Os processos de degradação e sorção dos agrotóxicos podem ser influenciados pela adição dos resíduos da cana-de-açúcar no solo. LOURENCETTI et al. (2012) observaram que a adição da vinhaça no solo diminui, de uma maneira geral, a persistência e a lixiviação dos herbicidas diuron, tebuthiuron e hexazinone em solos do estado de São Paulo. Já a adição de palha e cinza diminui o potencial de lixiviação e aumenta a sorção do diuron e do alachlor (GIORI et. al., 2014). Estudos sobre a influência de resíduos da cana-de-açúcar foram realizados, em sua maioria, para solos de São Paulo. Relatos sobre a influência desses resíduos orgânicos no comportamento de agrotóxicos no estado de Mato Grosso de Sul não são conhecidos.

Diante disso, decidiu-se estudar a influência de resíduos orgânicos na degradação e sorção de um inseticida (fipronil) e um herbicida (atrazina), em solos com texturas e teor de matéria orgânica contrastantes utilizados na cultura da cana-de-açúcar em Mato Grosso do Sul. Como primeiro passo, foi necessário desenvolver e validar uma metodologia para quantificação desses agrotóxicos nos diferentes tipos de solo. Assim, o objetivo do CAPÍTULO 2 foi desenvolver e validar um método analítico para quantificação simultânea dos resíduos de fipronil e atrazina no solo, empregando-se cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Com o método analítico validado, o CAPÍTULO 3 teve por objetivo avaliar a influência dos resíduos orgânicos palha, cinza, torta de filtro e vinhaça na degradação e sorção do fipronil e atrazina em um Latossolo Vermelho Distroférico típico de textura argilosa de Dourados-MS e em um Latossolo Vermelho Distrófico típico de textura média de Ponta Porã-MS.

## 1.2 Referências bibliográficas

ALMEIDA, F. V.; CENTENO, A. J. Substancias tóxicas persistentes (STP) no Brasil. **Química Nova**, v. 30, n. 8, p. 1976-1985, 2007.

BEBÉ, F. V.; ROLIM, M. M.; PEDROSA, E. M. R.; SILVA, G. B.; OLIVEIRA, V. S. Avaliação de solos sob diferentes períodos de aplicação com vinhaça. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.13, n.6, p.781–787, 2009.

CONAB: **Companhia Nacional de Abastecimento**. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2014. Disponível em: [http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14\\_12\\_19\\_09\\_02\\_49\\_boletim\\_cana\\_portugues\\_-\\_3o\\_lev\\_-\\_2014-15.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14_12_19_09_02_49_boletim_cana_portugues_-_3o_lev_-_2014-15.pdf). Acesso em: 16 dez. 2014.

DAMIN, V. **Biodegradação, sorção e dessorção do herbicida 14C-Diuron em dois Latossolos tratados com lodo de esgoto**. 2005. 71p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba-SP, 2005.

FERREIRA, C. R. P. T.; VEGRO, C. L. R.; CAMARGO, M. de L. B. Defensivos agrícolas: desempenho recorde em 2010 e expectativas de aumento nas vendas em 2011. **Análises e Indicadores do Agronegócio**, São Paulo-SP, v. 6, n. 8, ago. 2011.

FRAVET, P. R. F.; SOARES, R. A. B.; LANA, R. M. A.; LANA, A. M. Q.; KORNDORFER, G. H. Efeito de doses de torta de filtro e modo de aplicação sobre a produtividade e qualidade tecnológica da soqueira de cana-de-açúcar. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras-MG, v. 34, n.3, p. 618-624, 2010.

GIORI, F. G.; TORNISIELO, V. L.; REGITANO, J. B. The Role of Sugarcane Residues in the Sorption and Leaching of Herbicides in Two Tropical Soils. **Water Air Soil Pollution**, v. 225, n. 4, p. 225:1935, 2014.

LOURENCETTI, C.; MARCHI, M. R. R.; RIBEIRO, M. L. Influence of sugar cane vinasse on the sorption and degradation of herbicides in soil under controlled conditions. **Journal of Environmental Science and Health**, Part B 47, 949–958, 2012.

OLIVEIRA JÚNIOR, R. S.; REGITANO, J. B. Dinâmica de pesticidas no solo. In: MELO V. F.; ALLEONI, L. R. F. (Ed.). **Química e Mineralogia do Solo**: parte II, aplicações. Viçosa, MG: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2009. p. 187-248.

OLIVEIRA, M. F.; BRIGHENTI, A. M. Comportamento dos herbicidas no ambiente. In: OLIVEIRA JÚNIOR, R. S.; CONSTANTIN, J.; INOUE, M. H. (Ed.). **Biologia e Manejo de Plantas Daninhas**. Curitiba-PR: Omnipax, 2011. p. 263-304.

OSSOM, E. M.; DLAMINI, F. T. Effects of filter cake on soil mineral nutrients and maize (*Zea mays* L.) agronomy. **Tropical Agriculture**, v. 89, n. 3, p. 141–150, 2012.

PRATA, F. **Comportamento do glifosato no solo e deslocamento miscível de atrazina**. 2002. 149 p. Tese (Doutorado em Solos e Nutrição de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2002.

RESENDE, A. S.; XAVIER, R. P.; OLIVEIRA, O. C.; URQUIAGA, S.; ALVES, B. J. R.; BODDEY, R. M. Long-term effects of pre-harvest burning and nitrogen and vinasse applications on yield of sugarcane and soil carbon nitrogen stocks on a plantation in Pernambuco, NE, Brazil. **Plant and Soil**, v. 281, n. 1-2, p. 339-351, 2006.

SILVA C. M. M. S.; FAY, E. F. **Agrotóxicos e ambiente**. Embrapa informação Tecnológica, Brasília, DF, 2004.

SOUZA, V. **Avaliação da contaminação de águas por resíduos de pesticidas em área de cultura de algodão**: região de Primavera do Leste–MT. 2006. 125p. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química, Araraquara, 2006.

SOUZA, Z. M.; PRADO, R. M.; PAIXÃO, A. C. S.; CESARIN, L. G. Sistema de colheita e manejo da palhada de cana-de-açúcar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília-DF, v. 40, n. 3, p. 271-278, 2005.

## **CAPÍTULO 2 - VALIDAÇÃO DE UM MÉTODO PARA QUANTIFICAÇÃO DE FIPRONIL E SEUS PRODUTOS DE DEGRADAÇÃO E DA ATRAZINA EM SOLOS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA**

### **VALIDAÇÃO DE UM MÉTODO PARA QUANTIFICAÇÃO DE FIPRONIL E SEUS PRODUTOS DE DEGRADAÇÃO E DA ATRAZINA EM SOLOS POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA**

Raquel de Oliveira Silva<sup>(1)</sup>, Claudia Andrea Lima Cardoso<sup>(2)</sup> e Rômulo Penna Scorza Júnior<sup>(3)</sup>

*(1)Mestranda em Recursos Naturais. Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS). raquelosilva22@hotmail.com; Bolsista da Capes. (2)Professora do curso de pós-graduação em Recursos Naturais da UEMS. Cidade Universitária de Dourados - Caixa Postal 351 - CEP: 79804-970, claudia@uems.br. (3)Professor do curso de pós-graduação em Recursos Naturais da UEMS e pesquisador da Embrapa Agropecuária Oeste, BR 163, km 253,6 Caixa Postal 449- CEP: 79804-970, Dourados, MS, romulo.scorza@embrapa.br.*

#### **RESUMO**

O uso de agrotóxicos na agricultura pode ser uma fonte de risco para a saúde humana e para o ambiente. Considerando que o solo é um dos principais destinos desses compostos após a aplicação, este trabalho apresenta a validação de um método analítico para a quantificação dos resíduos de atrazina, fipronil e seus produtos de degradação (desulfinil, sulfeto e sulfona) em solo, empregando Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) com detector de arranjo de diodos (DAD). O método validado consiste na agitação por 1h do solo + metanol, centrifugação por 30 min, seguido de filtração. O método apresentou recuperações médias para o fipronil, dessulfinil, sulfeto, sulfona e atrazina entre 72 a 110% para ambos os solos, com valores de coeficiente de variação inferiores a 13%. Todas as curvas analíticas apresentaram coeficientes de determinação ( $R^2$ ) superiores a 0,999. Os limites de quantificação para o fipronil, dessulfinil, sulfeto e sulfona foram de  $4 \mu\text{g g}^{-1}$  e para a atrazina de  $2 \mu\text{g g}^{-1}$ . O método validado mostrou-se adequado para ser aplicado com sucesso em amostras de solos.

**PALAVRAS-CHAVE:** agrotóxico, CLAE e solo.

## ABSTRACT

The agricultural use of pesticides can be a source of risks for human health and for the environment. Considering that soil is one of the main final destination of pesticides after application, this work presents the validation of an analytical method for atrazine, fipronil and its metabolites (desulfinyl, sulfide and sulfone) residues quantification in soil using High Performance Liquid Chromatography (HPLC) with diode array detector (DAD). The validated method consists in shaking soil + methanol for one hour, following extract centrifugation for 30 minutes and filtration. The method showed average recoveries between 79 and 110% for both soils and all pesticides, with variation coefficients below 13%. All analytical calibration curves showed determination coefficients ( $R^2$ ) higher than 0.999. The quantification limit for fipronil, desulfinyl, sulfide and sulfone was  $4 \mu\text{g g}^{-1}$  and for atrazine  $2 \mu\text{g g}^{-1}$ . The validated method showed adequate to be used with success in soil samples.

KEY-WORDS: Pesticide, HPLC, soil.

### 2.1 Introdução

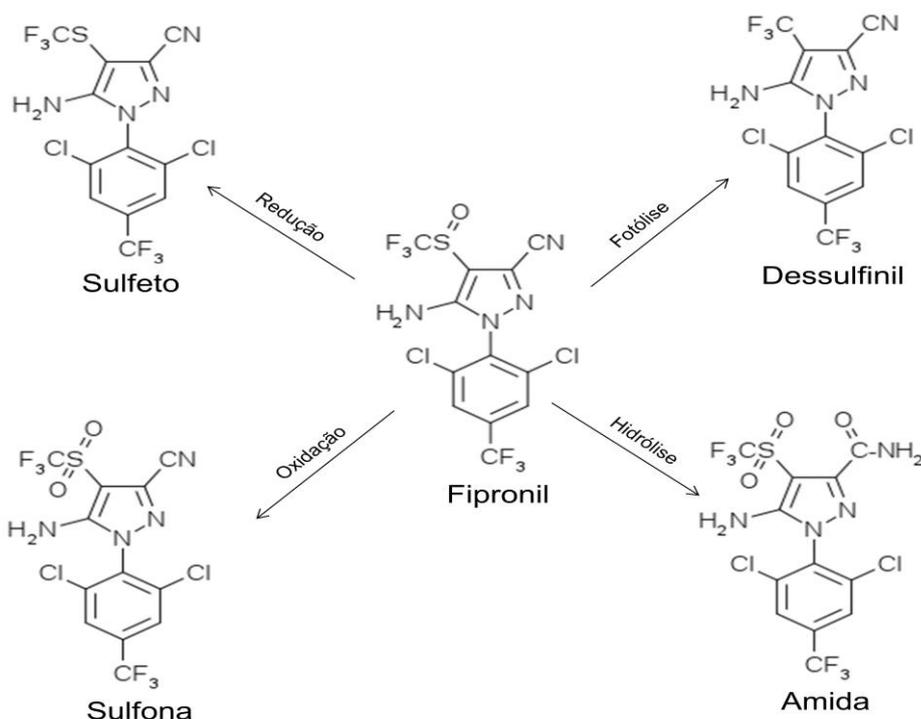
O uso de agrotóxicos na agricultura tem sido apontado como fonte de risco para a saúde humana e para o ambiente. Para avaliar e confirmar estes riscos é necessário o desenvolvimento de métodos analíticos confiáveis, com objetivo de identificação e quantificação dos agrotóxicos em diferentes matrizes, permitindo seu monitoramento. Análises de agrotóxicos apresentam elevado custo e consomem muito tempo (SPADOTTO et al., 2004). Considerando o grande número de agrotóxicos, bem como seus produtos de degradação, há necessidade do desenvolvimento de métodos confiáveis e rápidos.

O desenvolvimento e adaptação de métodos analíticos para identificação e quantificação de resíduos de agrotóxicos no solo apresentam dificuldades que envolvem as análises desses resíduos em matrizes sólidas, sua complexidade, tempo de extração e a quantidade utilizada de solventes (ANDREU & PICÓ, 2004).

Estudos com o objetivo de validação de métodos analíticos para extração simultânea de compostos são importantes já que em um único sistema de produção agrícola, numa mesma safra, pode ocorrer a aplicação de vários agrotóxicos. Além disso, um método deve ser robusto para a extração desses resíduos em solos com diferentes teores de matéria orgânica (MO), principal responsável pela sorção dos agrotóxicos não ionizáveis em solos. O maior teor de MO no solo pode promover aumento da sorção dos agrotóxicos e seus metabólitos, podendo influenciar na sua extração (PERES et al., 2002).

Os agrotóxicos selecionados nesse estudo (fipronil e atrazina) são de grande importância e bastante utilizados na cultura da cana-de-açúcar em Mato Grosso do Sul.

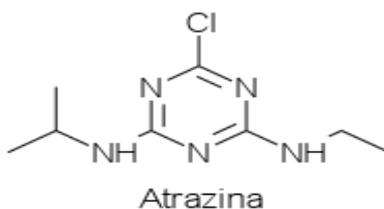
O inseticida fipronil (5-amino-[2,6-dicloro-4-(trifluorometil) fenil]-4-trifluorometil-sulfinil-1H-pirazol-3-carbonitrila) (Figura 1) têm sido comumente usado para o controle de insetos-praga na cultura da cana-de-açúcar, sendo aplicado no solo e/ou na parte aérea das plantas (MAPA, 2014). É um inseticida que pertence a classe dos fenilpirazóis, possui baixa solubilidade em água ( $2,4 \text{ mg L}^{-1}$  em pH 5), coeficiente de sorção ( $K_{oc}$ ) igual a 803  $\text{mL g}^{-1}$  e o  $\log K_{ow}$  igual a 4,01. Assim, o fipronil apresenta um caráter hidrofóbico com baixo potencial de lixiviação e forte adsorção no solo e em sedimentos (BARCELÓ, 1997; BASF, 2014). O fipronil possui alta toxicidade para aves e moderada para mamíferos de pequeno porte. Durante a degradação podem formar-se quatro produtos, a saber: amida por hidrólise, dessulfinil por fotólise, sulfeto por redução e sulfona por oxidação (Figura 1) (BOBÉ et al., 1998). Alguns destes produtos de degradação são igualmente ou mais tóxicos que o composto original como, por exemplo, o dessulfinil, que é 10 vezes mais tóxico a mamíferos que o fipronil (USEPA, 1996).



**Figura 1.** Estruturas químicas do fipronil e seus produtos de degradação amida, dessulfinil, sulfeto e sulfona.

A atrazina (2-cloro-4-etilamino-6-isopropilamino-s-triazina) (Figura 2) pertence à família das triazinas e destaca-se como herbicida seletivo com aplicação recomendada em

pré e pós-emergência para o controle de plantas daninhas nas culturas de cana-de-açúcar, milho, sorgo, pinus, seringueira e abacaxi (AGROFIT, 2003). A atrazina tem sido frequentemente detectada como o principal poluente orgânico de águas subterrâneas e superficiais em vários países (MARTINAZZO et al., 2011). É solúvel em água (solubilidade igual a 33 mg L<sup>-1</sup>), possui coeficiente de sorção (K<sub>oc</sub>) entre 0,4 e 4,5 L kg<sup>-1</sup> e log K<sub>ow</sub> igual a 2,34 (MONTGOMERY, 1997) é um composto com alta mobilidade no solo e, portanto, alto potencial para contaminação de águas subterrâneas.



**Figura 2.** Estrutura química da atrazina.

Os agrotóxicos selecionados no presente estudo, fipronil e seus produtos de degradação (desulfenil, sulfeto e sulfona) e atrazina estão entre os mais utilizados na cultura da cana-de-açúcar. O fipronil é um composto altamente tóxico para abelhas (DECOURTYE et al., 2005; KADAR & FAUCON, 2006), animais aquáticos (CLASEN et al., 2012; HAYASAKA et al., 2012), ratos (LEGHAIT et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2012). A importância de incluir os produtos de degradação do fipronil nesse estudo surge por eles serem igualmente ou mais tóxicos que o próprio fipronil (Pesticide Action Network-UK (PAN) 2000). A atrazina é um composto com alta mobilidade no solo e frequentemente encontrada em águas superficiais e subterrâneas (ARIAS-ESTEVEZ et al., 2008; MARTINAZZO et al., 2011), além de ser considerado potencialmente cancerígeno e desregulador hormonal para aves, peixes e ratos (HAYES et al., 2011).

O objetivo deste estudo foi desenvolver e validar um método para a quantificação simultânea por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) de resíduos dos agrotóxicos atrazina, fipronil e seus produtos de degradação em dois tipos de solo utilizados para cultivo da cana-de-açúcar em Mato Grosso do Sul.

## 2.2 Material e métodos

As soluções analíticas estoque dos agrotóxicos atrazina, fipronil e seus produtos de degradação (dessulfenil, sulfeto e sulfona) na concentração de 1000  $\mu\text{g mL}^{-1}$  foram preparadas dissolvendo-se 10 mg de cada padrão, separadamente, em 10 mL de acetona grau HPLC e armazenadas individualmente a temperatura de  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Os padrões analíticos de fipronil, dessulfenil, sulfeto, sulfona e atrazina, com purezas de 99,1; 97,8; 98,8; 99,7 e 97,1%; respectivamente, foram doados pela BASF e adquiridos da Dr. Ehrenstorfer (Alemanha). A partir das soluções estoque, foram preparadas as soluções padrão por diluição em metanol grau HPLC nas concentrações de 1,0; 2,0; 5,0; 10,0; e 20,0  $\mu\text{g mL}^{-1}$  para fipronil, dessulfenil, sulfeto e sulfona e de 0,5; 1,0; 2,0; 5,0 e 10,0  $\mu\text{g mL}^{-1}$  para atrazina, que foram utilizadas para a construção das curvas analíticas. As soluções de trabalho na concentração de 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$  em acetona grau HPLC foram obtidas das soluções estoques, sendo utilizadas para as fortificações das amostras de solo. As soluções padrão e de trabalho também foram armazenadas a temperatura de  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

Para identificação e quantificação dos agrotóxicos foi utilizado um CLAE, modelo Varian 920-LC, equipado com uma coluna de fase reversa C-18 Polaris (25 cm x 4,6 mm x 5  $\mu\text{m}$ ), pré-coluna C-18 Polaris (2,5 cm x 4,6 mm x 5  $\mu\text{m}$ ) com volume de injeção de 20  $\mu\text{L}$  e detector de arranjo de diodos (DAD). A fase móvel foi composta pela mistura metanol, água e acetonitrila (60:30:10, v/v), sendo metanol e acetonitrila grau HPLC (J.T. Baker, EUA), e água ultrapura obtida pelo sistema da Gehaka (Brasil) com resistividade de 18  $\text{m } \Omega \text{ cm}$ , em modo de eluição isocrático ( $1\text{ mL min}^{-1}$ ) e a temperatura do forno da coluna de  $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Os agrotóxicos foram determinados simultaneamente a 220 nm. A fase móvel, preparada diariamente, foi filtrada em membrana de 0,45  $\mu\text{m}$  (Millipore, USA) antes do uso e degaseificada em ultrassom por 30 minutos

Amostras de solo na profundidade de 0-10 cm foram coletadas nos campos experimentais da Embrapa Agropecuária Oeste em Dourados-MS ( $22^{\circ}16'29''\text{ S}$  e  $54^{\circ}48'51''\text{ W}$ ), classificado como Latossolo Vermelho Distroférrico típico de textura argilosa (LVdf) e em Ponta Porã-MS ( $22^{\circ}33'06''\text{ S}$  e  $53^{\circ}38'37''\text{ W}$ ), classificado como Latossolo Vermelho Distrófico típico de textura média (LVd) (SANTOS et al., 2006). As amostras foram secas à sombra, destorroadas, peneiradas em malha de 2 mm e homogeneizadas. Os atributos físico-químicas de ambos os solos estão apresentadas na Tabela 1.

**Tabela 1.** Atributos químicos e físicos do Latossolo Vermelho Distroférico típico de textura argilosa - LVdf e do Latossolo Vermelho Distrófico típico de textura média - LVd.

Solo	Prof. (cm)	M.O. (g kg <sup>-1</sup> )	Areia (g kg <sup>-1</sup> )	Argila (g kg <sup>-1</sup> )	pH (CaCl <sub>2</sub> )	ρ (g cm <sup>-3</sup> )
LVdf	0-10	33,4	245	630	4,8	1,21
LVd	0-10	17,5	743	213	4,9	1,46

M.O.: Matéria orgânica; ρ: densidade do solo

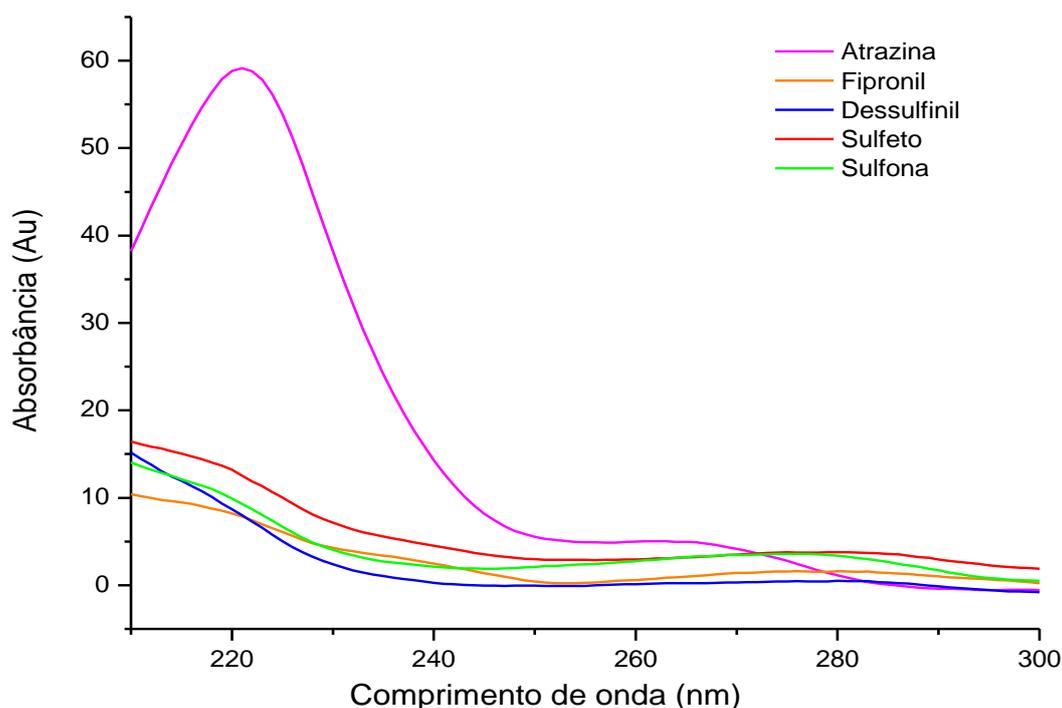
O procedimento empregado para validação do método consistiu na fortificação das amostras de solo com adição das soluções dos padrões dos agrotóxicos em 10 g de solo seco. Para extração, adicionou-se 40 mL de metanol P.A ACS ISO (Vetec Brasil) e posteriormente agitou-se por 1 hora, deixando-se decantar por 1 hora. Alíquotas de 10 mL foram retiradas e colocadas em ultracentrífuga a 4000 rpm durante 20 minutos, sendo filtradas em seguida utilizando filtro de seringa de celulose regenerada 0,45 µm. Todas as amostras foram armazenadas a -20 °C até o momento da injeção por CLAE. Os níveis de recuperação avaliados foram de 0,5; 2 e 10 µg mL<sup>-1</sup> para atrazina e 1; 5 e 20 µg mL<sup>-1</sup> para fipronil e seus produtos de degradação. Os analitos foram determinados por CLAE/DAD e a quantificação realizada pela comparação das áreas dos picos nas amostras com a curva de calibração obtida com as injeções dos padrões analíticos.

A eficiência do método foi avaliada mediante estudos de recuperação das amostras de solo fortificadas e não fortificadas (testemunha) (n=3). A exatidão e precisão foram obtidas com base nos percentuais de recuperação e do coeficiente de variação, respectivamente. A seletividade foi avaliada por meio de análises das amostras sem adição dos padrões (amostras testemunha). Os limites de detecção (LD) e limites de quantificação (LQ) do método foram determinados pelo procedimento de THIER & ZEUMER (1987), considerando o menor nível de fortificação.

### 2.3 Resultados e discussão

A identificação do fipronil e seus produtos de degradação (dessulfinil, sulfeto, sulfona) e atrazina foi realizada empregando o detector de arranjo de diodos com base nos espectros de absorção molecular e no comprimento de onda de máxima absorção ( $\lambda_{\text{máx}}$ ), sendo de 210 nm para fipronil, dessulfinil, sulfeto e sulfona e de 220 nm para a atrazina (Figura 3). O comprimento de onda escolhido para execução das análises foi o de 220 nm,

pois em 210 nm aparecem alguns interferentes oriundos dos próprios solventes utilizados como, por exemplo, metanol e acetonitrila. Os tempos de retenção foram de 6,43; 11,81; 12,88; 14,55 e 16,55 mim para atrazina, dessulfenil, fipronil, sulfeto e sulfona, respectivamente, (Tabela 2) e apresentaram coeficientes de variação menores que 2% durante as análises.



**Figura 3.** Espectro de absorção da análise por CLAE-DAD da solução de fipronil, dessulfenil, sulfeto, sulfona e atrazina na concentração de  $5,0 \mu\text{g mL}^{-1}$  em metanol.

O método do padrão externo foi utilizado para a construção das curvas de calibração, obtendo-se coeficiente de determinação ( $R^2$ ) superiores a 0,9997 (Tabela 1), obtidos nas faixas lineares de  $0,5$  a  $10 \mu\text{g mL}^{-1}$  para atrazina, e de  $1$  a  $20 \mu\text{g mL}^{-1}$  para fipronil e seus produtos de degradação (desulfenil, sulfeto e sulfona), o que mostra um bom resultado baseado nos valores de referência utilizados. Por exemplo, o INMETRO (2010) recomenda valores de  $R^2$  maiores que 0,90 e a ANVISA (2003) igual a 0,99.

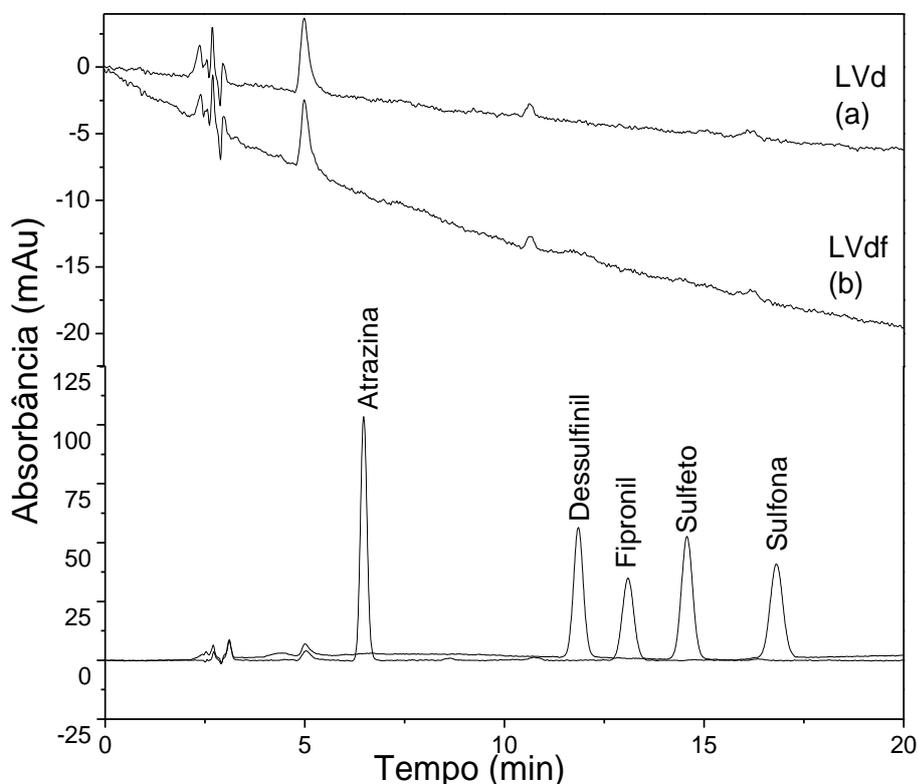
Os limites de detecção foram de  $0,66 \mu\text{g g}^{-1}$  para atrazina e de  $1,32 \mu\text{g g}^{-1}$  para fipronil e seus produtos de degradação (Tabela 1). Os limites de quantificação apresentaram valores de  $4 \mu\text{g g}^{-1}$  para o fipronil e seus produtos de degradação e de  $2 \mu\text{g g}^{-1}$  para atrazina (Tabela 1), com coeficientes de variação menores que 5% para todas as concentrações.

Não se observou a presença de interferentes nos tempos de retenção dos agrotóxicos estudados, nos cromatogramas das amostras testemunha (branco) em ambos os solos (Figura 4). Isso mostra a seletividade do método desenvolvido para determinação e quantificação dos agrotóxicos avaliados. Os picos da atrazina e do fipronil e seus produtos de degradação (dessulfenil, sulfeto e sulfona), mostrados na Figura 4, apresentaram boa resolução.

**Tabela 2.** Parâmetros analíticos de validação do método.

Agrotóxicos	TR (min)	Faixa linear ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	R <sup>2</sup>	LD ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	LQ ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )
Atrazina	6,43	0,5 – 10,0	0,9998	0,66	2,0
Dessulfenil	11,81	1,0 – 20,0	0,9997	1,32	4,0
Fipronil	12,88	1,0 – 20,0	0,9999	1,32	4,0
Sulfeto	14,55	1,0 – 20,0	0,9997	1,32	4,0
Sulfona	16,55	1,0 – 20,0	0,9999	1,32	4,0

TR=Tempo de retenção; LD = limite de detecção do método; LQ = limite de quantificação do método



**Figura 4.** Cromatogramas das amostras testemunha (branco): Latossolo Vermelho Distrófico típico de textura média - LVd (A) e Latossolo Vermelho Distroférrico típico de textura argilosa - LVdf (B), padrões analíticos de atrazina ( $10 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) e fipronil e seus produtos de degradação ( $20 \mu\text{g mL}^{-1}$ ).

O método analítico tornou-se eficiente em análise de resíduos de agrotóxicos, quando se encontram percentuais de recuperações na faixa de 70 a 120%, e é considerado preciso quando o coeficiente de variação para as amostras é menor que 20% (RIBANI et al., 2004). Assim, pode-se concluir que o método testado para extração dos agrotóxicos no solo apresentou uma boa recuperação, com valores de recuperação entre 79 e 93% para atrazina, 96 e 106% para o dessulfenil, 72 e 99% para o fipronil, 86 e 110% para o sulfeto e 79 a 110% para sulfona (Tabela 3). Os valores de coeficiente de variação foram menores que 13% (Tabela 3). A exatidão (72-110%) e a precisão (<13%) do método foram consideradas satisfatórias para a recuperação dos agrotóxicos estudados nos três níveis de fortificação analisados.

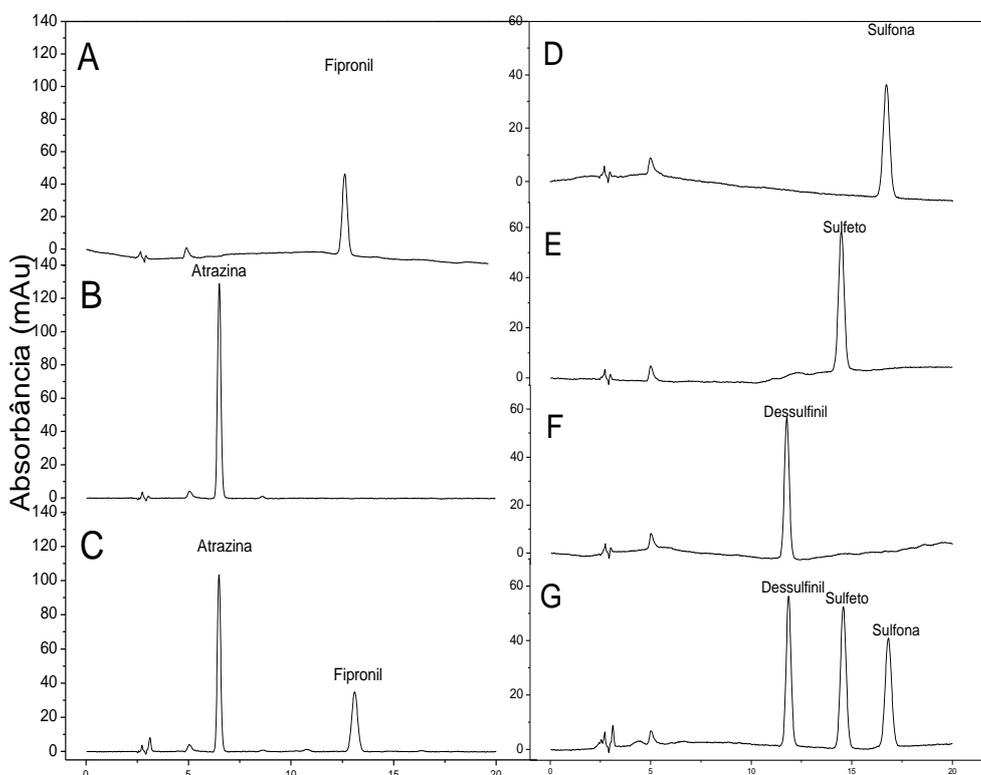
**Tabela 3.** Percentuais de recuperação e seus coeficientes de variação em três níveis de fortificação para atrazina, fipronil e seus produtos de degradação em dois solos de Mato Grosso do Sul (Latossolo Vermelho distrófico típico de textura argilosa - LVdf e Latossolo Vermelho Distrófico típico de textura média - LVd).

Agrotóxicos	Níveis de fortificação ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	Tipos de solo			
		LVdf		LVd	
		Recuperação (%)	CV (%)	Recuperação (%)	CV (%)
Atrazina	0,5	*79 ± 2,6	5,7	87 ± 2,0	4,1
	2,0	87 ± 4,1	8,1	93 ± 3,4	6,4
	10,0	81 ± 1,4	3,1	77 ± 2,3	5,2
Dessulfenil	1,0	106 ± 1,2	1,9	96 ± 5,3	9,5
	5,0	102 ± 2,3	3,9	103 ± 0,8	1,4
	20,0	96 ± 0,9	1,6	97 ± 0,7	1,3
Fipronil	1,0	84 ± 4,9	10,0	72 ± 1,7	4,0
	5,0	99 ± 4,5	7,9	92 ± 7,0	13
	20,0	81 ± 2,0	2,0	79 ± 1,4	3,2
Sulfeto	1,0	96 ± 0,2	0,3	86 ± 5,2	10,5
	5,0	110 ± 2,2	3,6	105 ± 0	0
	20,0	96 ± 0,9	1,6	97 ± 0,7	1,3
Sulfona	1,0	79 ± 1,4	3,2	110 ± 3,1	4,9
	5,0	99 ± 1,6	2,8	87 ± 5,9	11,8
	20,0	96 ± 1,1	1,9	99 ± 0,6	1,1

\*Média ± erro padrão, (n=3)

A exatidão também pode ser observada na comparação dos cromatogramas dos padrões analíticos e das amostras fortificadas durante o teste de recuperação dos diferentes

agrotóxicos avaliados nas concentrações de 20  $\mu\text{g mL}^{-1}$  para o fipronil, dessulfenil, sulfeto e sulfona e de 10  $\mu\text{g mL}^{-1}$  para atrazina (Figura 5).



**Figura 5.** Cromatogramas dos padrões analíticos de fipronil (A), atrazina (B), sulfona (D), sulfeto (E), dessulfenil (F) e amostras fortificadas com os padrões de fipronil e atrazina (C) e desulfenil, sulfeto e sulfona (G).

Importante salientar que neste estudo, em testes preliminares realizados por cromatografia gasosa acoplada ao detector de captura de elétrons, observou-se o efeito matriz, que resultou em aumento de até 40% nos testes de recuperação. Possivelmente este efeito tenha sido causado pela competição entre os componentes da matriz e os analitos pelos sítios ativos do insertor (*liner* ou tubo de vidro). Com isso, tem-se uma maior quantidade de agrotóxico disponível para ser introduzida na coluna cromatográfica e, conseqüentemente, maior quantidade detectada (PINHO et al., 2009). Esse efeito pode ser minimizado com a purificação das amostras, o que requer um maior tempo de análise e que nem sempre tem o resultado esperado.

Diante disso, a metodologia foi validada por CLAE. A vantagem deste método validado por CLAE é que permite a detecção simultânea dos agrotóxicos fipronil e seus produtos de degradação, bem como da atrazina, e não precisa de purificação das amostras. Nos métodos desenvolvidos para Cromatografia gasosa com detector de captura de

elétrons (GC-ECD) a amostra precisa passar por uma longa etapa (aproximadamente 7 dias) de purificação (CHOPRA et al., 2011; RAMÍREZ et al., 2012; SAINI et al., 2014). O método validado por CLAE-DAD utiliza uma pequena quantidade de solvente para extração, produzindo um método mais sustentável, sendo esta uma vantagem comparada aos métodos desenvolvidos por HADJMOHAMMADI et al. (2006); MASUTTI & MERMUT, (2007); MOHAPATRA & AHUJA, (2010); MANDAL & SINGH, 2013b, que utilizam grande quantidade de solvente. O método desenvolvido diminui o tempo de análise em relação a outros descritos na literatura, principalmente em relação ao preparo e purificação das amostras. Uma desvantagem do método são os valores de limites de detecção de 1,32  $\mu\text{g g}^{-1}$  para fipronil e seus produtos de degradação, comparado aos métodos desenvolvidos por CLAE-UV que apresentaram um limite de detecção de 0,05  $\mu\text{g g}^{-1}$  (VERMA et al., 2014) e por CG-ECD que apresentou um limite de detecção de 0,3  $\mu\text{g kg}^{-1}$  (MANDAL & SINGH, 2013a; SAINI et al., 2014). Para esse tipo de trabalho o limite de detecção e quantificação são considerados satisfatórios, pois, não são exigidos valores muito baixos.

## **2.4 Conclusão**

O método proposto para extração e quantificação simultânea de resíduos de fipronil, dessulfenil, sulfeto, sulfona e atrazina em amostras de solo mostrou-se satisfatório, visto que é de fácil e rápida execução e o efeito matriz não foi observado. Assim, este método pode ser utilizado em laboratórios com objetivo de identificar e quantificar resíduos de atrazina, fipronil e seus produtos de degradação em amostras de solo, sem necessidade de purificação das amostras.

## **2.5 Agradecimentos**

Ao laboratorista da Embrapa Agropecuária Oeste, Klerisson de Souza Duro, pelo apoio técnico na realização do trabalho.

## **2.6 Referências bibliográficas**

AGROFIT: **Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários**. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2003.

ANDREU, V.; PICÓ Y. Determination of pesticides and their degradation products in soil: Critical review and comparison of methods. **Trends in Analytical Chemical**, v. 23, p. 772 – 789, 2004.

ANVISA: Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RE nº 899, de 29/05/2003

ARIAS-ESTEVEZ, M.; LOPEZ-PERIAGO, E.; MARTINEZ-CARBALLO, E.; SIMALGANDARA, J.; MEJUTO, J. C.; GARCIA-RIO, L. The mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of groundwater resources. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v.123, p. 247–260, 2008.

BASF: Disponível em:  
[http://www.agro.basf.com.br/agr/ms/apbrazil/pt\\_BR/content/APBrazil/solutions/insecticides/insecticides\\_product/Regente\\_800\\_WG](http://www.agro.basf.com.br/agr/ms/apbrazil/pt_BR/content/APBrazil/solutions/insecticides/insecticides_product/Regente_800_WG). Acesso em 27 set. 2014.

BARCELÓ, D.; HENNION, M. C. **Trace determination of pesticides and their degradation products en water**. 3 ed. Amsterdam: Elsevier, 1997, 542 p.

BOBÉ, A.; COOPER, J. F.; COSTE, C. M.; MULLER, M. A. Behavior os fipronil em soil under sahelian plain field conditions. **Pesticides Science**, v. 52, p. 275-281, 1998.

CHOPRA, I.; CHAUHAM, R.; KUMARI, B.; DAHIYA, K. K. Fate of Fipronil in Cotton and Soil Under Tropical Climatic Conditions. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 86, p. 242–245, 2011.

CLASEN, B.; LORO, V. L.; CATTANEO, R.; MORAIS, B.; LÓPES, T.; AVILA, L. A.; ZANELLA, R.; REIMCHE, G. B.; BALDISSEROTTO, B. Effects of the commercial formulation containing fipronil on the non-target organism *Cyprinus carpio*: Implications forrice fish cultivation. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 77, p. 45–51, 2012.

DECOURTYE, A.; DEVILLERS, J.; GENECQUE, E.; LE MENACH, K.; BUDZINSKI, H.; CLUZEAU, S.; PHAM-DELEGUE, M. H. Comparative sublethal toxicity of nine

pesticides on olfactory learning performances of the honeybee *Apis mellifera*. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 48, p. 242–250, 2005.

HADJMOHAMMADI, M. R.; NIKOU, S. M.; KAMEL, K. Determination of Fipronil Residue in Soil and Water in the Rice Fields in North of Iran by RP-HPLC Method. **Acta Chimica Slovenica**, v. 53, p. 517–520, 2006.

HAYASAKA, D.; KORENAGA, T.; SUZUKI, K.; SAITO, F.; SÁNCHEZ-BAYO, F.; GOKA, K. Cumulative ecological impacts of two successive annual treatments of imidacloprid and fipronil on aquatic communities of paddy mesocosms. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 80, p. 355–362, 2012.

HAYES, T. B.; ANDERSON, L. L.; BEASLEY, V. R.; SOLLA, S. R.; IGUCHI, T.; INGRAHAM, H.; KESTEMONT, P.; KNIEWALD, J.; KNIEWALD, Z.; LANGLOIS, V. L.; LUQUE, E. H.; MCCOY, K. A.; MUÑOZ-DE-TORO, M.; OKA, T.; OLIVEIRA, C. A.; ORTON, F.; RUBY, S.; SUZAWA, M.; TAVERA-MENDOZA, L. E.; TRUDEAL, V. L.; VICTOR-COSTA, A. B.; WILLINGHAM, E. Demasculinization and feminization of male gonads by atrazine: Consistent effects across vertebrate classes. **Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology**, v. 127 p. 64–73, 2011.

INMETRO: Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. **Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos**, DOQ-CGCRE-008, 2010. Disponível em: [http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/CGCRE/DOQ/DOQ-CGCRE-8\\_03.pdf](http://www.inmetro.gov.br/Sidoq/Arquivos/CGCRE/DOQ/DOQ-CGCRE-8_03.pdf). Acesso em 10 de Set. de 2014.

KADAR, A., & FAUCON, J. P. Determination of traces of fipronil and its metabolites in pollen by liquid chromatography with electrospray ionization-tandem mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 9741–9746, 2006.

LEGHAIT, J.; GAYRARD, V.; TOUTAIN, P. L.; PICARD-HAGEN, N.; VIGUIÉ, C. Is the mechanisms of fipronil-induced thyroid disruption specific of the rat: Re-evaluation of fipronil thyroid toxicity in sheep?. **Toxicology Letters**, v. 194, p. 51–57, 2010.

MANDAL, K.; SINGH, B. Dissipation of fipronil granule formulation in sugarcane field soil. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 88, p. 142-147, 2013a.

MANDAL, K.; SINGH, B. Persistence of fipronil and its metabolites in sandy loam and clay loam soils under laboratory conditions. **Chemosphere**, v. 91, p.1596–1603, 2013b.

MAPA **Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento**. Disponível em: [http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons). acesso em maio 2014.

MARTINAZZO, R.; DICK, D. P.; HIRSCHI, M. M.; LEITE, S. B.; PERELBA, M. C. R. Sorção da atrazina e de mesotriona em latossolo e estimativa de potencial de contaminação. **Química Nova**, v. 34, n. 8, p. 1378-1384, 2011.

MASUTTI, C. S. M.; MERMUT, A. R. Degradation of fipronil under laboratory conditions in a tropical soil from sirinhaém pernambuco, Brazil. **Journal of Environmental Science and Health Part B**, v. 42, p. 33–43, 2007.

MOHAPATRA, S.; AHUJA, A. K. Behaviour of fipronil in soil under different moisture levels. **Indian Journal of Agricultural Sciences**, v. 80 n. 7, p. 658–61, 2010.

MONTGOMERY, J. H. **Agrochemicals, desk reference**. 2 ed. Boca Raton, New York, Lewis Publishers, 1997, 656p.

OLIVEIRA, P. R.; BECHARA, G. H.; DENARDI, S. L.; OLIVEIRA, R. J.; MATHIAS, M. I. C. Genotoxic and mutagenic effects of fipronil on mice. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v. 64, p. 569– 573, 2012.

Pesticide Action Network-UK (PAN). (2000). Active ingredient Fact Sheet: Fipronil, **Pesticides News London**, v. 48, p. 5–30.

PERES, T. B.; PAPINI, S.; MARCHETTI, M.; NAKAGAWA, L. E.; MARCONDES, M. A.; ANDRÉA, M. M. ; LUCHINI, L. C. Métodos de extração de agrotóxicos de diversas matrizes, **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 69, n. 4, p. 87-94, 2002.

PINHO, G. P.; NEVES, A. A.; QUEIROZ, M. E. L. R.; SILVÉRIO, F. O. Efeito da matriz na quantificação de agrotóxicos por cromatografia gasosa. **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 987-995, 2009.

RAMÍREZ, R. F.; ESQUIVEL, L. E. B.; MARTÍNEZ, F. D. B.; ACOSTA, I. L.; PÉREZ, M. D. O. Development and Validation of an Analytical Method to Determine Fipronil and its Degradation Products in Soil Samples. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 89, p. 744–750, 2012.

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, p. 771-780, 2004.

SANTOS, H. G.; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C.; OLIVEIRA, V. A.; OLIVEIRA, V. B.; COELHO, M. R.; LUMBREAS, J. F.; CUNHA, T. J. F. **Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Solos, 2006. 306 p.

SAINI, S.; RANI, M.; KUMARI, B. Persistence of fipronil and its metabolites in soil under field conditions. **Environmental Monitoring and Assessment**, v. 186, n. 1, p. 69-75, 2014.

SPADOTTO, C. A.; GOMES, M. A. F.; LUCHINI, L. C.; ANDÉA, M. M. **Monitoramento de risco ambiental de agrotóxicos: princípios e recomendações**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2004. 29 p. (Documento, 42).

THIER, H.P.; ZEUMER, H. **Manual of pesticide residue analysis**, New York: VHC, 1987, 218p.

U.S. EPA, 1996. New pesticide fact sheet. PB96-181516. EPA 737-F-96-005. U.S. EPA Office of Prevention, Pesticides and Toxic Substances.

VERMA, A.; SRIVASTAVA, A.; CHAUHAN, S. S.; SRIVASTAVA, P. C. Effect of Sunlight and Ultraviolet Light on Dissipation of Fipronil Insecticide in Two Soils and Effect of pH on its Persistence in Aqueous Medium. **Air, Soil and Water Research**, v. 7, p. 69-73, 2014.

## **CAPÍTULO 3 – DEGRADAÇÃO E SORÇÃO DO INSETICIDA FIPRONIL E DO HERBICIDA ATRAZINA EM LATOSSOLOS DE MATO GROSSO DO SUL COM ADIÇÃO DE RESÍDUOS ORGÂNICOS DA CULTURA DE CANA-DE-AÇÚCAR**

### **DEGRADAÇÃO E SORÇÃO DO INSETICIDA FIPRONIL E DO HERBICIDA ATRAZINA EM LATOSSOLOS DE MATO GROSSO DO SUL COM ADIÇÃO DE RESÍDUOS ORGÂNICOS DA CULTURA DE CANA-DE-AÇÚCAR**

Raquel de Oliveira Silva<sup>(1)</sup>; Rômulo Penna Scorza Júnior<sup>(2)</sup>; Maricy Raquel Lidenbah Bonfá<sup>(3)</sup> e Ieda de Carvalho Mendes<sup>(4)</sup>

*<sup>(1)</sup>Mestranda em Recursos Naturais. Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul. Cidade Universitária de Dourados - Caixa Postal 351, 79804-970, raquelosilva22@hotmail.com; Bolsista da Capes. <sup>(2)</sup>Professor do curso de pós-graduação em Recursos Naturais - UEMS e pesquisador da Embrapa Agropecuária Oeste, BR 163, km 253,6 Caixa Postal 449, 79804-970, Dourados, MS, romulo.scorza@embrapa.br. <sup>(3)</sup>Professora da Universidade Federal da Grande Dourados, FCBA. Rodovia Dourados Itahum, Km 12, Cidade Universitária, Caixa postal 533, 75804-970, Dourados, MS, maricybonfa@ufgd.edu.br. <sup>(4)</sup>Pesquisadora da Embrapa Cerrados, Caixa Postal 08223, Planaltina, DF, 73310-970, ieda.mendes@embrapa.br.*

#### **RESUMO**

O consumo de agrotóxicos na cultura da cana-de-açúcar em Mato Grosso do Sul teve um aumento substancial nos últimos anos em função, principalmente, do crescente aumento da área plantada. Além disso, observa-se um aumento expressivo da quantidade de resíduos orgânicos gerados durante a colheita e no processamento da cana-de-açúcar nas usinas sucroalcooleiras. Alguns resíduos orgânicos (vinhaça, cinzas, torta de filtro e palha) são utilizados para aumentar a fertilidade do solo. No entanto, estes resíduos podem influenciar a degradação e sorção dos agrotóxicos no solo. Este trabalho teve por objetivo avaliar a influência da adição de resíduos orgânicos na degradação e sorção do inseticida fipronil e do herbicida atrazina em dois solos de Mato Grosso do Sul. O experimento de degradação foi realizado por 40 dias com solos incubados a 28°C e 70% da capacidade de campo. O fipronil se mostrou mais persistente com tempos de meia vida entre 15 e 105 dias, e a atrazina com tempos de meia vida entre 7 e 17 dias. O solo com adição de vinhaça favoreceu a degradação do fipronil bem como da atrazina. Já o solo com adição de torta de filtro desacelerou o processo de degradação. O fipronil apresentou degradação predominantemente biológica, enquanto a atrazina apresentou uma degradação prioritariamente química. Os valores do coeficiente de sorção (Kd) variaram de 5,12 a 13,15 mL g<sup>-1</sup> para o fipronil e de 0,48 a 1,45 mL g<sup>-1</sup> para a atrazina. Os resíduos palha e torta de filtro aumentaram o potencial de sorção do fipronil, enquanto para atrazina todos os resíduos adicionados ao solo aumentaram a sorção.

**PALAVRAS CHAVE:** Resíduo orgânico, degradação e sorção.

## ABSTRACT

Pesticide use in sugarcane crops has increased significantly during the last years, mainly at Mato Grosso do Sul State because of the increase in planted area. Moreover, we also observe an increase in organic residues generated after harvest and processing of sugarcane at sugarcane plants. Some organic residues (vinasse, ash, cake filter and straw) are used to enhance soil fertility. However, these residues can influence pesticide degradation and sorption in soil. This work had the aim to assess the influence of organic residues incorporation in the process of degradation and sorption of the insecticide fipronil and the herbicide atrazine in two soils of Mato Grosso do Sul State. Degradation experiment was carried out for 40 days using soils incubated at 28°C and 70% field capacity. Fipronil was the most persistent pesticide when compared to atrazine. Fipronil half-life values were between 15 and 105 days and for atrazine these values were between 7 and 17 days. Vinasse incorporation in soil enhanced fipronil and atrazine degradation. However, cake filter incorporation did decrease degradation rates for both pesticides. Fipronil degradation was mainly microbial whereas for atrazine it was mainly chemical. Sorption coefficients  $K_d$  ranged between 5.12 and 13.15 mL g<sup>-1</sup> for fipronil and between 0.48 and 1.45 mL g<sup>-1</sup> for atrazine. The incorporation of straw and cake filter enhanced sorption potential of fipronil in soil. For atrazine, we observed that incorporation of all sugarcane residues evaluated increased sorption.

KEY WORDS: organic residues, degradation, sorption

### 3.1 Introdução

A cultura da cana-de-açúcar teve uma expressiva expansão nos últimos anos em Mato Grosso do Sul, passando de 275 mil ha de área plantada em 2008 para 668 mil ha em 2014, o que representa um aumento de 143% em área plantada nos últimos seis anos (CONAB, 2014). Com o crescimento da área plantada, aumentou a produção de cana-de-açúcar e a quantidade de subprodutos ou resíduos gerados como bagaço (280 kg t<sup>-1</sup> de cana-de-açúcar), torta de filtro (40 kg t<sup>-1</sup> de cana-de-açúcar), vinhaça (10 a 15 L L<sup>-1</sup> de álcool produzido) e cinzas (2,06 kg t<sup>-1</sup> de cana-de-açúcar) (NOGUEIRA & GARCIA, 2013). Além disso, em função da proibição da queima, pela Lei nº 3.357/2007 do estado de Mato Grosso do Sul, são gerados de 12 a 20 toneladas de palha por hectare de cana-de-açúcar colhida.

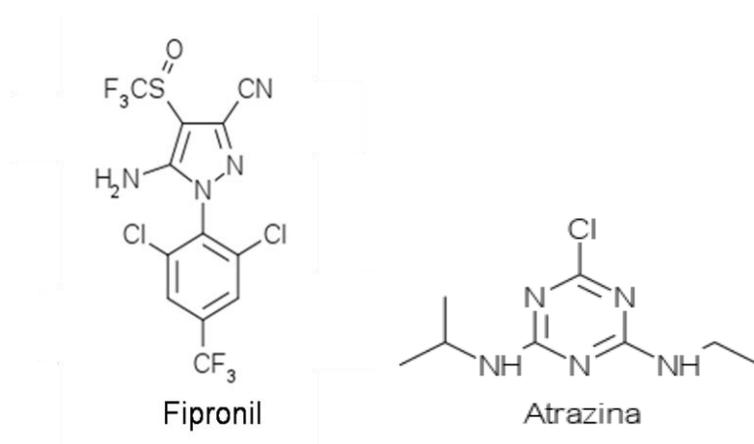
Esses resíduos possuem altos teores de matéria orgânica e nutrientes, sendo utilizados como fertilizante, principalmente em solos pouco férteis (ALMEIDA-JÚNIOR et al., 2011; SANTOS et al., 2011; SANTANA et al., 2012; OSSOM & DLAMINI, 2012).

No entanto a adição desses resíduos no solo pode alterar suas propriedades físico-químicas e microbiológicas (YOU et al., 2009; VASCONCELOS et al., 2010; ZOLIN et al., 2011; JIANG et al., 2012). Diante disso, há necessidade de geração de resultados sobre a influência da adição desses resíduos no solo e, conseqüentemente, alterações do comportamento ambiental dos agrotóxicos, principalmente nos processos de degradação e sorção. Além disso, o alto consumo de agrotóxicos na cultura da cana-de-açúcar causa uma preocupação, pois essa cultura ocupa o segundo lugar no consumo de agrotóxicos no Brasil com 10,1% do total comercializado (DEFENSIVOS, 2014).

A adição desses resíduos no solo e sua influência no comportamento dos agrotóxicos foram estudados por GIORI et al. (2014) que avaliaram a influência da palha, cinza e composto na sorção e lixiviação dos herbicidas diuron e alaclor, os autores observaram que a palha e a cinza reduziram o potencial de lixiviação, com aumento da sorção dos herbicidas com adição da cinza. LOURENCETTI et al. (2012) estudaram a influência da vinhaça no potencial de lixiviação, sorção e degradação dos herbicidas diuron, tebuthiuron e hexazinone, tendo observado que a adição da vinhaça no solo diminuiu o tempo de meia-vida e o potencial de lixiviação dos três herbicidas.

No entanto, esses trabalhos foram realizados em solos do estado de São Paulo, não havendo relatos da influência desses resíduos no comportamento dos agrotóxicos nas condições e tipos de solo no estado de Mato Grosso do Sul. Dessa forma, há necessidade da geração de resultados experimentais que mostrem a influência positiva ou negativa do uso desses resíduos orgânicos no comportamento ambiental dos agrotóxicos em solos cultivados com a cultura da cana-de-açúcar em Mato Grosso do Sul. Para tal, decidiu-se por estudar dois agrotóxicos bastante utilizados nessa cultura, que tem sua aplicação direta no solo.

O fipronil (5-amino-[2,6dicloro-4-(trifluorometil) fenil]-4-trifluorometil-sulfinil-1H-pirazol-3carbonitrila) (Figura 1) é um inseticida que pertence a classe dos fenilpirazóis possui baixa solubilidade em água ( $2,4 \text{ mg L}^{-1}$  em pH 5) mas altamente solúvel em solventes orgânicos ( $545,9$  e  $137,5 \text{ g L}^{-1}$  em acetona e metanol, respectivamente) possui constante de sorção ( $K_{oc}$ ) igual a  $803 \text{ mL g}^{-1}$  e  $\log K_{ow}$  igual a 4,01. Com essas características, o fipronil apresenta um caráter hidrofóbico com baixo potencial de lixiviação e forte adsorção no solo e em sedimentos (BARCELÓ, 1997; BASF, 2014).



**Figura 1.** Estrutura química do fipronil e da atrazina

A atrazina (2-cloro-4-etilamino-6-isopropilamino-s-triazina) pertence à família das triazinas (Figura 1), destacando-se como herbicida seletivo com aplicação recomendada em pré e pós-emergência para o controle de plantas daninhas nas culturas de cana-de-açúcar, milho e sorgo (AGROFIT, 2003). A atrazina é solúvel em água (solubilidade igual a 33 mg L<sup>-1</sup>), possui coeficiente de sorção  $K_{oc}$  entre 0,4 e 4,5 L kg<sup>-1</sup> e log  $K_{ow}$  igual a 2,34 (MONTGOMERY, 1997). A atrazina caracteriza-se como um composto com alta mobilidade no solo e, portanto, alto potencial para contaminação de águas subterrâneas (ARIAS-ESTEVEZ et al., 2008; MARTINAZZO et al., 2011).

O presente estudo objetivou avaliar a influência de resíduos orgânicos (torta de filtro, palha, cinza e vinhaça) na degradação e sorção de fipronil e atrazina em dois solos representativos com a cultura da cana-de-açúcar em Mato Grosso do Sul.

### 3.2 Material e métodos

Amostras de solo foram coletadas nos campos experimentais da Embrapa Agropecuária Oeste, em Dourados-MS (22°16'29" S e 54°48'51" W), classificado como Latossolo Vermelho Distroférrico típico de textura argilosa (LVdf), e em Ponta Porã-MS (22°33'06" S e 53°38'37" W), classificado como Latossolo Vermelho Distrófico típico de textura média (LVd) (SANTOS et al., 2006). Os solos nesses locais de coleta encontravam-se em pousio durante os últimos dois anos. Em cada amostragem foram retiradas subamostras ao acaso utilizando-se um trado holandês, na profundidade de 0-10 cm, as quais foram misturadas e homogeneizadas para constituírem uma amostra composta de, aproximadamente, 5 kg para cada solo. Após a coleta as amostras foram secas ao ar e na

sombra, trituradas em moinho e peneiradas em malha de 2 mm. Os atributos físicos e químicos de ambos os solos são apresentados na Tabela 1.

**Tabela 1.** Atributos químicos e físicos do Latossolo Vermelho Distroférrico típico de textura argilosa - LVdf e do Latossolo Vermelho Distrófico típico de textura média - LVd.

Solo	Prof. (cm)	M.O. (g kg <sup>-1</sup> )	Areia (g kg <sup>-1</sup> )	Argila (g kg <sup>-1</sup> )	pH (CaCl <sub>2</sub> )	ρ (g cm <sup>-3</sup> )
LVdf	0-10	33,4	245	630	4,8	1,21
LVd	0-10	17,5	743	213	4,9	1,46

M.O.: Matéria orgânica; ρ: densidade do solo

Os resíduos torta de filtro, cinza e vinhaça foram coletados na usina São Fernando Açúcar e Álcool, no município de Dourados-MS (22°18'32" S e 54°56'14" W). Já a palha foi coletada em uma área de plantio próxima a cidade de Dourados-MS. Após a coleta, a torta de filtro foi seca a sombra e peneirada e a palha cortada em pedaços de 2 mm aproximadamente. Já a cinza e a vinhaça foram utilizadas sem tratamentos prévios.

As características químicas dos resíduos foram determinadas de acordo com PIATV (2014) e ALCARDE (2009) e são apresentadas na Tabela 2. O pH foi determinado pelo método de CaCl<sub>2</sub> a 0,01 mol L<sup>-1</sup>, a CTC pelo método utilizando ácido clorídrico 0,5 mol L<sup>-1</sup>, acetato de sódio 0,5 mol L<sup>-1</sup>, hidróxido de sódio 0,1 mol L<sup>-1</sup>, carvão ativado e solução alcoólica de fenolftaleína a 1%. O nitrogênio foi determinado pelo método semi-micro-Kjeldahl. Os teores de Ca, Mg, K e Fe foram determinados por espectrofotometria de absorção atômica. O teor de S foi determinado pelo método de turbimetria do sulfato de bário e o de fósforo por colorimetria do metavanadato (fósforo total). O teor de carbono foi determinado por Carbono Orgânico Total (COT). Observa-se que os resíduos apresentaram um caráter ácido, exceto a cinza com pH alcalino e que apresentou os maiores teores de K, P, Ca e Mg. Os maiores valores de CTC e teor de C e N foram observados na palha. Os valores de pH e os teores de Mg da palha e da cinza foram semelhantes aos determinados por GIORI et al. (2014), enquanto o teor de C da vinhaça foi semelhante ao determinado por LOURENCETTI et al. (2012).

O cálculo da dosagem dos resíduos no solo para instalação dos experimentos de degradação e sorção foi feito de acordo com a quantidade utilizada no campo pelas usinas locais e a densidade de cada solo. Foram utilizadas as seguintes doses: 35 ton ha<sup>-1</sup> de torta

de filtro, 18 ton ha<sup>-1</sup> de palha, 10 ton ha<sup>-1</sup> de cinza, e 150 m<sup>3</sup> ha<sup>-1</sup> de vinhaça, considerando a densidade de 1,21 e 1,46 g cm<sup>-3</sup>, nos solos LVdf e LVd respectivamente.

Após a caracterização química dos resíduos e o cálculo da dosagem de cada resíduo orgânico no solo, adicionou-se manualmente a quantidade correspondente de cada resíduo a 1 kg de solo em bandejas de plástico cobertas com papel alumínio, que foram deixados por 23 dias em uma incubadora tipo BOD a 28 °C e a umidade mantida a 70% da capacidade de campo (CC) por meio da adição periódica de água ultrapura. Esse procedimento teve por objetivo a estabilização da atividade microbiana do solo.

**Tabela 2.** Características químicas dos resíduos torta de filtro, palha, cinza e vinhaça.

Resíduos	pH	K	P	Ca	Mg	S	Fe	C	N	CTC
	CaCl <sub>2</sub>									
Torta	4,7	6,3	0,3	1,4	0,7	0,7	2,4	335	2,4	79
Palha	5,7	2,0	0,5	2,5	0,9	-	10,4	378	5,9	150
Cinza	8,3	9,0	2,6	5,8	3,2	-	32,3	43	0,1	29
					g L <sup>-1</sup>					
Vinhaça	4,3	1,3	0,03	0,3	0,1	0,2	0,04	8	0,2	-

Para o experimento de degradação foram pesados 10 g de amostra de solo juntamente com o resíduo e acondicionados em béqueres de 100 mL. Alíquotas da solução de trabalho do fipronil e da atrazina foram adicionadas ao solo em cada béquer, de modo a fornecer uma concentração de 5 µg do agrotóxico g<sup>-1</sup> de solo. Após a fortificação, as amostras foram homogeneizadas e logo em seguida ajustado seu teor de umidade com água ultrapura para 70% da CC. Os béqueres foram fechados na parte superior com papel alumínio contendo seis furos para manter a condição aeróbica. As amostras foram incubadas em câmeras climáticas tipo BOD a 28 °C e na ausência de luz. A umidade do solo foi mantida constante, pesando-se as amostras de solo diariamente e repondo as perdas com adição de água ultrapura. Os experimentos foram conduzidos por 40 dias, em triplicata, sendo as amostras retiradas aos 0, 7, 14, 20, 27, 34 e 40 dias após a fortificação.

Amostras de solo juntamente com os resíduos foram avaliadas quanto à abundância de micro-organismos cultiváveis, nos tempos 0, 7, 20 e 40 dias após a fortificação com os agrotóxicos. Foi avaliada abundância apenas de micro-organismos capazes de crescerem em meio contendo 0,015% de atrazina (Atrazina Nortox 500 SC) e 0,02% de fipronil (Regent 800 WG, BASF). As soluções dos agrotóxicos foram preparadas com água

destilada esterilizadas por filtração em membrana 0,22  $\mu\text{m}$  e armazenadas em frasco estéril em geladeira. O meio mínimo de sais utilizado (MSM) foi adaptado ao meio descrito por RADEHAUS e SCHIMIDT (1992), respeitando-se as seguintes concentrações em  $\text{g L}^{-1}$ :  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (2,4);  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (2,0);  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (0,01);  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (0,01). O pH foi ajustado para 6,5 com uma solução 1 mol  $\text{L}^{-1}$  de NaOH. Foi adicionado 1% de agar bacteriológico para um meio sólido. O meio foi esterilizado em autoclave a 121  $^\circ\text{C}$  por 20 minutos. Após esterilização, os agrotóxicos foram adicionados ao meio em ambiente estéril e posteriormente o meio foi vertido em placas de Petri estéreis para solidificação. Amostras de solos estéreis (10 g) foram preparadas com diluição seriada em solução salina 0,9% até a diluição  $10^{-2}$  e em seguida 0,1 mL da amostra foi plaqueada pelo método de *Spread plate* (espalhamento em superfície) com auxílio de uma alça de Drigausk estéril (SWANSON et al., 2001). Já os 10 g das amostras de solo não estéreis foram diluídas até  $10^{-4}$  e as duas últimas diluições foram plaqueadas. As placas foram incubadas a 30  $^\circ\text{C} \pm 2$   $^\circ\text{C}$  em BOD por um tempo total de 5 dias, porém duas contagens foram realizadas após 2 dias, para contagem de bactérias e após 5 dias para contagem de fungos filamentosos. O número total de micro-organismos foi calculado por grama de solo analisado.

Nas amostras de solo dos experimentos de degradação, também foram determinadas as atividades das enzimas beta-glucosidase (EC 3.2.1.21) e arilsulfatase (EC 3.1.6.1) relacionadas ao ciclo de C e S, conforme descrito por TABATABAI (1994). Esses métodos se baseiam na determinação colorimétrica do p-nitrofenol (coloração amarela) formado após a adição de substratos incolores específicos para cada enzima avaliada. Foram realizadas três repetições de 10 g de solo formando uma amostra composta de 30 g, nos tempos 0, 7, 20, 34 e 40 dias após a fortificação. A atividade enzimática do solo é expressa em  $\mu\text{g}$  p-nitrofenol liberado por hora por grama de solo seco.

O método de extração dos resíduos de fipronil e atrazina no solo consistiu em transferir 10 g de solo com o resíduo para erlenmeyer de 50 mL com tampa, onde foram adicionados 40 mL de metanol. Posteriormente, as amostras foram deixadas em mesa agitadora operada a 216 rpm a 25  $^\circ\text{C}$ , por 1 h. Após o término da agitação, as amostras foram colocadas em repouso para decantação por 1 h. Parte da fração líquida (10 mL) foi retirada e centrifugada em ultracentrífuga refrigerada a 15  $^\circ\text{C}$ , por 15 min a 4000 rpm. As amostras foram filtradas em filtro de celulose regenerada de 0,45  $\mu\text{m}$ , e armazenadas em freezer a -20  $^\circ\text{C}$  até a análise por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). As

recuperações da atrazina variaram de 79 a 87% para o solo LVdf e de 77 a 93% para o solo LVd, e do fipronil variaram de 81 a 99% para o solo LVdf e de 72 a 92% para o solo LVd.

A metodologia da sorção foi baseada no método da batelada conforme protocolo OECD 106 (2000). O experimento consistiu em pesar 10 g de solo juntamente com o resíduo para atrazina e 5 g de solo juntamente com o resíduo para fipronil. A fase de pré-equilíbrio consistiu em adicionar 10 mL da solução de  $\text{CaCl}_2$   $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  nas amostras, deixando-as em mesa agitadora operada a 216 rpm a  $25 \text{ }^\circ\text{C}$ , por 12 h. Após a fase de pré-equilíbrio adicionou-se 40 mL da solução de fortificação dos agrotóxicos que ficou sob agitação por 24 h. Após esse período, as amostras foram retiradas e deixadas em repouso para decantação por 2 h. Parte da fração líquida (10 mL) foi retirada e centrifugada em ultracentrífuga refrigerada a  $15 \text{ }^\circ\text{C}$ , por 20 min a 4000 rpm. Todas as amostras foram filtradas em filtro de celulose regenerada de  $0,45 \mu\text{m}$  antes da injeção por CLAE.

Para a identificação e determinação quantitativa do fipronil e da atrazina em ambos os experimentos foi utilizado um CLAE, modelo Varian 920-LC, operando com detector de arranjo de diodos (DAD). A quantificação do composto foi realizada por meio da comparação das áreas dos picos nas amostras com a curva de calibração obtida com as injeções dos padrões analíticos.

A separação dos analitos foi feita em coluna de fase reversa C-18 Polaris (25 cm x 4,6 mm x 5  $\mu\text{m}$ ) e pré-coluna C-18 Polaris (2,5 cm x 4,6 mm x 5  $\mu\text{m}$ ). A eluição foi realizada em sistema isocrático com: 60% de metanol, 30% de água ultrapura e 10% de acetonitrila v/v/v. O tempo de análise foi de 20 minutos e o tempo de retenção da atrazina e do fipronil, nessas condições, foram de 6,43 e 12,88 min, respectivamente, mantidos os volumes de injeção em 20  $\mu\text{L}$ . O comprimento de onda de leitura das amostras foi de 220 nm e a temperatura do forno da coluna de  $40 \text{ }^\circ\text{C}$ . O limite de quantificação da atrazina e do fipronil foram de 2 e 4  $\mu\text{g g}^{-1}$ , respectivamente.

Os valores das quantidades remanescentes no solo após 20 dias para atrazina e 40 dias para fipronil, para cada tratamento, foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste Tukey a 5%, utilizando o programa R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2012). Em seguida, as quantidades remanescentes de fipronil e atrazina, em função do tempo, para cada tratamento, foram ajustadas ao modelo de cinética de primeira ordem (CPO). Para tal, utilizou-se o programa SigmaPlot® 12.0 pelo método do ajuste de regressão não linear. O modelo de cinética de primeira ordem é dado por  $C = C_0 \cdot e^{-kt}$  em que C é a quantidade remanescente do agrotóxico no solo (% da dose aplicada),  $C_0$  é a

quantidade inicial aplicada (%),  $k$  é a taxa de degradação ( $\text{dia}^{-1}$ ) e  $t$  é o tempo (dias). Os valores de meia vida ( $DT_{50}$ ) do fipronil e da atrazina, nas diferentes condições estudadas, foram estimados com base em  $DT_{50} = \frac{0,693}{k}$ .

### 3.3 Resultados e discussão

#### 3.3.1 Degradação

Observou-se interação significativa ( $p < 0,05$ ) entre os diferentes tipos de resíduos orgânicos e solos avaliados.

Para o fipronil, os maiores valores da quantidade remanescente no solo foram encontrados nos tratamentos com adição de torta de filtro e no solo estéril (Tabela 3) para ambos os solos, onde não foi observado diferença significativa entre eles ( $p > 0,05$ ). Isso indica que a degradação do fipronil foi mais lenta, para ambos os solos, após a adição de torta de filtro e no solo estéril, o que mostra para este último que a degradação do fipronil ocorre predominantemente pela ação dos micro-organismos no solo. A menor quantidade remanescente de fipronil foi encontrada em solos com adição de vinhaça, o que indica que esse resíduo acelerou o processo de degradação do fipronil. Não foi observado diferença significativa entre os tratamentos controle e nos solos com adição de palha e cinza, o que indica que a adição desses resíduos não aceleram e nem retardam a degradação do fipronil. Para os tipos de solos avaliados e considerando o fipronil, observou-se diferença significativa ( $p < 0,05$ ) entre os tratamentos controle e com adição de palha e vinhaça, onde o solo LVd apresentou uma maior quantidade remanescente de fipronil, indicando uma degradação mais lenta para este solo nesses tratamentos. Provavelmente essa degradação mais lenta deve-se ao menor teor de matéria orgânica presente no LVd (Tabela 1). Quanto aos tratamentos estéril, torta de filtro e cinza não foi observado diferença significativa ( $p > 0,05$ ) em relação aos tipos de solos.

Para atrazina, os maiores valores das quantidades remanescentes no solo também foram encontrados nos tratamentos com solo estéril e com adição de torta de filtro, indicando uma degradação mais lenta nesses tratamentos para ambos os solos. Para o solo LVdf os menores valores das quantidades remanescentes de atrazina foram observados nos tratamentos com adição de palha e vinhaça, o que indica que a adição desses resíduos

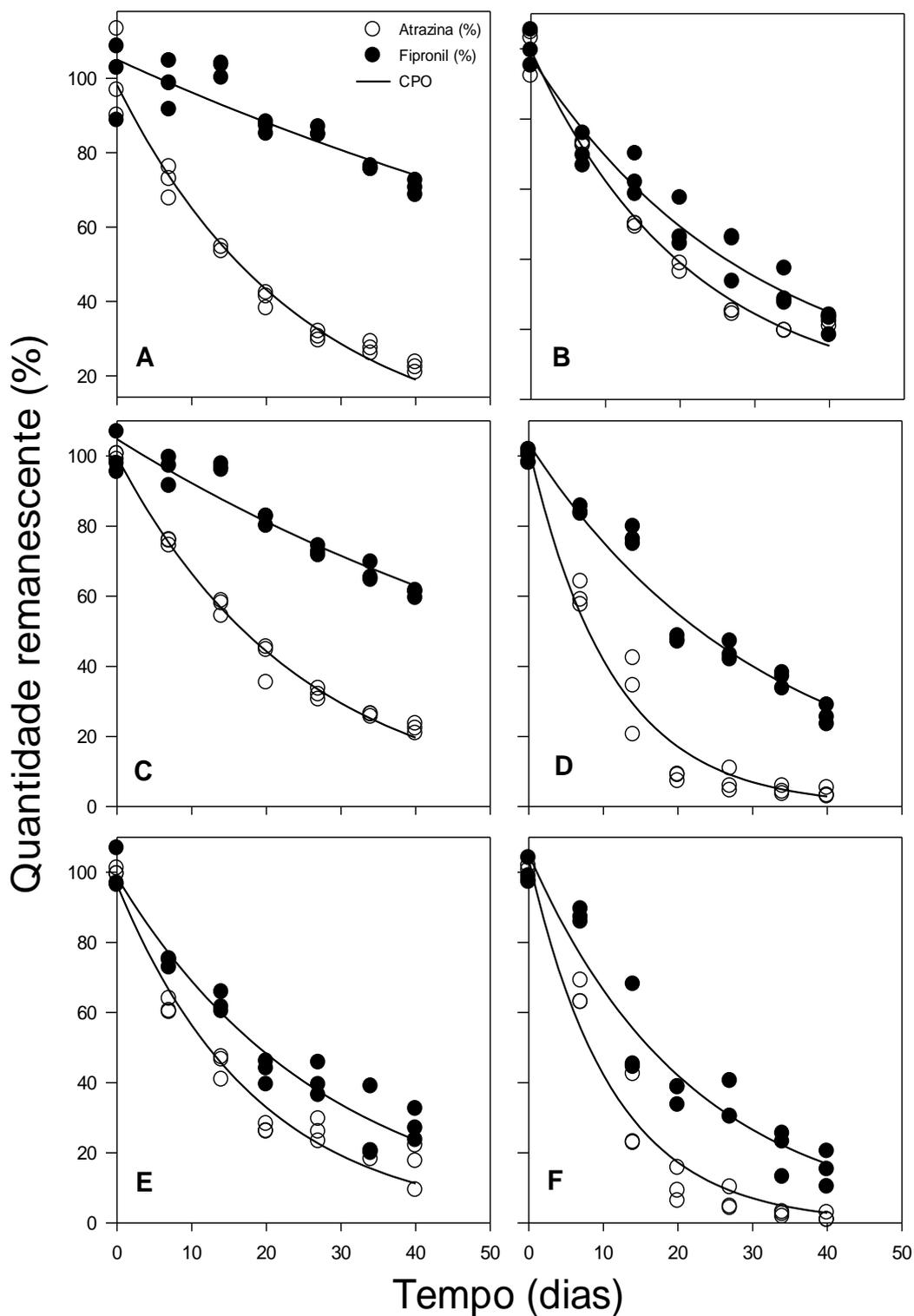
aceleraram a degradação da atrazina. Não foi observado diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os tratamentos controle e com adição de cinzas para o solo LVdf, ou seja, esses resíduos não interferem no processo de degradação. No solo LVd, os menores valores das quantidades remanescentes e, portanto, degradação mais rápida foi observada nos tratamentos controle e com adição de cinza e vinhaça, onde não foi observado diferença significativa entre eles ( $p > 0,05$ ). O tratamento com adição de palha no solo LVd apresentou valores de quantidade remanescente intermediário, com degradação mais rápida em relação aos tratamentos estéril e com adição de torta de filtro e mais lenta em relação aos tratamentos controle e com adição de cinza e vinhaça.

**Tabela 3.** Quantidades remanescentes ( $\mu\text{g g}^{-1}$ ) de fipronil e atrazina no solo após 20 dias da aplicação para atrazina e 40 dias para fipronil.

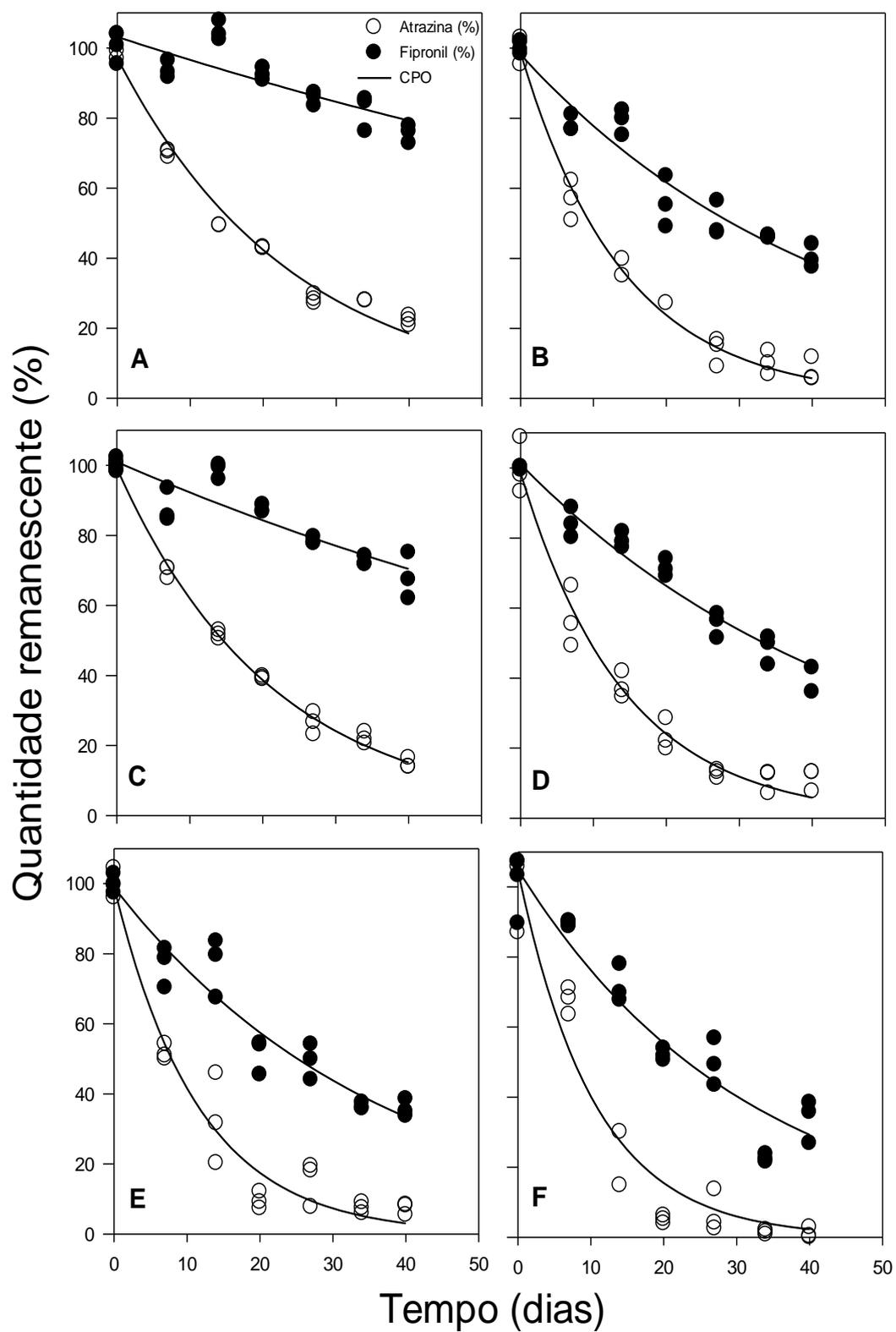
Tratamentos	Fipronil ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )		Atrazina ( $\mu\text{g g}^{-1}$ )	
	LVdf	LVd	LVdf	LVd
Estéril	3,41 a A	3,68 a A	2,02 a A	1,96 a A
Torta	3,07 a A	3,40 a A	2,13 a A	2,06 a A
Cinza	1,38 b A	1,70 bc A	1,32 b A	0,43 c B
Palha	1,29 bc B	2,28 b A	0,42 c B	1,18 b A
Controle	1,11 bc B	2,01 bc A	1,60 ab A	0,64 bc B
Vinhaça	0,71 c B	1,57 c A	0,54 c A	0,24 c A

CV = 11,82% para fipronil e 19,57% para atrazina. Médias seguidas por letras iguais, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, para cada agrotóxico individualmente, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%.

As quantidades remanescentes de fipronil e atrazina, em função do tempo, nos diferentes tratamentos e tipos de solo, são apresentadas nas Figuras 2 e 3. Com relação ao ajuste das quantidades remanescentes de ambos os agrotóxicos em função do tempo ao modelo CPO os valores de  $R^2$  para fipronil e atrazina indicando um bom ajuste dos dados ao modelo CPO (Tabela 4).



**Figura 2.** Quantidades remanescentes de fipronil e atrazina, em função do tempo, no Latossolo Vermelho Distroférico típico de textura argilosa, Dourados-MS, no solo estéril (A), sem adição de resíduo ou controle (B), e após adição dos resíduos; torta de filtro (C), palha (D), cinza (E) e vinhaça (F).



**Figura 3.** Quantidades remanescentes de fipronil e atrazina, em função do tempo, no Latossolo Vermelho Distrófico típico de textura média, Ponta Porã-MS, no solo estéril (A), sem adição de resíduo ou controle (B), e após adição dos resíduos; torta de filtro (C), palha (D), cinza (E) e vinhaça (F).

As estimativas dos valores de DT<sub>50</sub> do fipronil variaram de 15 a 105 dias (Tabela 4). Todos os valores de DT<sub>50</sub> do fipronil foram menores para o solo LVdf, o que indica uma degradação mais rápida neste tipo de solo quando comparado ao LVd.

**Tabela 4.** Parâmetros do modelo de cinética de primeira ordem para degradação do fipronil e atrazina e estimativas dos valores de meia-vida (DT<sub>50</sub>).

Agrotóxicos	Solo	Tratamentos	C <sub>0</sub> (%)	k (dia <sup>-1</sup> )	R <sup>2</sup>	DT <sub>50</sub> (dias)
Fipronil	LVdf	Estéril	105,0 ± 2,7*	0,009 ± 0,001	0,76	79
		Controle	97,6 ± 2,9	0,034 ± 0,002	0,95	20
		Torta	104,8 ± 2,2	0,013 ± 0,001	0,90	55
		Palha	103,5 ± 2,8	0,032 ± 0,002	0,96	22
		Cinza	98,5 ± 2,9	0,036 ± 0,002	0,95	19
		Vinhaça	105,0 ± 4,0	0,046 ± 0,003	0,94	15
	LVd	Estéril	103,8 ± 2,4	0,007 ± 0,001	0,63	105
		Controle	98,2 ± 2,7	0,023 ± 0,002	0,93	30
		Torta	100,9 ± 2,5	0,009 ± 0,001	0,78	77
		Palha	101,1 ± 2,0	0,022 ± 0,001	0,96	33
		Cinza	98,9 ± 3,1	0,027 ± 0,002	0,92	26
		Vinhaça	104,9 ± 3,9	0,032 ± 0,002	0,91	22
Atrazina	LVdf	Estéril	98,2 ± 2,5	0,041 ± 0,002	0,97	17
		Controle	99,5 ± 2,1	0,047 ± 0,002	0,98	15
		Torta	99,7 ± 1,3	0,041 ± 0,001	0,99	17
		Palha	102,3 ± 3,3	0,089 ± 0,005	0,97	8
		Cinza	96,4 ± 2,7	0,054 ± 0,003	0,97	13
		Vinhaça	103,6 ± 3,8	0,090 ± 0,006	0,97	8
	LVd	Estéril	97,1 ± 1,9	0,042 ± 0,002	0,98	17
		Controle	98,6 ± 2,2	0,071 ± 0,003	0,99	10
		Torta	99,2 ± 1,0	0,047 ± 0,001	0,99	15
		Palha	98,5 ± 2,9	0,071 ± 0,004	0,97	10
		Cinza	99,1 ± 3,8	0,087 ± 0,006	0,96	8
		Vinhaça	104,6 ± 5,2	0,096 ± 0,009	0,95	7

\*Média ± erro padrão

Os valores de DT<sub>50</sub> do fipronil após adição de vinhaça foram, de maneira geral, 25% menores em ambos os solos, quando comparados ao controle (Tabela 4). Outros autores também observaram que adição da vinhaça acelera a degradação de agrotóxicos

(PRATA, 1998; PRATA & LAVORENTI, 2000; PRATA et al., 2001; LOURENCETTI et al., 2012). Muitos estudos relatam que a adição da vinhaça modifica temporariamente alguns atributos químicos e biológicos do solo, aumentando a fertilidade e o teor de matéria orgânica (CANELLAS et al., 2003), a acidez trocável, a atividade e a biomassa microbiana (MINHONI & CERRI, 1987) os quais interferem diretamente no comportamento dos agrotóxicos no solo.

Os maiores valores de  $DT_{50}$  para o fipronil foram encontrados nos tratamentos com solo estéril e com adição de torta de filtro para ambos os solos (Tabela 4). A adição de torta de filtro diminuiu a taxa de degradação do fipronil, tornando-o mais persistente. Os valores de  $DT_{50}$  do fipronil após adição da torta de filtro no solo foram, de uma maneira geral, 2,5 vezes superiores aos valores de  $DT_{50}$  sem adição desse resíduo ao solo. Esse resíduo modifica algumas propriedades químicas do solo como o aumento do carbono orgânico, fósforo, cálcio e CTC e a diminuição do alumínio (RODELLA et al., 1990) o que pode ter influenciado na degradação do fipronil.

Os valores estimados de  $DT_{50}$  da atrazina variaram de 7 a 17 dias, sugerindo a baixa persistência desse agrotóxico nos solos estudados.

Comparando os valores de  $DT_{50}$  para atrazina entre os tratamentos controle e solo estéril, observa-se que os valores foram semelhantes (Tabela 4). Assim, isso indica que o processo de degradação microbiana para as condições estudadas não foi a principal via de degradação da atrazina. Isso indica uma degradação prioritariamente química, o mesmo foi observado por outros autores como BLUMHORST & WEBER (1994), ANDRÉA et al. (1997), NAKAGAWA & ANDRÉA, (2000). A atrazina é um herbicida pertencente à família das triazinas na qual a principal via de degradação química no solo é a hidrólise química, um processo relativamente rápido em solo ácido ou básico e lento em solo neutro (LEBARON, 2008). Isso ocorre devido a atrazina ser uma base fraca com valores de  $pK_a$  igual a 1,7 para o ácido conjugado. Outro mecanismo que pode ocorrer é a desalquilação e quebra do anel triazínico (ESSER et al., 1975).

Os menores valores de  $DT_{50}$  para atrazina foram observados nos tratamentos com adição de palha, cinza e vinhaça em ambos os solos. Observou-se que com adição desses resíduos houve redução nos valores de  $DT_{50}$  para atrazina de até 46% no LVdf e de 30% no LVd.

Todas as amostras foram avaliadas quanto à abundância de micro-organismos presentes nos solos capazes de crescer em fipronil e atrazina como única fonte de carbono

e nitrogênio conforme descrito na metodologia. A Tabela 5 apresenta a variação da abundância de micro-organismos no decorrer de 40 dias. De maneira geral, pode-se observar que o solo LVdf apresenta uma maior concentração de micro-organismos em todos os tratamentos, isso provavelmente está relacionado ao maior teor de matéria orgânica do mesmo. Após a aplicação dos agrotóxicos houve um decréscimo no número de micro-organismos em todas as amostras. Com exceção do solo LVdf com adição de cinza todos as amostras apresentaram uma recuperação na microbiota no decorrer do tempo.

**Tabela 5.** Contagem de fungos e bactérias no Latossolo Vermelho distroférrico típico de textura argilosa - LVdf, e no Latossolo Vermelho Distrófico típico de textura média - LVd, antes e depois da fortificação com fipronil e atrazina.

Solo	Tratamentos	T - 0	T - 7	T - 21	T - 40
		(UFC g <sup>-1</sup> solo)			
LVdf	Estétil	0	5,0.10 <sup>3</sup>	0	1,0.10 <sup>4</sup>
	Controle	1,8.10 <sup>7</sup>	1,2.10 <sup>6</sup>	8,2.10 <sup>5</sup>	2,6.10 <sup>7</sup>
	Torta	1,0.10 <sup>8</sup>	2,1.10 <sup>6</sup>	1,9.10 <sup>6</sup>	1,3.10 <sup>7</sup>
	Palha	1,6.10 <sup>7</sup>	4,5.10 <sup>6</sup>	6,3.10 <sup>5</sup>	4,6.10 <sup>7</sup>
	Cinza	1,8.10 <sup>7</sup>	4,6.10 <sup>6</sup>	2,8.10 <sup>6</sup>	2,3.10 <sup>6</sup>
	Vinhaça	1,0.10 <sup>8</sup>	4,7.10 <sup>6</sup>	2,4.10 <sup>5</sup>	1,5.10 <sup>7</sup>
LVd	Estétil	0	1,0.10 <sup>4</sup>	1,0.10 <sup>4</sup>	1,0.10 <sup>4</sup>
	Controle	1,0.10 <sup>8</sup>	2,0.10 <sup>8</sup>	9,6.10 <sup>6</sup>	1,3.10 <sup>7</sup>
	Torta	1,7.10 <sup>7</sup>	5,3.10 <sup>5</sup>	2,8.10 <sup>5</sup>	6,4.10 <sup>6</sup>
	Palha	2,1.10 <sup>6</sup>	6,0.10 <sup>5</sup>	1.10 <sup>6</sup>	1,3.10 <sup>6</sup>
	Cinza	9,8.10 <sup>6</sup>	1,5.10 <sup>5</sup>	1,9.10 <sup>6</sup>	3,3.10 <sup>6</sup>
	Vinhaça	3,2.10 <sup>6</sup>	1,5.10 <sup>6</sup>	2,6.10 <sup>5</sup>	9,0.10 <sup>6</sup>

T= tempo em dias

O solo argiloso apresentou maior atividade enzimática que o de textura média. Em média, os níveis de atividade de  $\beta$ -glicosidase e da arilsulfatase, no solo LVdf foram 1,94 e 1,75 vezes superiores aos do LVd (Tabela 6). A adição de torta de filtro e palha aumentou a atividade da  $\beta$ -glicosidase em relação ao controle nos dois solos. No solo LVdf, ao término do experimento, no tempo T-40, a atividade da  $\beta$ -glicosidase nos tratamentos com torta de filtro e palha foi respectivamente 2,9 e 2,5 vezes maior do que no tratamento controle (Tabela 6). Como no tratamento com adição de torta, houve um aumento na meia vida dos agrotóxicos avaliados (Tabela 4), verifica-se então que não houve uma relação direta entre o aumento da atividade da  $\beta$ -glicosidase e a degradação do fipronil e da atrazina nos dois solos avaliados. A adição de resíduos não influenciou a

arilsulfatase nos dois solos analisados com exceção da torta de filtro no tempo T-0, no solo LVdf. Ao término da incubação (T-34 e T-40), nos dois solos avaliados, houve uma redução acentuada nos níveis de arilsulfatase em todos os tratamentos. Como os níveis de umidade do solo foram mantidos constantes durante a incubação é possível que esse efeito esteja relacionado ao esgotamento da atividade dessa enzima no solo ao longo do período de incubação.

**Tabela 6.** Atividade das enzimas  $\beta$ -Glicosidase e arilsulfatase no Latossolo Vermelho distroférico típico de textura argilosa - LVdf, e no Latossolo Vermelho Distrófico típico de textura média - LVd, antes e depois da fortificação com fipronil e atrazina.

Solo	Tratamentos	T – 0	T – 7	T – 20	T -34	T – 40
<b><math>\beta</math> – Glicosidase (<math>\mu\text{g p-nitrofenol g}^{-1}</math> solo <math>\text{h}^{-1}</math>)</b>						
LVdf	Estéril	4	1	46	141	155
	Controle	86	72	58	75	72
	Torta	124	124	102	113	135
	Palha	259	185	186	174	127
	Cinza	74	72	74	104	64
	Vinhaça	144	87	72	87	111
LVd	Estéril	0	50	39	55	28
	Controle	55	29	26	36	29
	Torta	90	61	65	67	84
	Palha	127	95	116	79	71
	Cinza	36	26	26	36	36
	Vinhaça	72	40	37	47	45
<b>Arilsulfatase (<math>\mu\text{g p-nitrofenol g}^{-1}</math> solo <math>\text{h}^{-1}</math>)</b>						
LVdf	Estéril	0	0	1	3	0
	Controle	53	58	32	1	0
	Torta	133	53	36	2	1
	Palha	62	52	40	0	0
	Cinza	50	40	32	13	2
	Vinhaça	51	44	31	1	2
LVd	Estéril	0	0	0	0	0
	Controle	27	71	9	1	1
	Torta	39	18	15	1	1
	Palha	49	31	30	2	1
	Cinza	24	22	15	11	1
	Vinhaça	36	25	19	1	0

T= tempo em dia

### 3.3.2 Sorção

Observou-se interação significativa ( $p < 0,05$ ) entre os solos e tratamentos (resíduos) no estudo da sorção do fipronil. Os valores de  $K_d$  para o fipronil variaram de 5,12 a 13,15 mL g<sup>-1</sup>, considerando os dois solos e todos os tratamentos avaliados (Tabela 7). Não foi observada diferença significativa ( $p > 0,05$ ) para os valores de  $K_d$  com adição de resíduos no solo LVd. No entanto, para o solo LVdf, observou-se diferença significativa ( $p < 0,05$ ) nos valores de  $K_d$  (e portanto magnitude da sorção) após adição de palha e torta de filtro em relação aos demais (Tabela 7). Por outro lado, a adição de cinza e vinhaça no LVdf propiciou a diminuição significativa ( $p < 0,05$ ) nos valores de  $K_d$ , quando comparase com a adição de palha e torta. A palha e a torta são os resíduos com maiores teores de carbono orgânico e alta capacidade de trocas catiônicas (Tabela 2). Isso provavelmente influenciou na maior sorção do fipronil. WARNNER et al. (2005) observaram a influência da palha no comportamento do fungicida <sup>14</sup>ditianona, concluíram que adição desse resíduo aumentou sua mineralização e sorção.

**Tabela 7.** Coeficiente de sorção  $K_d$  mL g<sup>-1</sup> do fipronil no Latossolo Vermelho Distroférico típico de textura argilosa - LVdf e no Latossolo Vermelho Distrófico típico de textura média - LVd.

Tratamentos	LVdf	LVd
Palha	13,15 a A	8,55 a B
Torta	12,18 a A	7,02 a B
Controle	9,94 ab A	5,12 a B
Cinza	8,51 b A	5,81 a B
Vinhaça	6,93 b A	6,45 a B

CV = 16,35 %. Médias seguidas por letras iguais, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%.

Para atrazina não foi observado interação significativa ( $p > 0,05$ ) entre os tipos de solos. Assim, cabe analisar os fatores solo e tratamento de forma independente. Os maiores valores de  $K_d$  foram observados após adição de palha e cinza, não havendo diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre eles (Tabela 8). Já o menor valor de  $K_d$  para atrazina foi

observado no tratamento controle (sem adição de resíduos) diferindo estatisticamente dos demais ( $p > 0,05$ ). Não houve diferença significativa ( $p < 0,05$ ) nos valores de Kd da atrazina após adição de torta e vinhaça, mas foram estatisticamente diferentes dos tratamentos palha, cinza e controle. De uma maneira geral, para a atrazina, a adição dos resíduos orgânicos aumentaram a sorção nos solos avaliados, já que o menor valor de Kd encontrado foi no tratamento controle e que diferiu estatisticamente ( $p < 0,05$ ) dos demais. A matéria orgânica proveniente dos resíduos orgânicos adicionados ao solo provavelmente influenciou positivamente na retenção da atrazina no solo, pois é um sorvente relevante na adsorção desse composto (GOMES et al., 2002; DICK et al., 2010). Vários fatores com matéria orgânica, teor de argila, pH podem influenciar na sorção das triazinas, grupo ao qual pertence a atrazina (LEBARON, 2008).

**Tabela 8.** Coeficiente de sorção Kd mL g<sup>-1</sup> da atrazina no Latossolo Vermelho Distroférico típico de textura argilosa - LVdf e no Latossolo Vermelho Distrófico típico de textura média - LVd.

Tratamentos	LVdf	LVd	Total
Palha	1,45	1,38	1,42 a
Cinza	1,38	1,36	1,37 a
Vinhaça	0,94	1,02	0,98 b
Torta	1,05	0,85	0,94 b
Controle	0,69	0,48	0,59 c
<b>Total</b>	1,10 A	1,02 A	1,06

CV = 12,38 %. Médias seguidas por letras iguais, minúsculas na coluna e maiúsculas na linha, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5%.

### 3.4 Conclusão

Os solos com adição de vinhaça aceleraram o processo de degradação, diminuindo os tempos de meia-vida para ambos os agrotóxicos, enquanto a adição do resíduo torta de filtro tornou a degradação do fipronil mais lenta para ambos os solos. A taxa de degradação da atrazina em solo estéril foi semelhante ao controle.

Os maiores coeficientes de sorção  $K_d$  do fipronil foram observados no solo LVdf e com adição dos resíduos palha e torta de filtro. Todos os resíduos adicionados aumentaram a sorção da atrazina em ambos os tipos de solo.

### 3.5 Agradecimentos

Ao laboratorista da Embrapa Agropecuária Oeste, Klerisson de Souza Duro, pelo apoio técnico na realização do trabalho.

### 3.6 Referências bibliográficas

AGROFIT: **Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários**. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2003.

ALCARDE, J. C. (2009). Métodos-padrão, detalhes analíticos e cálculos. In E. M. Neves (Ed.), **Manual de análise de fertilizantes** (pp. 41–170). Piracicaba: FEALQ.

ANDRÉA, M. M.; MATALLO, M. B.; TOMITA, R. Y.; LUCHINI, L. C. Effect of the temperature on dissipation of [14C] atrazine in a Brazilian soil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 32, n. 1, p. 95-100, 1997.

ARIAS-ESTEVEZ, M.; LOPEZ-PERIAGO, E.; MARTINEZ-CARBALLO, E.; SIMALGANDARA, J.; MEJUTO, J. C.; GARCIA-RIO, L. The mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of groundwater resources. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 123, p. 247–260, 2008.

BASF: Disponível em:  
[http://www.agro.basf.com.br/agr/ms/apbrazil/pt\\_BR/content/APBrazil/solutions/insecticides/insecticides\\_product/Regente\\_800\\_WG](http://www.agro.basf.com.br/agr/ms/apbrazil/pt_BR/content/APBrazil/solutions/insecticides/insecticides_product/Regente_800_WG). Acesso em 27 set. 2014.

BARCELÓ, D.; HENNION, M. C. **Trace determination of pesticides and their degradation products en water**. 3 ed. Amsterdam: Elsevier, 1997, 542 p.

BLUMHORST, M. R.; WEBER, J. B. Chemical versus microbial degradation of cyanazine and atrazine in soils. **Pesticide Science**, v. 42, n. 2, p. 79-84, 1994.

CANELLAS, L. P.; VELLOSO, A. C. X.; MARCIANO, C. R.; RAMALHO, J. F. G. P.; RUMJANEK, V. M.; REZENDE, C. E.; SANTOS, G. A. Propriedades químicas de um cambissolo cultivado com cana-de-açúcar, com preservação do palhico e adição de vinhaça por longo tempo. **Revista Brasileira Ciência do Solo**, v. 27, p. 935-944, 2003.

CONAB: **Companhia Nacional de Abastecimento**. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, 2014. Disponível em: [http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1252&t=&Pagina\\_objcmsconteudos=2#A\\_objcmsconteudos](http://www.conab.gov.br/conteudos.php?a=1252&t=&Pagina_objcmsconteudos=2#A_objcmsconteudos). Acesso em: 21 dez. 2014.

DEFENSIVOS AGRÍCOLAS: comercialização recorde em 2013 e expectativas de acréscimo nas vendas em 2014. **Análises e Indicadores do Agronegócio**, São Paulo, 08 Ago. 2014. Disponível em: <http://www.iea.sp.gov.br/out/LerTexto.php?codTexto=13467>. Acesso em: 19 Dez. 2014.

DICK, D. P.; MARTINAZZO, R.; KNICKER, H.; ALMEIDA, P. S. G. Matéria orgânica em quatro tipos de solos brasileiros: composição química e sorção da atrazina. **Química Nova**, v. 33, n. 1, p. 14-19, 2010.

ESSER, H. O.; DUPUIS, G.; EBERT, E.; MARCO, G.; VOGEL, C. S-triazines. In: KEARNEY, P.C.; KAUFMAN, D.D. (Ed.). **Herbicides: chemistry, degradation, and mode of action**. New York : M. Dekker, 1975. v. 1, p. 130-208.

GIORI, F. G.; TORNISIELO, V. L.; REGITANO, J. B. The Role of Sugarcane Residues in the Sorption and Leaching of Herbicides in Two Tropical Soils. **Water Air Soil Pollut**, v. 225, n. 4, p. 225:1935, 2014.

GOMES, J.; DICK, D. P.; SOUZA, R. F. Sorção de atrazina em cambissolo do Rio Grande do Sul sob vegetação nativa. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. v. 26, p. 521-528, 2002.

JIANG, Z. P.; LI, Y. R.; WEI, G. P.; LIAO, Q.; SU, T. M.; MENG, Y. C.; ZHANG, H. Y.; LU, C. Y. Effect of long-term vinasse application on physico-chemical properties of sugarcane field soils. **Sugar Tech**, v. 14, n. 4, p. 412–417, 2012.

ALMEIDA-JÚNIOR, A. B.; NASCIMENTO, C. W. A.; SOBRAL, M. F.; SILVA, F. B. V.; GOMES, W. A. Fertilidade do solo e absorção de nutrientes em cana-de-açúcar fertilizada com torta de filtro. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 15, n. 10, p. 1004–1013, 2011.

LEBARON, H. M.; McFARLAND, J. E.; BURNSIDE, O. C. **The triazine herbicides 50 years revolutionizing agriculture**. 5ª ed. San Diego CA, USA. Elsevier 2008. Disponível em: [http://books.google.com.br/books?id=ZD2\\_PRR\\_f1IC&printsec=frontcover&hl=pt-PT#v=onepage&q&f=false](http://books.google.com.br/books?id=ZD2_PRR_f1IC&printsec=frontcover&hl=pt-PT#v=onepage&q&f=false). Acesso em: 08 dez. 2014.

LOURENCETTI, C.; MARCHI, M. R. R.; RIBEIRO, M. L. Influence of sugar cane vinasse on the sorption and degradation of herbicides in soil under controlled conditions. **Journal of Environmental Science and Health, Part B** 47, 949–958, 2012.

MARTINAZZO, R.; DICK, D. P.; HIRSCHI, M. M.; LEITE, S. B.; PERELBA, M. C. R. Sorção da atrazina e de mesotriona em latossolo e estimativa de potencial de contaminação. **Química Nova**, v. 34, n. 8, p. 1378-1384, 2011.

MINHONI, M. T. A.; CERRI, C. C. Decomposição de vinhaça em solo sob diferentes níveis de umidade: liberação de CO<sub>2</sub>, formação de biomassa microbiana e imobilização do nitrogênio adicionado. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 11, p. 25-30, 1987.

MONTGOMERY, J. H. **Agrochemicals, desk reference**. 2 ed. Boca Raton, New York, Lewis Publishers, 1997, 656p.

NAKAGAWA, L. E.; ANDRÉA, M. M. Degradação e formação de resíduos não-extraíveis ou ligados do herbicida atrazina em solo. **Pesquisa agropecuária brasileira, Brasília**, v. 35, n. 8, p. 1509-1515, 2000.

NOGUEIRA, M. A. F. S.; GARCIA, M. S. Gestão dos resíduos do setor industrial sucroenergético: estudo de caso de uma usina no município de Rio Brillhante, Mato Grosso do Sul. **Revista Eletrônica em Gestão, Educação e Tecnologia Ambiental**, v. 17, n. 17, p. 3275-3283, 2013.

OECD: Organisation for Economic and Co-operation and Development. **Guideline for testing of chemicals**: part. 106. S.l., 2000.

OSSOM, E. M.; DLAMINI, F. T. Effects of filter cake on soil mineral nutrients and maize (*Zea mays* L.) agronomy, **Tropical Agriculture**, v. 89, n. 3, p. 141–150, 2012.

PIATV: **Programa interlaboratorial de análise de tecido vegetal**. Disponível em: <http://www.piatv.com.br/>. Acesso em: 10 ago. 2014

PRATA, F. **Biodegradação e adsorção dos herbicidas diuron e ametrina em solos tratados com vinhaça**. Piracicaba, 1998. 76p. Dissertação de Mestrado. Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”- Universidade de São Paulo.

PRATA, F.; LAVORENTI, A. Comportamento de herbicida no solo: Influencia da matéria orgânica. **Revista de Biociência**, v. 6, n. 2, p. 17-22, 2000.

PRATA, F.; LAVORENTI, A.; REGITANO, J. B.; TORNISIELO, V. L. Degradation and sorption of ametryne in two soils with vinasse application. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 36, n. 7, p. 975–981, 2001.

RADEHAUS, PETRA M.; SCHMIDT, STEVEN K. Characterization of a novel *Pseudomonas* sp. that mineralizes high concentrations of pentachlorophenol. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 58, n. 9, p. 2879-2885, 1992.

R DEVELOPMENT CORE TEAM. **R**: a language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2012.

RODELLA, A. A.; SILVA, L. C. F. DA; FILHO, J. O. Effects of filter cake application on sugarcane yields. **Turrialba**, v. 40, n. 3, p. 323-326, 1990.

SANTANA, C. T. C.; SANTI, A.; DALLACORT, R.; SANTOS, M. L.; MENEZES, C. B. Desempenho de cultivares de alface americana em resposta a diferentes doses de torta de filtro. **Revista Ciência Agronômica**, v. 43, n. 1, p. 22–29, 2012.

SANTOS, D. H.; SILVA, M. A.; TIRITAN, C. S.; FOLONI, J. S. S.; ECHER, F. R. Qualidade tecnológica da cana-de-açúcar sob adubação com torta de filtro enriquecida com fosfato solúvel. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 15, n. 5, p. 443-449, 2011.

SANTOS, H. G.; JACOMINE, P. K. T.; ANJOS, L. H. C.; OLIVEIRA, V. A.; OLIVEIRA, V. B.; COELHO, M. R.; LUMBREAS, J. F.; CUNHA, T. J. F. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. 2. ed. Rio de Janeiro: Solos, 2006. 306 p.

SWANSON, K. M. J.; PETRAN, R. L.; HANLIN, J. H. Culture methods for enumeration of microorganisms. **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**, 4th ed. American Public Health Association, Washington, DC, p. 53-62, 2001.

TABATABAI, M. A. (1994). Soil enzymes. In: WEAVER, R. W., Angle JS, Bottomley PS (eds) *Methods of soil analysis, part 2. Microbiological and biochemical properties*. SSSA Book Series n. 5. **Soil Science Society of America**, Madison, Wis., p. 775-833.

VASCONCELOS, R. F. B.; CANTALICE, J. R. B.; SILVA, A. J. N.; OLIVEIRA, V. S.; SILVA, Y. J. A. B. Limites de consistência e propriedades químicas de um Latossolo Amarelo distrocoeso sob aplicação de diferentes resíduos da cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 34, n. 3, p. 639–648, 2010.

WARNNER, U.; FUHR, F.; BURAUDEL, P. Influence of the amendment of corn straw on the degradation behaviour of the fungicide dithianon in soil. **Environmental Pollution**, v. 133 p. 63-70, 2005.

YOU, Q.; SU, T. M.; ZHONG, Y. Effects of vinasse on sugarcane field. **Guangxi Agricultural Sciences**, v. 40, n. 6, p. 677–680, 2009.

ZOLIN, C. A.; PAULINO, J.; BERTONHA, A.; FREITAS, P. S. L.; FOLEGATTI, M. V. Estudo exploratório do uso da vinhaça ao longo do tempo. I. Características do solo. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 15, n. 1, p. 22–28, 2011.

## CAPÍTULO 4 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente trabalho teve por objetivo avaliar a influência de resíduos orgânicos oriundos da cultura da cana-de-açúcar na degradação e sorção de agrotóxicos em solos de Mato Grosso do Sul. Primeiramente, validou-se um método analítico para quantificação simultânea dos resíduos de atrazina, fipronil e seus produtos de degradação (fipronil dessulfenil, fipronil sulfeto, fipronil sulfona) no solo, empregando Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Os resultados foram satisfatórios para a determinação dos resíduos dos agrotóxicos, com recuperações dentro do limite aceitável de 70 a 120% e coeficientes de variação menores que 20%.

Os métodos descritos na literatura geralmente demandam muito tempo de análise, pelas longas etapas de extração e purificação das amostras. O método desenvolvido tem como diferencial a simplicidade nas etapas de extração e não requer purificação. Assim, esse trabalho tem como inovação a apresentação de um método rápido e prático de determinação simultânea dos agrotóxicos atrazina, fipronil, dessulfenil, sulfeto e sulfona em solos. Ambos os agrotóxicos fipronil e atrazina são bastante utilizados nas culturas da cana-de-açúcar, soja e milho. O método proposto poderá auxiliar em futuras pesquisas que tenham por objetivo o estudo do comportamento ambiental ou que demandam a quantificação dos resíduos desses agrotóxicos no solo.

Outro resultado importante apresentado neste trabalho foi como os resíduos orgânicos palha, torta de filtro, cinza e vinhaça influenciaram na degradação e sorção dos agrotóxicos fipronil e atrazina no solo. A adição da vinhaça acelerou o processo de degradação dos agrotóxicos, enquanto a torta de filtro tornou esse processo mais lento. Foi observado uma degradação predominantemente biológica para o fipronil, enquanto a atrazina sofreu uma degradação prioritariamente química. A palha e a torta de filtro aumentaram a sorção do fipronil, enquanto todos os resíduos adicionados aumentaram o potencial de sorção da atrazina.

Com os resultados obtidos neste estudo, o uso da vinhaça mostra-se favorável na degradação dos agrotóxicos. No entanto, uma característica negativa observada foi a utilização da torta de filtro que mostrou um efeito negativo, aumentando a persistência dos agrotóxicos, principalmente do fipronil.

A vinhaça apresentou alto potencial para acelerar a degradação dos agrotóxicos fazendo com que eles permaneçam menos tempo no meio ambiente, evitando a contaminação dos recursos hídricos. No entanto, muitos estudos relatam que a própria

vinhaça pode contaminar águas subterrâneas e superficiais por meio da lixiviação de íons como nitrato e fosfato.

Esse estudo abre portas para o desenvolvimento de outros trabalhos sobre a influência de resíduos orgânicos no comportamento de outros agrotóxicos utilizados na cultura da cana-de-açúcar, pois são muitos os agrotóxicos utilizados nessa cultura que possuem características físico-químicas diferentes e neste trabalho apenas dois agrotóxicos foram estudados.

Nos próximos trabalhos, a metodologia pode ser melhorada como, por exemplo, análises microbiológicas de cada resíduo orgânico e determinação das características físico-químicas do solo após adição dos resíduos.

A estimativa dos valores de meia-vida dos agrotóxicos estudados nas diferentes condições da adição dos resíduos orgânicos pode ser utilizada como dados de entrada nos modelos matemáticos para avaliação da exposição ambiental e/ou estimativas das contaminações ambientais por agrotóxicos nos cenários agrícolas brasileiros, onde esses resíduos são incorporados ao solo.