

PROSPECÇÃO DE AGROTÓXICOS EM SOLO UTILIZANDO CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ULTRA ALTA EFICIÊNCIA ACOPLADA A ESPECTROMETRIA DE MASSAS

Luiz Regis Prado Junior (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Eduardo Jorge Pilau (Orientador), e-mail: ejpilau@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Exatas/Maringá, PR.

Área: Ciências Exatas e da Terra-Química

Palavras-chave: agroquímicos, espectrometria de massas, solo.

Resumo:

O uso de agrotóxicos na agricultura tem aumentado, gerando prejuízos à saúde do solo e comprometendo a produção agrícola que deve garantir a segurança alimentar da população mundial que crescerá 25% nos próximos 30 anos. Assim, neste trabalho buscamos resíduos de 30 agrotóxicos (8 fungicidas, 16 herbicidas e 6 inseticidas) em solo utilizando cromatografia líquida de ultra alta eficiência acoplada a espectrometria de massas (UHPLC-MS/MS). As amostras foram coletadas em uma propriedade rural no noroeste do Paraná, durante a produção de soja, submetidas às extrações e, posteriormente, analisadas em modos de ionização positivo e negativo. Dos agrotóxicos buscados nas amostras foram encontrados resíduos de 23 (77% do total). A partir do processamento dos dados obteve-se a fragmentação da atrazina (herbicida, triazina), do epoxiconazol (fungicida, triazol) e, do imidocloprido (inseticida, neonicotinóide). Esta pesquisa por apresentar caráter exploratório, apresentou satisfatória aplicabilidade da metodologia e técnica aplicadas para a pesquisa de agroquímicos em solo. Porém, ainda há uma lacuna em relação as informações espectrais disponíveis nos bancos de dados para identificação dos compostos da área.

Introdução

Sendo o solo fundamental na produção de alimentos, será um dos responsáveis na busca pela segurança alimentar da população. Com a necessidade de produzir alimentos em menor espaço de tempo cresce o uso excessivo de substâncias que tendem a se depositar no meio ambiente (KALIA; GOSAL, 2011).

O uso indiscriminado de agroquímicos impactam negativamente nas comunidades microbianas do solo, envolvidas com a retenção e reciclagem de nutrientes (CHOWDHURY et al. 2008). Assim, nocivo a saúde do solo e, conseqüentemente, os bons resultados das culturas agrícolas. Neste

trabalho, buscamos resíduos de 30 agrotóxicos (fungicidas, herbicidas e inseticidas) em solo do noroeste do Paraná, utilizando cromatografia líquida de ultra alta eficiência acoplada a espectrometria de massas (UHPLC-MS/MS do inglês, *ultra high performance liquid chromatography tandem Mass Spectrometry*).

Materiais e métodos

Materiais e reagentes

Água (grau MS), ácido fórmico ($\geq 96\%$ pureza) foram obtidos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). Acetonitrila (ACN) e metanol (grau HPLC) foram adquiridos da J.T. Baker (Phillipsburg, NJ, EUA). Filtros de seringa (0,22 μm ; PVDF, 33 mm) foram obtidos da Merck Millipore (Burlington, MA, EUA).

Amostragem e condicionamento

Foram coletadas três amostras de solo em uma propriedade rural localizada no noroeste do Paraná, com cultura de soja. Após, acondicionamento em tubos falcon (50 mL) foram resfriadas em gelo, ainda em campo, para transporte até o Laboratório de Biomoléculas e Espectrometria de Massas (LaBioMass) do Departamento de Química da UEM. As amostras ficaram armazenadas em freezer (-20°C) até o momento da extração.

Preparo da amostra

As amostras de solo foram transferidas para tubos, tipo *ependorf*, e acrescentado em cada uma 1 mL de um dos solventes extratores: água (JENKINS et al., 2017; TFAILY et al., 2015), acetonitrila (TFAILY et al., 2015) e metanol/água (8:2, v/v) (HAYDEN et al., 2019). Cada suspensão foi agitada em vortex, centrifugada e o sobrenadante coletado, sendo o processo de extração realizado por três vezes na mesma alíquota da amostra. Ao final, os sobrenadantes coletados das 3 extrações consecutivas de cada amostra foram reunidos, filtrados em filtro de seringa Millipore® e concentrados em fluxo de nitrogênio. Foram preparados brancos para cada solvente, sendo seguidas todas as etapas da extração, porém sem a presença de amostra.

Análise dos extratos por UHPLC-MS/MS

As análises por UHPLC-MS/MS foram realizadas no Complexo de Centrais de Apoio à Pesquisa (COMCAP) na UEM utilizando um sistema hifenado constituído por UHPLC e um espectrômetro de massas de alta

resolução de geometria Q-TOF, equipado com uma fonte de ionização do tipo *electrospray* em modos de ionização positivo e negativo.

Processamento de dados

Os dados obtidos foram processados *in silico*. Os dados dos espectros de fragmentação dos íons que apresentaram similaridade com as bibliotecas foram confrontados manualmente com os espectros de fragmentação dos agrotóxicos sendo aceito erros de massa até 5 ppm.

Resultados e Discussão

Foram selecionados 30 agrotóxicos incluindo diferentes classes (8 fungicidas, 16 herbicidas e 6 inseticidas) e, entre eles, três (Flufenacet, Acetocloro e Mesosulfuron) são de uso proibido no Paraná. Após busca manual das substâncias em cada amostra em modos de ionização positivo e negativo, visto que não houve identificação por meios dos *softwares*, os compostos que sofreram fragmentação foram descritos na Tabela 1 relacionando cada composto com o erro de massa e tempo de retenção na corrida cromatográfica.

Tabela 1 – Defensivos agrícolas pesquisados nas amostras que sofreram fragmentação.

Agrotóxico	Modo de Ionização	Fórmula Molecular	Massa Teórica	Erro (ppm)	TR (min)
Atrazina	+	$C_8H_{14}ClN_5$	215,0932	3,5	7,57
Epoxiconazol	+	$C_{17}H_{13}ClFN_3O$	329,0726	0,6	9,98
Imidacloprido	+/-	$C_9H_{10}ClN_5O_2$	255,0518	0,3	5,47

TR = Tempo de Retenção; + = positivo; - = negativo; +/- = positivo e negativo; nd = não encontrado.

Assim, foram encontrados resíduos de 23 agrotóxicos, ou seja, 77% do total, nas amostras. Sendo que em modo de ionização positivo foi possível detectar maior número de compostos (73%). Obteve-se a fragmentação apenas de 3 íons, entre os pesquisados, e puderam ter seus espectros de fragmentação comparados em bancos de dados públicos. Destaca-se ainda que nenhum dos compostos foi identificado por meio dos *softwares* comumente utilizados neste tipo de análise, provavelmente, devido à baixa quantidade de informação sobre os espectros de fragmentação nos bancos de dados referentes a estes compostos.

Foram fragmentados os compostos (atrazina, epoxiconazol e imidocloprido) sendo que os três são liberados para uso nas culturas do Paraná pela Secretaria da Agricultura e do Abastecimento (SEAB) que possui como órgão responsável a Agência de Defesa Agropecuária do Paraná (ADAPAR). Estes agrotóxicos apresentam diferentes formulações, assim também variadas classificações toxicológicas e ambientais, segundo o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), por meio do Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários (AGROFIT).

A atrazina (6-chloro-N2-ethyl-N4-isopropyl-1,3,5-triazine-2,4-diamine) é um herbicida do grupo triazina; o epoxiconazol ((2RS,3SR)-1-[3-(2-chlorophenyl)-2,3-epoxy-2-(4-fluorophenyl)propyl]-1H-1,2,4-triazole) é um fungicida do grupo triazol; e, o imidocloprido (1-(6-chloro-3-pyridylmethyl)-N-nitroimidazolidin-2-ylideneamine) é um inseticida do grupo neonicotinóide. Sendo classificados, conforme as formulações, entre as classes toxicológicas das categorias 2 (altamente tóxico) a 5 (improvável de causar dano agudo) e ambientais de I (altamente perigoso ao meio ambiente) a III (perigoso ao meio ambiente).

A baixa quantidade de íons fragmentados, entre os pesquisados, deve-se a metodologia de busca (não-direcionada) realizada durante a análise que poderia ser melhor explorada tornando-a direcionada. Porém, como esta pesquisa teve caráter exploratório, é possível afirmar que o uso da análise por UHPLC-MS/MS para investigar resíduos de agrotóxicos no solo foi satisfatório mesmo que, notavelmente, há escassez de informações espectrais no banco de dados disponíveis para compostos desta área.

Conclusões

Nesta pesquisa foram encontrados resíduos de 23 agrotóxicos em amostras de solo do noroeste do Paraná atestando que a análise por UHPLC-MS/MS e a metodologia de extração para este tipo de busca foi satisfatória.

Agradecimentos

CNPq, Fundação Araucária, COMCAP - UEM

Referências

CHOWDHURY, A.; PRADHAN, S.; SAHA, M.; SANYAL, N. Impact of pesticides on soil microbiological parameters and possible bioremediation strategies. **Indian Journal of microbiology**, v. 48, n. 1, p. 114-127, 2008.

HAYDEN, H. L.; ROCHFORT, S.J.; EZERNIEKS, V.; SAVIN, K. W.; MELE, P. M. Metabolomics approaches for the discrimination of disease suppressive soils for *Rhizoctonia solani* AG8 in cereal crops using ¹H NMR and LC-MS. **Science of The Total Environment**, v. 651, p. 1627-1638, 2019.

JENKINS, S.; SWENSON, T. L.; LAU, R.; ROCHA, A. M.; AARING, A.; HAZEN, T. C.; CHAKRABORTY, R.; NORTHEN, T. R. Construction of viable soil defined media using quantitative metabolomics analysis of soil metabolites. **Frontiers in microbiology**, v. 8, p. 2618, 2017.

KALIA, A.; GOSAL, S. K. Effect of pesticide application on soil microorganisms. **Archives of Agronomy and Soil Science**, v. 57, n. 6, p. 569-596, 2011.

TFAILY, M. M.; CHU, R. K.; TOLIĆ, N.; ROSCIOLI, K.M.; ANDERTON, C.R.; PAŠA-TOLIĆ, L.; ROBINSON, E. W.; HESS, N. J. Advanced solvent based methods for molecular characterization of soil organic matter by high-resolution mass spectrometry. **Analytical chemistry**, v. 87, n. 10, p. 5206-5215, 2015.