



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO
CAMPUS CARAÚBAS
CURSO CIÊNCIA E TECNOLOGIA

ANA GABRIELLA DUARTE DE ARAÚJO

**TEMPO DE RETENÇÃO DO AMETRYN EM FUNÇÃO DO pH
DA FASE MÓVEL EM HPLC**

CARAÚBAS-RN
2015

ANA GABRIELLA DUARTE DE ARAÚJO

**TEMPO DE RETENÇÃO DO AMETRYN EM FUNÇÃO DO pH
DA FASE MÓVEL EM HPLC**

Monografia apresentada a Universidade Federal Rural do
Semi-Árido – UFERSA, Campus Caraúbas para a obtenção
do título de Bacharel em Ciência e Tecnologia.

Orientadora: Prof.^a Dra. Daniely Formiga Braga –
UFERSA.

CARAÚBAS-RN
2015

A663t Araújo, Ana Gabriella Duarte de.

Tempo de retenção do ametryn em função do ph da fase móvel em
hplc / Ana Gabriella Duarte de Araújo -- Caraúbas, 2015.
22f.: il.

Orientador: Prof.^a Dra. Daniely Formiga Braga.

Monografia (Graduação em Ciência e Tecnologia) – Universidade
Federal Rural do Semi-Árido.

1. Cromatografia líquida. 2. Acetonitrila. 3. Redução de custos.
I. Título.

RN/UFERSA/BSCA

CDD: 543.84

Bibliotecário: Dalvanira Brito Rodrigues
CRB-15/700

ANA GABRIELLA DUARTE DE ARAÚJO

TEMPO DE RETENÇÃO DO AMETRYN EM FUNÇÃO DO pH DA FASE MÓVEL EM HPLC

Monografia apresentada à Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, Campus Caraúbas para a obtenção do título de Bacharel em Ciência e Tecnologia.

APROVADA EM: 07 / 12 / 2015

BANCA EXAMINADORA

[REDACTED]

Dra. Daniely Formiga Braga - UFERSA
Presidente

[REDACTED]

Paulo Sergio Fernandes Das Chagas
Primeiro Membro

[REDACTED]

Dr. Welder de Araújo Rangel Lopes
Segundo Membro

[REDACTED]

Dra. Guymmann Clay da Silva
Terceiro Membro

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Edgar e Ana pelo amor, dedicação e apoio, em especial a minha mãe, pelo incentivo nos estudos desde cedo e por cada palavra de força e encorajamento durante toda a graduação. Ao meu esposo Max, pela paciência e companheirismo, por sempre estar presente nos momentos precisos da minha vida, sempre acreditando muito em mim, até mais do que eu.

Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

Quero agradecer, em primeiro lugar, a Deus, pela força e coragem durante toda esta 1ª etapa da minha graduação.

À UFRSA pela oportunidade de estar concluindo um curso superior.

A toda minha família, por acreditar em mim e pelas palavras de incentivo e carinho que sempre recebi, principalmente aos meus amados pais (Ana e Edgar) e ao meu marido (Max), pelo amor, companheirismo, paciência e por estar sempre disponível para me ajudar em tudo.

Aos amigos e colegas de turma, pelo incentivo, pelo apoio constante, pelas alegrias e tristezas compartilhadas.

A minha orientadora Daniely Formiga, por estar sempre disposta a me ajudar e tirar todas as minhas dúvidas.

A Paulo Sérgio e a Welder Lopes pela ajuda recebida na execução deste trabalho.

Dê-me, Senhor, o conhecimento para seguir Seus ensinamentos, com a promessa de guardá-los com o maior respeito. Dê-me instrução para que eu observe Sua Lei e, com amor, faça com que eu guarde Seus ensinamentos em meu coração.

(Salmo 118: 33-34)

RESUMO

Com o intuito de minimizar o uso de Acetonitrila visando diminuir os problemas ambientais e os custos para aquisição deste solvente em HPLC, realizou-se um experimento com o objetivo de avaliar o tempo de retenção do ametryn em função do pH da fase móvel. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizando, em esquema fatorial 4 x 5, com três repetições, sendo o primeiro fator composto pelas proporções das fases móveis (soluções tamponadas : acetonitrila): 55:45; 60:40; 65:35 e 70:30 (v/v) , e o segundo fator, composto pelo pH da fase móvel: 3,0; 3,5; 4,0; 4,5 e 5,0. As soluções tampões de ácido acético e acetato de sódio foram preparadas na concentração de 0,1 m/L. Na determinação quantitativa do Ametryn e avaliação do tempo de retenção foi utilizado um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência, modelo Varian ProStar 325, detector UV-Vis, coluna de aço inox (Varian Microsorb 100 -3 C18, 100 mm x 4,6 mm d.i.). Para preparo da amostra foi utilizando um padrão analítico do Ametryn (98,5% de pureza) na concentração de 50 ppm. Os resultados indicam que o aumento na proporção de acetonitrila promoveu decréscimo no tempo de retenção do ametryn, independente do pH da fase móvel; menor tempo de retenção (2,89 min) foi obtido na proporção de 55:45 (v/v) de solução tamponada em pH 3,0 e acetonitrila e com o aumento do pH da fase móvel, houve aumento do tempo de retenção com máximos de 11,06, 7,17, 5,08 e 3,82 minutos, utilizando-se as proporções de 30,45,40 e 45% de acetonitrila, respectivamente.

Palavras-chave: Cromatografia líquida; Acetonitrila; Herbicida.

ABSTRACT

In order to minimize the use of acetonitrile in order to decrease environmental problems and costs for the acquisition of this solvent in HPLC, there was an experiment with the objective of evaluating the ametryn retention time depending on the pH of the mobile phase. We used the design entirely casualizando in a factorial 4 x 5 with three replications, the first factor composed of the proportions of mobile phases (buffered solutions: acetonitrile): 55:45; 60:40; 65:35 and 70:30 (v / v) and the second factor consisting of the pH of the mobile phase: 3.0; 3.5; 4.0; 4.5 and 5.0. The buffer solutions of acetic acid and sodium acetate were prepared at a concentration of 0.1 m / l. In the quantitative determination of ametryn and retention time evaluation we used a liquid chromatography system of high efficiency, model Varian ProStar 325 UV-Vis detector, stainless steel column (Varian Microsorb 100 C18 -3, 4.6 x 100 mm mm id). To prepare the sample using an analytical standard ametryn (98.5% purity) at a concentration of 50 ppm. The results indicate that increasing the proportion of acetonitrile promoted ametryn decrease in retention time, regardless of the pH of the mobile phase; lower retention time (2.89 min) was obtained at a ratio of 55:45 (v / v) buffered solution at pH 3.0 and acetonitrile and increasing the pH of the mobile phase was increased retention time of Maximum 11.06, 7.17, 5.08 and 3.82 minutes, using the proportions of 30, 45, 40 and 45% acetonitrile respectively.

Keywords: Liquid chromatography. Acetonitrile. Herbicide.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Tempo de retenção para cada pH de solução tampão em função da proporção de acetonitrila.....	16
Figura 2: Tempo de retenção para cada proporção de acetonitrila em função do pH da fase móvel.....	18

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Resumo da análise de variância do tempo de retenção de ametryn em função do pH da fase móvel e proporção de acetonitrila.....	16
---	----

LISTA DE SIGLAS

ACN	Acetonitrila
ACN:H ₂ O	Acetonitrila:água
BHL	Balancos hidrofílico-lipofílico
CLAE	Cromatografia Líquida De Alta Eficiência
CLC	Cromatografia Líquida Clássica
CLAE-FR	Cromatografia em fase líquida de alta eficiência em fase reversa
HPLC	High performance liquid chromatography
MeOH:H ₂ O	Metanol:água
mL	Mililitro
mm	Milímetro
MS	Detector espectrômetro de massas
nm	Nanômetro
ppm	Partes por milhão
pH	Potencial Hidrogeniônico
UV-Vis	Espectroscopia no ultravioleta visível
μL	Microlitro

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO	11
2. REFERENCIAL TEÓRICO	12
2.1 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA	12
2.2 AMETRYN.....	13
2.3 FASE MÓVEL	14
3. METODOLOGIA	15
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
5. CONCLUSÕES	19
REFERÊNCIAS.....	20

1.INTRODUÇÃO

A cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) ou high performance liquid chromatography (HPLC) é uma técnica de separação com finalidade qualitativa e quantitativa que apresenta boa sensibilidade e permite a separação de substâncias químicas e farmacêuticas, muito utilizada na indústria farmacêutica, laboratórios de pesquisa e em outros campos da ciência como na medicina e em análises ambientais (JIN et al., 2008).

Tal metodologia fundamenta-se na migração diferencial dos componentes de uma mistura, o que ocorre devido a diferentes interações entre duas fases imiscíveis, sendo uma fase fixa que tem uma grande área superficial, chamada fase estacionária, e a outra um fluido que se move através da fase estacionária, sendo chamada de fase móvel (LANÇAS, 1993; DEGANI; CASS; VIEIRA, 1998). De acordo com Tonhi et al. (2002), os sistemas de cromatografia em fase líquida de alta eficiência em fase reversa (CLAE-FR) consistem de uma fase estacionária de menor polaridade e uma fase móvel de maior polaridade.

A CLAE-FR é o modo mais empregado, sendo a fase móvel mais popular nesta modalidade de HPLC, uma mistura de acetonitrila e água, em diversas proporções, com ajuste da força cromatográfica e seletividade da fase móvel até se obter resolução suficiente para que ocorra a separação de todos os picos cromatográficos no mínimo tempo de análise (PETROVIC et al., 2005; HERNANDEZ et al., 2007).

De acordo com Lanças (2009), a partir de outubro de 2008 houve uma diminuição drástica da oferta de acetonitrila em todo o mundo, acompanhada de um aumento brutal em seu custo. Esse autor afirma que existem registros de aumentos de até 10 vezes no preço da acetonitrila.

Para reduzir o uso de acetonitrila existem varias alternativas (LANÇAS, 2009). Uma delas seria diminuir o tempo de retenção através da alteração do pH da fase móvel, especialmente se os compostos de interesse tiverem caráter ácido ou básico e fase reversa estiver sendo utilizada. O tempo de retenção pode ser definido como o tempo que o componente em análise é inserido no aparelho até a saída do ponto máximo no pico do cromatograma.

Os produtos químicos são amplamente utilizados na sociedade moderna, sendo produzidos mundialmente em larga escala para as mais variadas aplicações (KUSTER et al., 2009). No sistema agrícola, o controle de plantas daninhas esta sendo cada vez mais eficaz devido ao uso de herbicidas. Cada herbicida possui um conjunto de propriedades que

interferem no destino que essas moléculas terão no ambiente (MCDONALD et al., 1999). O ametryn é um herbicida de destaque no Brasil, muito utilizado nas culturas de cana de açúcar, banana, café e outras (PROCÓPIO et al., 2003).

Alguns trabalhos foram realizados com o Ametryn por meio de cromatografia líquida (SILVA et al., 2012; ANDRADE et al., 2010). Verificou-se que o tempo de retenção para a maioria desses trabalhos, são altos, em torno de 8 minutos, acarretando em um grande consumo de acetonitrila.

Diante da ausência de informações sobre estudos envolvendo economia de acetonitrila para análises cromatográficas com o ametryn e no intuito de diminuir o uso exagerado de acetonitrila, visando a economia deste reagente, através da alteração do pH das soluções utilizadas em cromatografia, objetivou-se com esse trabalho avaliar o tempo de retenção para o ametryn em função do pH da fase móvel.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA

Segundo Lanças et al. (1993), a cromatografia líquida apresenta a seguinte subdivisão quando classificada pela fase móvel empregada: a cromatografia líquida clássica (CLC) e a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

A cromatografia líquida clássica é muito utilizada para isolamento de produtos naturais e purificação de produtos de reações químicas. As fases estacionárias mais utilizadas são sílica e alumina, entretanto estes adsorventes podem servir simplesmente como suporte para uma fase estacionária líquida. Fases estacionárias sólidas levam à separação por adsorção e fases estacionárias líquidas por partição (LANÇAS, 1993; DEGANI; CASS; VIEIRA, 1998).

A cromatografia líquida de alta eficiência é um aperfeiçoamento da cromatografia líquida clássica, visto que, a mesma não tinha a capacidade de separar componentes similares de uma mistura, como os corantes polares, isômeros, drogas básicas e seus metabólitos. Além de possuir a vantagem de separar e quantificar um considerável número de amostras em um tempo curto com alta resolução, eficiência e sensibilidade. Sua eficiência se deve a utilização de suportes com partículas minúsculas. Na cromatografia líquida de alta eficiência a coluna é fechada, podendo ser utilizada inúmeras vezes; as colunas utilizadas são bastante eficientes, mas oferecem resistência à vazão da fase móvel necessitando aplicação de sistemas de bombas de alta pressão, isso faz com que a velocidade da eluição aumente. As análises são

mais precisas, pois a vazão da fase móvel é facilmente controlada. A injeção é feita com microseringas ou através de válvulas de injeção e diversos tipos de detectores podem ser utilizados. Este método não necessita tanta experiência do operador; tem alta resolução, sensibilidade e reprodutibilidade, mas dispõe de equipamentos caros e de alto custo de manutenção e operação (COLLINS; GUIMARÃES, 1997; CECCHI, 2003).

A separação da mistura se dá através da fase móvel, um fluido que é bombeado carregando os diversos componentes da amostra através da coluna, onde está a fase estacionária (sólido). Após a introdução da amostra no sistema cromatográfico, os componentes da amostra se distribuem entre as duas fases de acordo com suas afinidades, ou seja, aos que possuem maior afinidade com a fase estacionária movem-se mais lentamente do que os que possuem afinidade pela fase móvel. Ao chegar ao final da coluna os componentes passam pelo detector que emite um sinal ao sistema, criando o cromatograma (ARGENTON, 2010).

A fase móvel não pode ter qualquer interação química com a amostra, deve possuir alto grau de pureza, não conter partículas, pois danificam os equipamentos como: bomba, injetor e coluna, ou seja, é recomendado que se faça uma filtração na fase móvel antes de inseri-la no reservatório, além disso deve ser degaseificada para impedir o surgimento de bolhas, pois as mesmas podem interferir no resultado da análise (ARGENTON, 2010).

Os detectores mais usados na CLAE são os fotométricos, baseados na absorbância no ultravioleta e no visível, sendo também empregados detectores de fluorescência, de índice de refração, e eletroquímicos, entre outros. A fase móvel deve ser compatível com o detector empregado e, também possuir polaridade adequada para permitir uma separação conveniente dos componentes da amostra. Embora existam vários solventes três deles são mais utilizados: água, metanol e acetonitrila (REIS, 2012).

2.2 AMETRYN

O uso de defensivos agrícolas tem proporcionado, juntamente com os demais avanços tecnológicos, incrementos produtivos e redução nas perdas ocasionadas por pragas, doenças e plantas daninhas (VIVIAN et al., 2006). Devido ao seu uso intensivo, os herbicidas são frequentemente detectados em estudos de qualidade de águas superficiais e subterrâneas (CARTER, 2000; TANABE et al., 2001).

O ametryn {N-etil-N`-1(metiletil)-6-(metiltio)-1,3,5-triazina-2,4-diamina} herbicida de destaque no Brasil, pertence ao grupo das Triazinas com caráter básico no solo, atua na

inibição do fotossistema II e é facilmente absorvido por raízes e folhas (VELINI et al., 2000). É medianamente lixiviável nos solos arenosos (RODRIGUES; ALMEIDA, 2005).

É muito utilizado em misturas com os herbicidas diuron, tebuthiuron, atrazine, trifoxysulfuron-sodium, 2,4-D, etc; principalmente quando recomendado para de cultura da cana-de-açúcar (PROCÓPIO et al., 2003). Devido ao grande uso do ametryn na cultura de cana-de-açúcar no Brasil, em solos com diferentes características físicas e químicas, sem conhecimento de suas interações com esses tipos de solo, têm-se observado sérios problemas de controle ineficiente das plantas daninhas, intoxicação de culturas e contaminação de águas superficiais e subterrâneas (OLIVEIRA & FREITAS, 2009; CARVALHO et al., 2010).

Alguns trabalhos realizados com o ametryn usam a técnica de cromatografia para quantificar seus resultados. Segundo Costa (2001), foi possível avaliar qualitativa e quantitativamente os efeitos da interação de umectantes, com distintos balanços hidrofílico-lipofílico (BHL) na lixiviação de ametryn aplicado sobre palha de cana-de-açúcar, em diferentes simulações de chuva, pelo método de cromatografia líquida de alta eficiência.

2.3 FASE MÓVEL

Para que um solvente possa ser utilizado como fase móvel na HPLC este deve apresentar alto grau de pureza ou ser de fácil purificação; deve dissolver a fase móvel sem decompor seus componentes, para que estes sejam transportados pela coluna sem que haja modificação; não deve dissolver a fase estacionária; deve ser compatível com o detector; não ser tóxico e deve ter baixa viscosidade, pois isso irá interferir diretamente na eficiência da separação, devido ao fato de solventes viscosos além de dificultarem a transferência de massa entre a fase móvel e a fase estacionária, também influenciarem na intensidade da vazão (COLLINS; GUIMARÃES, 1997).

Uma fase móvel adequada é indispensável para a HPLC, por isso é necessário examinar fatores que determinam sua escolha, como a polaridade desta, que determina seu poder de eluição juntamente com a polaridade da fase estacionária e com a natureza dos componentes da amostra. Se a separação for com fase normal, o poder de eluição aumenta com o aumento da polaridade, se a separação for em fase reversa, o poder de eluição diminui com o aumento da polaridade. Outros fatores que também devem ser considerados são o ponto de ebulição, a viscosidade, a compatibilidade com o detector e a toxidez (VOGEL, 2002).

As fases móveis utilizadas na RP-HPLC são misturas de metanol: água (MeOH:H₂O)

ou acetonitrila: água (ACN:H₂O) com ajuste da força cromatográfica e seletividade da fase móvel até se obter resolução suficiente para que ocorra a separação de todos os picos cromatográficos no mínimo tempo de análise. A adição de modificadores, como ácido fórmico, acetato de amônio, amônia, etc., é realizada com o objetivo de favorecer o processo de ionização dos analitos através do ajuste de pH do meio, melhorando suas interações com a fase móvel e a fase estacionária. O controle do pH do meio também pode ser realizado através do uso de fases móveis tamponadas. Quando se utiliza o detector espectrômetro de massas (MS) e o processo de ionização por eletronebulização (ESI, electrospray-ionization) também se podem utilizar modificadores, com o objetivo de favorecer o processo de ionização dos analitos (PETROVIC et al., 2005; HERNANDEZ et al., 2007).

3. METODOLOGIA

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Plantas Daninhas da Universidade Federal Rural do Semi-Árido.

Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizando, em esquema fatorial 4 x 5, com três repetições, sendo o primeiro fator composto pelas proporções das fases móveis (soluções tamponadas: acetonitrila): 55:45; 60:40; 65:35 e 70:30 (v/v), e o segundo fator, composto pelo pH da fase móvel: 3,0; 3,5; 4,0; 4,5 e 5,0. As soluções tampões de ácido acético e acetato de sódio foram preparadas na concentração de 0,1 m/L.

Na determinação quantitativa do Ametryn e avaliação do tempo de retenção foi utilizado um sistema de cromatografia líquida de alta eficiência, modelo Varian ProStar 325, detector UV-Vis, coluna de aço inox (Varian Microsorb 100 -3 C18, 100 mm x 4,6 mm d.i.). Em todas as amostras o fluxo de 1,0 mL min⁻¹; volume de injeção de 20 µL; comprimento de onda de 345 nm.

Para preparo da amostra foi utilizando um padrão analítico do Ametryn (98,5% de pureza) na concentração de 50 ppm.

Os dados foram submetidos à análise de variância utilizando-se o software SISVAR V.5.3. (FERREIRA, 2008) e de regressão, obedecendo-se o nível de significância de 5% de probabilidade pelo teste t por meio do software Table Curve 2D V.5.01 (JANDEL SCIENTIFIC, 1991).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verificou-se efeito significativo para a interação “proporção de acetonitrila X pH da solução tampão” para o tempo de retenção do ametryn (Tabela 1).

Tabela 1. Resumo da análise de variância do tempo de retenção de ametryn em função do pH da fase móvel e proporção de acetonitrila

F. V.	Tempo de retenção (Quadrado Médio)
Proporção de acetonitrila (P.A.)	81,473091**
pH da fase móvel (pH)	20,509840**
P.A x pH	3,195902**
Erro	0,007583
CV (%)	1,52

** Significativo a 1% de probabilidade. *Significativo a 5% de probabilidade. ^{n.s} Não significativo.

Para o pH 3,0 a medida que aumentou-se a concentração de acetonitrila, o tempo de retenção diminuiu. Com percentual de 30% de acetonitrila o tempo de retenção registrado foi de aproximadamente 4,57 min já com o percentual de 45% de acetonitrila esse tempo caiu para aproximadamente 2,89 min, ou seja, à medida que aumentou a proporção de acetonitrila, o tempo de retenção diminuiu (Figura 1).

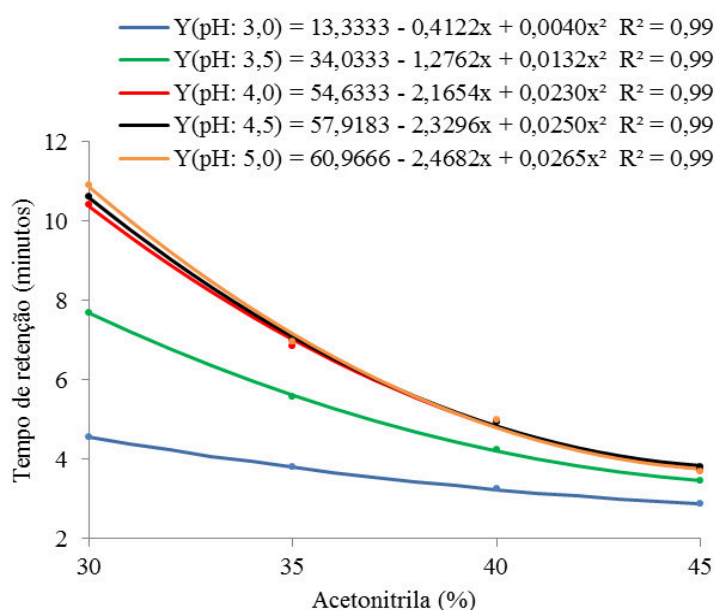


Figura 1: Tempo de retenção para cada PH de solução tampão em função da proporção de acetonitrila.

O mesmo ocorreu para o pH 3,5. Com percentual de 30% de acetonitrila o tempo de retenção registrado foi de aproximadamente 7,63 min, já com 45% de acetonitrila esse tempo caiu para aproximadamente 3,33 min (Figura 1).

Para as soluções com pHs 4,0, 4,5 e 5,0 também ocorreram comportamentos semelhantes, sendo que os tempos de retenção foram superiores em relação aos de pH mais baixos. Com percentual de 30% de acetonitrila os tempos de retenção registrados foram de aproximadamente 10,37, 10,53 e 10,77 min, respectivamente, e com percentual de 45% de acetonitrila esses tempos caíram para aproximadamente 3,76, 3,71 e 3,56 min, respectivamente (Figura 1).

Independentemente da proporção de acetonitrila e solução tampão, os menores tempos de retenção foram para o pH 3,0. O ajuste do pH com solução tampão é necessário para a separação reprodutível de compostos ionizáveis por CLAE de fase reserva. O pH da fase móvel na cromatografia com fase reserva usualmente está entre 2,0 e 7,5 (MALDANER et.,2009).

Comparando esses resultados, podemos observar que os pHs mais baixos e com menor teor de acetonitrila evidenciaram uma diferença significativa de tempo de retenção, enquanto os demais tiveram um valor muito aproximado, ou seja, isso pode ser explicado pela variação da polaridade. Quanto mais polar a fase móvel, maior é o tempo de retenção, visto que, o ametryn tem mais afinidade pela acetonitrila (menos polar em relação à água).

Na cromatografia líquida, o analito retém-se na coluna de forma mais eficiente quando tem a mesma polaridade que a fase estacionária, ou seja, para uma fase apolar, quanto mais apolar é a substância, mais forte é a interação dela com a fase estacionária, portanto, maior é o tempo de retenção. Sendo assim, para que esta substância em estudo mova-se pela coluna, precisamos usar um solvente (fase móvel) que tenha a mesma polaridade da substância em estudo. Dessa forma, o analito vai ter afinidade pela fase móvel, onde é arrastado mais rapidamente para fora da coluna.

Avaliando os efeitos do pH da solução tampão em cada proporção de acetonitrila, podemos verificar o tempo de retenção de forma inversa (Figura 2).

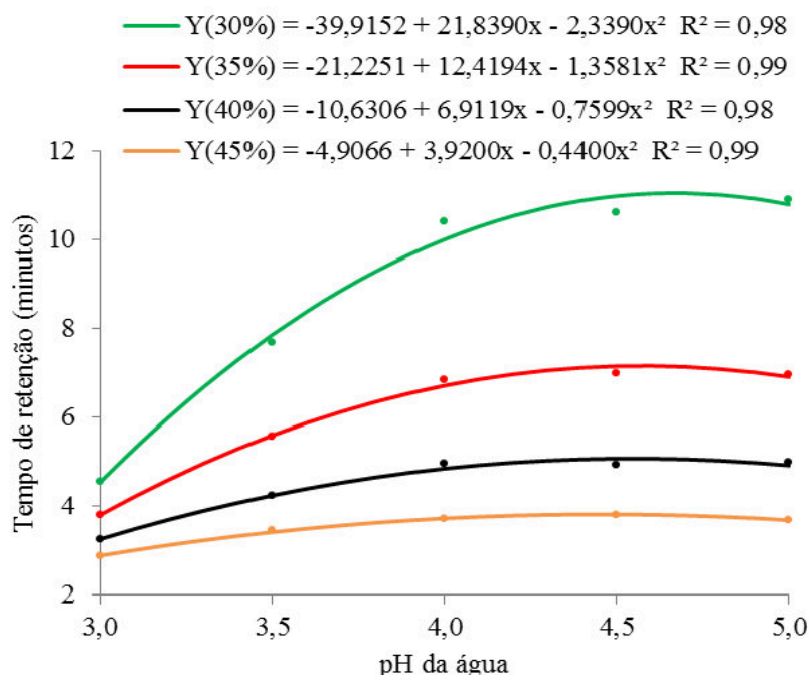


Figura 2: Tempo de retenção para cada proporção de acetonitrila em função do pH da fase móvel.

Para todas as proporções de solução tampão e acetonitrila o comportamento foi semelhante. À medida que aumentou o pH da solução tamponada, o tempo de retenção também aumentou. A 30% de acetonitrila e com pH 3,0 o tempo de retenção registrado foi de aproximadamente 4,55 min e com pH 5,0 esse tempo aumentou para aproximadamente 10,80 min (Figura 2).

Quando se utiliza volumes menores, o tempo gasto nas análises também é menor. Além disso, o manuseio de pequenas quantidades de reagentes agressivos e solventes voláteis torna o laboratório menos insalubre do que quando se trabalha com os grandes volumes observados nos procedimentos convencionais (Jardim, 1998).

Os usuários de ACN, como fase móvel na cromatografia, devem ficar atentos para o fato de o custo estar se elevando e a disponibilidade desse solvente estar diminuindo, devendo buscar como alternativa a utilização de outros solventes ou o desenvolvimento de metodologias que otimizem/minimizem o seu uso (Lanças, 2009).

5. CONCLUSÕES

O aumento na proporção de acetonitrila promoveu decréscimo no tempo de retenção do ametryn, independente do pH da fase móvel.

O menor tempo de retenção (2,89 min) foi obtido na proporção de 55:45 (v/v) de solução tamponada em pH 3,0 e acetonitrila.

Com o aumento do pH da fase móvel, houve aumento do tempo de retenção com máximos de 11,06, 7,17, 5,08 e 3,82 minutos, utilizando-se as proporções de 30,45,40 e 45% de acetonitrila, respectivamente.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, S.R.B. et al. **Sorção e dessorção do ametryn em Argissolo Vermelho Amarelo e Latossolo Vermelho-Amarelo com diferentes valores de pH.** Planta Daninha, v. 28, n.1, Viçosa, 2010.
- ARGENTON, A. **Conceitos fundamentais de Cromatografia a líquido de Alto Desempenho (HPLC).** Minicursos 2010. Disponível em: <http://www.crq4.org.br/sms/files/file/conceitos_hplc_2010.pdf>. Acesso em: 02 Jun. 2015.
- CARTER, A. D. **Herbicide movement in soils: principles, pathways and processes.** Weed Res., v. 40, n. 1, p. 113-122, 2000.
- CARVALHO, F. T. et al. **Controle de dez espécies daninhas em cana-de-açúcar com o herbicida mesotrione em mistura com ametryn e metribuzin.** Planta Daninha, v. 28, n.3, p. 585-590, 2010.
- CECCHI, Heloisa Máscia. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos.** 2ª ed. rev. Campinas: Editora da Unicamp, 2003, 207p.
- COLLINS, Carol H. Princípios básicos de cromatografia. In: **Introdução a métodos cromatográficos.** 7 ed. Campinas: Editora da UNICAMP, 1997. p.11-27.
- COSTA, Eduardo Antonio Drolhe da. **Efeito de adjuvantes na dinâmica de ametryn em palha de cana-de-açúcar.** 2001. ix, 81 f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agronômicas, 2001. Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/105457>>
- DEGANI, A. L. G.; CASS, Q. B.; VIEIRA, P. C. **Cromatografia: um breve ensaio.** Atualidades em Química, n.7, p.21-25, mai.1998.
- FERREIRA, D.F. **SISVAR: um programa para análises e ensino de estatística.** Revista Symposium. v. 6 ,p. 36-41,2008.

GUIMARÃES, Luís Fernando Lopes; COLLINS, Carol H. Cromatografia líquida de alta eficiência. In: **Introdução a métodos cromatográficos**. 7ª ed. Campinas: Editora da UNICAMP, 1997. p.183-238

HERNANDEZ, F.; SANCHO, J. V.; GUERRERO, M. I. C.; *Trends Anal. Chem.* 2007, 26, 466.

JANDEL SCIENTIFIC, Table Curve: curve fitting software. Corte Madera, C.A: 280 p. 1991.

JARDIM, W.F. **Gerenciamento de resíduos químicos em laboratórios de ensino e pesquisa**. *Quim. Nova*, 21: 671 - 673, 1998.

JIN Y, XUAN X, SHI H, XIAO Y, ZHANG F, LIANG X. **HPLC and UPLC switch for TCM analysis. Mode**. *Tradit. Chin. Med. Mater. Med.*, 10(1): 80 - 84, 2008.

KUSTER, M.; AZEVEDO, D. A.; DE ALDA, M.J.L.; AQUINO NETO, F.R.; BARCELÓ, D.; *Environ. Int.* 2009, 35, 997.

LANÇAS, Fernando M. **Como economizar (ou eliminar o uso de) acetonitrila em tempos de “crise”?**. *Scientia Chromatographica*. São Carlos (SP), v. 1, n. 1, p.51-60, 2009.

LANÇAS, Fernando M. **Cromatografia em fase gasosa**. São Carlos: Acta, 1993. 254p.

MALDANER, L.; JARDIM, I. C. S. F. **O estado da arte da cromatografia líquida de ultra eficiência**. *Química Nova*. v. 32, n. 32, p. 214-222, 2009.

McDONALD, L. **Pesticide mobility on a hillside soil in St. Lucia**. *Agric. Ecosyst. Environ*, v. 72, n. p. 181-188, 1999.

OLIVEIRA, A. R.; FREITAS S. P. **Palha de cana-de-açúcar associada ao herbicida trifloxysulfuron sodium + ametryn no controle de *Rottboellia exaltata***. *Bragantia*, v. 68, n. 1, p. 187-194, 2009.

PETROVIC, M.; CRUZ, H. M. S.; BARCELÓ, D.; *J. Chromatogr., A* 2005, 1067, 1.

PROCÓPIO, S. O. et al. **Manejo de plantas daninhas na cultura da cana-de açúcar**. Viçosa: Editora UFV, 2003. 150 p.

REIS, F. **Cromatografia líquida de alta eficiência. HPLC.** 2009. Disponível em: <<http://pfarma.com.br/farmaceutico-industrial/130-cromatografia-liquida-de-alta-eficiencia-.html>> Acesso em: 03 Jun. 2015.

RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. **Guia de Herbicidas.** 5. ed. Londrina, PR: 2005.

SILVA, L.O.C. et al. **Mobilidade do ametryn em latossolos brasileiros.** Planta Daninha, Viçosa, v. 30, n. 4, p. 883-890, 2012.

TANABE, A. et al. **Seasonal and special studies on pesticides residues in surface eaters of the Shinano river in Japan.** J. Agric. Food Chem., v. 49, n. 7, p. 3847-3852, 2001.

TONHI E, COLLINS KE, JARDIM ICSF, COLLINS CH. **Fases estacionárias para cromatografia líquida de alta eficiência em fase reversa, (CLAE-RF) baseada em superfície de óxidos inorgânicos funcionalizados.** Quim. Nova, 25: 616 -623, 2002.

VELINI, E. D.; et al. **Avaliação da seletividade da mistura de oxyfluorfen e ametryn, aplicada em pré e pós-emergência, a dez variedades de cana-de-açúcar (cana planta).** Planta Daninha, v. 18, n. 2, p. 123-134, 2000.

VIVIAN, R. et al. **Persistência de sulfentrazone em Argissolo Vermelho-Amarelo cultivado com cana-de-açúcar.** Planta daninha, v. 24, p.741-750, 2006.

VOGEL, Arthur. **Análise Química Quantitativa.** 6ª ed. Rio de Janeiro: LTC-Livros Técnicos e Científicos Editora S.A, 2002. 462p.