UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

INSTITUTO DE QUÍMICA

PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

ESTUDO DE DIFERENTES MÉTODOS DE EXTRAÇÃO POR ULTRA-SOM DE PESTICIDAS EM LATOSSOLO UTILIZANDO TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Mestranda - MARISA MARIA ADAMS

Orientadora – Dra. Tânia Mara Pizzolato

Co-orientadora – Dra. Maria do Carmo Ruaro Peralba

Porto Alegre, Outubro de 2002.

AGRADECIMENTOS

À Professora Dr[a]. Tânia Mara Pizzolato pela orientação neste trabalho, pelo constante aprendizado, pela oportunidade, incentivo, paciência, atenção e amizade.

À Professora Dr[a] Maria do Carmo Peralba, por sua colaboração na co-orientação deste trabalho, por sua dedicada habilidade de ensinar e pela amizade.

Ao Prof. Dr. Renato Zanella e ao Prof. Dr.Marçal José Rodrigues Pires, pela participação no exame de qualificação e como banca examinadora, pelas suas valiosas sugestões.

À Professora Dr[a] Débora Pinheiro Dick pela participação como banca examinadora da dissertação.

A todos os professores que contribuíram para a minha formação e para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos colegas dos laboratórios E-206 A, D-110 e CA-110, pela convivência, amizade e cooperação; especialmente à amiga Ana Maria Geller pela sua capacidade em compartilhar o conhecimento.

Aos funcionários do Instituto de Química da UFRGS.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul pela oportunidade oferecida para a realização do curso de mestrado e desenvolvimento deste trabalho.

À SEC do Rio grande do Sul pela licença Qualificação Profissional.

Especialmente e com muito carinho, ao meu esposo Ilmo, aos meus filhos Heron e Jáder, pelo apoio, incentivo e compreensão em todos os momentos.

A todos os meus familiares, especialmente minha mãe e meus irmãos.

A todos os meus amigos a amigas, especialmente à Vanessa Ely, que com simplicidade e carinho, facilitaram a trajetória.

A Deus, por todas estas pessoas existirem; e pela minha vida.

A cada um, individual ou coletivamente,

Muito Obrigada!!!

RESUMO

Amostras de solo (latossolo vermelho destroférrico) coletadas em três pontos distintos, no município de Caibaté (Região das Missões, RS), na profundidade de aproximadamente 10 cm (da superfície do solo), em diferentes estações do ano e com diferentes tipos de manejo de solo (*plantio convencional*; *plantio direto* e *cultivo mínimo*), foram analisadas com o intuito de verificar a presença e a persistência de pesticidas no solo. Adicionalmente foi avaliada a relação entre a concentração dos produtos e tipo de manejo de solo aplicado. Este estudo é justificado por ser esta região de caráter tipicamente agrícola, com uso sistemático de pesticidas, tais como: monocrotofós, tiabendazole, triadimenol, lufenuron e imazetapir. Primeiramente foram estudadas as melhores condições de extração, considerando as técnicas mais comumente utilizadas, como o soxhlet, o banho e a sonda de ultra-som. As análises foram realizadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detector UV-visível (lufenuron e imazetapir) e Cromatografia Gasosa com Detector Seletivo de Massas (monocrotofós, tiabendazole e triadimenol), dependendo das características do analito em estudo.

Os resultados mostram a presença de todos os pesticidas estudados, permitindo inferir que os mesmos persistem no solo. Além disto, os resultados indicam que não há uma uniformidade da extração dos analitos nas amostras dos solos, que foram extraídas com as técnicas de soxhlet, banho e sonda de ultra-som. Tais diferenças podem ser devido à heterogeneidade das amostras ou uma extração seletiva dos analitos.

Quanto as influências do tipo de manejo das lavouras, não foi possível constatar a contribuição destas formas de plantio para a persistência de resíduos de pesticidas no solo.

ABSTRACT

Soil samples (oxisol) collected from three different points in Caibaté, situated in the Missionary Region, northeast of the State of Rio Grande do Sul, in a dept of approximately 10 cm (from the soil surface), in different seasons and with different soil tillage (*conventional tillage*; *no tillage* and *minimum tillage*), were analysed in order to detect the soil presence and persistence of pesticides. Furthermore, the relation between products concentration and the type of soil treatment was evaluated. This study is justified by being this region typically agricultural with systematic use of pesticides like: monocrotophos, thiabendazole, triadimenol, lufenuron and imazetaphyr. Firstly, the best extraction conditions were determined, considering the usually employed techniques like: soxhlet, bath and probe ultra sound. Analyses were carried out by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) with UV-Vis detector (lufenuron e imazetaphyr) and Gas Chromatography with Mass Selective Detector (GC-MSD) (monocrotophos, thiabendazole, triadimenol), depending on the analyte characteristics.

Results show the presence of all analysed pesticides, indicating that they persist in soil. Furthermore, results indicate that there is no uniformity in analyte extraction in soil samples using soxhlet, ultra sound bath and cellular disruption techniques. These differences could be occurred due to sample heterogeneity or to a selective extraction of analytes.

As far as soil tillage is concerned, it was not possible to correlate the type of treatment with the persistency of pesticides in soil.

ÍNDICE GERAL

AGRADECIMENTOS i

RESUMO ii

ABSTRACT iii

ÍNDICE GERAL iv

ÍNDICE DE TABELAS vii

ÍNDICE DE FIGURAS viii

LISTA DE ABREVIATURAS x

1. INTRODUÇÃO 1

1.1. PESTICIDAS: HISTÓRICO E CARACTERÍSTICAS 1

1.2. UTILIZAÇÃO DE PESTICIDAS NA AGRICULTURA 2

1.3. SOLO: PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS E COMPOSIÇÃO 3

1.3.1. ÁCIDOS HÚMICOS 4

1.3.2. MATÉRIA ORGÂNICA 6

1.4. CARACTERIZAÇÃO DA REGIÃO DAS COLETAS: MUNICÍPIO DE CAIBATÉ – RS 7

1.4.1. TÉCNICAS DE PLANTIO UTILIZADAS 9

1.5. TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO DE PESTICIDAS DO SOLO 11

1.5.1. EXTRAÇÃO COM BANHO E SONDA DE ULTRA-SOM 11

1.6. MÉTODOS DE EXTRAÇÃO E PRÉ-CONCENTRAÇÃO 12

1.7. CARACTERÍSTICAS DOS PESTICIDAS ESTUDADOS 19

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. MATERIAIS 25

2.1.1. REAGENTES E SOLVENTES 25

2.1.2. GASES 25

2.1.3. EQUIPAMENTOS 25

2.2. MÉTODOS

2.2.1. AMOSTRAGEM 26

2.2.2. EXTRAÇÃO DOS PESTICIDAS DO SOLO 28

2.2.2.1. EXTRAÇÃO EM APARELHAGEM SOXHLET 28

2.2.2.2. EXTRAÇÃO COM BANHO DE ULTRA-SOM 29

2.2.2.3. EXTRAÇÃO COM SONDA DE ULTRA-SOM 29

2.2.3. EXTRAÇÃO DO ENXOFRE ELEMENTAR PRESENTE NO SOLO 31

2.2.4. PREPARO DAS SOLUÇÕES PADRÃO 31

2.2.4.1. SOLUÇÃO ESTOQUE 31

2.2.4.2. SOLUÇÃO DE TRABALHO 32

2.2.5. ANÁLISE POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA 32

2.2.5.1. IMAZETAPIR 32

2.2.5.2. LUFENURON 32

2.2.6. CROMATOGRAFIA GASOSA COM DETECTOR DE MASSAS 33

2.2.6.1. CONSTRUÇÃO DO “MÉTODO 1” 35

2.2.6.2. CONSTRUÇÃO DO “MÉTODO 2” 35

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1. ESTABELECIMENTO DAS CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS 36

3.1.1. ANÁLISE POR CROMATOGRAFIA GASOSA COM DETECTOR SELETIVO DE MASSAS 36

3.1.1.1. ESCOLHA DO SOLVENTE EXTRATOR 37

3.1.1.1.1. EXTRAÇÃO COM SOXHLET 37

3.1.1.1.2. EXTRAÇÃO COM BANHO DE ULTRA-SOM 38

3.1.1.1.3. EXTRAÇÃO COM SONDA DE ULTRA-SOM 39

3.1.1.2. DETERMINAÇÃO DA RECUPERAÇÃO DOS PROCESSOS DE EXTRAÇÃO 41

3.1.1.3. APLICAÇÃO DA METODOLOGIA 43

3.1.2. ANÁLISE POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA 47

3.1.2.1. IMAZETAPIR 47

3.1.2.2. LUFENURON 48

3.1.2.3. ANÁLISE QUANTITATIVA 50

3.1.2.4. ESCOLHA DO SOLVENTE EXTRATOR 52

3.1.2.5. DETERMINAÇÃO DA RECUPERAÇÃO DOS PROCESSOS DE EXTRAÇÃO 52

3.1.2.6. APLICAÇÃO DA METODOLOGIA 52

4. CONCLUSÕES 56

5. BIBLIOGRAFIA 59

6. ANEXOS 63

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 Amostragem de solo no município de Caibaté (data das coletas e códigos das amostras). Ponto 1 – *plantio conventional;* Ponto 2 – *plantio direto*; Ponto 3 – *plantio semi-direto* 27

Tabela 2 Condições climáticas no dia de cada coleta das amostras de solo 27

Tabela 3 Características físico-químicas das amostras de solo da primeira coleta (28-07-2000) analisados em 31-08-2000 (Laboratório de análise de solo, Faculdade de Agronomia – UFRGS, Porto Alegre) 28

Tabela 4 Condições de extração utilizadas nos procedimentos por soxhlet, banho e sonda de ultra-som. 30

Tabela 5 Íons e tempos de retenção selecionados para cada composto, analisados pelo "Método do íon total" em GC-MSD 35

Tabela 6 Recuperação para os pesticidas monocrotofós, tiabendazole e triadimenol, nos três processos de extração por: soxhlet, banho de ultra-som e sonda de ultra-som. Solvente extrator: diclometano. 43

Tabela 7 Valores de concentração dos pesticidas (monocrotofós, tiabendazole e triadimenol) nas amostras de solo, utilizando como procedimento de extração: soxhlet, banho e sonda de ultra-som. 44

Tabela 8 Recuperação para os pesticidas imazetapir e lufenuron nos três processos de extração utilizados, soxhlet,banho banho e sonda de ultra-som. Solvente extrator: diclometano. 52

Tabela 9 Valores das concentrações em $\mu g.kg^{-1}$ dos pesticidas imazetapir e lufenuron extraídos dos solos 1, 2 e 3 pelas técnicas de extração com soxhlet, banho e sonda de ultra-som. 54

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Foto obtida pelo sistema **GPS** (*Global Position System*), mostrando os três pontos (lavouras) onde foram coletadas as amostras de solo no Município de Caibaté-RS: **a)** plantio convencional; **b)** cultivo mínimo; **c)** plantio direto. Áreas rosadas (lavoura com o solo exposto ou recém semeado); áreas pretas (água); áreas verde escuro (mata) e áreas acinzentadas (campo nativo ou vegetação baixa). 9

Figura 2 Diagrama esquemático de um sistema analisador de massas "quadropolo". 33

Figura 3 Componentes básicos de um espectrômetro de massas "ion trap". 34

Figura 4 Cromatograma obtido por GC-MSD da mistura de padrões de pesticidas. Os picos referem-se aos seguintes compostos: 1) monocrotofós; 2) aldrin (P.I.); 3) tiabendazole; e 4) triadimenol; nas concentrações de 70; 10; 50; 50 μg L^{-1}., respectivamente 36

Figura 5 Cromatogramas obtidos por cromatografia gasosa com detector seletivo de massas (GC-MSD) modo SCAN, dos extratos das amostras 1 A, 2 A e 3 A, utilizando o procedimento 1 como método de extração. 38

Figura 6 Cromatogramas obtidos por cromatografia a gás com detector seletivo de massas (GC-MSD) modo SCAN, da amostra 2 A extraída com banho de ultra-som. Os solventes extratores utilizados foram: A) acetona; B) hexano; C) diclorometano. 39

Figura 7 Comparação dos cromatogramas GC-MSD para os três sistemas de extração: A) extração sonda de ultra-som; B) extração com soxhlet e C) extração com banho de ultra-som, pelo "Método 2", da amostra de solo 2 E. Foi adicionado padrão interno (1) na concentração de 10 μg L^{-1}. Solvente extrator: diclorometano 40

Figura 8 Cromatograma obtido por GC-MSD, com monitoramento de íons, da amostra 1A, com diferentes solventes extratores. A) acetona; B) acetonitrila; C) hexano e D) diclorometano. Mistura padrão: 1) monocrotofós; 2) P.I.; 3) tiabendazole e 4) triadimenol 41

Figura 9 Gráfico dos valores obtidos em μg kg^{-1} do pesticida triadimenol, utilizando sonda de ultra-som como procedimento de extração. Solvente extrator diclorometano. 45

Figura 10 Gráfico dos valores obtidos em μg kg^{-1} do pesticida monocrotofós, utilizando sonda de ultra-som como procedimento de extração. Solvente extrator diclorometano. 46

Figura 11 Espectro eletrônico da solução de imazetapir, na concentração de 10 mg L^{-1}, em solução de acetonitrila/água/ácido fórmico (30:68:2). A, B e C referem-se a três diferentes valores de pH: 4, 3 e 2, respectivamente. 47

Figura 12 Cromatograma obtido por HPLC-UV, da solução padrão de imazetapir, na concentração de 20 μg L^{-1}, preparado com água Milli-Q, em pH 3 48

Figura 13 Espectro eletrônico da solução de lufenuron na concentração de 40 mg L^{-1} em acetonitrila/água (80:20). 49

Figura 14 Cromatograma obtido por HPLC-UV, da solução padrão de lufenuron, na concentração de 20 μg L^{-1}, preparado em metanol 50

Figura 15 Curva de calibração para o padrão de imazetapir obtida por HPLV-UV; n = 3; RSD% = 0,56 51

Figura 16 Curva de calibração para o padrão de lufenuron obtida por HPLC-UV; n = 3; RSD% = 2,04 51

Figura 17 Gráfico dos valores obtidos em μg kg^{-1} do pesticida imazetapir, utilizando banho de ultra-som como procedimento de extração. Solvente extrator diclorometano. 56

Figura 18 Gráfico dos valores obtidos em μg kg^{-1} do pesticida imazetapir, utilizando banho de ultra-som como procedimento de extração. Solvente extrator diclorometano. 56

LISTA DE ABREVIATURAS

ACN – Acetonitrila

AF – Ácidos fúlvicos

AH - Ácidos húmicos

ASE – Extração Acelerada por Solvente, do inglês A*celerated Solvent Extraction*

BHC - Hexaclorobenzeno

DCM - Diclorometano

C_{18} - Sílica modificada com hidrocarboneto (octadecilsiloxano)

CAS - *Chemical Abstracts Service*

DL_{50} - Dose letal, nos estudos pela via oral e dérmica

DDT - Diclorodifeniltricloroetano

2,4 D - Ácido 2,4 diclorofenoxiacético

D.I. - Diâmetro interno

DAD - Detector de Arranjo de Diodos, do inglês *Diode Array Detector*

ECD - Detector de Captura de Elétrons, do inglês *Electron-Capture Detector*

FID - Detector por Ionização em Chama, do inglês *Flame Ionization Detector*

FPD - Detector Fotométrico de Chama, do inglês *Flame Photometric Detector*

GC - Cromatografia Gasosa, do inglês *Gas Cromatography*

HPLC - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, do inglês *High Performance Liquid Chromatography*

GC-MSD – Cromatografia Gasosa com Detetor Seletivo de Massa, do inglês *Gas Chromatography- Mass Selective Detector*

GC-AED - Detector de Emissão Atômica, do inglês A*tomic Emission Detector*

IUPAC - União Internacional de Química Pura e Aplicada, do inglês *International Union of Pure and Aplied Chemistry*

LD - Limite de Detecção, do inglês *Limit of Detection*

LC-ES-MSD – Cromatografia Líquida com detector seletivo de massa *eletro spray,* do inglês *Liquid Chromatography – Eletro spray-Mass Selctive Detector*

MO - Matéria orgânica

m/z - Razão massa /carga

rpm - rotações por minuto

SIM – monitoramento por simples íon, do inglês *Single Ion Monitoring*

SPME - Micro extração em Fase Sólida, do inglês *Solid-Phase Micro Extraction*

GPS – Do inglês (*Global Position System*)

PFE – Extração com Fluido Pressurisado, do inglês *Pressure Fluid Extraction*

IMIs – Imidazolidonas

n.d. - não detectado

r^2 – Coeficiente de correlação

SPE - Extração em Fase Sólida, do inglês *Solid-Phase Extraction*

SFE – Extração por Fluido Supercrítico, do inglês *Supercritical Fluid Extraction*

ODS - Octadecilsiloxano

P.I. - Padrão Interno

R - Recuperação

RSD - Desvio Padrão Relativo, do inglês *Relative Standard Deviation*

TBF - Tribromofenol

t_R - tempo de retenção

UV - Ultravioleta

1. INTRODUÇÃO

1.1. PESTICIDAS: HISTÓRICO E CARACTERÍSTICAS

Desde os anos de 1970 o interesse pela contaminação ambiental dos pesticidas tem aumentado significativamente, isto se deve em grande parte pelo grande aumento no consumo à nivel mundial, bem como, as preocupações com seus impactos ambientais. Esse interesse deve-se em parte ao aumento dos sistemas de detecção, bem como as diretrizes muito rígidas que passaram a vigorar, principalmente nos Estados Unidos e Europa. A detecção de alguns pesticidas, principalmente herbicidas, no ambiente, tem sido um indicativo para o entendimento do comportamento e destino destes compostos [1]. O grande avanço dos métodos analíticos, envolvendo Cromatografia Gasosa e Líquida acoplada à Espectrometria de Massas, a utilização de novos adsorventes com elevada capacidade de retenção e o desenvolvimento de métodos automatizados tem auxiliado significativamente no monitoramento dos pesticidas, bem como de seus produtos de degradação no meio ambiente.

Embora as evidências mais detalhadas da contaminação devido aos pesticidas seja recente, o uso destes, teve inicio há muitas décadas. A utilização de pesticidas orgânicos sintéticos teve início no ano 1930, após a demonstração das propriedades inseticidas de alguns alquil tiociantos e das propriedade fungicidas de alguns ditiocarbamatos. No entanto, o início real da indústria de produção de pesticidas ocorreu com a introdução do DDT, patenteado em 1942, que foi um dos inseticidas mais utilizados durante duas décadas. No mesmo período, em 1944, o primeiro herbicida 2,4-D foi lançado no mercado. No período de 1945-1955 a chamada “segunda geração de pesticidas” e inseticidas organofosforados, carbamatos e uréias, foram desenvolvidos, sendo que muitos destes ainda continuam em utilização. Os sais de amômio quaternário e as triazinas, foram introduzidas entre 1955-1960 [1].

No período de 1960-1970 muitos fungicidas foram desenvolvidos, entre eles as benzimidazois, pirimidinas, triazois e imidazois. Os dois últimos grupos tem ação como inibidores da biossíntese do esterol e representam uma grande parte dos fungicidas

presentes no mercado. No mesmo período, começam a surgir as questões relativas ao risco dos pesticidas como resultado de efeitos ecotoxicológicos devido ao intenso uso do DDT e de outros organoclorados de grande persistência. Estes estudos resultaram na proibição da utilização do DDT em 1972 nos EUA e no controle severo da utilização de outros, sendo que estes compostos foram gradualmente sendo substituídos por organofosforados e carbamatos.

A terceira geração de pesticidas apareceu no período de 1970-1980. Nestes estão incluídos os piretróides e as sulfoniluréias as quais podem ser utilizadas em dosagens muito baixas devido a sua forte ação biológica [1].

1.2. UTILIZAÇÃO DE PESTICIDAS NA AGRICULTURA

Os objetivos primários de aumentar a colheita e melhorar a qualidade dos alimentos foram atingidos pelo homem nos últimos tempos, mas o uso indiscriminado dos pesticidas, sem os devidos critérios, sem conhecimento da ação e dos efeitos secundários, trouxe danos ao meio ambiente e consequentemente à qualidade de vida do homem.

A crescente utilização de pesticidas na agricultura tem acarretado uma série de impactos negativos ao ambiente causando, consequentemente, grandes preocupações. A maioria destes compostos entra em contato com o solo ou pela sua aplicação direta, ou por processos de deriva durante a sua aplicação sobre as plantas no solo após a morte. Desta forma muitos estudos são realizados com o objetivo de conhecer os fenômenos que ocorrem com estes pesticidas no ambiente.

Processos que influenciam no comportamento de um pesticida no solo dizem respeito à sua composição e degradação destes compostos pelas partículas do solo. Por outro lado, a adsorção pode variar muito em função das diferentes propriedades físicas e químicas do solo e também pela estrutura molecular do composto. Assim a adsorção torna-se um processo chave no comportamento da dinâmica dos pesticidas no solo [1, 2].

1.3. SOLO: PRINCIPAIS CARACTERÍSTICAS E COMPOSIÇÃO

O solo é considerado como sendo um dos reservatórios finais dos pesticidas, sendo ao mesmo tempo uma fonte da qual os resíduos podem ser liberados para a atmosfera, lençol freático e organismos vivos [2].

O solo é composto por uma fase sólida, uma líquida e uma gasosa. A fase sólida é composta por minerais e matéria orgânica. A fase líquida é constituída de água, minerais (argila, íons) e compostos orgânicos nela dissolvidos formando a solução solo. A fase gasosa ocupa o espaço aéreo do solo, o qual é preenchido pelo ar que esta "dissolvido" no solo.

As partículas minerais e orgânicas que constituem a fase sólida do solo estão envoltas por películas (filmes) de uma solução aquosa, na qual estão dissolvidos íons, moléculas e gases, sendo este o meio do qual as plantas retiram os íons necessários à sua nutrição e onde devolvem os seus resíduos. A maioria das reações químicas que ocorrem no solo, acontecem nesta interface sólido-solução.

A composição da solução do solo varia muito com o material de origem deste, pH, condições de oxiredução, teor de matéria orgânica, adição de produtos químicos e do seu manejo.

A adsorção é a interação do soluto (que pode ser um agroquímico) da fase líquida com a superfície sólida do solo, influenciando diretamente na magnitude de fatores como biodegradabilidade, bioacumulação e outros. O comportamento dos agroquímicos no solo é bastante complexo e é resultante de vários fatores, sendo um deles a interação com os constituintes das diferentes frações contidas no solo (ácidos húmicos, ácidos fúlvicos, huminas, argilo-minerais, óxidos, etc).

A contaminação do solo por compostos orgânicos (inseticidas, herbicidas, fungicidas) encontra forte interação com a matéria orgânica humificada presente no solo, devido as suas características e grupos funcionais, atuando como um tampão, um trocador de íons, um surfactante, um agente quelante ou como um adsorvente geral. O termo "matéria orgânica" refere-se a todos os compostos que contém carbono orgânico, incluindo microorganismos vivos ou mortos, resíduos de plantas e animais parcialmente

decompostos, produtos de sua decomposição e substâncias microbiologicamente e/ou quimicamente alteradas. A matéria orgânica tem efeito fundamental sobre a fertilidade do solo, influenciando diretamente na disponibilidade de nutrientes (nitrogênio, enxofre, fósforo). Devido à sua capacidade de liberar ou receber íons H^+, evita variações no pH do solo (tampão de acidez). Pela sua alta reatividade, regula a disponibilidade de vários micronutrientes (Mn^{2+}, Zn^{2+}), bem como a atividade de elementos tóxicos, como o Al^{3+} em solos ácidos. Também afeta a mobilidade e consequentemente a fitotoxicidade de outras moléculas orgânicas ou inorgânicas adicionadas ao solo (pesticidas, resíduos industriais, resíduos de produção animal, metais pesados, etc...) [3].

As superfícies mineral e orgânica dos solos podem adsorver moléculas orgânicas fraca ou fortemente, dependendo da força de interação entre o adsorbato e o adsorvente. Interação forte é indicativo de quimiossorção, na qual uma ligação covalente, ligação iônica ou ligação de coordenação de esfera interna, podem se formar entre a molécula orgânica e a superfície mineral. A adsorção e a dessorção de moléculas orgânicas em solos é controlada também pelas propriedades químicas das moléculas, como natureza do grupo funcional, acidez ou basicidade dos grupos funcionais, tamanho e forma das moléculas, polaridade, carga e polarizabilidade da molécula. Por todas estas características, tornam-se necessários métodos vigorosos para a abertura das amostras e extração dos pesticidas do solo. A técnica mais antiga é a extração por soxhlet, que faz uso de grande quantidade de solvente além de grande tempo de extração. O uso do banho de ultra-som e sondas (disruptor celular) tem apresentado como uma técnica alternativa, no sentido de economia de tempo e de solvente, bem como na efetiva separação dos poluentes ligados ao solo [2, 3].

1.3.1. ÁCIDOS HÚMICOS

A adsorção dos herbicidas é bastante influenciada pela quantidade de matéria orgânica do solo. A matéria orgânica existente nos solos, consiste numa mistura de produtos, em vários estágios de decomposição, resultado da degradação química e biológica de resíduos de plantas e animais, e da atividade de síntese de microorganismos.

Essa matéria é usualmente classificada como substâncias húmicas. Sua diferenciação reside no fato de que as substâncias não húmicas são de natureza definida, como por exemplo, os aminoácidos, carboidratos, proteínas e ácidos orgânicos. Já, as substâncias húmicas, não apresentam características físicas e químicas definidas (ponto de ebulição, índice de refração, etc) bem como composição elementar não constante.

As substâncias húmicas são constituída de uma mistura heterogênea de compostos, na qual cada fração (ácido húmico, ácido fúlvico e humina) deve ser considerada como sendo uma série de moléculas de tamanhos diferentes, sendo que a maioria delas não possui a mesma configuração estrutural ou grupos reativos na mesma posição. As estruturas das substâncias húmicas variam de solo para solo e são, ainda, função do clima, do tipo de vegetação, hidrologia, etc. Ocorrem também mudanças na sua composição estrutural, tendo, entretanto, os mesmos tipos de grupamentos funcionais.

A estrutura proposta por Schulten e Schnitzer [2; 3], com base em análises espectroscópicas, degradação oxidativa e redutiva, e resultados microscópicos, apresenta grupos hidroxilas (fenólicos), livres e ligados, cadeias alifáticas, estruturas como quinonas e grupos carboxílicos ligados em diferentes posíções de anéis aromáticos.

Durante a degradação microbiana as macromoléculas lábeis são degradadas e perdidas, enquanto compostos refratários, ou biopolímeros como lignina, cutina, suberina, macromoléculas parafínicas contendo nitrogênio, melanina e possivelmente outros biopolímeros não identificados, são seletivamente preservados para tornarem-se parte daquilo que é operacionalmente definido como humina. Com o aumento da degradação a humina pode ser oxidada produzindo moléculas que podem ter o mesmo peso molecular da humina mas maior proporção de grupos funcionais, o que aumenta a sua solubilidade em meio alcalino, formando então os ácidos húmicos (AH). A seqüência da degradação sobre os AH formados, produz células de menor massa molecular e maior funcionalidade e solubilidade em meio alcalino e ácido, resultando nos ácidos fúlvicos (AF) [2, 3].

1.3.2. MATÉRIA ORGÂNICA

A matéria orgânica (MO) normalmente não excede a 5% do volume total do solo em áreas cultivadas mas é imprescindível à manutenção da capacidade produtiva do solo pela sua função biológica, química e física. Conservar o solo é também manter a M. O. em níveis adequados à produtividade das culturas, enquanto recuperá-lo significa também elevar o ser teor de MO.

O clima, mais do que o tipo de solo e vegetação, é assumido ser o fator de maior importância sobre a formação da MO, devido principalmente a influência da temperatura e umidade na intensidade da decomposição microbiana.

O tipo de solo interfere na dinâmica da MO, principalmente em função da sua textura e mineralogia. A distribuição relativa das partículas em função de seu tamanho afeta inicialmente a MO, porque solos de textura mais fina tem maior capacidade de armazenamento de água e menor amplitude de variação de temperatura. Em lavouras essas características favorecem a produção de biomassa. Contudo, neste caso, o maior teor de M.O. pode ser também explicado pela hipótese da proteção física

A proteção física proporcionada pela fração mineral do solo, dificulta e/ou impede o ataque de microorganismos à MO. Uma das formas mais eficientes de proteção ocorre pela interação química da MO, principalmente com a argila devido as suas cargas e sua alta área superficial específica. Isso permite que ocorram diferenças quantitativas de substâncias orgânicas (fenóis, ácidos carboxílicos, acetaldeídos, álcoois, etc) associadas às frações minerais. Além disso, a interação química de substâncias húmicas pode ocorrer com cátions, sendo a intensidade desta interação uma função da quantidade de cátions presentes e dos grupos funcionais predominantes. Por exemplo, ocorrer complexação de Cu e Fe por ácidos fúlvicos. Contudo, as reações e propriedades das substâncias húmicas do solo são praticamente governadas pela estrutura macromolecular das mesmas, que variam conforme a concentração, pH e força iônica do meio [2].

A proteção física da MO é também influenciada pelo preparo do solo. Quando há revolvimento, a mineralização é favorecida pela maior exposição da matéria orgânica e aumento da atividade dos microorganismos decompositores. Com isso, há uma diminuição no teor de carbono no solo à medida que os sistemas de preparo implica em sua maior

mobilização. A relação da vegetação com a MO do solo pode ser considerada de forma quantitativa e/ou qualitativa. No caso, da quantidade de fitomassa significa simplesmente a disponibilidade de substrato para os microorganismos atuarem.

A decomposição da fitomassa no solo é um processo microbiano mediado por enzimas, algumas das quais específicas de alguns microorganismos. Isso pode indicar que compostos orgânicos em estágios avançados de decomposição podem possuir muitas estruturas diferentes. Contudo, a população microbiana praticamente não varia qualitativamente e sim quantitativamente, comparando-se regiões temperadas e tropicais [2, 3].

Assumindo que a população microbiana seja qualitativamente semelhante no solo, pode-se pensar que a rota bioquímica de decomposição seja comum e isso explicaria a pouca variação na contribuição de cada forma de N-orgânico para o N-total do solo, porém o número de combinações entre moléculas durante a decomposição é muito grande e a afirmação pode levar a uma outra idéia, a de que a rota bioquímica de decomposição possa ocorrer de diferentes maneiras. As substâncias húmicas são consideradas as formas mais estáveis de MO no solo.

O analisador de C, H, e N, o uso das técnicas de espectroscopia nas regiões do ultravioleta-visível e infravermelho, a de ressonância magnética nuclear, somadas as técnicas de cromatografia líquida e gasosa, são as principais ferramentas usadas atualmente no estudo da MO do solo [2, 4, 5].

1.4. CARACTERIZAÇÃO DAS COLETAS: (Município de Caibaté- RS)

O município de Caibaté está localizado a Noroeste do Rio Grande do Sul, Região das Missões, com uma população de 5.218 habitantes, com uma área de 271 km^2. Atualmente, a agricultura esta baseada nas culturas soja, trigo e milho com uma área cultivada de: 18.000; 2.500 e 7.000 hectares, respectivamente. O manejo do solo caracteriza-se por ser 60 % de plantio direto, com o uso de dessecantes e herbicidas pós-emergentes. Somente 5 % da área cultivada faz uso do controle das invasoras através da técnica mecânica e manual.

Os pesticidas mais utilizados, segundo informações diretas, são: Roundup® (glifosato) e 2,4 D (ácido 2,4 diclorofenoxiacético); Primatop (atrazina + simazina); Pivot (imazetapir), Septer (imazaquim), Select (cletotin), Herbadox (pendimetalin), Tilte (propiconazole), Nuvacron® (monocrotofós}, Malation® , Baytan® (triadimenol).

A escolha dos pesticidas pelos agricultores considera o tipo de cultura onde os mesmos serão utilizados e o montante dos custos das aplicações. A forma de aplicação dos pesticidas é 90% terrestre (com pulverizadores costais e mecanizados) e 10% com pulverização aérea. A aplicação de dessecantes é efetuada duas vezes ao ano (no verão em toda a área e no inverno cerca de 50% da área). Os inseticidas são usados conforme a infestação de pragas.

Os pontos de coleta das amostras de solo estão localizados na imagem "Global Position System" (GPS), localizada no Município de Caibaté, Região das Missões, Rio Grande do Sul, Brasil. Fornecida pelo Instituto Nacional de Pesquisa Espacial (INPE), obtida do Satélite "*Lausat 7*", cena (imagem) 22380, órbita 80, data: 20.12.1999. O tratamento da imagem foi feita pelo sistema: " Hue Saturation Brightness" (HSB), com os seguintes valores: bandas 3, 4, 5 e 8; resolução 1:25 e PIXEL (menor unidade de imagem) no valor de 12,5 m. Coordenadas registradas em "Universal Transversal Marcartor" (VTM), obtidas por um aparelho "Garmin" (12 canais). Marcadas em Caibaté nas posições:

a) 732 478/6869385- Strieder;

b) 730115/6866739- Seffrin;

c) 732695/6867579- Adams.

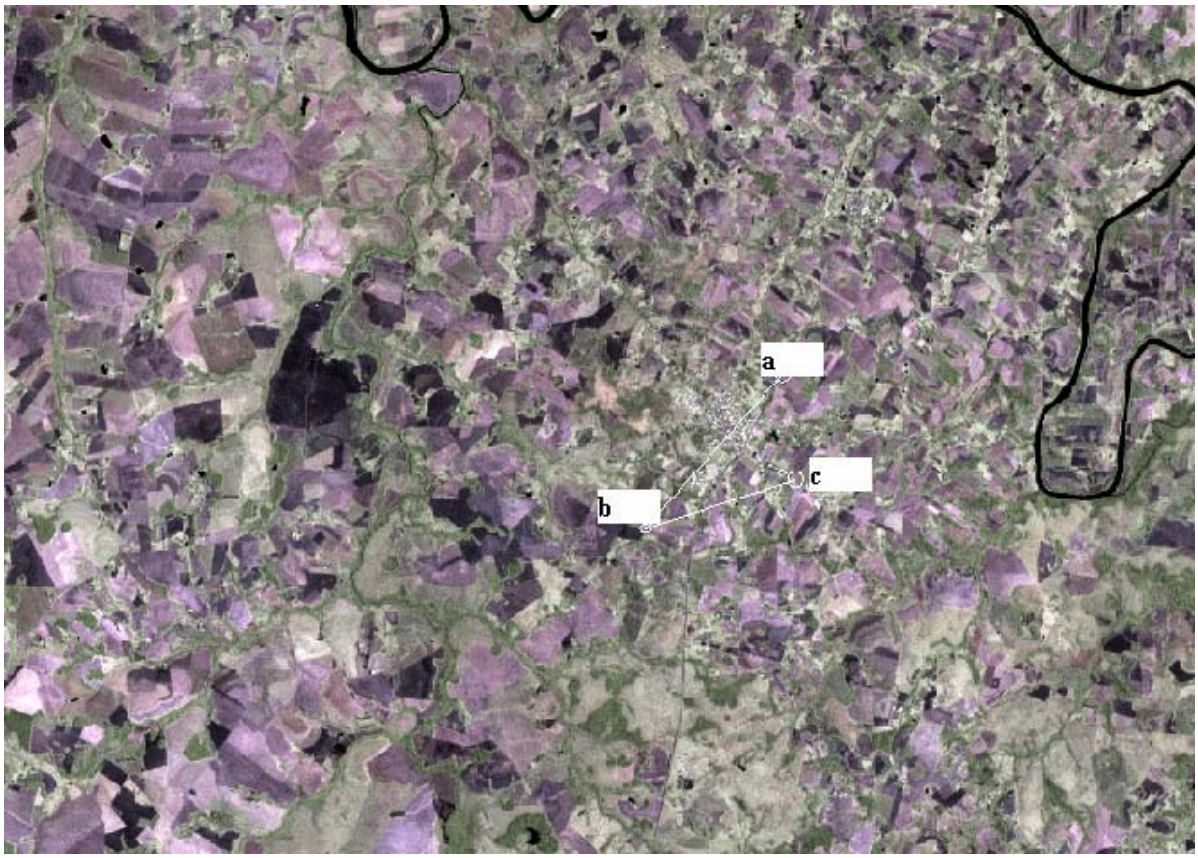


Figura 1 - Foto obtida pelo sistema **GPS** (*Global Position System*), mostrando os três pontos (lavouras) onde foram coletadas as amostras de solo no Município de Caibaté-RS: **a)** plantio convencional; **b)** cultivo mínimo; **c)** plantio direto. Áreas rosadas (lavoura com o solo exposto ou recém semeado); áreas pretas (água); áreas verde escuro (mata) e áreas acinzentadas (campo nativo ou vegetação baixa).

1.4.1. Técnicas de plantio utilizadas

Existem vários padrões diferentes de preparo de sol; convencionais e alternativos. A seguir estão descritas as três formas plantio utilizados nos pontos de amostragem:

a) plantio convencional: este processo de preparo do solo envolve três estágios: uma aração profunda que revolve o solo; uma gradagem secundária para a preparação da semeadura e, finalmente, cultivos pós-plantio (frequentemente combinados com o uso de herbicidas) para controlar ervas adventícias.

b) cultivo mínimo: após a lavra inicial e a formação de canteiros ou camaleões, o único trabalho de solo que ocorre é o plantio de sementes e o manejo de ervas adventícias com capinadeiras especialmente desenhadas para trabalhar somente a superfície do solo.

c) plantio direto: considerado um tipo de manejo de solo alternativo, onde o cultivo do solo fica limitado à linha de sementes e é feito na época do plantio. Em alguns casos, é usado um equipamento especial que permite o plantio diretamente na palhada do cultivo anterior. Outros estágios, como fertilização e controle de ervas adventícias, podem ser realizados com o plantio [5, 6].

1.5. TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO DE PESTICIDAS PRESENTES NO SOLO

Várias técnicas podem ser utilizadas para a extração de pesticidas do solo. A extração com aparelhagem soxlhet é a mais antiga e prevê extração até exaustão de determinada quantidade de solo, utilizando normalmente diclorometano como solvente extrator. Esta técnica caracteriza-se por grande tempo de extração (24 horas de refluxo) e consumo de quantidade razoável de solvente (em torno de 500 mL por amostra).

A extração por agitação mecânica é realizada num sistema onde a amostra de solo é colocada sob agitação por 16 a 24 horas e o consumo médio de solvente é de 50 mL [7].

Atualmente técnicas mais modernas são constantemente utilizadas, como por exemplo a extração por banho de ultra-som, a extração com sonda de ultra-som e a extração acelerada com solvente (ASE), Estas técnicas apresentam as vantagens de menor tempo de extração e reduzindo o consumo de solvente. Neste trabalho, os dois primeiros foram os processos aplicados.

1.5.1. EXTRAÇÃO COM BANHO E SONDA DE ULTRA-SOM

O estudo das ondas ultra-sonoras sobre sistemas químicos é denominado *Sonoquímica* e a aplicação destas ondas *Sonicação.* A ciência do ultra-som pode ser dividida em duas áreas: alta potência e baixa potência. As de alta potência (1W a milhares de W cm^{-2}) causam permanente mudança física e química por que produzem cavitação.

A cavitação consiste na propagação de ondas sonoras no meio reacional originando uma variação de pressão o que origina a formação e implosão de micro bolhas de gás no centro de um líquido, momentos de compressão e descompressão alternados e micro fluxos de líquidos, aquecimento e ruptura de sólidos e instabilidade na superfície da interface de sistemas líquido-líquido e líquido-gás. Envolve três estágios: a) formação de núcleos de cavitação (formação de bolhas de ar próximas das superfícies irregulares de pequenas partículas sólidas presentes (ex. impurezas); b) crescimento das bolhas e c) violenta explosão.

As ondas sonoras de baixa potência, com frequência maior que 20 kHz, são usados na engenharia e medicina para testes e diagnósticos técnicos.

Existem, basicamente, dois tipos distintos de aparelhos geradores de ondas ultra-sonoras: o "*banho e a sonda*" – O banho normalmente é utilizado para a limpeza de material. O gerador de frequência é preso diretamente no fundo da cuba e a energia ultra-sonora é transmitida através de um líquido, neste caso, há muita dispersão de energia ultra-sônica e, consequentemente, menor influência nos sistemas reacionais. A sonda normalmente utilizada em laboratório de microbiologia para rompimento de células (o transdutor encontra-se fixado na extremidade da ponta metálica "sonda"), em contato direto com o sistema reacional e, por isso, teoricamente, é mais eficiente. Nestes dois aparelhos a energia ultra-sônica é produzida por uma cerâmica pizoelétrica disposta entre duas chapas metálicas (transdutor pizoelétrico).

Dentre as vantagens do uso do ultra-som para a preparação de amostras destacam-se: a redução do tempo de reação; redução de quantidade de reagentes; seletividade; favorecimento de reações, que normalmente não ocorrem em condições normais e na simplificação de sistemas reacionais o que implica na redução de custos [8].

1.6. MÉTODOS DE EXTRAÇÃO E PRÉ-CONCENTRAÇÃO

Várias metodologias tem sido desenvolvidas para a extração/concentração de pesticidas presentes no solo. A seguir estão citados alguns dos trabalhos da literatura, dando ênfase àqueles que tratam dos pesticidas estudados no presente trabalho.

Os primeiros procedimentos analíticos que relatam a determinação e/ou estudo de pesticidas em solo, utilizaram extração em aparelhagem soxhlet [9, 10, 11]. À medida que técnicas de extração mais modernas foram introduzidas nas práticas laboratoriais, em especial em química analítica com o intuito de melhorar a eficiência do processo extrativo e minimizar o consumo de solvente, a técnica que utiliza ondas ultra sônicas passou a ser estudada como alternativa para a extração em equipamento de soxhlet [8, 11, 12].

Miguel et al. (1999) [1] realizaram um levantamento histórico do surgimento, desenvolvimento e aplicação de pesticidas pelo homem. Neste trabalho são mostrados a classificação, estruturas químicas e principais metabólitos dos pesticidas, que são mais consumidos mundialmente, as formas de exposição do homem e os efeitos tóxicos destas

substâncias. Adicionalmente são discutidos alguns problemas ambientais decorrentes do uso sistemático e em grande quantidade de pesticidas, bem como a negligência com a sua utilização.

O estudo de Bossi et al. (1999) [7] refere-se à extração das amostras de solo fortificadas, com agitador mecânico, seguida por pré-concentração com cartuchos de SPE. Após a degradação microbiana do solo contaminado, 10 g de solo foram extraídos duas vezes (num agitador mecânico) com 20 mL de solvente extrator por 30 minutos, e o sobrenadante centrifugado a 3200 rpm. O extrato foi concentrado por SPE (C18 condicionada: com 10 mL de DCM + 10 mL de metanol + 20 mL de água) e posteriormente os analítos foram eluídos com 10 mL de metanol. Foram analisados cinco produtos de degradação da família das Sulfonilureas (clorosulfuron, metil-metsulfuron, metil-tifensulfuron e metil-tribenuron) que podem estar presentes no solo, quando estes herbicidas são empregados. Os compostos foram identificados por Cromatografia Líquida com detector de massas (LC-MSD) com sistema de ionização por *electrospray*. A quantificação foi conduzida por cromatografia líquida com detector de ultravioleta e visível (HPLC-UV-Vis). Os limites de detecção para os cinco compostos ficaram entre 10 e 50 $\mu g\ kg^{-1}$.

Em 1992, Barbosa et al. [8] com o objetivo de avaliar a utilização da técnica, estudaram a influência das ondas de ultra-som sobre sistemas químicos. Observaram que esta técnica pode ser empregada tanto em sistemas homogêneos (rompimento de células vivas; dispersão de tecidos biológicos; limpeza de superfície), como em sistemas heterogêneos (líquido-líquido; sólido-líquido).

Mukherjee e Gopal (1996) [9] realizaram revisão das técnicas cromatográficas para a análise de resíduos de pesticidas organoclorados em água, ar e solo, tais como: endosulfan, aldrin, clordane, heptacloro, endrin, dieldrin e mirex. As etapas para a análise dos resíduos, consideradas, foram: amostragem; extração; *clean-up;* derivatização; identificação e quantificação dos resíduos de pesticidas. As técnicas de extração estudadas foram: líquido-líquido, soxhlet, extração em fase sólida, utilizando com solventes de extração os solventes orgânicos hexano, éter, acetona, álcool e suas combinações.

Motohashi et al. (1996) [10] apresentam uma revisão de métodos de análise de multiresíduos de pesticidas em solos, usando GC-ECD, GC-MSD e HPLC. Dentre os pesticidas estudados estão os carbamatos, organoclorados, organofosforados e organonitrogenados. O procedimento de *clean-up* proposto permitiu a simplificação desta etapa, fazendo uso de colunas ou discos de extração em fase sólida e da cromatografia de permeação em gel. As amostras de

solo foram extraídas com mistura de solvente metanol-água (2:1) em soxhlet demanda 24 horas, o *clean-up* foi realizado com cartuchos de extração em fase sólida com fase reversa. Outros solventes extratores foram considerados: acetonitrila; acetona (que se mostrou mais volátil que a acetonitrila facilitando a sua concentração e remoção); acetona-água (2:1); acetato de etila e hexano-acetona (8:2). Dentre as vantagens da acetonitrila esta o fato de que este solvente possui grande capacidade de dissolução e miscibilidade em água.

Babic et al. (1998) [11] realizaram estudos de extração por ultra-som em água, ar e solo, dos pesticidas atrazina, profam, cloroprofam, diflubenzuron, α-cipermetrina e tetrametrina, discutindo o uso de grandes quantidades de solvente nos métodos de extração tradicionais. A análise destes pesticidas foi implementada comparando o uso de vários métodos como: ultra-som, soxhlet, agitador mecânico utilizando vários solventes (acetona, éter dietílico, clorofórmio, hexano, benzeno, acetonitrila e diclorometano) e diferentes tempos de sonicação. A sonicação mostrou ser um bom método, resultando numa boa recuperação dos analitos pois promove um contato mais eficiente entre o sólido e o solvente, obtendo maior recuperação quando comparada com o soxhlet e o agitador mecânico. Para a extração com ultra-som, foram otimizados: volume de solvente, tempo de sonicação (o excesso de sonicação podem provocar a degradação dos compostos) e o números de extrações. As amostras de solo foram preparadas pela adição de 1 mL de padrão da mistura de pesticidas a 10 g de solo, adicionando-se metanol até cobrir a superfície do solo. A mistura foi agitada por 1 hora com agitador mecânico. As extrações feitas com acetona (20 mL de acetona e um tempo de sonicação de 15 minutos) resultaram em melhores recuperações (103,5; 79,7; 93,6; 92,8; 97,2 e 83,4 %) respectivamente. Na extração por soxhlet, 10 g de solo contaminado foram colocados no extrator por 4 horas com 250 mL de acetona. Para a extração por agitação mecânica, 10g de solo contaminado + 20 mL de acetona foram agitados por 2 horas. A comparação dos métodos de extração empregados, permitiu aos autores concluir que o procedimento por ultra-som é mais rápido que a agitação mecânica ou a extração por soxhlet e o consumo de solventes é significativamente menor.

Yasin et al. (1996) [12] desenvolveram método para a determinação de piretróides sintéticos em solos, tais como permetrina, ciflutrin, cipermetrin, deltrametrin, fenvalerato e DCBP, usando mirex como padrão interno. Foi utilizada Cromatografia Gasosa com ionização química-negativa, permitindo a quantificação destes compostos na faixa de 1 $\mu g\ L^{-1}$ a 0,5 $mg\ L^{-1}$. Para a extração foi utilizado o ultra-som com mistura de hexano e diclorometano, com

recuperação foi na faixa de 113; 103,3; 106,1; 106,8; 99,1 e 90,3%, respectivamente, para os piretróides analisados.

Bernal et al. (1996) [13] avaliaram o potencial da Cromatografia Gasosa com Detector de Emissão Atômica (GC-AED) para análise de multiresíduos de pesticidas (dentre eles o ácido 2,4 diclorofenoxiacético, monocrotofós, triadimenol e o tiabendazole). Foi utilizadaa a GC-AED em conjunto com a Cromatografia Gasosa com Detector Seletivo de Massas (GC-MSD). Uma amostra de 20 g de solo, previamente seca à temperatura ambiente, foi tratada com 2 mL de metanol que continha uma concentração conhecida de pesticida. A amostra foi homogeinizada por 10 min e colocada à temperatura ambiente por 2 horas, antes da extração. Um total de 20 g de solo foram extraidos com duas porções de 100 mL de acetato de etila com um misturador mecânico por 30 min, e posteriormente centrifugado em duas vezes sucessivas. Os dois extratos foram combinados e reduzidos a 3 mL. A solução foi percolada através do cartucho ODS (octadecil siloxano) de 500 mg, (previamente condicionado com 10 ml de metanol e 10 ml de acetato de etila) e a extração do analito do cartucho foi feita com 3 ml de acetato de etila. O extrato foi levado a secura, rediluído com 3 mL de metanol e analisado por cromatografia gasosa.

Wang e Wong (1996) [14] apresentam várias metodologias com o objetivo de reduzir o consumo de solventes orgânicos, na análise de resíduos de pesticidas (reduziram de 50 mL para 5 mL por amostra). A discussão dos processos comumente usados nas metodologias de análise baseiam-se em 2 pontos: extração e clean-up, que normalmente são as etapas onde são usados as maiores quantidades de solvente. A miniaturização do clean-up foi conseguido com o uso de micro-colunas e mini-cartuchos. Dentre as novas técnicas de extração são considerados a extração em fase sólida, a extração com fluído supercrítico e a microextração em fase sólida, que mostraram bons resultados. Este trabalho levanta a questão da importância do desenvolvimento de metodologia para a extração e identificação de contaminantes ambientais gerando a menor quantidade possível de rejeitos.

Yarita et al.(1996) [15] realizaram acoplamento da Extração com Fluído Supercrítico (SFE) com a Cromatografia com Fluido Supercrítico (SFC) para a determinação de herbicidas tiolcarbamate, tiobencarb e molinate em matriz sólida. A octadacil siloxano-Sílica gel foi usada como coluna trapeadora na interface entra a SFE e SFC. Foram usadas matrizes de solo com diferentes características, onde foram investigados os efeitos da matriz e na recuperação dos herbicidas. Os solos foram secos à temperatura ambiente antes de serem contaminados com 1 mg

L^{-1} do herbicida dissolvido em diclorometano. Os efeitos da matéria orgânica na matriz, tornaram-se mais uniformes, quando a matriz foi seca a 105-110 ^{0}C por 15 horas e adicionado água deionizada antes da adição do herbicida ao solo. O sistema *on-line* SFE-SFC foi utilizado na extração e análise de tiocarbamatos.

Sanches-Martin et al. (1996) [16] utilizaram HPLC com detector de arranjo de diodos para a determinação de linuron em extratos de amostras sólidas contendo diferentes quantidades de matéria orgânica (0,7-11,7 %). O limite de detecção foi de 0,010 μg mL^{-1} , e as recuperações ficaram entre 106,3 a 116,1 %. A coluna usada foi a de fase C_{18} e a fase móvel metanol-água (65:35, v/v) com fluxo de 1 mL min^{-1}. O comprimento de onda de leitura foi de 210 nm. Para a obtenção dos extratos, 1g de solo foi misturada com 10 ml de água por 48 horas sendo a suspensão centrifugada e o sobrenadante separado. A partir de 100 μg mL^{-1} da solução estoque de linuron, alíquotas entre 0,01 e 0,5 mL foram elevadas até um volume de 100 ml com o extrato aquoso do correspondente solo, resultando em soluções de concentrações entre 0,01 a 0,5 μg mL^{-1} que foram filtrados com filtros (Millex-HV_{13}) e analisadas.

Laganá et al.(1998) [17 descrevem a quantificação de herbicidas dentro do grupo das imidazolidonas, m,p-metil-imazetabens, imazetapir e imazaquin, em dois tipos de amostras: água de rio e solo. O objetivo foi comparar dois procedimentos de extração. O primeiro procedimento foi a extração em fase sólida (SPE) com cartuchos Carbograph-1 analisados por LC-UV com comprimento de onda de leitura de 240 nm, utilizando coluna LC18 (Altech) e gradiente de fase móvel. O segundo procedimento foi a combinação da extração em coluna de solo (SCE) com extração em fase sólida (SPE) simultânea, para a preparação da amostra. A análise foi feita por LC-ES-MSD no modo SIM. A utilização da LC-ES-MSD no modo SIM e apresentou recuperação de 87 a 95% e limites de detecção de 0,1 a 0,05 ng g^{-1} para os compostos estudados no solo.

Guardino et al.(1998) [18] realizaram determinação do inseticida organofosforado clorpirifós em solo, água e ar. A extração foi realizada em agitador mecânico utilizando 25 mL de metanol, por 1 hora. As amostras foram processadas em cromatógrafo a gás com detector de nitrogênio e fósforo (NPD), em cromatografo líquido com detector de arranjo de diodos (HPLC-DAD) e por Cromatografia Eletroforética, usando aditivo aniônico, dodecil-sulfato de sódio (SDS) ou aditivo catiônico, tetra-octilamônio brimídrico e detector UV. A recuperação do clorpirofós das amostras foi de 76%. Na análise por HPLC-DAD foi utilizada uma coluna C_{18}

Kromasil 100, 5 μm (250 x 4,6 mm I.D), vazão: 1,5 mL min^{-1}, 200 nm; fase móvel acetonitrila/água (20:80, v/v). Para a análise dos metabólitos foi utilizada acetonitrila/água (75:25, v/v) com 0,04 % de ácido fosfórico como fase móvel. A linearidade da curva analítica ficou na faixa de 2 a 25μg mL^{-1} e o coeficiente de correlação foi de r^2= 0,999. Os melhores resultados foram obtidos por HPLC-DAD. A eletroforese capilar apresentou alguns problemas, pois o cálcio e o magnésio presentes na amostra, podem precipitar na coluna podendo bloquear o fluxo eletrosmótico.

David et al. (2000) [19] investigaram a questão da forte adsorção e interação iônica dos pesticidas com o solo, e como minimizar este problema fazendo uso da extração com fluido supercrítico (SFE) juntamente com a derivatização *in situ* , em que os herbicidas ácidos são extraídos em forma de ésteres ou éteres. Este estudo descreve a utilização da extração com fluido pressurisado (PFE) para herbicidas como o ácido 2,4 diclorofenóxiacético, dicamba (ácido 3,6-dicloro-2-metoxibenzóico), silvex [(ácido propiônico 2-(2,4,5-triclofenóxi)], triclopir [ácido acético(3,4,6-tricloro-2-piridinil)oxi] e bentazone. As variáveis como temperatura, pressão, tempo de extração e derivatização foram otimizadas para a melhor recuperação do solo. Os derivatizantes usados para extração do ácido 2,4 diclorofenóxiacético foram o ácido etileno-diamina-tetra-acetato (EDTA) e seu sal sódico, o Na_4EDTA. As amostras de solo contaminados foram preparadas pela mistura de uma solução padrão estoque (50 mg kg^{-1}- 0,5 mg kg^{-1}) em 100-150 mL de acetona e misturada com 200 g de solo. A quantificação foi realizada em cromatógrafo a gás com detector seletivo de massas (GC-MSD). A eficiência da PFE para inseticidas não polares e levemente polares como a triazina é comparada com a extração por soxhlet. Para o 2,4 D em níveis mais baixos o derivatizante Na_4EDTA se mostrou mais eficaz, tendo uma recuperação em torno de 61 %.

Hogendoorn et al. (2000) [20] realizaram revisão das aplicações da cromatografia líquida (LC) na análise de compostos ou grupos de compostos, dentre eles a família das feniluréias, fenóxiácidos, triazinas e imidazolidonas. Foram discutidas as vantagens da LC com o detector de massa principalmente para análise de traços de pesticidas. Outra questão discutida é o surgimento de novas colunas na LC empacotada com adsorventes com imunoafinidade; polímeros com ligantes que aumentam consideravelmente a separação de pesticidas polares por fase-reversa. A LC-MSD rapidamente se adaptou as técnicas rotineiras de análise em laboratório pela eficiência na análise de traços de pesticidas polares e vários tipos de amostras, em comparação a outras

técnicas, a LC-MSD simplifica os procedimentos de análise, reduzindo a ação de interferentes da matriz, bem como o tempo dos procedimentos, principalmente no caso de análise de amostras reais.

Wells et al. (2000) [21] discutem métodos de extração, derivatização e *clean up* de herbicidas ácidos. Nesta classe de herbicidas estão incluídos os derivados do fenol, do ácido benzóico e o ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D), entre outros. Estes compostso, quando em solução em valores de pH duas unidades abaixo do seu pKa, apresentam-se em sua forma ionizada. A análise por cromatografia a gás não sofre as interferências das substâncias húmicas que são mais significativas na cromatografia líquida. Porém a análise por GC requer a derivatização para a análise da maioria dos compostos. Os derivatizantes empregados neste trabalho, para a análise por GC, são o diazometano e o trifluoreto de boro (BF_3). Na análise por Cromatografia Líquida, o florisil é empregado na etapa de *clean up*. Discutem as interações que ocorrem entre soluto e adsorvente na extração em fase sólida, como o uso de adsorventes ligados a sílica, de carbono grafitizado, resinas poliméricas, trocadoras aniônicas; discutem também a seletividade entre a adsorção e desorção dos analitos da fase sólida; e ainda a modificação da matriz, pela forma iônica em que os herbicidas ácidos se apresentam em amostras ambientais.

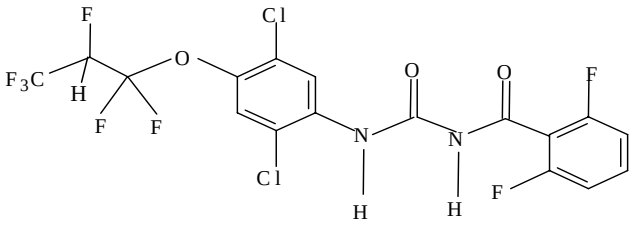
Dost et al. (2000) [22] realizaram determinação de pesticidas em solo utilizando a cromatografia com fluído supercrítico acoplada com espectometria de massas com ionização química em pressão atmosférica (pSFC-APCI-MSD). A técnica se mostrou adequada para a detecção e quantificação dos seguintes pesticidas: triazinas (ametrina, atrazina); carbamatos (carbofuran) e sulfonilureas (clorofulfuron, metil metsulfuron, e metil benzsulfuron). As amostras de solo foram secas à temperatura ambiente por 2 dias, peneirado com peneira 0,5 mm mesh para a homogeinização da amostra. O branco (não contaminado) do solo foi feito com de 2 g de solo utilizando como solvente extrator, 10 mL de metanol e diclorometano separadamente, com sonicação por 30 min. A contaminação do solo foi feita pela adição de concentração conhecida dos pesticidas (550, 100 ou 10 ng) deixado por 2-3 dias e extraído com 10 mL de metanol. Ambos os solos, o branco e o contaminado foram analisados em pSFC-APCI-MSD dentro das condições otimizadas. A linearidade na resposta, foi de r^2= 0,997; 0,995 e 0,999 para atrazina, ametryne e carbofuran, respectivamente. Os limites de detecção foram 201, 144 e 385 pg, para atrazina, ametrina e carbofuran; e 2,045, 1,435 e 2,414 ng para o metil benzsulfuron, clorosulfuron e metil metsulfuron, respectivamente.

Ismail et al. (2000) [23] discutem as interações que ocorrem entre soluto e adsorvente na extração em fase sólida, como o uso de adsorventes ligados a sílica, de carbono grafitizado, resinas poliméricas, trocadoras aniônicas; discutem também a seletividade entre a adsorção e desorção dos analitos da fase sólida; e ainda a modificação da matriz, pela forma iônica em que os herbicidas ácidos se apresentam em amostras ambientais. A coluna analítica empregada foi uma C_{18} (250 mm x 4,0 mm I.D.), tendo como fase móvel acetonitrila/água (87:13, v/v), com fluxo de 1 mL min^{-1} à 27 ^{0}C, detector de UV, comprimento de onda de leitura de 218 nm e volume da alça de injeção de 20 μL. A fotoisomerização do monocrotofós foi obtida pela exposição da solução aquosa a luz UV= 254 nm usando o reator fotoquímico *Raynot*. Estes dois isômeros diferem na sua toxicidade e estabilidade, fator que influi diretamente no seu armazenamento. Os limites de detecção para as impurezas e o ingrediente ativo foram de 0,001 – 0,05 mg/mL e 1,0 – 5,0 mg/mL respectivamente; com r^2= 0,9950.

1.7. CARACTERÍSTICAS DOS PESTICIDAS ESTUDADOS

A seguir estão colocadas as características físico-químicas dos pesticidas estudados [24 - 28].

LUFENURON Index (Twelfth Edition):



CAS N^{0}: 10305507-8

N| 2,5 dicloro 4 (1,1,2,3,3,3, hexafluorpropóxi) fenilaminocarbino l 2,6 difluorbenzamida.

Classificação: inseticida, acaricida

Classificação Toxicológica: IV,

Outros nomes: Match

Massa molecular: 511g

Fórmula molecular; $C_{17}H_8Cl_2F_8N_2O_3$

C= 39,95 % H= 1,58 %; Cl=13,87 %; F= 29,73 %; N= 5,48 %; O= 9,39 %

Sólido cristalino, mp 174,1 – 175,3 ^{0}C.

Pressão de vapor: 25 ^{o}C

Solubilidade (20 ^{o}C)= água, menor do que 1 mg L^{-1}

Acetona= 40 %

Ciclohexano= 35 %

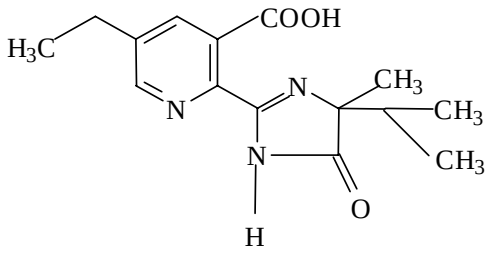
Xileno= 3 %

Metanol= 4,5 %

LD_{50}= em ratos, maior do que 2000 mg kg^{-1}, via oral

Coeficiente de partição (n-octanol/água): 5,12

IMAZETAPIR (4944) Merck Index (Twelfth Edition):



CAS n^o: 81335-77-5

Classificação: Herbicida sistêmico e seletivo

Classificação toxicológica: IV-pouco tóxico

Nome: Sal de amônio do ácido 2-[4,5,dihidro-4-metil-4-(1-metiletil)5-oxo-1-4-imidazol-2,ilo]-5-piridinacarboxílico.

Outros nomes: Pivot

Classe: (Imidazolidonas)

Massa molecular: 289,3 g

Fórmula Química: $C_{15}H_{19}N_3O_3$

C= 62,27 %; H= 6,62 %; N= 14,52 %; O= 16,59 %

Sólido cristalino mp: 172-175 ^{o}C

Solúvel em água (25 ^{o}C)= 1415 ppm

Solubilidade em outros solventes:dimetil sulfóxido, metanol; bastante solúvel em tolueno e muito solúvel em heptano.

LD_{50}= maior do que 5000 mg kg^{-1}, oral em ratos

Ponto de fusão: 169 a 173 ^{0}C

Pk_1= 2,1

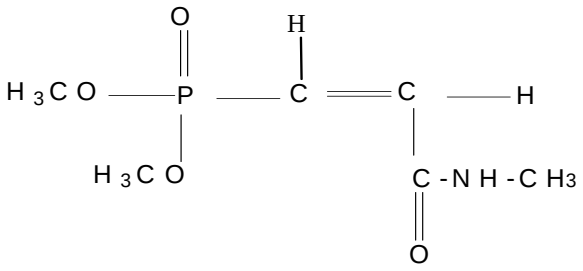
Pk_2= 3,9

Pressão de vapor: < 1 x 10^{-7} mmHg até 60 ^{0}C

Coeficiente de partição: Kow log P= 1,04 (pH 5), 1,49 (pH 7) e 1,29 (pH 9); todos a 25 ^{0}C

Meia-vida no solo: 1 – 3 meses.

MONOCROTOFÓS (6334) Merck Index (Twelfth Edition):



CAS nº: 6923-22-4

Nome: Fosfato de Cis- (2-Metilcarbomoil)-1- (Metil-Vinil)-Dimetila

Outros nomes: Nuvacron

Classe: inseticida e acaricida fitossanitário organofosforado, sistêmico e de contato

Toxicologia: I (extremamente tóxico)

Massa molecular: 223,2 g

C= 37,67 %; H= 6,32 %; N= 6,28 %; O= 35,85 %; P= 13,88 %

Fórmula Química: $C_7H_{14}NO_5P$

Massa Molecular: 223,2 g

Cristal mp 54-55 ^{o} C

Produto comercial sólido (bordas avermelhadas), com leve aroma

Ponto de fusão: 25 - 30^{0}C

Miscível em água

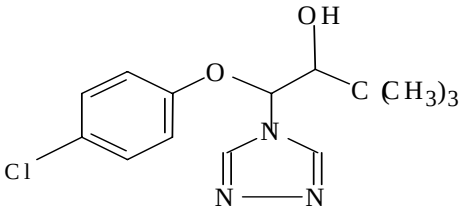
solúvel em: acetona e etanol

praticamente insolúvel em óleo diesel e querozene

LD_{50} em ratos: 17,20 mg kg^{-1} (via oral) 112-126 mg kg^{-1} (pela pele)

Inseticida e acaricida (organofosforado)

TRIADIMENOL (9724) Merck Index (Twelfth Edition):



CAS nº: 55219-65-3

Nome: B- (4-clorofenoxi)-alfa- (1,1,dimetil-etil)-1-H-1,2,4-triazole-1-etanol

Classificação: fungicida sistêmico

Outros nomes: Baytan-250

Cultura: tratamento de sementes

Classe toxicológica: III

Massa molecular: 295,5 g

Ponto de fusão: 121- 127 ^{0}C.

Fórmula molecular: $C_{14}H_{18}ClN_3O_2$

C= 56,85 %; H= 6,13 %; Cl= 11,99 %; N= 14,21 %; O= 10,82 %

Ponto de fusão: 112-117 ^{o} C

Pouco ,cheiro não específico

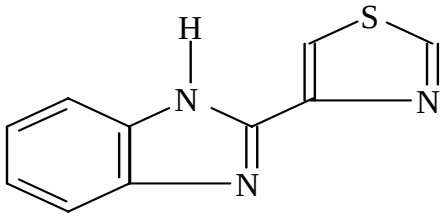
solubilidade em água (20 ^{o}C)= 0,012 g/100 g

solúvel em álcool e cetonas

LD_{50} ratos, machos e fêmeas (mg kg^{-1})= 1161-1105 (via oral)

Persistência e degradação no ambiente: O princípio ativo possui uma persistência média no ambiente .O produto apresenta um pequeno deslocamento para regiões vizinhas.

TIABENDAZOL (9426) Merck Index (Twelfth Edition):



CAS nº: 148-79-8

Nome: 2- (4-thiazol)-1H- benzimidazol

Outros nomes: Tecto

Fungicida sistêmico: para controle no estrago de frutas cítricas e no tratamento de sementes de soja.

Classe toxicológica: III

Ponto de fusão= 304 – 305 ^{0}C

Coeficiente de partição= não avaliado

Coeficiente de adsorção= 2500

Massa molecular: 201,20 g

Fórmula Química: $C_{10}H_7N_3S$

C= 59,68 %; N= 20,88 %; S= 15,93 %; H= 3,51 %

Cristais coloridos

Ponto de fusão: 304-305 ^{o}C

UV max (metanol)= 298 nm (ξ= 23330)

Fluorecência máxima em solvente ácido: 370 – 310 nm

Máxima solubilidade em água em pH 2,2 - 3,84 %

Solúvel em DMSO (dimetil sulfóxido); DMF (dimetil formamida), (álcool + acetona), (benzeno + clorofórmio)

muito pouco solúvel em álcool, ésteres, hidrocarbonetos clorados

LD_{50} em ratos, camondongos e coelhos (g kg^{-1}) 3,6; 3,1; 3,8 (via Oral)

líquido amarelo

Ponto de fusão: 304-305 ^{0}C

Persistência e degradação no ambiente: o princípio ativo possui uma persistência curta no ambiente. O produto apresenta deslocamento para regiões vizinhas.

O estudo da extração destes pesticidas descritos, presentes nas amostras de solo da Região das missões, município de Caibaté, tem como objetivos comparar as técnicas de extração por Ultra-som e os resultados obtidos considerando os diferentes plantios e suas prováveis interferências.

2. MATERIAIS E MÉTODOS:

2.1. MATERIAIS

2.1.1. REAGENTES E SOLVENTES

Os seguintes reagentes e solventes foram utilizados: diclorometano grau pesticida (Mallinckrodt, Nanograde® N.J,EUA); acetona grau pesticida (OmniSolv®); etanol grau pesticida; acetato de etila; hexano grau pesticida (OmniSolv®); sulfato de sódio anidro grau analítico, previamente tratado a 350 ^{o}C por 12 horas (Merck Kga, Damstadt, Alemanha); acetonitrila - grau HPLC - (Carlo Erba, Milão Itália); metanol - grau HPLC - (Mallinckrodt, LabGuard® N.J,EUA); ácido fórmico p.a.- (A.C.S. , Nuclear,C.A.Q – Casa da Química Ind. e Com. Ltda); hidróxido de sódio - p.a.- (A.C.S., Grupo Química Industrial Ltda.Ind.Brasileira); água obtida com sistema Milli-Q (Purifications Parck, Quetin Yvelines Cedex-France). Filtros de Nylon - Sigma-Aldrich - (diâmetro de poro 0,45 μm e 47 mm de diâmetro).

Os padrões utilizados foram: tiabendazole Pestanal® (Sigma-Aldrich-99,6 %); monocrotofós Pestanal® (Sigma-Aldrich-99,9 %); lufenuron Pestanal® (Sigma-Aldrich-99,7 %);. triadimenol (Supelco-99,0 %); imazetapir (Supelco-99,0 %).

2.1.2. GASES

Adquiridos das empresas: White Martins e/ou Air Produts:
Gás de arraste - para o GC-MSD: He grau 5,0 de pureza.
Gás para desgaseificação - no HPLC: He grau 4,5 de pureza.
Gás para a redução de volume das amostras: N_2 grau 4,5 de pureza.

2.1.3. EQUIPAMENTOS

Cromatógrafo à Líquido, Shimadzu LC-10 A, equipado com detectores de ultravioleta (UV). Coluna analítica Nucleosil C18, 5 μm, (250 mm x 4,6 mm) SUPELCO INC, equipada com pré-coluna com recheio Hyperprep C18 sílica, 30μm, Supelco Park Bellefonte, USA

Cromatógrafo à gás com detector de massas, VARIAN/SATURNO 2000, modelo ion-trap, equipado com coluna HP-5 MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm), J & W Scientific. Modo de injeção/splitless, injetor 1079.

Cromatógrafo à gás Agilent, modelo 6890 com detector de massas modelo 5973 equipado com injetor automático 7698 e coluna HP-5 MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm).

Centrífuga: Centra MP4R, International Equipament Company, Manufactured by IEC, USA.

Banho de ultra-som: Ultrasonic Cleaner USC 1450, Unique Ind. e Com. de Prod. Elet. Ltda, Santo Amaro, São Paulo, SP.

Rota-vapor: Büchi Rotavapor R-114, com sistema de banho-maria Büchi B480.

Criocirculador MCC 150-D-1000 Btu. Quasar Engenharia, Ind. Brasileira.

Agitador magnético, Fisatom, Ind. Brasileira.

Mufla: Fisatom, Mod:52 e Mod: 102, Ind. Brasileira.

Medidor de pH: Digimed, Ind. Brasileira.

Sonda de ultra-som, Homogeneizador Ultra-sônico computadorizado, Unique Indústria e Comércio de Produtos Elétricos, Santo Amaro, SP.

Deionizador DE 3500, resistividade (1,5 a 3,5 MΩ), Permution, E.J.Krieger & Cia Ltda.

Sistema de Purificação de água MilliPore (resistividade 18,2 MΩ).

Espectofotômetro UV-visível, UV-1601PC Shimadzu.

2.2. MÉTODOS

2.2.1. AMOSTRAGEM

Os solos (latossolo vermelho destroférrico) [29], utilizados neste trabalho foram coletados no município de Caibaté, localizado na Região das Missões, noroeste do Estado do Rio Grande do Sul. Foram coletados em torno de 2 kg em cada ponto de amostragem, guardados em recipiente de vidro, sendo posteriormente estocados sob refrigeração a – 4 ^{0}C. As coletas das amostras de solo foram realizadas sempre nos mesmos locais, na profundidade de aproximadamente a 10 cm da superfície do solo), por quarteamento, em diferentes estações do ano, conforme apresentado na Tabela 1. A Tabela 2 apresenta as condições climáticas nos dias de cada coleta.

Tabela 1: Amostragem do solo no município de Caibaté (datas das coleta e códigos das amostras). Ponto 1- *plantio convencional*; Ponto 2- *plantio direto* e Ponto 3- *plantio semi-direto*.

Data	**Ponto 1** (plantio convencional)	**Ponto 2** (plantio direto)	**Ponto 3** (cultivo mínimo)
28-07-2000	1A	2A	3A
16-10-2000	1B	2B	3B
15-11-2000	Ñ	Ñ	3C
30-05-2001	1D	2D	3D
03-11-2001	1E	2E	3E

Tabela 2: Condições climáticas nos dias de coleta das amostras de solo.

Data	**Condições climáticas**
28-07-2000	(± 10 ^{0}C), seco (manhã)
16-10-2000	(± 30 ^{0}C), seco (manhã)
15-11-2000	(± 30 ^{0}C), úmido (tarde)
30-05-2001	(± 10 ^{0}C), seco (tarde)
03-11-2001	(± 30 ^{0}C), seco (tarde)

Após a primeira coleta de solo em cada ponto foi realizado a análise físico-química e granulométrica de cada amostra individualmente (Tabela 3).

Tabela 3: Características físico-químicas de cada solo da primeira coleta (28-07-2000) analisados em 31-08-2000 (Laboratório de análise de solo, Faculdade de Agronomia – UFRGS, Porto Alegre):

Propriedades das amostras de solo	amostra 1 A PC	amostra 2 A PD	amostra 3 A CM
pH em água	4,8	6,0	5,1
Argila %	73,0	56,0	61,0
Silte %	14,0	30,0	21,0
Areia % (fina + grossa)	13,0	14,0	18,0
Matéria Orgânica %	2,0	2,3	3,3
CTC ($cmol_c\ L^{-1}$)	9,7	11,5	13,5

PC= plantio convencional; **PD**= plantio direto e **CM**= cultivo mínimo.

CTC= capacidade de troca de cátions

2.2.2. EXTRAÇÃO DOS PESTICIDAS DO SOLO

A extração dos pesticidas dos solo foi realizada utilizando-se as técnicas de extração por Soxhlet, banho de ultra-som e por sonda de ultra-som descritas a seguir. Antes de cada extração todas as amostras de solo foram pesadas, secadas (12 horas) à temperatura ambiente e trituradas com gral e pistilo.

2.2.2.1. EXTRAÇÃO COM APARELHAGEM SOXHLET

A extração com Soxhlet é uma das técnicas extrativas mais antigas (EPA-método 3540C). Neste método a amostra sólida é colocada em cartucho pré-extraído, diretamente em um tubo extrator e submete-se a amostra à sucessivas extrações pela evaporação e condensação do solvente. Neste trabalho, esta técnica está sendo utilizada como referência [9, 10, 11] de modo a comparar seus resultados com os obtidos pelas extrações por ultra-som. A extração por Soxhlet foi realizada utilizando-se diclorometano (DCM) como solvente à temperatura de ebulição. As condições são apresentadas na Tabela 4 (Procedimento 1). Após a extração, o extrato foi concentrado a aproximadamente 2 mL, em rota-vapor, e transferido

quantativamente para balão volumétrico de 1 mL. Seu volume reduzido a 1 mL sob leve fluxo de N_2.

2.2.2.2.EXTRAÇÃO COM BANHO DE ULTRA-SOM

A extração com banho de ultra-som permite maior eficiência no contato sólido e solvente [8, 11, 12]. A amostra é colocada em frascos de *teflon* juntamente com o solvente extrator e o sistema é sonicado. Após o tempo de sonicação, o sistema é centrifugado para separar o sobrenadante da amostra sólida

Na Tabela 4 são apresentadas as condições de extração para quatro diferentes procedimentos utilizando ultra-som (Procedimentos 2, 3, 4 e 5). Após cada etapa de extração, o sobrenadante foi transferido quantitativamente com pipeta Pasteur para um frasco apropriado. O extrato foi passado em coluna de sulfato de sódio anidro (preparada com aproximadamente 6 g de sulfato de sódio, previamente seco por 24 horas em forno à 400 ^{0}C. O sulfato é acondicionado em uma coluna de vidro tendo no fundo uma pequena quantidade de lã de vidro extraída com diclorometano) e reduzido sob leve fluxo de N_2 à 1 mL min^{-1}. Nos casos em que foram realizadas duas extrações, os extratos foram combinados antes da redução ao volume final.

2.2.2.3. EXTRAÇÃO COM SONDA DE ULTRA_SOM

A sonda de ultra-som é uma técnica que faz uso de ondas sonoras de alta freqüência, o que possibilita maior rapidez no preparo de amostras. O uso de ondas de alta potência causam mudança físicas e químicas permanentes por que produzem cavitação (cálculo da energia utilizada, para a implementação da técnica extrativa, está colocado em anexo) [8].

A Tabela 4 apresenta as condições de extração utilizando a sonda de ultra-som (Procedimento 6). Após cada etapa de extração, o sobrenadante foi transferido quantitativamente com pipeta Pasteur para frascos âmbar. Os extratos da amostra foram combinados e passados em coluna contendo 6 g de sulfato de sódio anidro. O volume foi reduzido quase a secura com N_2 e rediluído a 5 mL com água de alta pureza (resistividade 18,2 MΩ). Este extrato foi passado por cartucho C_{18} 500 mg (previamente condicionado com 2 mL de metanol e 10 mL de água).

Tabela 4 – Condições de extração utilizadas nos procedimentos por Soxhlet, banho e sonda de ultra-som.

	Técnicas de Extração	Massa de solo(g)	Solvente	Volume de solvente (mL)	Tempo de extração (min)	Centrifugação		Fortificação
						Tempo (min)	Velocidade (rpm)	
Procedimento 1	**Soxhlet**	30	DCM	250	1440	-	-	Não
Procedimento 2	**Banho de Ultra-som**	5	Acetona/ hexano/ DCM	10	20	15	4000	Não
Procedimento 3	**Banho de Ultra-som**	10	Acetona/ ACN/ hexano/ DCM	2 X 10	15	15	4000	Não
Procedimento 4	**Banho de Ultra-som**	2	acetona	30	60	60	4500	Sim
Procedimento 5	**Banho de Ultra-som**	2	DCM/ acetona/ hexano	2 X 15	30	30	1500	Sim
Procedimento 6	**Sonda de ultra-som**	10	Acetona/ metanol	2 X 15	3	40	4000	Sim

2.2.3. EXTRAÇÃO DO ENXOFRE ELEMENTAR PRESENTE NO SOLO

A presença de enxofre nas amostras de solo, e consequentemente nos extratos que serão injetados no cromatógrafo à gas, pode danificar a fase estacionária da coluna. Devido a isso faz-se necessário procedimento prévio para a remoção do enxofre nas amostras. Este procedimento foi realizado para todas as amostras processadas. O enxofre presente no solo é retido em coluna de cobre, baseando-se no princípio da reatividade entre $S_{(s)}$ e $Cu_{(s)}$ com formação de sulfeto de cobre. A reação é rápida e ocorre em meio ácido. Este procedimento é realizado com o objetivo de evitar que a presença do enxofre possa causar danos eventuais na coluna cromatográfica. Desta forma, o enxofre elementar nos extratos das amostras foi retirado segundo o seguinte procedimento:

ativação do cobre: em becker adicionar aproximadamente 5 g de cobre (grânulos metálicos com diâmetro médio de 0,9 mm) da LECCO, adicionar HCl concentrado até cobrir todo o cobre; agitar, deixar em repouso (1 minuto), retirar o HCl; a operação deve ser repetida se o cobre não ficar totalmente brilhante. Adicionar metanol até cobrir o cobre, agitar, deixar em repouso (1 minuto), retirar o metanol; adicionar acetona para retirar o metanol (3 lavagens). Lavar com diclorometano.

Retirada do Enxofre: colocar o cobre ativado (5 g) em uma coluna de vidro, previamente preenchida, na parte inferior, com lã de vidro; lavar com diclorometano (10 mL); adicionar a amostra com pipeta Pasteur e coletar a amostra em balão de rota-vapor (gotejamento lento); lavar com 5 a 10 mL de diclorometano para a saída total da amostra, coletado no balão de rotavapor; concentrar no rota-vapor, para posterior rediluição no solvente desejado. O escurecimento do cobre indica a presença de enxofre.

2.2.4. PREPARO DAS SOLUÇÕES PADRÃO

2.2.4.1. SOLUÇÃO ESTOQUE

Para cada pesticida foi preparada uma solução padrão estoque individual em seu respectivo solvente com uma concentração de 1000 mg L^{-1}. As soluções foram armazenadas a 4 ^{0}C. Os solventes utilizados foram: acetona para tiabendazole, monocrotofós, imazetapir e triadimenol; metanol para o lufenuron .

2.2.4.2. SOLUÇÃO DE TRABALHO

As soluções de trabalho dos padrões analisados no HPLC-UV, foram preparadas a partir da diluição das soluções estoque com água de alta pureza (água de Milli-Q). As soluções de trabalho dos padrões analisados no GC-MSD foram obtidas a partir da diluição das soluções estoque, nos seus respectivos solventes.

2.2.5. ANÁLISE POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA

As curvas de calibração foram obtidas individualmente ou como uma mistura de padrões, dependendo da metodologia de trabalho empregada em cada caso.

Para os pesticidas analisados no HPLC-UV utilizou-se o método da padronização externa.

2.2.5.1. IMAZETAPIR

A partir da solução estoque em acetona do herbicida na concentração 1000 mg L^{-1} foram preparadas soluções de concentrações (10,0 - 20,0 - 30,0 - 50,0 - 80,0) μg L^{-1} em água de alta pureza (Milli-Q). O pH foi levado a 3 com H_2SO_4, 0,1 mol L^{-1} e a solução foi analisada por HPLC-UV nas seguintes condições: fase móvel, acetonitrila/água/ácido fórrmico (30:68:2) com pH 3, corrigido com uma solução de NaOH mol L^{-1}; volume de injeção de 50 μL; vazão de 1mL min^{-1} (isocrático); temperatura do forno de 30 ^{0}C; detector UV, no comprimento de onda de 254 nm; coluna Nucleosil C18 5 μm (250 x 4,6 mm) SUPELCO Inc. e pré-coluna ODS (com recheio Hyperpreb C18 sílica, 30 μm) [43].

2.2.5.2.LUFENURON

A partir de uma solução estoque de 1000 mg L^{-1} em metanol, foram preparadas as soluções padrões de (2,5 – 5,0 – 10,0 – 20,0 – 50,0 – 100 - 150) μg L^{-1}, em metanol. A solução foi analisada por HPLC-UV, nas seguintes condições: fase móvel, solução de

acetonitrila/água (80:20 v/v); volume de injeção= 50 μL; vazão de 1 mL min^{-1}; temperatura do forno de 30 ^{o}C; detector ultra-violeta no comprimento de onda de 255 nm; coluna Nucleosil C18 5 μm (250 x 4,6 mm) Supelco Inc. e pré-coluna ODS (com recheio Hyperpreb C18 sílica, 30 μm).

2.2.6. CROMATOGRAFIA GASOSA COM DETECTOR DE MASSAS

Na Cromatografia gasosa dentre vários tipos de detectores seletivos de massas usados, neste trabalho foram utilizados o quadropolo e o íon trap.

O quadropolo é um sistema que usa o campo elétrico para separar os íons de acordo com seus valoes m/z. O quadropolo consiste em quatro barras cilíndricas ou hiperbólicas, dispostas geometricamente como se estivessem nos vértices de um quadrado. Ao percorrerem este caminho os íons são separados. Os polos tem uma diferença de potencial fixa e uma rádio frequência alternada, dependendo do campo elétrico produzido, somente íon com uma particular m/z podem ser focalizados no detector, todos os outros íons são direcionados para as placas e assim eliminados. Pela variação da força e frequência do campo elétrico, diferentes íons podem ser detectados resultando no seu espectro de massas. A trajetória do íon através do quadropolo é muito complexa (ver figura) [44].

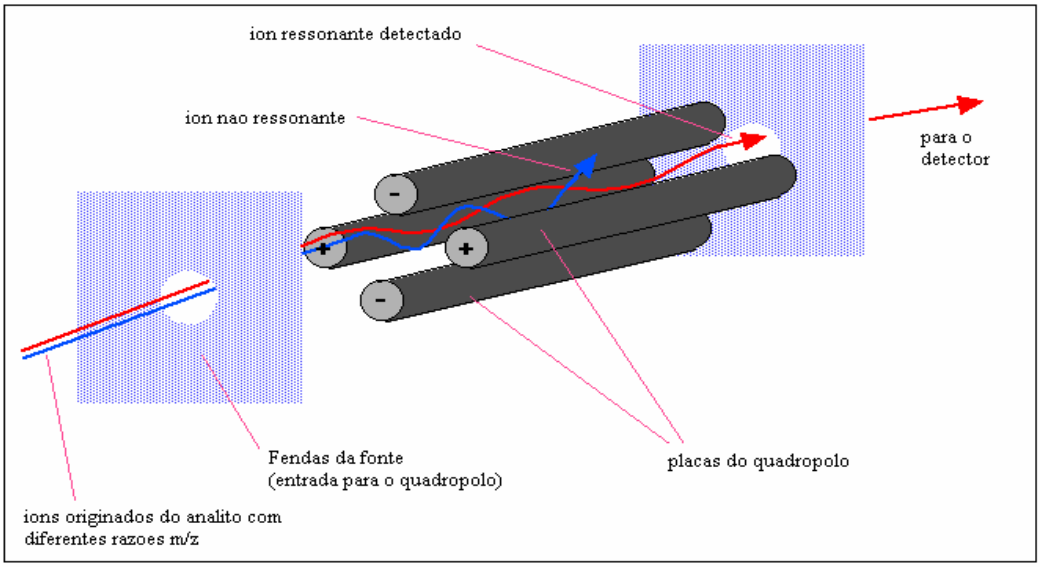


Figura 2: Diagrama esquemático de um sistema analisador de massas “quadropolo”.

O analisador de massas do tipo “ion trap”, consiste de três eletrodos hiperbólicos: o eletrodo de anel; o eletrodo recoberto de entrada e o eletrodo recoberto de saída. Estes eletrodos formam a cavidade na qual é possível o trapeamento e a análise dos íons. Ambos os eletrodos recobertos possuem um pequeno orifício em seus centros através dos quais os íons podem passar. O eletrodo de anel é localizado no meio do caminho entre os dois eletrodos recobertos (ver figura). Várias voltagens são aplicadas ao eletrodo do trap e os íons são ejetados de acordo com a razão m/z. A trajetória do íon depende do potencial do trap e da razão m/z. Durante a detecção os potenciais do sistema de eletrodo podem produzir instabilidades na trajetória dos íons e deste modo os íons são ejetados em direção axial. Os íons são ejetados na ordem do aumento da razão m/z, focalizados nas lentes de saída e detectados pelo sistema de detecção dos íons [44].

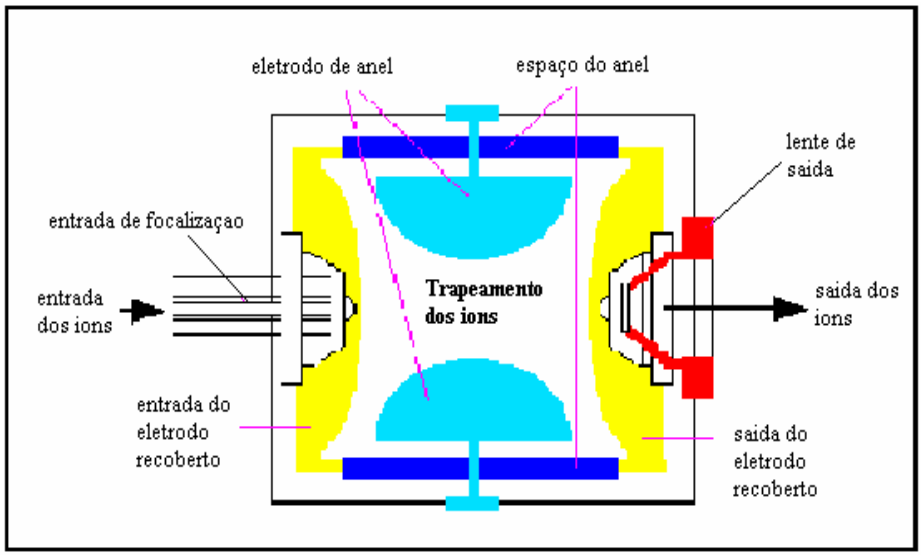


Figura 3: Componentes básicos de um espectrômetro de massas “ion trap”.

Os pesticidas listados na Tabela 5, foram analisados por GC-MSD, numa única corrida cromatográfica, juntamente com o padrão interno (P.I) aldrin, uma vez que para a quantificação foi utilizado o método de padronização interna.

O equipamento para cromatografia gasosa, Agilent modelo 6890, permite que seja feita a análise no modo FULL-SCAN que é o íon total, não havendo distinção dos íons (m/z) a serem monitorados. Neste método a sensibilidade é baixa, ou seja, são necessárias concentrações maiores (na faixa de mg L^{-1}) para que os compostos sejam detectados.

Para que se possa trabalhar com concentrações menores (μg L^{-1}) tem-se a opção do modo "SIM" onde pode-se fazer o monitoramento individual de cada íon, na mesma corrida. Neste caso, os íons a serem monitorados (*m/z*) para cada composto, são previamente estabelecidos.

2.2.6.1. CONSTRUÇÃO DO "MÉTODO 1"

O método do íon total, denominado de "Método 1", teve as seguintes condições instrumentais: 100 ^{0}C por 5 minutos, aquecimento a 15 $^0C^{-1}$ min, até 190 ^{0}C mantendo-se esta temperatura por 15 minutos, seguido do aquecimento a 15 ^{0}C min^{-1} até 300 ^{0}C permanecendo nesta temperatura por 2minutos. Pressão constante de 1 mL min^{-1}; injetor: 250 ^{0}C; modo de injeção: splitless; coluna: HP-5 MS (30 m x 0,25 mm x 0,25 μm); energia de 600 eV adicionada à multiplicadora de íons; temperatura da interface em 300 ^{0}C. Os dados dos tempos de retenção e íons selecionado para cada composto, nas condições de análise acima descritas, são dados na Tabela 5

2.2.6.2.CONSTRUÇÃO DO "MÉTODO 2"

O método de monitoramento de íons denominado "SIM" (Método 2), foi construído levando em consideração os tempos de retenção e íons (m/z) característicos para cada composto.

Tabela 5. Íons e tempos de retenção selecionados para cada composto, analisados pelo "método do íon total" GC-MSD:

Cas. N^o: do inglês Chemical Abstracts	**Compostos**	**Íon (m/z)**	**Tempo de Retenção (minutos).**
6923-22-4	monocrotofós (Nuvacron)	**127**	13,02
309-00-2	aldrin (P.I.)	**263**	19,72
148-79-8	tiabendazole (Tecto)	**201**	23,67
55219-65-3	triadimenol (Baytan)	**112**	23,87

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1. ESTABELECIMENTO DAS CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS

3.1.1. ANÁLISE POR CROMATOGRAFIA GASOSA COM DETECTOR SELETIVO DE MASSAS

As condições de análises por cromatografia a gás com detector seletivo de massas (GC-MSD) foram otimizadas utilizando-se solução mista dos padrões: tiabendazole; monocrotofós e triadimenol. Nas condições descritas em **2.2.6.1**.

Considerando-se a necessidade da determinação de baixos valores de concentração, foi utilizado o método do monitoramento de íons previamente descrito, no item **2.2.6.2.**

A Figura 4 apresenta o cromatograma da mistura padrão contendo tiabendazole; monocrotofós; triadimenol e aldrin como padrão interno, nas condições cromatográficas acima descritas, utilizando-se o método de monitoramento de íons (SIM). O limite de detecção para os compostos analizados por GC-MSD foram de 1 μg L^{-1}.

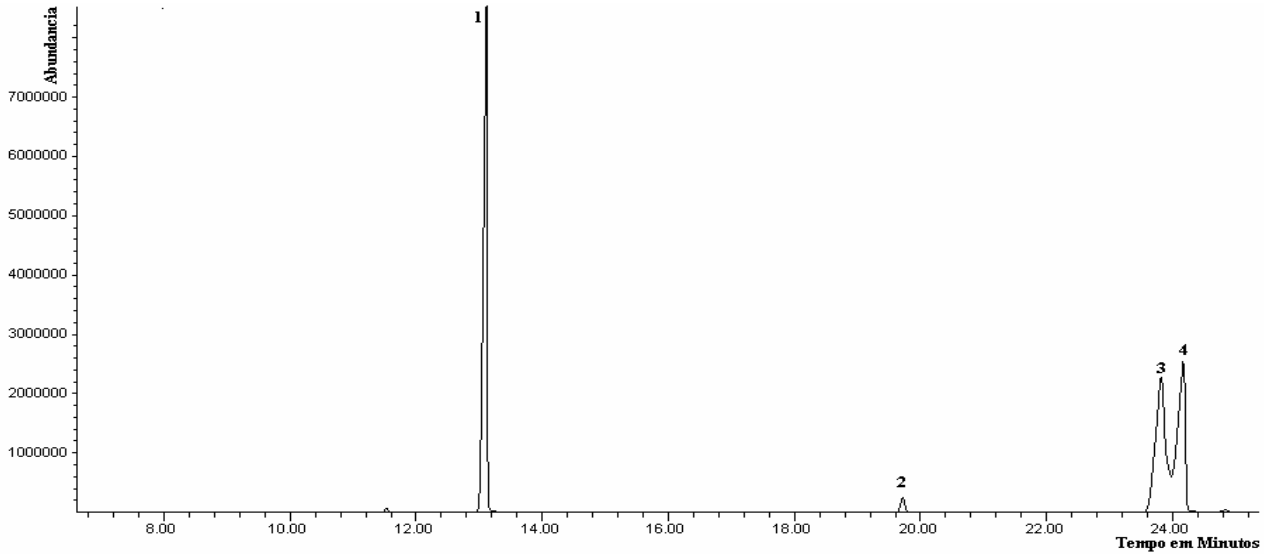


Figura 4 – Cromatograma obtido por GC-MSD, da mistura de padrões de pesticidas. Os picos referem-se aos seguintes compostos: 1) monocrotofós, 2) Aldrin (P.I.), 3) tiabendazole e 4) triadimenol. Nas concentrações de (70, 10, 50, 50) μg L^{-1}, respectivamente.

3.1.1.1. - ESCOLHA DO SOLVENTE EXTRATOR

3.1.1.1.1. EXTRAÇÃO COM SOXHLET

Na extração com soxhlet, utilizou-se apenas diclorometano como solvente extrator, em conformidade com a literatura para este tipo de extração.

Os cromatogramas (GC-MSD) das amostras 1 A, 2 A e 3 A estão apresentados na figura 3. Para estas amostras foi utilizado o procedimento 1. A amostra 1 A foi analisada nas seguintes condições: injetor = 250 ^{0}C; programa de temperatura da coluna: 70 ^{0}C por 5 minutos, aquecimento de 5 ^{0}C min^{-1} até 150 ^{0}C, aquecimento de 10 ^{0}C min^{-1} até 250 ^{0}C e mantida por 4 minutos. As amostras 2 A e 3 A foram analisadas nas seguintes condições: injetor = 250 ^{0}C; programa de temperatura da coluna: 60 ^{0}C por 1,53 minutos, aquecimento de 28 ^{0}C min^{-1} até 130 ^{0}C, aquecimento de 10 ^{0}C min^{-1} até 180 ^{0}C, seguida de aquecimento de 4 ^{0}C min^{-1} até 300 ^{o}C e mantida por 12 minutos.

Observando a Figura 5, verifica-se que não há variação significativa no perfil cromatográfico das amostras, o que pode ser considerado um indicativo de que distintos manejos aplicados, não afetam a composição do solo.

A análise do espectro de massas dos compostos presentes nestas amostras, e sua comparação com a biblioteca NIST, permitiu verificar a presença de ácidos carboxílicos, álcoois e acetaldeídos. Estas substâncias confirmam a presença de ácidos húmicos neste tipo de amostra, conforme citado por Chiavari et al.(1994) [44].

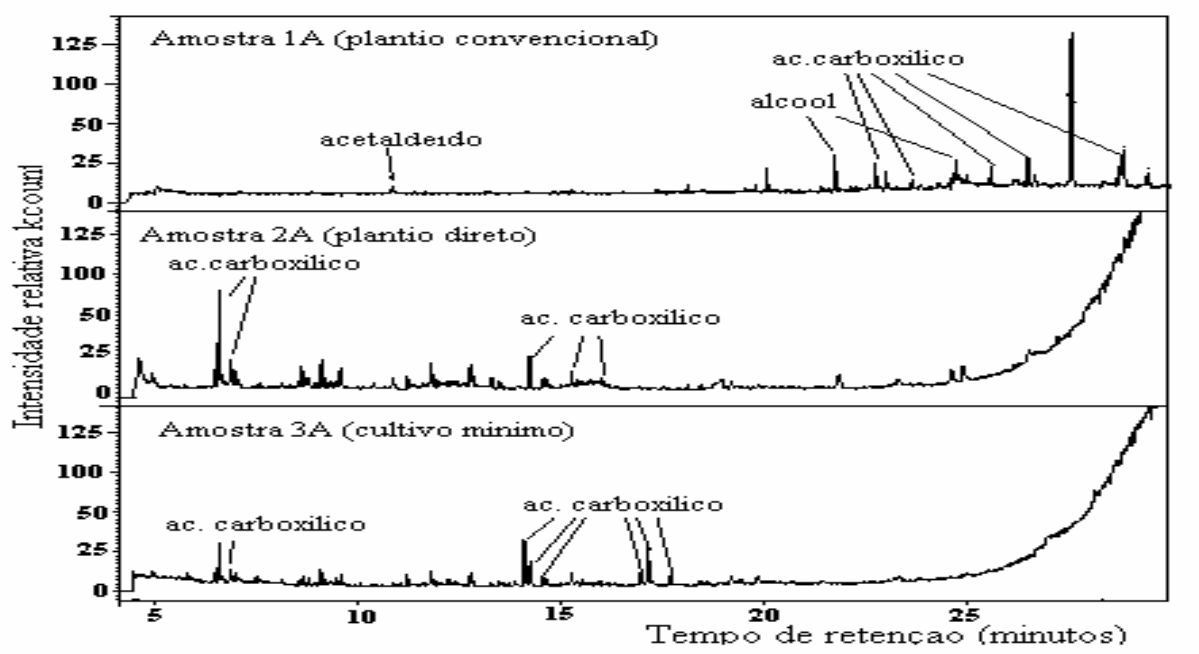


Figura 5 – Cromatogramas obtidos por cromatografia gasosa com detector seletivo de massas (GC-MSD) modo SCAN, dos extratos das amostras 1 A, 2 A e 3 A, utilizando o procedimento 1 como método de extração.

3.1.1.1.2. EXTRAÇÃO COM BANHO DE ULTRA- SOM

A amostra 1A foi extraída conforme o procedimento 3, partindo-se de 10 gramas de solo seco e moído. As amostras 2 A e 3 A, foram extraídas pelo procedimento 2, utilizando-se 5 gramas de solo seco e moído. Acetona, hexano e diclorometano, foram utilizados como solventes extratores. A Figura 7 apresenta os cromatogramas destas amostras.

Os resultados demonstram que os extratos obtidos com hexano (Figura 4 B), apresentam maior números de picos referentes a ácido e fenóis, certamente provenientes da fração orgânica presente no solo [2].

O cromatograma do extrato obtido com diclorometano (Figura 6 C), apresenta menor número de picos com relação ao extrato com hexano (Figura 6 B) e semelhante ao extrato obtido com acetona (Figura 6 A). Desta forma, o solvente DCM foi selecionado como solvente extrator, uma vez que extrai menores quantidades de substâncias húmicas, as quais poderão interferir na identificação e quantificação dos analitos de interesse. Além disso, a presença destes compostos podem danificar a coluna cromatográfica.

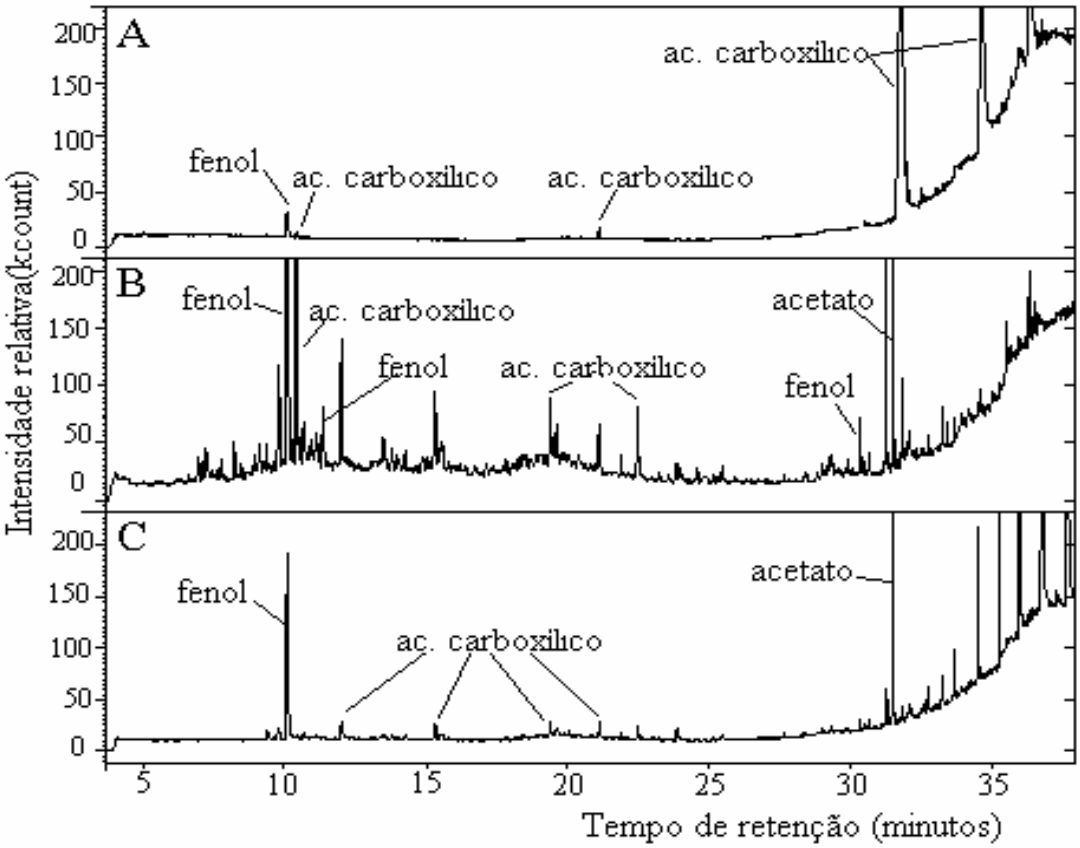


Figura 6 – Cromatogramas obtidos por cromatografia a gás com detector seletivo de massas (GC-MSD) modo SCAN, da amostra 2 A extraída com banho de ultra-som. Os solventes extratores utilizados foram: A) acetona; B) hexano; C) diclorometano.

3.1.1.1.3. EXTRAÇÃO COM SONDA DE ULTRA-SOM

A extração com sonda de ultra-som foi conduzida com 10 g de amostra, previamente seca e moída. Como solvente extrator foi utilizado diclorometano, definido como melhor solvente extrator nos experimentos anteriores com ultra-som.

Paralelamente, foram realizados experimentos de extração, com intuito comparativo, com soxhlet, banho de ultra-som e com sonda de ultra-som. Nas amostras de solo, foi adicionado 1 mL de padrão interno (aldrin – P.I.), dissolvido em acetona, na concentração de 10 μg L^{-1}.

Os extratos obtidos, foram analisados por cromatografia a gás com detector seletivo de massas no modo de monitoramento de íons (método 2). Os cromatogramas estão apresentados na Figura 7.

No cromatograma da Figura 5 B, além do pico do PI adicionado, foi também identificado o pico, referente ao composto triadimenol (m/z = 112).

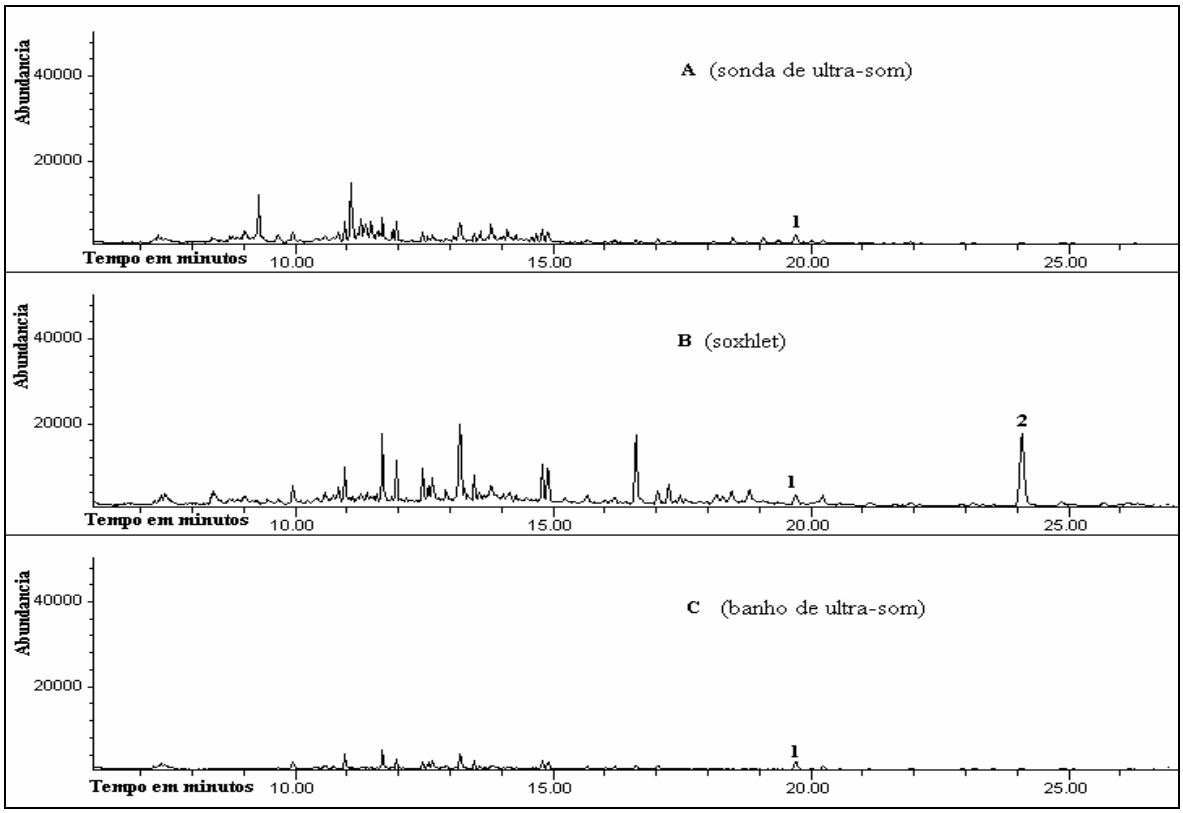


Figura 7 – Comparação dos cromatogramas (GC-MSD) modo SIM, para os três sistemas de extração: (**A**) extração com sonda de ultra-som; **B)** extração com Soxhlet e **C)** extração com banho de ultra-som, **"Método 2"**, da amostra de solo (2 E). Foi adicionado padrão interno **(1)** na concentração de 10 μg L^{-1}. Solvente extrator: diclorometano.

3.1.1.2. - DETERMINAÇÃO DA RECUPERAÇÃO DOS PROCESSOS DE EXTRAÇÃO

A determinação da recuperação para cada sistema de extração (soxhlet, banho e sonda de ultra-som), foi conduzida após a definição dos parâmetros de extração (solvente e tempo de extração). A seguir são descritos os procedimentos realizados em cada sistema.

(A) SOXHLET

Amostras de solo (10 g), previamente secas e moídas, foram fortificada com 1 mL de solução padrão de cada pesticida na concentração de 250 μg L^{-1}, o solvente de contaminação foi evaporado à temperatura ambiente (8 horas) e submetidos a extração conforme indicado no item **2.2.2.1** e Tabela 4.

(B) BANHO DE ULTRA-SOM

As amostras de solo (10 g), foram inicialmente fortificada com 1 mL de solução padrão contendo: padrão interno (40 μg L^{-1}); ácido 2,4 diclorofenóxiacético (100 μg L^{-1}); triadimenol (100μg L^{-1}); monocrotofós (40 μg L^{-1}) e tiabendazole (100 μg L^{-1}). O solvente de contaminação foi evaporado à temperatura ambiente (8 horas) A seguir cada amostras foi extraída com acetona, hexano e diclorometano segundo o procedimento 5. Os extratos foram analisados por cromatografia a gás com detector seletivo de massas (GC-MSD) no modo de monitoramento de íons (“**método 2**”).

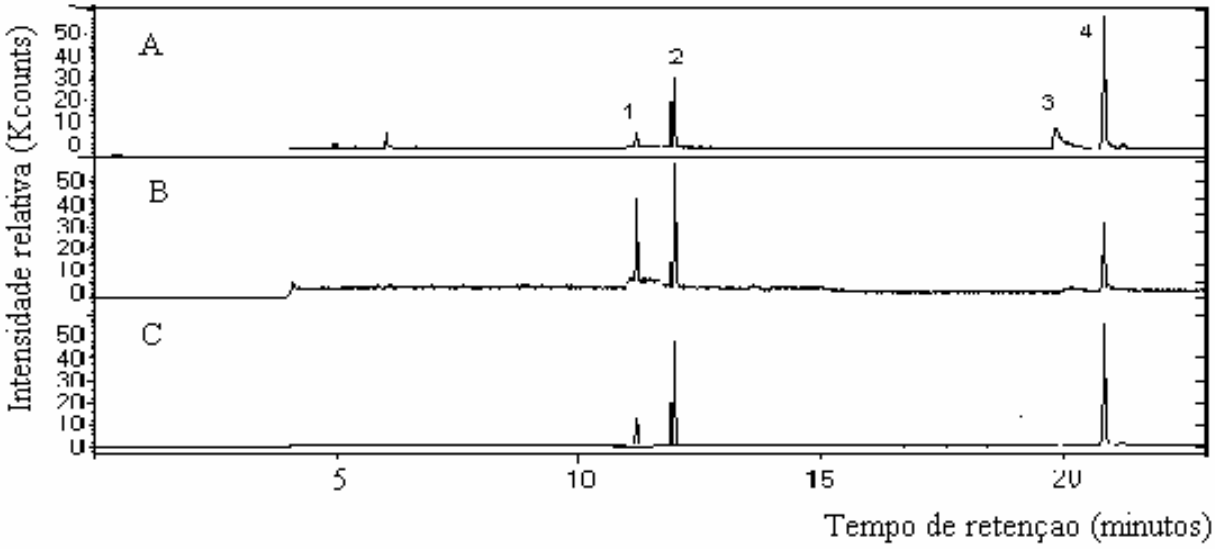


Figura 8 – Cromatograma obtido por GC-MSD, com monitoramento de íons, da amostra 1 A, com diferentes solventes extratores. A) acetona; B) hexano e C) diclorometano. Mistura padrão: 1) monocrotofós; 2) P.I.(tribromofenol derivatizado na forma éster); 3) tiabendazole e 4) triadimenol.

Inicialmente, para se conseguir uma melhor resposta quantitativa na cromatografia gasosa para os compostos monocrotofós, triadimenol e tiabendazole, utilizou-se o tribromofenol (TBF) como padrão interno. Porém como o tempo de retenção deste composto, nas condições cromatográficas otimizadas, era muito próximo ao tempo de retenção do monocrotofós, foi necessário a mudança do padrão interno. Passou-se então, a utilizar o "aldrin", o qual apresentou boa reprodutibilidade e não coeluição com os picos de interesse. Além disto, a solução padrão de aldrin em acetona mostrou-se bastante estável quanto ao armazenamento, o que também é uma vantagem frente ao tribromofenol que apresenta degradação mais rápida.

A análise dos cromatogramas apresentados na Figura 8, permitiu verificar que a acetona é o melhor solvente extrator, para os pesticidas em estudo. No entanto, a escolha foi pelo diclorometano, pois a acetona apresentou problemas na extração quando o lufenuron está presente (estes resultados serão apresentados posteriormente). No procedimento de extração, 10 g de amostras de solo, previamente seco e moído, foram contaminados com 1 mL de solução da mistura padrão na concentração de 250 $\mu g\ L^{-1}$ e a extração foi conduzida conforme indicado no item **2.2.2.2** e Tabela 4.

(C) SONDA DE ULTRA-SOM

Amostras de solo (10 g), previamente secas e moídas, foram contaminadas com 1 mL de solução padrão de cada pesticida na concentração de 250 $\mu g\ L^{-1}$, o solvente de contaminação foi evaporado à temperatura ambiente (8 horas). Após, a extração foi conduzida conforme indicado no item **2.2.2.3** e Tabela 4.

As amostras foram processadas com triplicatas de amostras e triplicatas de análise. Os dados de recuperação obtidos estão apresentados na Tabela 6.

Tabela 6 – Recuperação para os pesticidas monocrotofós, tiabendazole e triadimenol, nos três processos de extração por: soxhlet, banho de ultra-som e sonda de ultra-som. Solvente extrator: diclometano.

	Recuperação %		
Compostos	**Soxhlet**	**Banho de ultra-som**	**Sonda de ultra-som**
monocrotofós	24,6	34,5	38,7
tiabendazole	13,00	24,7	46,3
triadimenol	25,5	37,9	56,4

Os dados da Tabela 6 indicam que as menores recuperações para os três compostos foram obtidas com a extração com soxhlet, enquanto que com a sonda de ultra-som os melhores valores foram obtidos. De um modo geral, as recuperações obtidas não foram satisfatórias. Isto pode ter ocorrido devido a forte interação destes compostos com a matéria orgânica.

3.1.1.3. - APLICAÇÃO DA METODOLOGIA

Para validação da metodologia implementada, as 12 amostras de solo, descritas na Tabela 1 foram analisadas em triplicata utilizando-se extração com banho de ultra-som e com sonda de ultra-som, que foram os que apresentaram melhores valores de recuperação, quando comparados com a extração com soxhlet. Os dados obtidos são apresentados na Tabela 7. As figuras 7 e 8 apresentam os gráficos comparativos para cada período de coleta.

Analisando as figuras 7, 8 e 9, é visto que a concentração dos analitos em estudo mostrou variações significativas quando extraído com as três técnica diferentes técnicas. Por exemplo, utilizando-se a sonda de ultra-som, o monocrotofós foi o que apresentou maior concentração. Já para a extração com o soxhlet, o pesticida de maior concentração foi o triadimenol. Porém, se compararmos as três técnicas de extração em relação aos três analitos em estudo, verifica-se que os analitos monocrotofós e triadimenol estão em maior concentração que nas amostras de solos analisadas. Tais diferenças podem ter ocorrido devido a heterogeneidade das amostras ou uma extração seletiva dos analitos por parte da técnica de extração. Cabe salientar que o analito tiabendazole não é extraído por diclorometano nas amostras estudadas, independente da técnica da extração

Tabela 7 – Valores das concentrações em μg kg^{-1} dos pesticidas monocrotofós, tiabendazole e triadimenol extraídos dos solos 1, 2 e 3 pelas técnicas de extração com soxhlet, banho e sonda de ultra-som.

Soxhlet

Pontos	28-07-2000			16-10-2000			30-05-2001			03-11-2001		
	1A	**2A**	**3A**	**1B**	**2B**	**3B**	**1D**	**2D**	**3D**	**1E**	**2E**	**3E**
Monocrotofós	193,75	2,64	n.d.	7,94	n.d.	n.d.	0,66	n.d.	0,049	0,23	0,09	n.d.
Tiabendazole	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Triadimenol	15,95	14,37	8,00	9,36	16,57	104,87	9,15	2,90	39,17	14,83	25,82	8,2

Concentração: μg mL^{-1}
n.d.: não detectado

Banho de ultra-som

Pontos	28-07-2000			16-10-2000			30-05-2001			03-11-2001		
	1A	**2A**	**3A**	**1B**	**2B**	**3B**	**1D**	**2D**	**3D**	**1E**	**2E**	**3E**
Monocrotofós	n.d.	n.d.	n.d.	0,64	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Tiabendazole	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Triadimenol	2,09 (29,12)	4,70 (26,57)	3,89 (14,83)	6,97 (33,11)	19,54 (140,86)	5,82 (51,08)	2,37 (26,04)	3,28 (8,58)	2,08 (9,64)	2,63 (7,81)	2,62 (61,75)	3,49 (17,92)

( ) %RSD

Sonda de ultra-som

Pontos	28-07-2000			16-10-2000			30-05-2001			03-11-2001		
	1A	**2A**	**3A**	**1B**	**2B**	**3B**	**1D**	**2D**	**3D**	**1E**	**2E**	**3E**
Monocrotofós	3,64 (36,31)	3,65 (50,86)	4,13 (110,32)	7,43 (92,64)	3,18 (20,21)	2,63 (36,62)	3,04 (19,20)	4,99 (16,60)	5,81 (22,21)	2,45 (24,52)	4,60 (9,90)	4,66 (12,77)
Tiabendazole	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Triadimenol	1,03 (15,67)	1,28 (29,13)	1,74 (28,32)	1,35 (23,82)	1,90 (12,28)	2,59 (25,17)	0,95 (13,28)	1,18 (25,95)	1,41 (14,16)	1,57 (14,28)	1,10 (2,33)	1,71 (10,44)

( ) %RSD

TRIADIMENOL: (GC-MSD)

Os dados considerados para o triadimenol, para a Cromatografia Gasosa, foram os resultados obtidos com a extração por sonda de ultra-som, por este ter apresentado melhor resultados de recuperação.

No ponto **1D** em maio/2001, a coleta foi realizada logo após a semeadura de trigo, por ser um solo de plantio convencional, ele pode ter sido usado em uma dose bastante elevada. Nos outros pontos também foi encontrado em valores razoáveis,.pois este pesticida é usado no tratamento de sementes, que teóricamente é usado em todos os tipos de manejo de solo e em todas as lavouras.

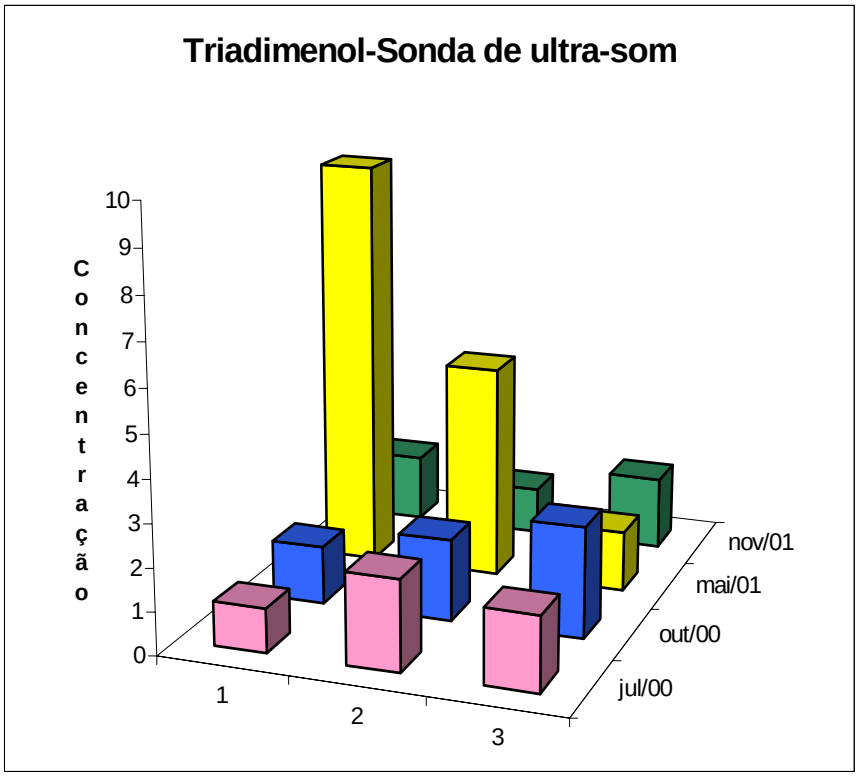


Figura 9: Gráfico dos valores obtidos em μg kg^{-1} do pesticida triadimenol, utilizando sonda de ultr a-som como procedimento de extração. Solvente extrator diclorometano.

MONOCROTOFÓS: (GC-MSD)

Para a análise dos dados obtidos para a Cromatografia Gasosa do monocrotofós, comparou-se os três processos de extração, onde a sonda de ultra-som apresentou melhores resultados, que também é corraborado com os resultados do % de recuperação.

O ponto **1B** foi uma coleta realizada logo após a aplicação na lavoura de milho. Comparando-se os pontos 1, 2 e 3, pode-se dizer que no ponto 1, no mês de outubro deve ter havido uma infestação maior de insetos, ou se usou uma dose elevada do inseticida neste período.

No ponto **3D** ocorre a mesma situação.

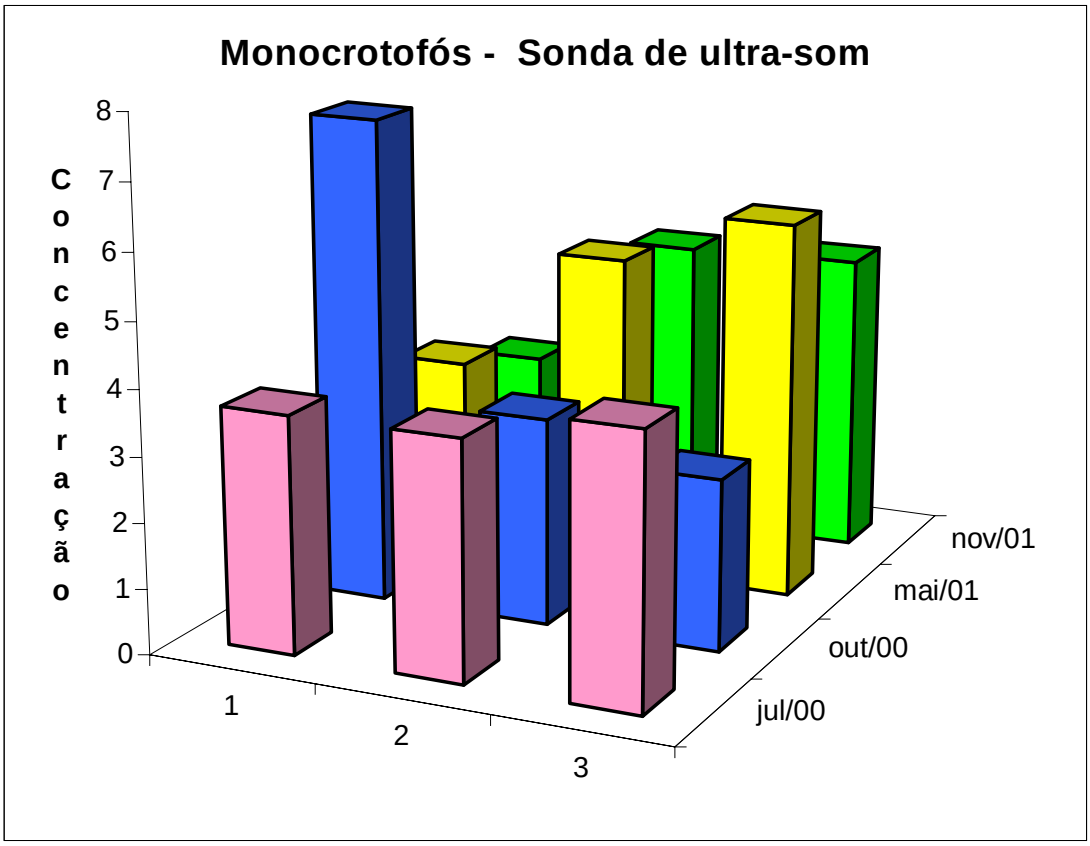


Figura 10: Gráfico dos valores obtidos em μg kg^{-1} do pesticida monocrotofós, utilizando sonda de ultra-som como procedimento de extração. Solvente extrator diclorometano.

3.1.2. ANÁLISE POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA

3.1.2.1. - IMAZETAPIR

Para o estabelecimento das condições de análise, partiu-se de dados da literatura que foram adaptados para cada caso, utilizando-se as soluções dos analitos em estudo.

A escolha dos comprimentos de onda de leitura para o detector de ultra violeta, foi realizado através do espectro eletrônico de cada composto em solução na fase móvel a ser utilizada na cromatografia líquida. A obtenção do melhor comprimento de onda, foi obtida num aparelho de espectofotômetro Shmadzu, UV-visível, cubeta de quartzo de 1 centímetro de espessura, feixe duplo, resolução 2 nm, largura da fenda 2 nm, detector de fotodiodo de silício (SiPD). Conforme a Figura 10, foram testados vários comprimentos de onda, onde os melhores resultados foram obtidos com o comprimento de onda de 254 nm, sendo o valor utilizado nas determinações do imazetapir, em cromatografia líquida com detector de ultra-violeta e visível.

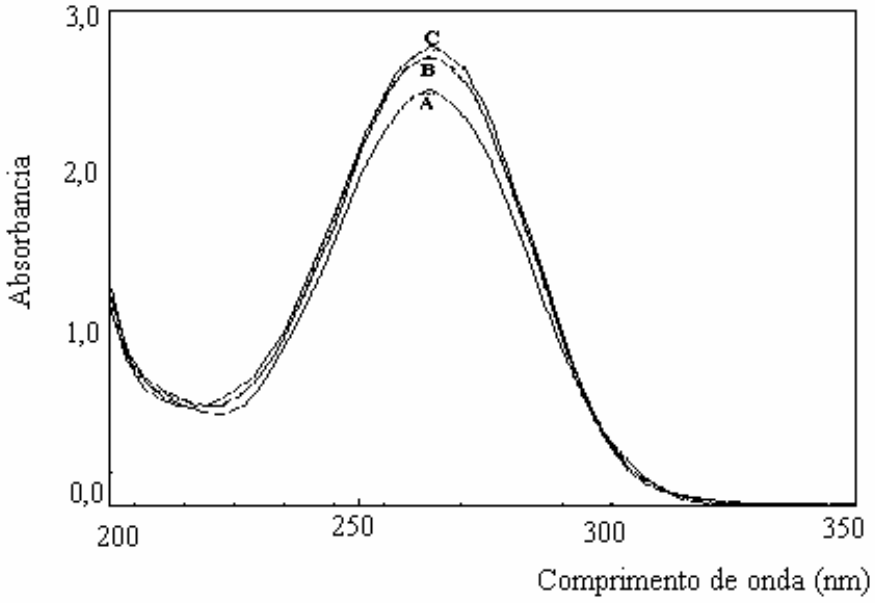


Figura 11 – Espectro eletrônico de solução padrão de imazetapir, na concentração de 10 mg L^{-1}, em solução de acetonitrila/água/ácido fórmico (30:68:2). **A**, **B** e **C** referem-se a três diferentes valores de pH (4, 3 e 2), respectivamente.

As condições analíticas para determinação do imazetapir, por cromatografia líquida, foram implementadas a partir das condições estabelecidas por Bresnahan et al (2000) [43].

Nas condições otimizadas a fase móvel foi acetonitrila/água/ácido fórmico na proporção (30:68:20) com pH ajustado em 3,0; coluna (C_{18}); volume da alça de injeção de 50 μL; detector de Ultra Violeta e Visível tendo como comprimento de onda de leitura, 254 nm e fluxo da fase móvel de 1mL min^{-1}.

A Figura 12 apresenta o cromatograma de uma solução padrão de imazetapir, obtido nas condições acima descritas.

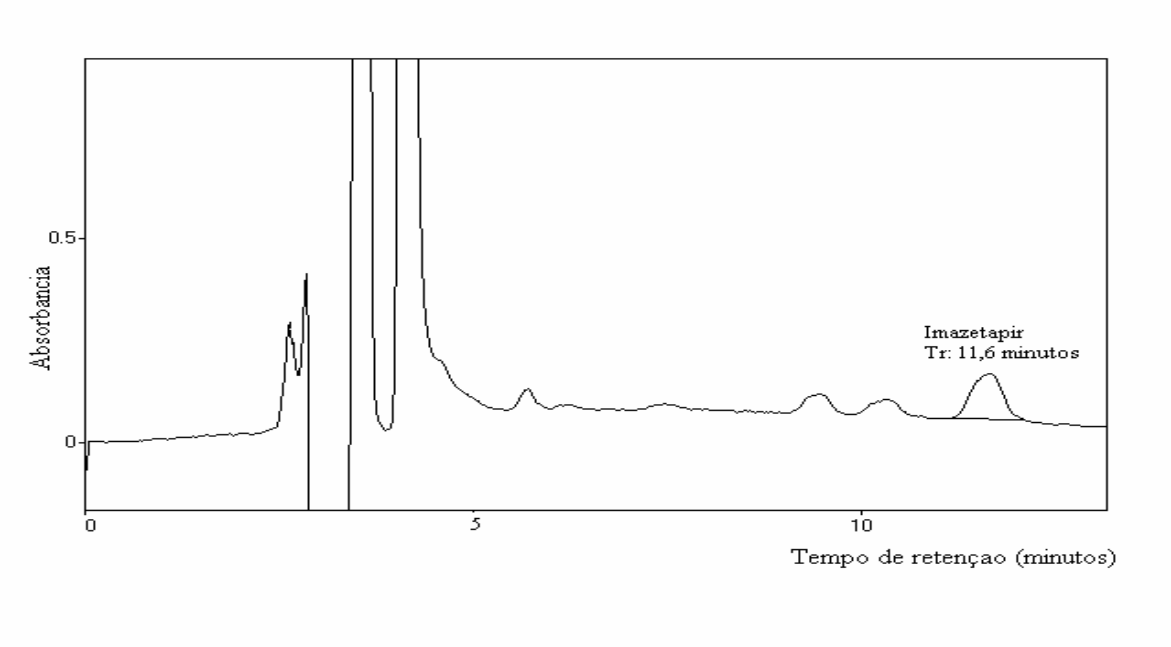


Figura 12 – Cromatograma obtido por HPLC-UV, da solução padrão de imazetapir, na concentração de 20 $\mu g.L^{-1}$, preparado com água Milli-Q em pH= 3.

3.1.2.2. - LUFENURON

O espectro eletrônico do lufenuron (Figura 13) mostrou o comprimento de onda de 211 nm como o de máxima absorção. Porém foi utilizado o comprimento de onda 255 nm para a análise deste analito no detector de UV na cromatografia líquida.

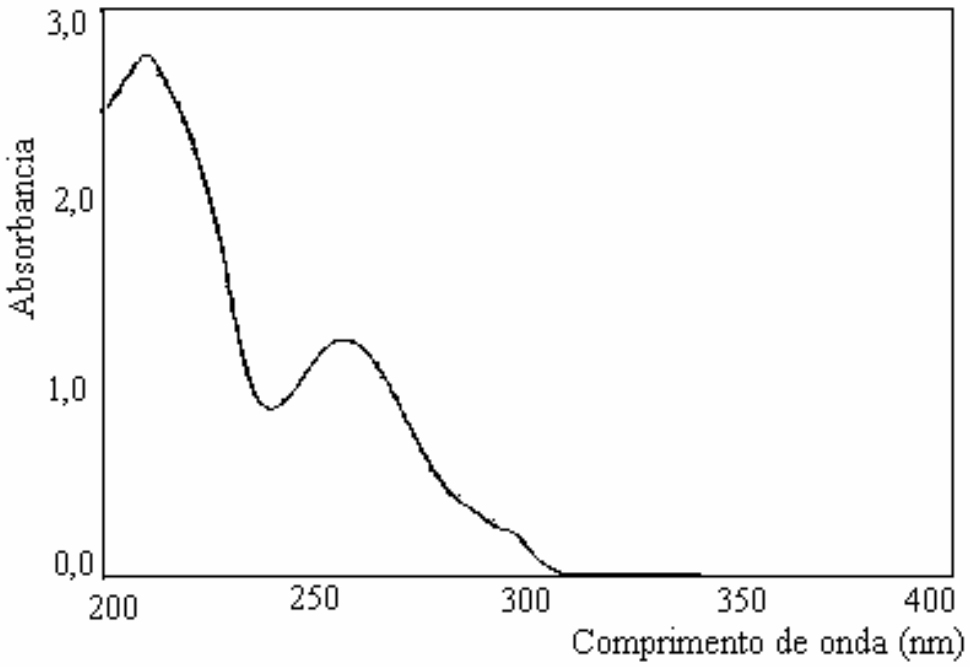


Figura 13: Espectro eletrônico da solução de lufenuron na concentração de 40 mg L^{-1} em acetonitrila/água (80:20).

As condições analíticas para determinação do lufenuron, por cromatografia líquida, foram implementadas a partir das condições estabelecidas pelo certificado de análise do padrão emitido por *Riedel-de Haen GmbH Analytical Department.* As melhores condições de análise foram: fase móvel acetonitrila/água (80:20 v/v) com fluxo de 1 ml min^{-1}; comprimento de onda de leitura de 255 nm; coluna C_{18} (250 mm x 4,6 mm) e 5 μm de tamanho de partícula e volume da alça de injeção de 50 μl. A Figura 13 apresenta o cromatograma de uma solução padrão de lufenuron por HPLC-UV nas condições descritas acima.

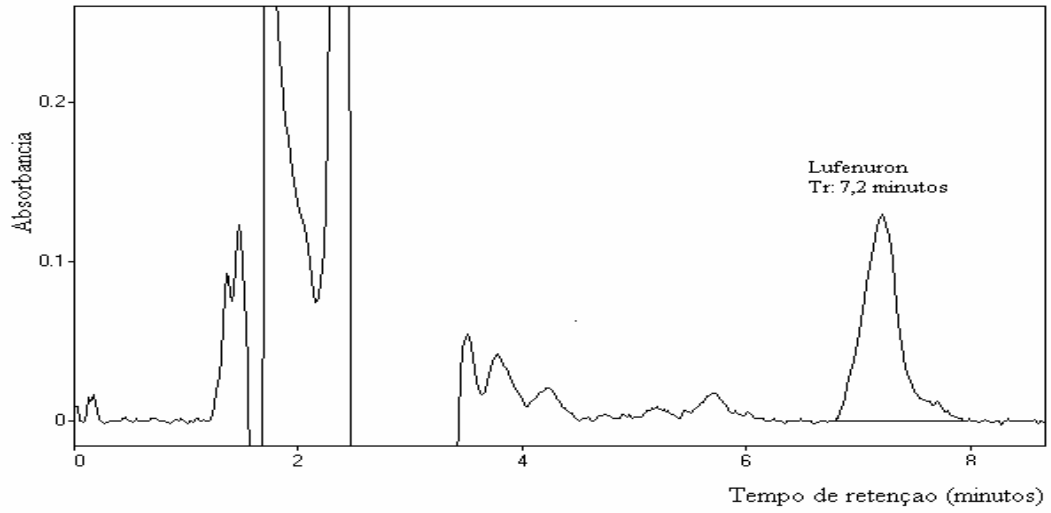


Figura 14 – Cromatograma obtido por HPLC-UV, da solução padrão de lufenuron, na concentração de 20 $\mu g.L^{-1}$, preparado com metanol.

3.1.2.3. - ANÁLISE QUANTITATIVA

A quantificação, por cromatografia líquida, foi realizada pelo método da padronização externa, com cinco níveis de calibração: 5 - 200 $\mu g.L^{-1}$.

As curvas de calibração para o imazetapir e lufenuron foram obtidas a partir das soluções padrão individuais conforme descrito no item **2.2.5.2** . Os limites de detecção (LD) foram determinados conforme descrito no mesmo item. O LD para o imazetapir foi de 10 μg L^{-1} para o lufenuron 1,0 μg L^{-1}.

As curvas de calibração foram estabelecidas considerando-se dados da literatura com relação a faixa de concentração que estes analitos poderiam ser encontrados, nas amostras de solo, bem como o limite de detecção individual, determinado. Para o imazetapir a faixa de concentração ficou entre 10,0 e 200,0 $\mu g.L^{-1}$, e para o lufenuron, entre 5,0 $\mu g.L^{-1}$ e 80,0 $\mu g.L^{-1}$. As figuras 14 e 15 apresentam as curvas de calibração para estes analitos.

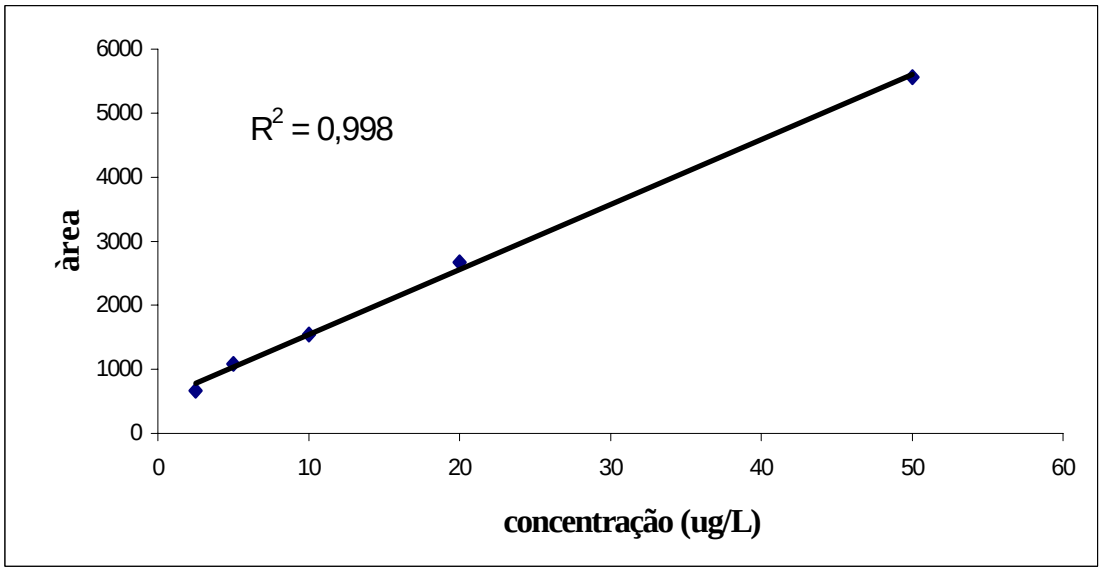


Figura 15 –Curva de calibração para o padrão de imazetapir obtida por HPLV-U; n= 3, RSD % = 0,56.

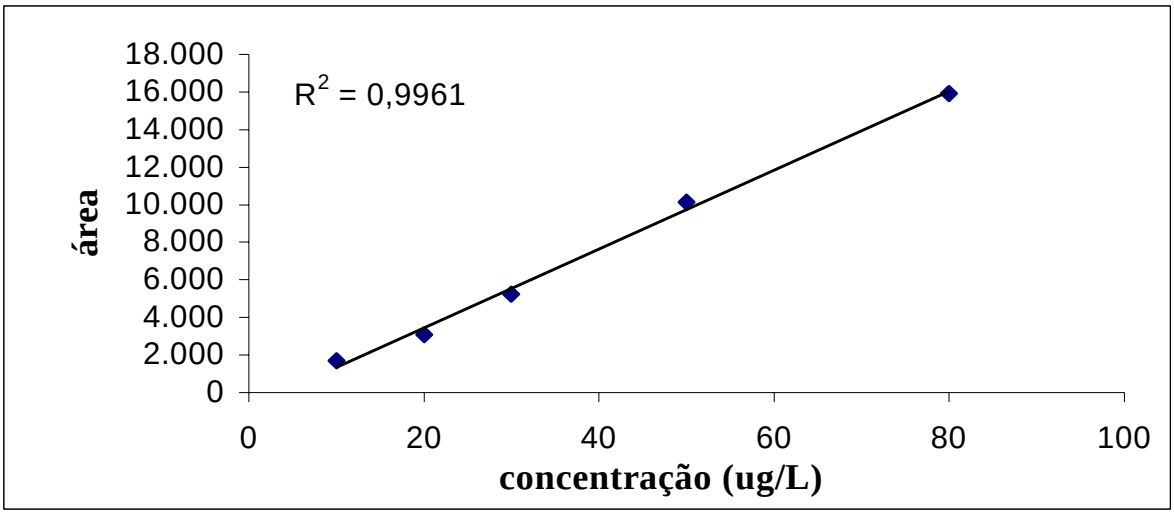


Figura 16 – Curva de calibração para o padrão de lufenuron obtida por HPLC-UV; n= 3, RSD % = 2,04.

Para ambos, os coeficientes de correlação obtidos (r^2 de 0.998 e 0,996 para imazetapir e lufenuron) respectivamente, foram considerados adequados para as quantificações destes analitos nos solos em estudo.

3.1.2.4. - ESCOLHA DO SOLVENTE EXTRATOR

A escolha do solvente extrator, foi conduzida da mesma forma descrita no item 3.1.1.1. Amostras de cada solo submetidas à extração com os três solventes extratores (hexano, diclometano e acetona), foram analisadas por cromatografia líquida nas condições estabelecidas nos itens 3.1.2.1 e 3.1.2.2.

3.1.2.5. - DETERMINAÇÃO DA RECUPERAÇÃO DOS PROCESSOS DE EXTRAÇÃO

A recuperação para os procedimentos de extração, foi conduzida conforme descrita no item 3.1.1.2, utilizando-se soluções padrão de lufenuron e imazetapir. Os resultados são apresentados na Tabela 8.

Tabela 8 – Recuperação para os pesticidas imazetapir e lufenuron nos três processos de extração utilizados, soxhlet,banho banho e sonda de ultra-som. Solvente extrator: diclometano.

	Recuperação %		
Compostos	**Soxhlet**	**Ultra-som**	**Disruptor**
Imazetapir	19,8	109,8	157,4
Lufenuron	132,9	65,0	14,1

Pode-se verificar os altos valores de recuperação para o imazetapir. O motivo para tal resultado pode ser a presença de outra substância coeluindo com este analito, nas condições de análise utilizadas na cromatografia líquida.

3.1.2.6. - APLICAÇÃO DA METODOLOGIA

Para validação da metodologia implementada, as 12 amostras de solo, descritas na Tabela 1 foram analisadas em triplicata utilizando-se extração com soxhlet, ultra-som e com

disruptor celular. Os dados obtidos são apresentados na Tabela 9. Nas Figuras 16, 17 e 18 estão apresentados os gráficos que relacionam a concentração de lufenurom e imazetapir, nas amostras de solo analisadas.

As figuras 16, 17 e 18 mostram que não há uma uniformidade na extração dos analitos imazetapir e lufenuron nas amostras dos solos analisados com as técnicas de extração empregadas. Para o analito lufenuron, os três métodos de extração podem ser considerados adequados, no entanto a extração com soxhlet e com ao sonda de ultra-som apresentou valores mais elevados que a extração com o ultra-som. No entanto, para o imazetapir o melhor sistema de extração foi com o banho de ultra-som. Tais diferenças podem ter ocorrido devido a heterogeneidade das amostras ou a extração seletiva dos analitos.

Tabela 9 – Valores das concentrações em $\mu g.kg^{-1}$ dos pesticidas imazetapir e lufenuron extraídos dos solos 1, 2 e 3 pelas técnicas de extração com soxhlet, banho e sonda de ultra-som.

Soxhlet

Pontos	28-07-2000			16-10-2000			30-05-2001			03-11-2001		
	1A	**2A**	**3A**	**1B**	**2B**	**3B**	**1D**	**2D**	**3D**	**1E**	**2E**	**3E**
Imazetapir	n.d.	8,84	n.d.	0,746	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d	n.d.
Lufenuron	92,88	43,92	65,10	104,91	129,52	49,18	123,05	31,00	58,28	96,45	116,00	69,10

Concentração: $\mu g\ kg^{-1}$
n.d.: não detectado

Banho de ultra-som

Pontos	28-07-2000			16-10-2000			30-05-2001			03-11-2001		
	1A	**2A**	**3A**	**1B**	**2B**	**3B**	**1D**	**2D**	**3D**	**1E**	**2E**	**3E**
Imazetapir	3,02 (74,04)	n.d.	2,24 (144)	0,576 (49,45)	3,11 (228)	n.d.	n.d.	8,36 (21,26)	n.d.	n.d.	2,87 (0,015)	2,21 (86,87)
Lufenuron	12,20 (0,78)	12,40 (1,16)	12,20 (3,5)	14,42 (14,97)	12,20 (1,16)	11,90 (9,99)	13,75 (18,92)	12,20 (0,12)	11,85 (6,74)	8,92 (68,49)	12,19 (1,36)	12,72 (189)

( ) % RSD

Sonda de ultra-som

Pontos	28-07-2000			16-10-2000			30-05-2001			03-11-2001		
	1A	**2A**	**3A**	**1B**	**2B**	**3B**	**1D**	**2D**	**3D**	**1E**	**2E**	**3E**
Imazetapir	n.d.	n.d.	3,07 (38,41)	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1,72 (64,85)	n.d.	n.d.	5,46 (68,30)
Lufenuron	52,90 (9,77)	57,05 (47,54)	63,06 (54,68)	116,22 (70,05)	45,55 (28,21)	50,06 (55,80)	65,19 (8,05)	73,76 (21,86)	49,71 (20,53)	56,79 (13,11)	51,12 (13,31)	46,36 (40,15)

( ) % RSD

IMAZETAPIR: (HPLC)

Para a análise dos dados obtidos por Cromatografia Líquida para o imazetapir, foram utilizados os resultados obtidos com a extração com banho de ultra-som, pois mostrou a recuperação mais adequada.

O Imazetapir aparece em alta concentração no **ponto 2,** devido a coleta ter se realizado logo após o plantio de trigo, o que leva a concluir que ele foi utilizado como secante antes da semeadura, para secar as ervas daninhas, sistemática típica do plantio direto.

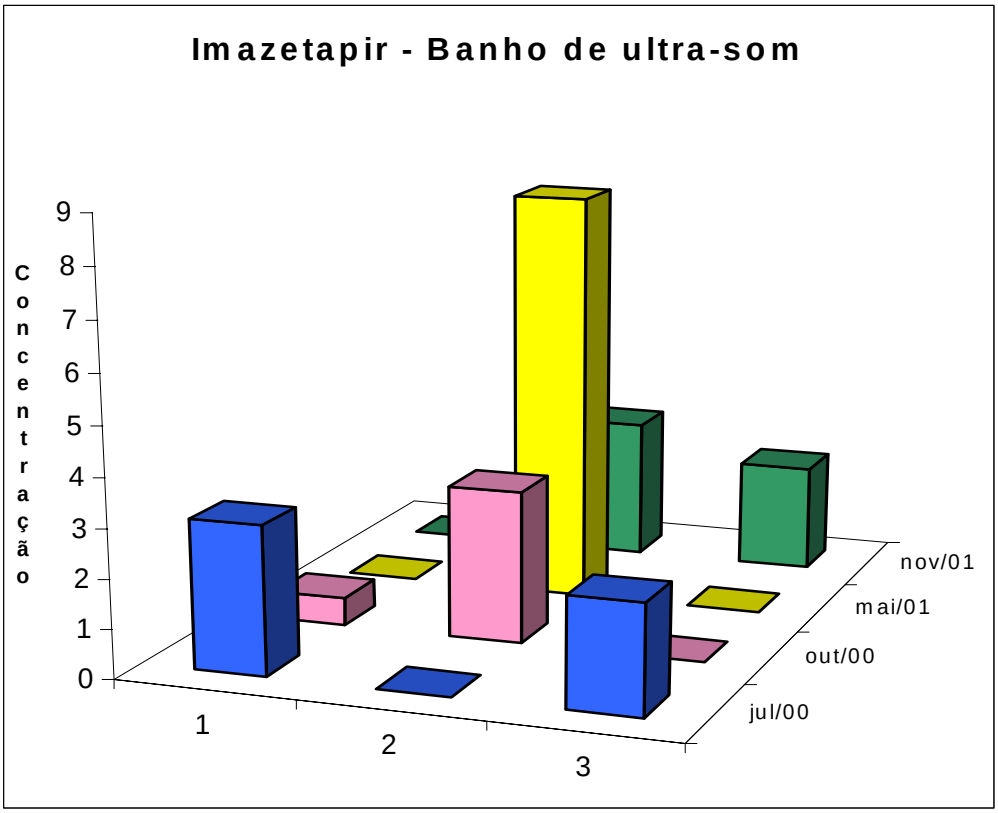


Figura 17: Gráfico dos valores obtidos em μg kg^{-1} do pesticida imazetapir, utilizando banho de ultra-som como procedimento de extração. Solvente extrator diclorometano.

LUFENURON:

Para se fazer a análise dos resultados obtidos para o lufenuron na Cromatografia Líquida, escolheu-se dos dados obtidos com a extração por soxhlet, pois apresentou melhor recuperação para este inseticida.

Percebe-se que omaior pico está no mês de maio, no ponto 1 (plantio convencional), este período sucede as maiores aplicações do início do ano, que teoricamente ocorre a maior utilização deste inseticida nas lavouras de milho e soja na região.

No ponto 2 (plantio direto), tem-se os menores valores, após as culturas de verão, que são coerentes com o tipo de manejo, uma ves que no plantio direto espera-se plantas mais sadias, e portanto mais resistentes ao ataque de insetos e por consequência a necessidade de aplicar menores quantidades de inseticidas. Observa-se também que neste tipo de manejo há uma maior quantidade de lufenuron após as lavaouras de inverno.

Além disso, percebe-se a utilização deste pesticida, em todas as lavoras, em menor ou maior quantidade, independente do tipo de manejo. Onde as aplicações não seguem um calendário, mas certamente, aplicadas conforme as infestações ocorridas.

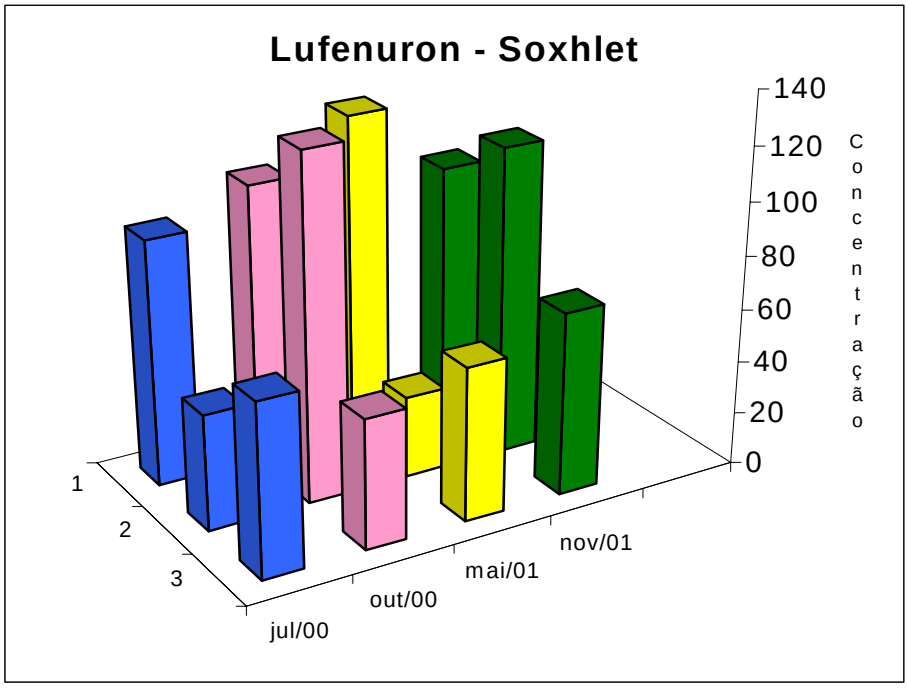


Figura 18: Gráfico dos valores obtidos em μg kg^{-1} do pesticida imazetapir, utilizando banho de ultra-som como procedimento de extração. Solvente extrator diclorometano.

4.0 – CONCLUSÕES

(A) Com relação ao método de extração proposto – sonda de ultra-som :

- Esta técnica mostrou-se eficiente na extração destes pesticidas, em amostras de solo, sendo que apenas para o caso do lufenuron, a extração com soxhlet teve melhores resultados de recuperação;
- com relação a reprodutibilidade, considerando-se a mesma técnica instrumental, a extração com banho de ultra-som apresentou menores valores de RSD % quando comparada com a sonda de ultra-som;
- a sonda de ultra-som pode substituir a tradicional com soxhlet, com bons resultados, aliada ao menor tempo e menor consumo de solvente, na etapa de extração;
- DCM foi considerado o melhor solvente extrator, apesar de ser pouco eficiente na extração do tiabendazole. A acetona, apesar de extrair melhor os pesticidas analisados por GC-MSD, interfere de forma significativa na análise do lufernuron, por HPLC-UV. A acetonitrila se mostrou ineficiente para a extração do lufenuron.

(B) Com relação às amostras de solo analisadas, e às técnicas instrumentais utilizadas:

- apesar das baixas recuperações obtidas, para alguns dos pesticidas analisados, os níveis em que estes foram encontrados, nas amostras analisadas, são considerados altos, com exceção do tiabendazole que não foi detectado em nenhuma das amostras;
- após várias tentativas, não foi possível encontrar condições de analise que permitissem a determinação conjunta de imazetapir e lufenuron, por HPLC-UV;
- os pesticidas, monocrotofós, tiabendazole e triadimenol, foram satisfatoriamente analisados, em conjunto, por cromatografia a gás com detector seletivo de massas;
- de um modo geral, as técnicas empregadas, mostraram-se adequadas, para os pesticidas analisados.

(C) Comparando-se os resultados obtidos para os três compostos, monocrotofós, tiabendazole e triadimenol, analisados por GC-MSD, pode-se dizer que:

- a extração com sonda de ultra-som apresentou melhor recuperação, quando comparada com a extração com soxhlet e com banho de ultra-som;

- a grande vantagem deste tipo de extração está no tempo (3 minutos) e na redução do consumo de solvente extrator (30 mL);
- de um modo geral as recuperações obtidas foram baixas;
- para as amostras reais, os desvios padrão para as triplicatas de amostra foram altos;
- o monocrotofós não foi extraído com ultra som, mas foi com soxhlet e sonda de ultra-som;
- o tiabendazole não foi detectado nas amostras analisadas, que pode ser atribuido a baixa capacidade de extração do DCM com relação a este composto;
- triadimenol, foi detectado em todas as amostras analisadas.

(D) Comparando-se os resultados obtidos para os dois compostos, lufenuron e imazetapir, analisados por HPLC-UV, pode-se dizer que:

- para o imazetapir, o banho e a sonda de ultra-som apresentaram boa recuperação, no entanto, na extração com a sonda de ultra-som tem-se a presença de outro composto que coelui com o imazetapir, nas condições de análise empregadas;
- para o lufenuron a extração com soxhlet apresentou melhor recuperação quando comparado com o banho e a sonda de ultra-som;
- de um modo geral as recuperações obtidas foram satisfatórias;
- para as amostras reais, os desvios padrão para as triplicatas de amostra foram menores que para o caso das análises por Cromatografia gasosa;
- a reprodutibilidade obtida para as amostras extraídas por banho de ultra-som foi maior que para aquelas por sonda de ultra-som;
- para o caso das amostras reais, a extração do imazetapir foi melhor com banho de ultra-som;
- para o lufenuron a extração com soxhlet foi eficiente;

- lufenuron, foi detectado em todas as amostras analisadas

5. BIBLIOGRAFIA

1. Miguel, M. G.; Sousa, S.I.G.; Cardoso, J. C. R., *Revista portuguesa de Farmácia*, vol. XLIX, nº 3, Jul/Ago/Set, **1999.**

2. Meurer E. J.; *Fundamentos de Química do Solo*,UFRGS, Porto Alegre 2000.

3. McBride M. B.**;** *Environmental Chemistry of Soils*, New York, Oxford, 1999.

4. Silverstein R.M; Bassler G.C; Morriel T.C., *Spectrometric Identification of Organic Compounds*. Quinta Edição, Guanabara Koogan S.A; 1991.

5. Gliesman S. R, *Agroecologia, Processos Ecológicos em Agricultura Sustentável*, editora da universidade/ UFRGS, Porto Alegre, 2000.

6. Vidal R. A, Merotto A Jr.; *Herbicidologia*, Faculdade de Agronomia da UFRGS, Porto Alegre, 2001.

7. .Bossi, R.; Vejrup, K.; Jacopsen, C. S.; J. Chromatogr. A, **1999,** *855*, 575-582.

8. Barbosa, J.C.; Serra, A. A, Quimica Nova **1992,** *15*, 4.

9. Murherjee, I.; Gopal, M.; J. Chromatogr.A, **1996,** *754*, 33-42.

10. Motohashi, N.; Nagashima, H.; Parkany, C.; Subrahmanyam, B.; Zhang, G.; J. Chromatogr.A, **1996,** *754*, 333-346.

11. Babic, S.; Petrovic, M.; Kastelan-Macan, M.; J. Chromatogr. A, **1998.** *823*,3-9.

12. Yasin, M.; Baugt, P.J.; Bonwick, G.A; Davies, D.H.; Hancock, P.; Leinoudi, M.; J. Chromatogr. A, **1996,** *754*, 235-243.

13. Bernal, J. L.; Nozal, M. J.; Martín, M. T.; Jiménez, J. J.; J. Chromatogr. A, **1996,** *754***,** 245-256.

14. Wan, H. B.; Wong, M. K.; J. Chromatogr. A, **1996,** *754*, 43-47.

15. Yarita, T.; Nomura, A; Horimoto, Y.; Gonda., S.; J. Chromatogr. A, **1996,** *750*, 175-181.

16. Sanches-Martin. M.J.; Delgado-Pascual, R.; Jiménes, E.; Sánches-Camazano, M.; J. Chromatogr. A,**1996,** *754*, 295-299.

17. Laganá, A.; Fago, G.; Marino, A.; Anal. Chem., **1998,** *70*,121-130.

18. Guardino, X.; Obiols, J, Rossel, M.G.; Farrah, A; Serra, C.; J.Chromatogr. A, **1998** *823*, 91-96.

19. David, M. D; Campbell, S.; LI Q. X.; Anal. Chem., **2000**, *72*, 3665-3670.

20. Hogendoorn E.; Zoonen P. V.; J. Chromatogr. A, **2000**, *892*, 435-453.

21. Wells. M. J. M., Yu L. Z.; J. Chromatogr. A, **2000,** *885*, 237-250.

22. Dost, K.; Jones, D.C.; Aurebach, R.; Davidson, G.; The Analyst, **2000**, *125***,** 1751-1755.

23. Ismail, N.; Vairamani, M.; Rao, R. N.; J. Chromatogr. A, **2000,** *903*, 255-260.

24. The Merck Index, Twelfth edition. *An Encyclopedia of Chemicals, Drugs´an Biologicals, N J; U. S. A; 1996.*

25. Agrotóxicos Lei nº 7.802, Ministério da Saúde, de 11 de julho de 1989.

26. Portaria Nº 1469, Ministério da Saúde, de 29 de dezembro de 2000.

27. Andrei E. Compêndio de Defensivos Agrícolas-*Guia Prático de Produtos Fitossanitários para Uso Agrícola*-6ª Edição-1999.

28. Agrofit 98 para Windows, *Uso Adequado de Agrotóxicos*, Ministério da Agricultura e Abastecimento, 1998.

29. Centro Nacional de Pesquisa de Solo. *Sistema Brasileiro de Classificação de Solos*: EMBRAPA-SPI. Brasília; pag.142, 1999.

30. Fitzpatric, L.J.; Dean, J.R.; Comber, M.H.I.; Harradine, K; Evans, K.P.; J. Chromatogr. A, **2000,** *874*, 257-264.

31. Garimella, U.I.; Stearman, G.K; Wells, M.J.M.; J. Agric. Food Chem.**,** **2000**, *48*, 5874-5880.

32. Andrea, M.M; Papini, S.; Nakagawa, L.E.; Environ. Sci. Health, **2001,** *B36 (1)*, 87-93.

33. Santos, S; Resende, M.O. de O; Landgraf, M.D; Silva, M.R; Amaral, O.L.C.; Anais Assoc. Bras.Quím., **2001,** *50 (2)*, 50-58.

34. Klar, A. E.; *A água no Sistema, solo-planta-atmosfera*; Ed. Nobel; São Paulo,1998.

35. Collins, H. C; Braga, G.L., *Introdução a Métodos Cromatográficos*. 3ª Edição. Campinas, UNICAMP, 1998.

36. Farm Chemicals Handbook, Meister Publishing Company Willoughby, Ohio, 1980.

37. Barber, Stanley A.; Soil Nutrient Biovailability, A Mechanistie Approach 1995.

38. Ciola, Remolo; *Fundamentos da Cromatografia a Líquido de Alto Desempenho*, HPLC, Editora Edgard Blucher Ltda, São Paulo,1998.

39. Leite, F.; *Validação em Análise Química*- 3ª Edição, Editora Átomo, Rio de Janeiro, 1998.

40. Snyder, L.R.; Kirkland, J.J.; *Introduction to Modern Liquid Cromatography*, 2ªedição; Wiley-Intercience Publication; New York, U.S.A, 1979.

41. Meyer, V.R; *Practical High-performance Liquid Chromatography*, 2ª edição; John Wiley & Sons. Chichester, New York U.S.A; 1992.

42. Linsay, S.; *High Performance Liquid Chromatography*, 2ª edição; A. Wiley-Intercience Publication. John Wiley & Sons. Chichester, New York U.S.A; l996.

43. Bresnahan, G. A; Koskinen, W. C.; Dexter, A G.; Luesken, W. E., J. Agric. Food Chem. **2000** , *48*, 1929- 1934.

44. Fenn, J.B.*; Journal of the American Society for Mass Spectometry*, **1993**, *4*, 524-535.

45. Chiavari ,G.; Torsi G.; Fabri D.; Galletti, G. C., *Analist*, **1994,** vol. 119.

46. http://www.Chemkeys.com

47. .http://pmep.cce.cornell.edu/prifilies/extoxnet

48. http://ace.ace.orst.ed/infoextoxnet

49. http://www.anbio.org.br

50. http://www.biotecnologia.com.br

51. http://www.plantiodireto.com.br/publica/rev

52. http://www.cntps.embrapa.br

53. http://home.tecnno.com.br/vidagua/agrotoxic

54. http://www.greenpeaceusa.org

55. http://www.speclab.com/compound

6. ANEXO

Fator de Resposta Relativo (FRR)

O fator de resposta relativo é determinado pela seguinte equação:

$$FRR = \frac{A_X C_{PI}}{A_{PI} C_X}$$

onde,

FRR = fator de resposta relativo

A_X = área do analito

A_{PI} = área do padrão interno

C_{PI} = concentração do padrão interno

C_X = concentração do analito

Esta equação é valida apenas se a mesma concentração de padrão interno é adicionada em cada nível de calibração e o volume inicial de cada calibração seja constante.

Desvio Padrão (DP)

É calculado pela equação:

$$DP = \sqrt{\sum_{i=1}^{N} \frac{\left(X_i - \bar{X}_i\right)^2}{N-1}}$$

onde,

DP = desvio padrão da medida

X_i = medida

$\bar{X}$ = média da medida X_i

N = número de medidas

Desvio Padrão Relativo (%RDS)

É determinado pela equação:

$$\%RSD = \frac{SD}{\bar{X}} x100$$

onde,

SD = desvio padrão da medida

$\bar{X}$ = média da medida X_i

Recuperação percentual

Contamina-se um branco ou uma amostra real com uma quantidade conhecida de um analito. O resultado desta analise é comparado com o resultado esperado a fim de determinar a recuperação percentual (%Rec). Calcula-se pela equação:

$$\%\mathrm{Re}c = \frac{Conc_{obs}}{Conc_{\exp}} x100$$

onde,

%Rec = recuperação percentual do analito usado para contaminação;

$Conc_{obs}$= concentração observada do analito na solução contaminada;

$Conc_{exp}$ = concentração esperada do analito na solução contaminada

Cálculo da Energia (E)

O cálculo da energia utilizada na sonda de ultra-som, baseia-se nos seguintes valores:

- potência do aparelho (variável)
- tempo de sonicação (variável)
- freqüência (fixa)

E é calculada pela seguinte equação:

$$E = P.x.t$$

Onde:

E = energia total

P = potência

t = tempo de sonicação

Com base nas propriedades do aparelho:

Freqüência= 19 kHz

Potência= 100 Watts

Considerando as condições de extração implementadas:

Potência= 40 Watts

Tempo de sonicação= 3 minutos

Obteve-se:

E= 40 Watts x 180 segundos

E= 7.200 Joules

Caracterização dos “Pontos de Coleta” em função do tipo de pesticida aplicado e da época em que as amostras foram coletadas:

Pontos de Coleta	**Tipo de Manejo**	Possíveis pesticidas utilizados, conforme o tipo de cultivo existente em cada lavoura:			
		28/07/00 Lavoura de inverno	**16/10/00** Preparo para a lavoura de verão	**30/05/01** Preparo para a lavoura de inverno	**03/11/01** Lavoura de verão
Ponto **1**	Plantio Convencional	triadimenol e monocrotofós	triadimenol, lufenuron, e monocrotofós	triadimenol e monocrotofós	triadimenol, monocrotofós, lufenuron e tiabendazole
Ponto **2**	Plantio Direto	triadimenol e monocrotofós	triadimenol, lufenuron, imazetapir e tiabendazole	triadimenol e monocrotofós	triadimenol, lufenuron, imazetapir e tiabendazole
Ponto **3**	Cultivo Mínimo	triadimenol, e monocrotofós	triadimenol, imazetapir e lufenuron	triadimenol , e monocrotofós	triadimenol, monocrotofós, lufenuron, tiabendazole e imazetapir

Lufenuron: Inseticida (Match). Usado nas lavouras de verão, em todos os manejos;

Imazetapir: Herbicida Sistêmico (Pivot). Usado no preparo das lavouras de verão, principalmente no *plantio direto*, e um pouco no *cultivo mínimo.*

Monocrotofós: Inseticida Sistêmico (Nuvacron). Usado nas lavouras de inverno e verão, para o soja e para o trigo;

Triadimenol: Fungicida Sistêmico (Baytan), usado em tratamento de sementes, tanto para as semeaduras de inverno como as de verão;

Tiabendazole: Fungicida Sistêmico (Tecto). Tratamento de sementes de soja, lavoura de verão.

Para a quantificação, por Cromatografia Líquida, foi utilizado o método de padronização externa, com cinco níveis de calibração, obtidas das soluções padrão individuais de cada pesticida. As Tabelas abaixo apresentam os desvios padrão relativo, em cada nível de concentração.

Devio padrão relativo (%RSD) para os pontos da curva de padronização externa do imazetapir na Cromatografia Líquida	
Concentração em μg L^{-1}	**% RSD**
10	1,44
50	0,70
80	1,94
100	1,66
200	0,11

Devio padrão relativo (%RSD) para os pontos da curva de padronização externa do lufenuron na Cromatografia Líquida	
Concentração em μg L^{-1}	**% RSD**
5	1,54
10	1,11
20	0,67
50	0,63
80	0,50

Sensibilidade, Limite de Quantificação e Limite de Detecção em Cromatografia:

Para a análise dos dados obtidos na análises feitas por Cromatografia Líquida e gasosa leva-se em conta a *Sensibilidade* do método, isto é, o quanto o método é capaz de discriminar entre as amostras os teores de analito semelhantes.

Com isto, podem ocorrer duas situações:

-temos um *Limite de Quantificação*, que é o menor valor determinado, em confiabilidade de precisão e exatidão aceitáveis, para aquela condição analítica;

- temos um *Limite de Detecção*, que é semelhante a sensibilidade (inclinação da reta de calibração dividida pela estimativa do desvio padrão), e é calculado na prática como sendo correspondente à concentração que produziria um valor do sinal 3 vezes maior que o nível de ruído médio, medido com a solução de controle ou branco (conforme recomendado por norma da IUPAC) [39].