

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

EESC - ESCOLA DE ENGENHARIA DE SÃO CARLOS

CHREA - CENTRO DE RECURSOS HÍDRICOS E ECOLOGIA APLICADA

Serviço de Pós-Graduação EESC/USP
EXEMPLAR REVISADO
Data de entrada no Serviço: 12.109.100
Ass:

DESENVOLVIMENTO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA
DETERMINAÇÃO DE MULTIRRESÍDUOS DE PESTICIDAS EM ÁGUAS DE
ABASTECIMENTO DE SÃO CARLOS - SP

Dalva A. de Souza



Tese apresentada à Escola de Engenharia de São Carlos, da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Ciências da Engenharia Ambiental

Orientador: Prof. Dr. Fernando M. Lanças

DEDALUS - Acervo - EESC



31100016779

São Carlos
2000

Class.	TESE-EESC
Cutt.	S819
Tombo	T0204100

✓
31 10-2016779

at 1121496

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Tratamento
da Informação do Serviço de Biblioteca – EESC/USP

S729d
~~S719d~~

Souza, Dalva Aparecida de
Desenvolvimento de metodologia analítica para
determinação de multiresíduos de pesticidas em águas
de abastecimento de São Carlos - SP./ Dalva Aparecida
de Souza. -- São Carlos, 2000.

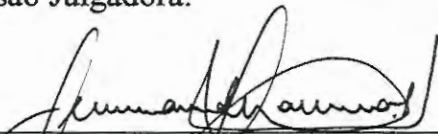
Tese (Doutorado) -- Escola de Engenharia de São
Carlos-Universidade de São Paulo, 2000.
Área: Ciências da Engenharia Ambiental.
Orientador: Prof. Dr. Fernando M. Lanças.

1. Cromatografia. 2. Extração. 3. Águas de
abastecimento. 4. Poluentes. 5. Pesticidas.
I. Título.

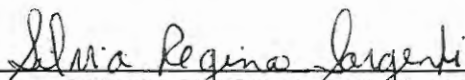
FOLHA DE APROVAÇÃO

Candidata: Licenciada **DALVA APARECIDA DE SOUZA**

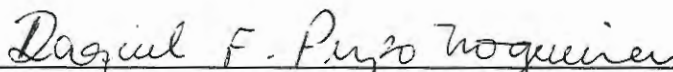
Tese defendida e aprovada em 07-08-2000
pela Comissão Julgadora:



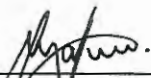
Prof. Titular **FERNANDO MAURO LANÇAS (Orientador)**
(Instituto de Química - Universidade de São Paulo)



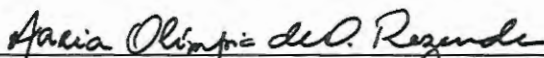
Prof. Doutora **SILVIA REGINA SARGENTI**
(Universidade de Marília - UNIMAR)



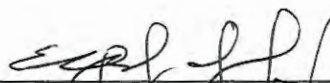
Prof. Doutora **RAQUEL FERNANDES PUJO NOGUEIRA**
(UNESP - Campus de Araraquara)



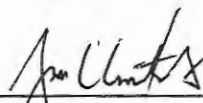
Doutor **LADISLAU MARTIN NETO**
(EMBRAPA/CNPDIÁ)



Prof. Associada **MARIA OLÍMPIA DE OLIVEIRA REZENDE**
(Instituto de Química - Universidade de São Paulo)



Prof. Doutor **EVALDO LUIZ GAETA ESPINDOLA**
Coordenador do Programa de Pós-Graduação
em Ciências da Engenharia Ambiental



JOSÉ CARLOS A. CINTRA
Presidente da Comissão de Pós-Graduação da EESC

AGRADECIMENTOS

Ao professor Dr. Fernando Mauro Lanças, pela orientação, respeito profissional e apoio na realização do trabalho.

À professora Dra. Maria Olímpia de Oliveira Rezende.

À professora Dra. Raquel F. Puppo Nogueira.

À professora Dra. Silvia Regina Sargenti;

Ao Dr. Ladislau Martin Neto.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela concessão da bolsa de N° 96/4197-6.

Ao Centro de Recursos Hídricos e Ecologia Aplicada – CRHEA.

Ao Instituto de Química de São Carlos – USP, Laboratório de Cromatografia, onde foi realizado o trabalho.

Aos professores, funcionários e amigos que contribuíram em todas as fases deste trabalho.

Em especial ao Valter e as crianças Júlia e Vitor.

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	i
LISTA DE TABELAS.....	iii
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	v
RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	viii
1.0- INTRODUÇÃO.....	1
1.2- ESTRUTURA DO TRABALHO.....	20
1.3- TÉCNICAS DE ANÁLISE.....	21
1.4- EXTRAÇÃO.....	22
1.5- CLEAN-UP.....	29
1.6- ANÁLISE CROMATOGRÁFICA.....	29
1.7- VALIDAÇÃO.....	36
1.8- OBJETIVOS.....	40
2.0- MATERIAIS E MÉTODOS.....	41
2.1- CARACTERÍSTICAS GERAIS DA ÁREA DE ESTUDO.....	41
2.2- AMOSTRAGEM.....	45
2.3- ÉPOCA DE COLETA DAS AMOSTRAS.....	45
2.4- METODOLOGIA DE ANÁLISES.....	46
2.5- MATERIAIS.....	47
2.6- PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL.....	49

2.6.1- EXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO (LLE).....	49
2.6.2- EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA (SPE).....	51
2.6.3- EXTRAÇÃO COM FLUÍDO SUPERCRÍTICO (SFE).....	54
2.6.4- CROMATOGRAFIA GASOSA.....	59
2.6.5- AMOSTRA REAL.....	60
3.0- RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	62
3.1- EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA (SPE).....	65
3.2- EXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO (LLE).....	72
3.3- EXTRAÇÃO COM FLUÍDO SUPERCRÍTICO (SFE).....	75
3.4- COMPARAÇÃO DAS TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO.....	78
3.5- CROMATOGRAFIA – ESPECTROMETRIA DE MASSAS.....	82
3.6- ANÁLISE DAS AMOSTRAS DE ÁGUA DE RIOS E REPRESA DE . CAPTAÇÃO.....	85
4.0- CONCLUSÕES.....	95
4.1- SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	97
5.0- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	98
ANEXO.....	110

FIGURA 19- Cromatograma de extração em fase sólida (SPE) do branco e da testemunha da água do Ribeirão do Feijão.....	88
FIGURA 20- Cromatograma GC/ECD da amostra de inverno por SPE para o ponto P1-A e para o ponto P2 – B.....	89
FIGURA 21- Cromatograma GC/ECD da amostra de inverno por SPE para o ponto P3-A e para o ponto P4 – B.....	90
FIGURA 22- Cromatograma GC/ECD da amostra de verão por SPE para o ponto P1-A e para o ponto P2 – B.....	91
FIGURA 23- Cromatograma GC/ECD da amostra de verão por SPE para o ponto P3-A e para o ponto P4 – B.....	92
FIGURA 24- Cromatograma GC/MS (modo SIM) da amostra de inverno por SPE para o ponto P1-A e para o ponto P2 – B.....	93
FIGURA 25- Cromatograma GC/MS (modo SIM) da amostra de verão por SPE para o ponto P1-A e para o ponto P2 – B.....	94

LISTA DE TABELAS

TABELA 1- Classificação de pesticidas por toxicidade.....	5
TABELA 2- Produção, processamento e consumo de laranja.....	13
TABELA 3- São Paulo 2000 – exportações de suco concentrado.....	14
TABELA 4- São Paulo 1999 – exportações de suco concentrado.....	14
TABELA 5- Variação acumulada de pesticidas – fev 99/fev 2000.....	18
TABELA 6- Vendas de pesticidas por culturas para o período de 97/98.....	19
TABELA 7- Pesticidas monitorados no trabalho.....	20
TABELA 8- Solventes usados no condicionamento, eluição e adsorventes da coluna de . extração.....	51
TABELA 9- Tempo de retenção (Tr), área média (X) para concentração de 1 µg/mL, . coeficiente de correlação (r), limite de detecção (LOD) e limite de . quantificação (LOQ).....	63
TABELA 10- Recuperação percentual dos padrões de pesticidas por extração em fase . sólida (SPE), variando os adsorventes.....	66
TABELA 11- Recuperação média em porcentagem de extração em fase sólida (SPE) . . com desvio padrão relativo (DPR) e exatidão.....	67
TABELA 12- Recuperação média em porcentagem de extração líquido-líquido (LLE) . com desvio padrão relativo (DPR) e exatidão.....	73
TABELA 13- Recuperação média em porcentagem de extração por extração com fluido . supercrítico (SFE) pelo modo direto em água e com adição de sal.....	75

TABELA 14- - Recuperação média em porcentagem de extração com fluido supercrítico (SFE) com desvio padrão relativo (DPR) e exatidão.....	77
TABELA 15- Recuperação em porcentagens dos pesticidas obtidos por extração líquido-líquido (LLE), em fase sólida (SPE) e com fluido supercrítico (SFE).....	79
TABELA 16- Tempo de retenção para os compostos e os íons monitorados.....	83
TABELA 17- Parâmetros medidos nos locais de coleta de água nas estações de inverno e verão.....	86

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AchE	-Acetilcolinesterase
ABECITRUS	-Associação Brasileira dos Exportadores de Cítricos
ANDEF	-Associação Nacional de Defensivos
APA	-Área de Proteção Ambiental
CETESB	-Companhia Estadual de Tecnologia Ambiental
CEC	-Comissão da Comunidade Européia
DL ₅₀	-Dose Letal 50
DPR	-Desvio Padrão Relativo
ECD	-Detector por Captura de Elétrons
EEC	-Comunidade Econômica Européia
EPA	-Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos
FUNDECITRUS	-Fundo Paulista de Defesa da Citricultura
GC	-Cromatografia Gasosa
GLP	-Boas Práticas de Laboratório
HRGC	-Cromatografia Gasosa de Alta Resolução
HPLC	-Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
LLE	-Extração Líquido-Líquido
LOD	-Limite de Detecção
LOQ	-Limite de Quantificação
MS	-Espectrometro de Massas
NPS	-Programa Nacional de Inspeção
OMPA	-Octametilpirofosforamida
OPP	-Organofosforado
PAHs	-Hidrocarbonetos Poliaromáticos
SIM	-Sistema de Monitoramento de Íons
SINDAG	-Sindicato Nacional da Indústria de Defensivos Agrícolas
SFE	-Extração com Fluido Supercrítico

SPE	-Extração em Fase Sólida
TEPP	-Tetraetilpirofosfato
TPs	-Produtos de Transformação
WHO	-Organização Mundial de Saúde

RESUMO

SOUZA, D. A (2000). Desenvolvimento de metodologia analítica para determinação de multiresíduos de pesticidas em águas de abastecimento de São Carlos – SP. São Carlos, 2000. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.

O trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de metodologia analítica para a determinação de multiresíduos de pesticidas em água. A água analisada foi proveniente do Ribeirão do Feijão, rio que abastece a cidade de São Carlos, e do seu principal afluente, o Córrego Laranja Azeda.

Os pontos de amostragem foram quatro, iniciando próximo à nascente até a estação de tratamento da cidade.

A principal cultura no entorno da bacia do Ribeirão do Feijão é a laranja, por isso os pesticidas empregados nessa cultura foram os selecionados.

Os pesticidas foram triclorfon, tiometon, dimetoato, diazinon, malation, dicofol, metidation, etion, bromopropilato e pirazofós.

Para a realização do trabalho foram estudados vários métodos, empregando técnicas de extração líquido-líquido (LLE), extração em fase sólida (SPE) e extração com fluido supercrítico (SFE). Na análise cromatográfica foram utilizados métodos de alta resolução tais como cromatografia gasosa de alta resolução (HRGC), e cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC/MS).

Palavras-chave: águas de abastecimento; pesticidas; extração; cromatografia; poluentes.

ABSTRACT

SOUZA, D. A (2000). Development of analytic methodology for determination of multiresidue of pesticides in drinking waters of São Carlos – SP. São Carlos, 2000. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.

This work had as objective the development of analytical methodology for the determination of multiresidue of pesticides in water. The analyzed water samples were from Ribeirão do Feijão, river that provisions the city of São Carlos, and of its tributary principal, the Córrego Laranja Azeda.

The sampling points were four, beginning close to the East until the of treatment station of the city.

To main culture of the Ribeirão do Feijão basin is orange, the pesticides used in that culture were them selected for this work.

The pesticides selected were trichlorphon, thiometon, dimethoate, diazinon, malathion, dicofol, metidathion, ethion, bromopropilate and pyrazophos.

For the accomplishment of the work several analytical methods were studied, using liquid-liquid extraction (LLE), solid phase extraction (SPE) and supercritical fluid extraction (SFE). In the chromatographic analysis high resolution methods were used such as high resolution gas chromatography (HRGC), and gas chromatography on line mass spectrometry (GC/MS).

Keywords: drinking water; pesticides; extraction; chromatography; pollutants.

1.0 - INTRODUÇÃO

O surgimento, o desenvolvimento e o uso dos pesticidas em larga escala ocorreu a partir dos anos 40. Segundo ZAMBRONE (1986), agrotóxicos, praguicidas, pesticidas e até biocidas são denominações dadas as substâncias químicas, naturais ou sintéticas, destinadas a matar, controlar ou combater de algum modo as pragas. Atualmente o termo fitossanitário também é empregado.

Neste trabalho o termo escolhido é pesticida por ser o mais utilizado.

Os pesticidas englobam várias sub-classes, divididas de acordo com a finalidade de uso; são ainda classificados de acordo com a estrutura molecular, em organoclorados, organofosforados, carbamatos e piretroídes (BRATTSTEIN et al.,1986).

São classificados em química ambiental como micro poluentes, porque são encontrados em níveis de traços no ambiente. Desempenham papel fundamental no combate de pragas, doenças e ervas daninhas, mas se tornam um fator preponderante no desequilíbrio ecológico quando utilizados incorretamente.

Os organoclorados são pesticidas de toxicidade relativamente baixa, mas são poucos reativos e permanecem sem degradação por longos anos, possuindo a capacidade de serem solúveis em gorduras, o que leva à sua acumulação em tecidos adiposos de peixes, aves e mamíferos.

Os organofosforados são considerados mais tóxicos, porém são hidrofílicos, facilitando sua degradação mais rapidamente. Todavia, em sua forma metabolizada podem tornar-se ainda mais tóxicos.

Os carbamatos são derivados do ácido carbâmico e, como os organofosforados, são biodegradáveis e não persistentes.

Os piretróides podem ser sintéticos ou naturais como o éster piretrina obtido das flores do crisantemun (LAWS,1993).

A toxicidade desses produtos é avaliada com base na dose letal 50% (DL_{50}). Este valor só informa a toxicidade aguda de uma substância química sobre determinada espécie animal, deixando de indicar possíveis alterações que possam decorrer da exposição mais prolongada a ela, com a absorção continuada de pequenas doses. Tampouco fornece informações sobre riscos de lesões em órgãos específicos, ou sobre possíveis efeitos mutagênicos, teratogênicos, carcinogênicos, neurotóxicos e comportamentais (ZAMBRONE et al., 1986).

Pesticidas em Solos

Os pesticidas são, via de regra, aplicados às folhagens vegetais, à superfície do solo ou incorporados ao próprio solo. No geral, uma elevada proporção dos produtos químicos eventualmente se desloca para o interior do solo.

A bioatividade, movimento e persistência de pesticida em solos, dependem em grande parte da interação da molécula de pesticida com o solo (WEED & WEBER, 1974).

O solo é constituído de uma mistura de argilas minerais, material coloidal e espécies minerais individuais que podem variar consideravelmente no grau de cristalinidade e na natureza das substâncias iônicas.

O comportamento dos pesticidas nos solos depende de suas características. Por exemplo, após serem adicionados aos solos, os produtos químicos poderão se vaporizar e se perder na atmosfera, sem nenhuma modificação química; poderão ser adsorvidos pelos solos, poderão se mover no sentido descendente do solo, sob forma de solução; e se perder por lixiviação ; poderão ser submetidos a reações químicas na superfície ou no interior do solo, poderão ser degradados pelos microorganismos (NYLE & BRADY, 1979), e também poderão se fotodegradados.

Outros fatores geralmente considerados que afetam o movimento dos pesticidas são: taxa de aplicação, solubilidade em água, declividade e cobertura vegetal da área tratada, a quantidade e intensidade da chuva, textura e umidade do solo (MERKLE & BOVERY, 1986), e o teor de matéria orgânica no solo.

Pesticidas em Águas

Muitos fenômenos ambientais podem ser observados através das alterações na qualidade química das águas, sendo que o sistema aquático é um coletor de informações sobre o meio circundante. Portanto os reflexos da poluição, ou mesmo gestão da qualidade e da quantidade de águas em um determinado local ou região, são sentidos no

comportamento das águas superficiais ou subterrâneas (O'CONNOR, 1976; MARGALEF, 1983 e GOODMAN, 1984).

[Dentre os fenômenos mais frequentes que interferem na qualidade da água destacam-se as erosões, os deslizamentos de encosta, o assoreamento de cursos d'água, as inundações, o lançamento indiscriminado de detritos gerados pela ocupação urbana, incluindo lixo, efluentes sanitários, entulhos e detritos industriais, acrescentando o carreamento de fertilizantes e pesticidas usados na agricultura e a lixiviação de nutrientes do solo como contribuintes fundamentais para a mudança de qualidade das águas.]

Os pesticidas em contato com o sistema aquático podem associar-se aos materiais em suspensão e, eventualmente, migrar para o sedimento podendo ser liberados para a água ou ser adsorvidos, alterados ou degradados por microorganismos; podem também permanecer dissolvidos na água e, posteriormente, ser adsorvidos pelos sedimentos, degradados ou absorvidos pelos microorganismos (HASSET & LEE, 1975).

Os pesticidas contaminam não só as águas mas, também, todo o meio ambiente, como o ar, os alimentos, os peixes e aves, sendo que muitos compostos orgânicos estão presentes a níveis indetectáveis, havendo evidências que a exposição a pequenas doses repetidas desses compostos possam levar a doenças crônicas (GRAY, 1994).

As águas naturais são contaminadas com vários pesticidas ou com seus produtos de transformação. Herbicidas e nematicidas são contaminantes potenciais de águas naturais, porque são diretamente aplicados ao solo e são transportados para a água subterrânea ou lixiviados para as águas superficiais. Os inseticidas são transportados para a água subterrânea através de partículas ou água de chuva que são levados por

precipitação e infiltração no solo. Sendo assim, a Comunidade Econômica Européia (EEC 80/778) no que diz respeito a qualidade de água destinada ao consumo humano, estabelece a concentração máxima admissível de cada pesticida em 0,1 µg/L e a quantidade total de pesticidas em 0,5 µg/L. A Organização Mundial de Saúde (WHO) recomenda a classificação dos pesticidas por toxicidade, em cinco classes (Tabela 1), com base nos valores da dose letal LD₅₀ (HARTRÍK & TEKEL, 1996).

TABELA 1- Classificação de pesticidas por toxicidade de acordo com a - WHO- Organização Mundial de Saúde (Hartrik e Tekel, 1996).

Classe	LD50 para ratos, oral (mg/kg)	
	Sólido	Líquido
Ia - -Extremamente tóxico	≤ 5	≤ 20
Ib - Altamente tóxico	5 - 50	20 - 200
II - Moderadamente tóxico	50 - 500	200 - 2000
III - Ligeiramente tóxico	> 500	> 2000
III+ - Pouco tóxico em uso normal	> 2000	> 3000

[A CETESB, Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiente, atualmente conta com 101 pontos de amostragem distribuídos entre os principais corpos d'água das 29 bacias hidrográficas do Estado de São Paulo, os quais são monitorados de acordo com 33 parâmetros físicos, químicos e microbiológicos (CETESB, 1993), sendo que nenhum desses parâmetros se refere a pesticidas.]

Com vistas ao melhoramento de dados referentes a qualidade de água, a CETESB lançou o índice de toxicidade no qual são analisados os níveis de bário, cádmio, chumbo, cobre, cromo total, níquel, mercúrio, zinco e fenol, sendo que os pesticidas não foram englobados neste índice (CETESB, 1993), apesar da portaria do Ministério da Saúde N°036 de 19/01/1990 incluir vários pesticidas para serem analisados nas águas de abastecimento.

MANAHAN (1994) alerta para o fato que muitos inseticidas organoclorados usados em larga escala na década de 1960, sendo muito tóxicos, de alta persistência e acumulação na cadeia alimentar apesar de terem seu uso proibido há bastante tempo, ainda são muito discutidos não apenas por seu interesse histórico, mas porque seus resíduos em solos e sedimentos ainda contribuem para a poluição das águas.

Resíduos de pesticidas organofosforados (OPP) tem sido relatados em matrizes ambientais. Estes compostos podem persistir no ambiente por vários dias e podem ocorrer degradações, com a subsequente formação de vários produtos de transformação (TPs). Os TPs podem ser mais tóxicos que os compostos de origem sendo, portanto, de crescente interesse o estudo de degradação e estabilidade desses pesticidas no ambiente. Vários pesticidas organofosforados foram incluídos em uma lista de pesticidas a serem monitorados em ambientes aquáticos, de acordo com os programas "National Pesticide

Survey (NPS)” e “Comission of the European Comunities (CEC)” ,(BAGHERI et al. 1992).

Águas naturais são contaminadas por vários pesticidas devido o seu uso indiscriminado. Herbicidas são contaminantes de águas naturais por serem diretamente aplicados no solo e transportados para o lençol d'água ou levados por lixiviação. Durante a última década, pelo menos 46 pesticidas foram relatados em lençóis de água nos U.S.A., (OKUMURA & NISHIKAWA, 1995).

ALBANI & HELA (1995) identificaram 25 pesticidas pertencentes as classes dos organofosforados e triazinas, em amostras de águas de lagos, rios e mares.

A tendência bioacumuladora e os efeitos dos pesticidas ao longo do tempo podem tornar-se um risco, fazendo-se necessário o acompanhamento e a quantificação destes produtos em água, solo e a atmosfera como fundamento primordial para a proteção do meio ambiente (KIPS, 1985).

A cada dia se torna fundamental o monitoramento das águas de abastecimento para não ocorrer problemas de saúde pública. Por esse aspecto, o presente trabalho se justifica, uma vez que visa a determinação pela primeira vez de multiresíduos de pesticidas no Ribeirão do Feijão, o principal rio que abastece a cidade de São Carlos e o córrego Laranja Azeda seu principal tributário.

A bacia do Ribeirão do Feijão tem também importância ecológica pois está situada em área de proteção ambiental (APA- de Corumbataí), cuja regulamentação exige a adoção de medidas criteriosas, quantitativas e qualitativas, para a avaliação de impactos e critérios de qualidade da água que permita o planejamento e a recuperação do sistema aquático e terrestre (SOUZA, 1993).

A bacia do Ribeirão do Feijão está cercada quase que exclusivamente por plantação de laranja, sendo que nessa cultura os pesticidas empregados em sua maioria são organofosforados. Por esse motivo, no presente estudo serão mais enfocados estes pesticidas e a cultura de laranja.

A Cultura da Laranja

A laranjeira é uma das árvores frutíferas mais conhecidas, cultivadas e estudadas em todo o mundo. A partir de 1530 o governo colonial português decidiu efetivamente colonizar as terras brasileiras, repartindo o território da colônia entre uma dezena de seus homens de confiança, que tinham de povoar e produzir açúcar em áreas chamadas de capitânicas. Com a chegada de novos habitantes apareceram as primeiras árvores frutíferas e é a partir daí, 1530/1540, que os estudiosos costumam situar o princípio da citricultura no Brasil. Entre 1822 e 1889 o país declarou a sua independência e proclamou a república. Na economia caiu o açúcar e subiu o café; no trabalho, saiu o escravo e entrou o imigrante. O café foi caminhando para o interior de São Paulo e a laranja foi seguindo o seu rastro, ocupando espaço como cultura acessória (HASSE, 1987).

No Estado de São Paulo, a produção de laranja está concentrada principalmente em uma faixa de terra que vai do nordeste ao norte do Estado, como mostra a Figura 1.

Hoje em dia o Brasil tem em seu território mais de 1 milhão de hectares de plantas cítricas. A maior parte da produção brasileira de laranjas destina-se à indústria do suco, que está situada no Estado de São Paulo, responsável por 70% das laranjas e

98% do suco que o Brasil produz. Na década de 80, o Brasil tornou-se o maior produtor mundial, seguido pelos Estados Unidos (HASSE, 1987, op. cit.).

Na Figura 2 encontram-se os principais produtores da safra de 93/94 e na Figura 3 os principais produtores da safra de 96/97. Segundo a FAO na safra de 96/97, do total de 56.048.000 toneladas de laranja, 22.475.000 toneladas foram processadas. Na mesma safra o Brasil produziu 16.360.000 toneladas de laranja e processou 10.608.000 toneladas enquanto os Estados Unidos produziram 11.992.300 toneladas e processaram 9.115.000 toneladas (ABECITRUS, 2000).

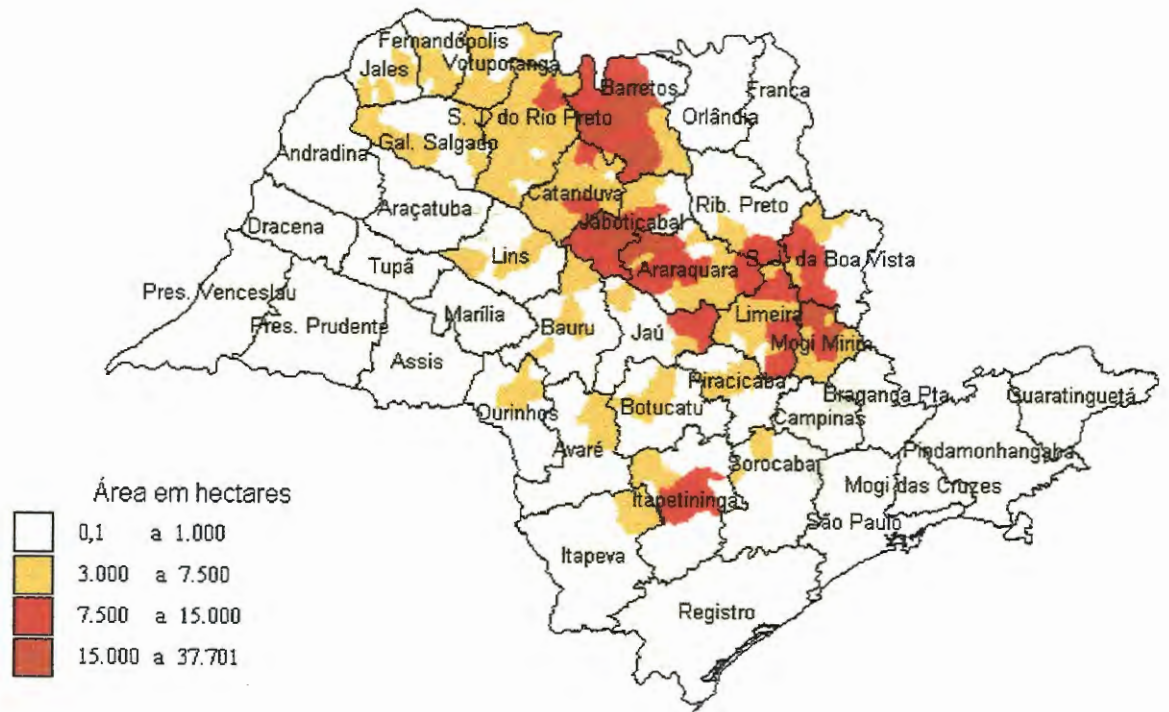
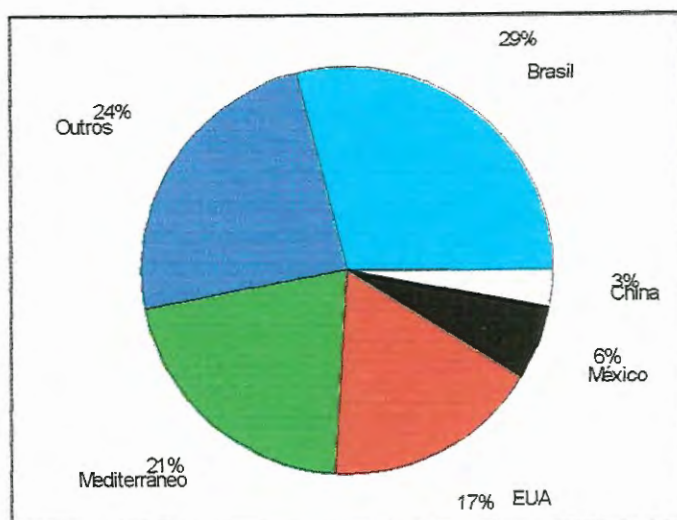
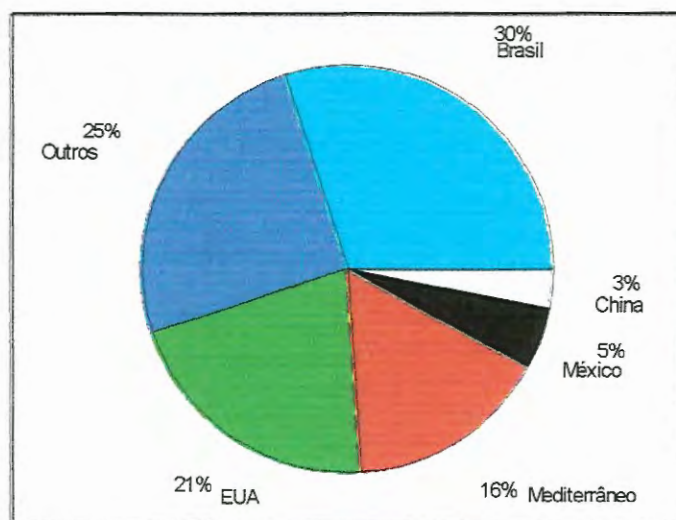


FIGURA1.: Localização da produção de laranja no Estado de São Paulo, CATI (2000).



Fonte:FAO/ABECITRUS (2000)

FIGURA 2.: Os principais produtores de laranja da safra de 93/94



Fonte: FAO/ABECITRUS (2000)

FIGURA 3.: Principais produtores de laranja da safra de 96/97

A citricultura paulista apresentou fases de expansão e retração, a partir da década de sessenta. Com o desenvolvimento da indústria de suco, a cultura se expandiu quase ininterruptamente até meados da década de noventa, passando a se constituir numa das três primeiras atividades agrícolas do Estado de São Paulo em termos de receita bruta. Numa economia de mercado como a brasileira esse desenvolvimento sugere que o crescimento da demanda provocou a expansão da área plantada e da produção, não tendo sido estimulada por condições econômicas artificiais e/ou programas governamentais. De 1987 a 1997, estimulados pelos elevados preços recebidos pelos citricultores, pulularam sem restrições os viveiros de mudas produzidas sob as mais diversas condições técnicas e sanitárias. Tanto assim que em recentes levantamentos realizados pelo FUNDECITRUS se observou que em 82% dos viveiros de São Paulo não é feita prevenção contra o cancro cítrico, cerca de 83% nunca fizeram análise da *Phytophthora* (fungo causador da gomose); 50% estão localizados a menos de 20 metros de pomares cítricos e 57% dos viveiristas utilizam borbulhas de seus próprios pomares ou de terceiros, ou seja condições que aumentam as chances de possibilidades de disseminação de doenças e pragas e pouco contribuem para a maior produtividade por planta. Com a significativa queda na produção de laranja em São Paulo em função do fenômeno do El Niño que provocou um ajuste inesperado nas quantidades de ofertas de laranja, na safra agrícola 1997/98 (industrial 1998/99), os preços da fruta se elevaram em relação aos anos precedentes, provocando uma retomada no ânimo dos citricultores que se viram estimulados a investir novamente nos tratos culturais em seus pomares. O IEA/CATI (SAA) do 4º Levantamento de Previsões de Safras e pela ABECITRUS da sua primeira

estimativa, ambas referentes à safra agrícola 1998/99 (industrial 1999/00), evidenciou-se que a colheita de laranja no ano de 1999 (383 a 388 milhões de caixas) girou em torno 12 a 17% maior que no ano anterior (AMARO, 1999).

Os dados apresentados nas tabelas seguintes referem-se a São Paulo, estima-se que nos demais estados a produção total de laranjas seja de 50 milhões de caixas, totalmente destinadas ao mercado interno. A Tabela 2 mostra a produção, processamento e consumo de laranja em milhões de caixas nos anos compreendidos entre 1990 à 2000; a Tabela 3 apresenta as exportações de suco concentrado de laranja em toneladas para o ano de 2000 (janeiro à março) e a Tabela 4 apresenta exportações de suco concentrado em toneladas para o ano de 1999.

TABELA 2.: Produção, processamento e consumo de laranja em milhões de caixas.

ANO SAFRA	PRODUÇÃO	PROCESSAMENTO	MERCADO INTERNO
90/91	262,7	210,0	50,8
91/92	285,5	225,0	57,8
92/93	300,0	265,0	33,0
93/94	307,0	240,0	65,0
94/95	311,0	242,7	65,0
95/96	357,3	259,1	95,0
96/97	363,0	268,1	93,0
97/98	428,0	318,0	110,0
98/99	330,0	279,0	51,0
99/00*	388,0	280,0	108,0

* Estimativa - Fonte: ABECITRUS (2000)

TABELA 3.:São Paulo 2000-exportações de suco concentrado (em toneladas).

MÊS	UNIÃO EUROPÉIA	NAFTA	ÁSIA	MERCOSUL	OUTROS	TOTAL
JAN	45.513	36.309	4.702	600	4.259	91.383
FEV	59.915	18.829	11.938	593	2.099	93.374
MAR	42.284	15.685	19.638	383	4.425	82.415
TOTAL	147.712	70.823	36.278	1.576	10.783	267.172

Fonte: ABECITRUS (2000)

TABELA 4. São Paulo 1999-exportações de suco concentrado (em toneladas)

MÊS	UNIÃO EUROPÉIA	NAFTA	ÁSIA	MERCOSUL	OUTROS	TOTAL
JAN	47,291	21,414	11,997	344	3,611	84,657
FEV	62,780	113	6,784	287	2,417	72,381
MAR	31,807	28,593	3,248	206	2,426	66,280
ABR	74,899	22,343	4,977	433	2,168	104,820
MAI	44,609	95,78	11,076	146	2,961	71,370
JUN	75,147	16,160	14,514	200	2,749	108,770
JUL	78,254	11,364	4,100	249	1,677	95,644
AGO	86,263	28,117	7,657	234	3,192	125,463
SET	25,664	16,479	16,298	320	5,211	63,972
OUT	77,800	10,515	7,484	342	2,115	98,257
NOV	59,506	25,813	4,456	498	1,722	91,995
DEZ	89,796	26,969	5,024	438	1,372	123,599
TOTAL	756,816	217,458	97,615	3,697	31,621	1,107208

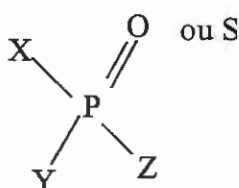
Fonte: ABECITRUS (2000)

Pesticidas Organofosforados

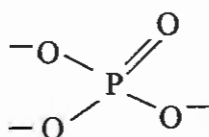
Os pesticidas organofosforados são largamente empregados na agricultura desde que alguns organoclorados tiveram seus registros proibidos pela evidência de sua toxicidade, persistência e bioacumulação no ambiente. Os OPP transformaram-se no grupo de inseticidas que substituíram os organoclorados em várias áreas agrícolas do mundo ocidental. Embora os OPP sejam mais tóxicos para o organismo humano e para a vida aquática, sua propensão relativa de menor persistência favorece seu uso (CHAU, 1981).

O organofosforados são ésteres fosfóricos, cujas propriedades inseticidas foram evidenciadas a partir de 1937 por Gerhard Scharader, na Alemanha, com a síntese do Tabum e do Sarim neste mesmo ano, do OMPA (octametilpirofosforamida) em 1941, do TEPP (tretaetilpirofosfato) em 1943 e do Paration em 1944. Com isto Gerhard Scharader ficou conhecido como o pai dos inseticidas organofosforados (LARINI,1999).

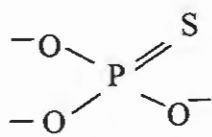
De acordo com ETO (1974) a estrutura geral dos compostos OPP é



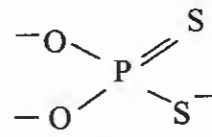
Onde X e Y são grupos básicos tais como alcoxi ou alquilamina, e Z é um grupo ácido que pode facilmente ser clivado por hidrólise alcalina; muito desses compostos podem ser ésteres do ácido fosfórico [(HO)₃PO] ou seus derivados como:



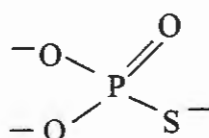
Fosfato



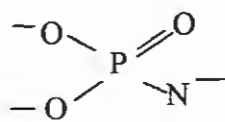
Fosfortioato



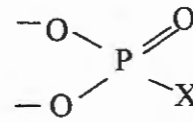
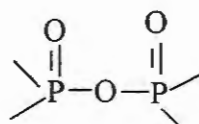
Fosforoditioato



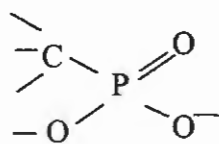
Fosfortiolato



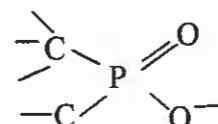
Fosforomidato

Fosforofluoridato (X=F)
Fosforocloridato (X=Cl)

Pirofosfato



Fosfonato



Fosfinato

As reações químicas envolvidas na biotransformação dos inseticidas organofosforados podem ser classificadas em três grupos principais: oxidação, clivagem hidrolítica e redução. Estas reações são também responsáveis pela degradação desses compostos no meio ambiente. As reações de oxidação ocorrem por dessulfuração, oxidação de grupos tioéster, oxidação de substituintes alifáticos e O-desalquilação. A dessulfuração constitui uma das principais vias de biotransformação; a transformação da

ligação P=S em P=O, com formação da chamada forma oxon, resulta sempre num aumento da toxicidade do composto. Assim, por exemplo o dimetoato é rapidamente convertido em dimetoxon ou ometoato, cerca de 75 a 100 vezes mais ativo com inibidor da acetilcolinesterase em ratos (LARINI, 1999, op. cit.).

A ação dos fosforados em insetos, bem como em vertebrados é causado pela sua habilidade em inibir a acetilcolinesterase em várias partes do sistema nervoso e, assim, sua ruptura na transmissão nervosa (KOHN et al., 1974).

Compostos organofosforados podem ainda exercer efeitos secundários sobre a função neural por fosforilação de enzimas e outras proteínas que a acetilcolinesterase. Em outros casos os organofosfatos podem interagir com outras serinas proteases e enzimas com uma sequência do sítio ativo de um peptídeo similar ao que é encontrado no sítio catalítico da acetilcolinesterase (AChE). Por exemplo, a atividade da tirosina hidroxilase aumenta quando é fosforilada. Na adição dos OPP tem mostrado a inibição em cérebros de ratos da monoamina oxidase, sugerindo que interfere com a catecolamina e o metabolismo é afetado (MARQUIS, 1986).

Os inseticidas organofosforados, por serem altamente lipossolúveis, são absorvidos pelo organismo humano através de todas as vias possíveis, incluindo o trato gastro intestinal, a via respiratória e as membranas mucosas. A absorção dérmica é a principal via de penetração nos envenenamentos ocupacionais e é grandemente aumentada nos ambientes de temperatura elevada. Depois da absorção, os compostos são distribuídos no organismo concentrando-se especialmente no fígado, rins, glândulas salivares, tiróide, pâncreas, pulmões e paredes do estômago e intestinos e, em menor proporção, no sistema nervoso central e músculos (LARINI, 1999, op. cit.)

Mercado de Pesticidas

O mercado de pesticidas vem aumentando, conforme pode-se constatar pelos dados de variação acumulada de janeiro e fevereiro 99/2000 apresentados na Tabela 5, e também pelo aumento da quantidade empregada por cultura para o ano de 97/98 apresentada na Tabela 6. Segundo a ANDEF (2000) e SINDAG (2000) o fechamento do mercado total de 98/99 foi de US\$2,316 bilhões, maior que o de 1997 com US\$ 2,180 bilhões.

Com o aumento de pesticidas nas culturas é justificável a preocupação com os resíduos e sua deposição no solo, no ar e seu destino final que são os corpos d'águas.

TABELA 5: Variação acumulada de pesticidas- Fev 99/Fev 2000- valor-US\$1,000

CLASSES	JAN/FEV99	JAN/FEV/2000	2000/99
HERBICIDAS	49,887	57,821	15,9%
FUNGICIDAS	27,959	28,964	3,6%
INSETICIDAS	57,336	69,633	21,4%
ACARICIDAS	6,541	7,017	7,3%
OUTROS(*)	5,958	6,113	2,6%
TOTAL	147,682	169,547	14,8%

(*) Antibrotantes, reguladores de crescimento, espalhantes adesivos.

Fonte: ANDEF, 2000

TABELA 6.: Vendas de pesticidas por culturas em toneladas para o período de 97/98.

CULTURAS	HERBICIDAS		FUNGICIDAS		INSETICIDAS	
	1997	1998	1997	1998	1997	1998
CAFÉ	5423	7838	13310	15831	11289	12302
CANA	22873	18951	-	-	1259	2585
CITROS	3804	4030	2839	4131	3414	7875
FRUTAS	355	948	2232	1267	1244	753
REFLORESTAMENTO	1427	976	-	-	1	404

Fonte; SINDAG, 2000

1.2- Estrutura do Trabalho

O estudo de resíduos de pesticidas em amostras complexas envolve, as etapas de amostragem, extração, “clean-up”, determinação quantitativa e tratamento dos dados. De forma a concluir a definição dos analitos a serem investigados no presente trabalho, foi realizado o levantamento das atividades agrícolas desenvolvidas na área do Ribeirão do Feijão, que são reflorestamento de *Eucaliptus* sp e *Pinus* sp, plantação de laranja e culturas diversas, sendo que a cultura predominante é a laranja. A partir desse levantamento foram conhecidos os pesticidas mais utilizados, os quais se encontram na Tabela 7.

TABELA 7: Pesticidas monitorados no trabalho

PESTICIDAS	USO	CLASSE	FORMULA BRUTA
TRICLORFON	Inseticida	Organofosforado	$C_4H_8Cl_3O_4P$
TIOMETON	Acar*/Inseticida	Organofosforado	$C_6H_{15}O_2PS_3$
DIMETOATO	Acar*/Inseticida	Organofosforado	$C_5H_{12}NO_3PS_2$
DIAZINON	Inseticida	Organofosforado	$C_{12}H_{21}N_2O_3P$
MALATION	Acar*/Inseticida	Organofosforado	$C_{10}H_{19}O_6PS_2$
DICOFOL	Acaricida	Organoclorado	$C_4H_9Cl_5O$
METIDATION	Inseticida	Organofosforado	$C_6H_{11}N_2O_4PS_3$
ETION	Acar*/Inseticida	Organofosforado	$C_9H_{22}O_4P_2S_4$
BROMOPROPILATO	Acaricida	Organobromo	$C_{17}H_{16}Br_2O_3$
PIRAZOFÓS	Fungicida	Organofosforado	$C_{14}H_{20}N_3O_5PS$

*Acar = acaricida

Os pesticidas em sua maioria pertencem à classe dos organofosforados. Exceção do bromopropilato que contém o átomo de bromo em sua cadeia, e do dicofol que é organoclorado, o qual é empregado legalmente, segundo a legislação brasileira.

A classe toxicológica dos pesticidas estudados variam de ligeiramente tóxicos à altamente tóxicos.

A descrição das principais características dos compostos monitorados, conforme Ministério da Agricultura, 1987 encontram-se no Anexo.

1.3 – Técnicas de Análises

A análise de mutiresíduos visa detectar vários pesticidas em nível de traços na amostra. Seria interessante, utilizar preferencialmente, um único procedimento analítico, porque reduz o tempo de análise e volume de solvente, conseqüentemente uma redução de gastos, e diminuição de resíduos. Mas a presença de grandes contaminantes e coextrativos extraídos da amostra pode levar à obrigatoriedade da utilização de mais de uma metodologia para a determinação de todos os pesticidas.

A metodologia empregada envolveu as seguintes etapas:

1 - Extração dos micropoluentes da matriz (água). Foram estudados os métodos de extração Líquido-Líquido (LLE), extração em Fase Sólida (SPE) e extração com Fluido Supercrítico (SFE).

2- Análise cromatográfica dos extratos. Foram utilizados métodos cromatográficos de alta resolução, como cromatografia gasosa de alta resolução (HRGC) e cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (GC/MS).

1.4 – Extração

A determinação de multiresíduos começa inicialmente pela extração do composto da amostra. A extração é geralmente realizada utilizando-se solventes orgânicos, sendo que a eficiência deste processo depende da polaridade do composto, do pH, massa ou volume da amostra e método de extração; visando a separação dos analitos de interesse presentes na matriz, de possíveis interferentes co-eluídos.

Os pesticidas utilizados na agricultura são vários e com polaridades muito diferentes, portanto esses fatores podem inviabilizar um único método de extração, capaz de extrair todos os pesticidas da amostra. Sendo assim há necessidade de recorrer-se a mais de um tipo de extração.

1.4.1 - Extração Líquido-Líquido (LLE)

A extração líquido-líquido é uma das técnicas mais simples de extração. Os analitos são separados em um sistema de solventes imiscíveis. O analito mais coextrativo da matriz irá se distribuir entre dois solventes de acordo com seu coeficiente de partição (ALDERS, 1992).

No caso de extração de matrizes aquosas com solventes, três critérios básicos determinam a técnica, sendo eles: escolha do solvente, parâmetros de qualidade da água e tipo de procedimento de extração. É um procedimento ainda muito utilizado na análise de micropoluentes em água, (SUFFET et al., 1975).

Para CHAU; REPLY & KAWAHARA (1982), a extração líquido-líquido por partição é também usual para “clean-up” de extratos de amostras sólidas ou líquidas, que tenham substâncias coextrativas que possam causar interferência na análise. No caso da LLE em água o critério da escolha do solvente se baseia na:

- Solubilidade do solvente em água
- Característica do solvente (polaridade, aromaticidade)
- Compatibilidade com o sistema de detecção
- Volatilidade do solvente
- Facilidade em manusear o solvente
- Toxicidade do solvente
- Inflamabilidade

Os parâmetros da qualidade da água que afetam a escolha do solvente são:

- Força iônica
- Turbidez
- Matéria orgânica solúvel (coextrativos)
- Óleo orgânico
- PH
- Temperatura

As considerações do procedimento são:

- Número de extrações
- Tempo de contato solvente-amostra
- Volume da amostra
- Amostra de água: proporção do solvente
- Desenho do equipamento e mecanismo para extração (extração contínua, em série)

1.4.2 - Extração em Fase Sólida (SPE)

A extração em fase sólida é similar à cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), consistindo de pequenas colunas descartáveis preenchidas com uma grande variedade de adsorventes e com grande volume de amostra, que pode ser adicionadas às colunas, (ZWEIG & SHERMA, 1972).

Essa técnica consiste em acondicionamento da coluna com solvente apropriado, aplicação da amostra, e eluição com solvente adequado, o qual elui seletivamente as impurezas, deixando o analito adsorvido na coluna. O analito é eluído com um solvente adequado para dessorvê-lo do adsorvente com pequeno volume, deixando a amostra concentrada e pronta para injeção em cromatografia.

Os principais mecanismos de separação atualmente em uso de SPE são: adsorção, partição (fase normal e reversa), troca iônica e exclusão por tamanho, que são associadas a processos químicos e físicos que atuam durante o processo de separação (LANÇAS, 1997).

A seleção do adsorvente, bem como do solvente a ser empregado, deve se basear nas características do analito, da matriz e da metodologia aplicada; a escolha da fase sólida esta condicionada à polaridade do analito: se for polar, a fase deverá ter característica polar ou moderadamente polar (ZIEF & KISER, 1982).

Segundo LISKA et al. (1989), as propriedades de adsorção depende de vários fatores, porém a estrutura da matéria sólida, porosidade e área superficial, e sua composição química são as mais importantes. Além do processo de adsorção existem outros processos competitivos, como interação secundária entre o analito com o adsorvente, e interações entre o analito, o solvente e a matriz.

A extração em fase sólida também se mostra como alternativa importante no armazenamento e preservação de pesticidas em amostras ambientais (Colina et al., 1996).

A SPE é uma técnica de separação líquido-sólido que comporta-se como cromatografia líquida de baixa pressão, que emprega uma pequena coluna aberta, usualmente denominada cartucho de extração, a qual contém a fase sólida. A solução contendo o analito de interesse é colocada no topo superior do cartucho e aspirada com pequeno vácuo. Logo após, o analito retido no cartucho é eluído com um pequeno volume de solvente (LANÇAS, 1997). As principais etapas do processo de extração em fase sólida encontram-se na Figura 4.

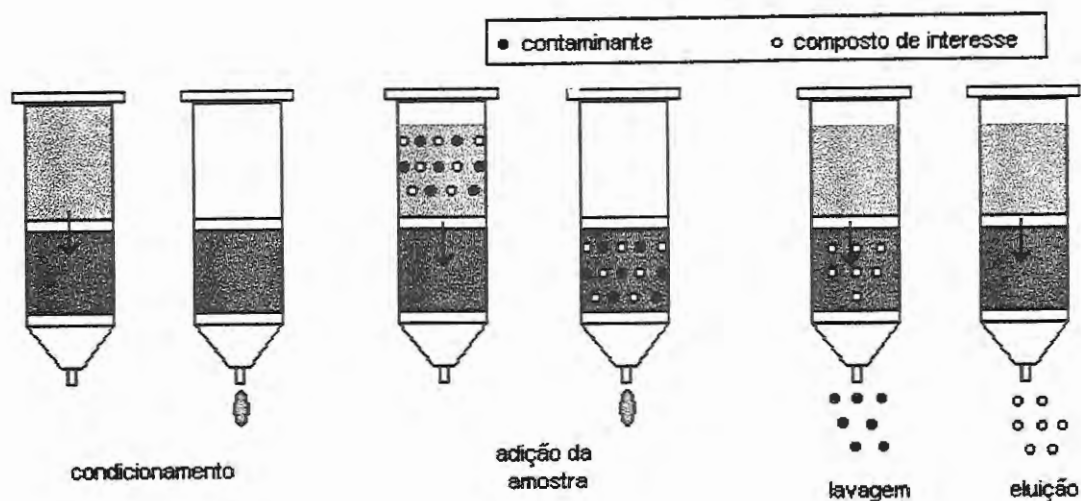


FIGURA 4: Principais etapas empregadas em SPE visando o isolamento de um composto (LANÇAS, 1997).

1.4.3 - Extração com Fluido Supercrítico (SFE)

Um fluido supercrítico é definido como qualquer substância que esteja acima da temperatura crítica e pressão crítica. O par temperatura e pressão críticas é característico de cada substância pura. A temperatura crítica é a temperatura máxima na qual um gás pode se converter a líquido por aumento de pressão. A pressão crítica é a pressão máxima a qual um líquido pode se converter a gás por um aumento na temperatura do líquido.

Na extração com fluido supercrítico a amostra é geralmente colocada em uma cela de extração através da qual passa-se um solvente, o qual irá remover os analitos de interesse (NAM & KING, 1994).

Dentre os vários compostos usados em extração com fluido supercrítico, o dióxido de carbono é o mais popular, devido às suas características práticas, entre as quais: temperatura e pressão relativamente baixas, não é tóxico, pouco reativo, fácil de purificar e não inflamável. O dióxido de carbono é praticamente apolar, em muitos casos adiciona-se um outro composto (por exemplo o metanol) para modificar suas propriedades e melhorar a extração. Dentre os vários modificadores utilizados, os compostos orgânicos são preferidos devido ao fato de atingirem o estado supercrítico em condições brandas (SARGENTI, 1994).

A regra essencial para um solvente ser considerado um modificador é que ele seja miscível em CO₂, na proporção utilizada, e que a sua presença assegure a solubilidade do soluto a ser extraído (LANGENFELD et al., 1994).

Com a adição de modificadores, as propriedades críticas do fluido são alteradas, podendo ser calculadas de forma aproximada pelas equações de VANOORT et al., (1990).

$$T_c = X_a T_a + X_b T_b \quad (1)$$

$$P_c = X_a P_a + X_b P_b \quad (2)$$

sendo T_c e P_c parâmetros críticos da temperatura e pressão da mistura dos fluidos; X_a e X_b são frações molares do fluidos A e B, T_a e T_b são as temperaturas críticas dos fluidos A e B respectivamente e P_a e P_b são as pressões críticas correspondentes.

A extração com fluido supercrítico pode ser operada de dois modos básicos: estático ou dinâmico.

No modo estático, a extração é efetuada com uma quantidade fixa do agente extrator. A cela de extração contendo a matriz é pressurizada com o fluido a uma certa temperatura e um tempo determinado. A agitação do sistema permite um bom contato entre o fluido e o analito (CAMEL, TAUBUTE & CLAUDEL, 1992).

No modo dinâmico, o fluido supercrítico é percolado através da matriz (circuito aberto), ou, mais raramente, em circuito fechado, onde o volume do fluido limitado é circulado várias vezes pela matriz. A maior parte dos compostos é extraída em um curto período no início da extração, depois a velocidade de extração diminui exponencialmente (JENNINGS, 1979).

As principais vantagens do uso de fluidos supercríticos segundo VANOORT et al. (1990 op cit.) são:

- aumento de eficiência nos tempos de extração em comparação com a extração por Soxhlet.
- capacidade de extrair compostos termicamente lábeis.
- uso de solvente não tóxico e de baixo custo, tal como o CO_2 .
- simplicidade para o controle das condições de extração.
- facilidade em eliminar o solvente de extração.

- possibilidade de análises diretas de matrizes complexas, eliminando o risco de contaminações.
- possibilidade de extração seletiva por classes de compostos ajustando a densidade do fluido e as condições de extração.
- compatibilidade do método com métodos de análise para acoplamentos “on-line”.

1.5 - Clean - Up

O processo de “clean-up” possui a função de remover os principais interferentes da amostra, resultando em análises mais consistentes e reprodutíveis, bem como, minimizar os efeitos de possíveis contaminantes prejudiciais à coluna cromatográfica (por processo de adsorção irreversível) e resposta, por contaminação do detector. Reduzindo o número de picos no cromatograma diminui-se, em alguns casos, a necessidade de técnicas confirmatórias (ANDERSON, 1987).

Com a injeção de amostras “limpas” aumenta-se o tempo de vida das colunas cromatográficas e diminui-se a deteriorização do instrumento (MATTERN et al., 1991).

1.6. - Análise Cromatográfica

Cromatografia é um termo geral aplicado a uma variedade de técnicas, nas quais uma amostra contendo dois ou mais componentes é separada como resultado de um

equilíbrio entre duas fases, uma móvel e a outra estacionária. Durante a passagem da fase móvel sobre a fase estacionária, os componentes são retidos de acordo com a sua distribuição relativa nas duas fases, resultados de processos físicos, químicos e mecânicos (COLLINS et al., 1990).

Para a Comunidade Européia que exige um padrão elevado de pureza para a água potável, com concentração máxima admissível de 0,1 µg/L para alguns pesticidas, torna-se necessário o desenvolvimento de métodos analíticos adequados. O método com alta sensibilidade, seletividade, acuracidade e confiança tem sido encontrado apenas com uso de técnicas relativamente sofisticadas, tais como cromatografia gasosa (HRGC) e cromatografia líquida (HPLC) (BALINOVA, 1993).

GROSSER, RYAN & DONG (1993), analisando métodos de análises nos U.S.A, concluíram que o controle de qualidade adotado pelo programa de pesticidas administrado pela Agência de Proteção Ambiental (EPA), usando novas técnicas nos últimos anos, como cromatografia líquida (HPLC-MS) e cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (HRGC-MS), aumentaram a precisão, a rapidez, bem como confiabilidade nas análises ambientais.

1.6.1 - Cromatografia Gasosa

A cromatografia gasosa baseia-se na distribuição de substâncias entre uma fase estacionária (sólida ou líquida) e uma fase móvel (gasosa), sendo aplicada a gases ou substâncias volatilizáveis.

A cromatografia em fase gasosa ou simplesmente cromatografia gasosa é, muito provavelmente, a mais valiosa técnica hoje para análise orgânica; ela tem sido aplicada à separação, identificação e quantificação de todos os gases e misturas líquidas, ar, drogas, gasolina, amostras lunares, etc. (LANÇAS, 1986).

Segundo PERRY (1981), a amostra é introduzida no cromatógrafo através de um sistema de injeção em uma coluna contendo a fase estacionária. O uso de temperaturas convenientes no local da injeção da amostra (injetor) e na coluna possibilitam a vaporização destas substâncias que, de acordo com suas propriedades e as da fase estacionária, serão retidos por tempos determinados e chegarão a saída da coluna em tempos diferentes. O uso de um detector adequado na saída da coluna, torna possível a detecção e a quantificação destas substâncias.

A cromatografia gasosa a cada dia se torna um técnica imprescindível nas análises de multiresíduos de pesticidas em água. TRÍSCA (1995), determinou, através da cromatografia gasosa, pesticidas em águas de pântano; VINK & VAN DER POOL (1996) determinaram multiresíduos de oito herbicidas polares ácidos em águas superficiais na Holanda; PSATHAK et al. (1994), determinaram pesticidas organofosforados em água potável, assim como outros pesquisadores determinaram, através desta técnica, multiresíduos de pesticidas em águas de abastecimento, águas residuárias, águas subterrâneas, águas de mar e etc.

1.6.1.2 - Descrição do Cromatógrafo a Gás

Um cromatógrafo a gás é composto de uma coluna que contém a fase estacionária, através da qual passa o gás de arraste (a fase móvel).

A amostra é introduzida na coluna através de um injetor, onde o gás de arraste conduz a amostra para a separação.

Na saída da coluna encontra-se o detector, específico conforme a natureza da amostra, que por sua vez está ligado a um registrador. Ver figura 5

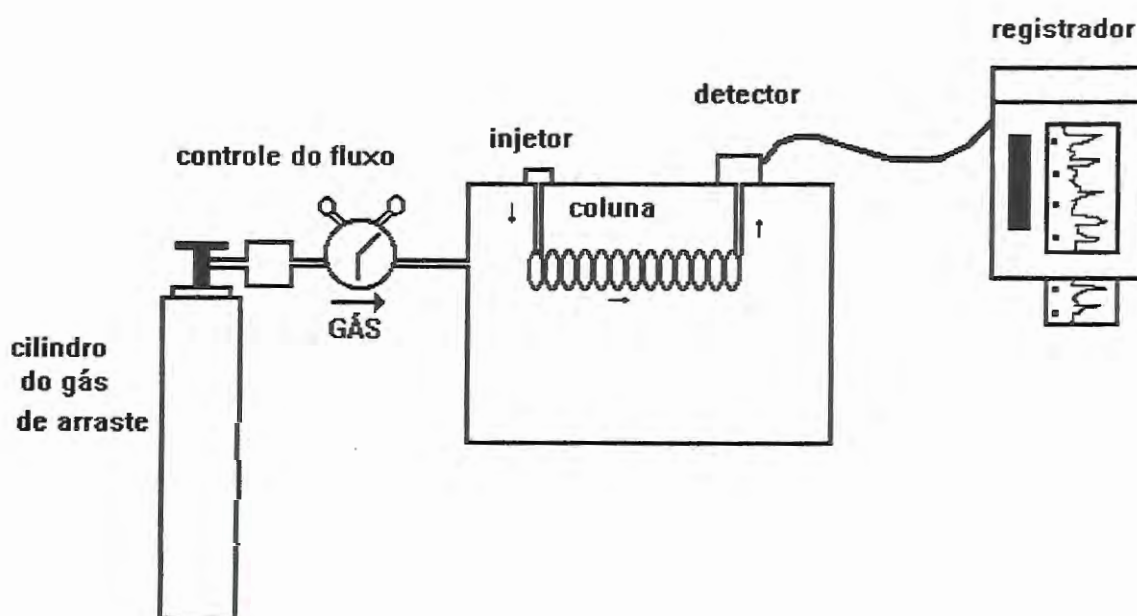


FIGURA 5: Cromatógrafo a gás (LANÇAS, 1993)

□ Gás de Arraste

O gás de arraste tem como função carregar as moléculas da amostra do ponto de injeção até o detector, passando pela coluna onde ocorre a separação. O gás para ser ideal não deve interagir com a fase estacionária nem com a amostra, devendo ter baixo custo e ser adequado ao detector (LANÇAS, 1993).

□ Sistemas de Injeção

O sistema de injeção em colunas capilares são basicamente : Injeção com divisão (“split injection”), sendo que um volume grande é introduzido em um fluxo elevado do gás de arraste e, após evaporação, a mistura é dividida em duas porções, das quais a menor é injetada na coluna. Injeção sem divisão (“splitless”), quando a amostra é uma solução diluída e não existe interesse em analisar-se o solvente. Injeção na coluna (“on-column injector), quando a amostra condensada é colocada diretamente dentro da coluna não aquecida e lá dissolver-se na fase líquida.(LANÇAS, 1993, op. cit.).

□ Coluna

É na coluna onde ocorre a separação propriamente dita, portanto quando da sua escolha, dois parâmetros devem ser considerados.Em primeiro lugar a fase estacionária (o suporte sólido e a fase líquida) e depois o tubo onde será acondicionado (material, comprimento, diâmetro, etc.).

Os tubos utilizados nas colunas empacotadas são de cobre , vidro ou aço inoxidável. As dimensões ideais para uma coluna são em função da amostra e a eficiência desejada na separação.

As colunas mais comuns são empacotadas ou recheadas, que são preenchidas integralmente com as partículas da fase estacionária.

As colunas mais modernas são capilares (ou tubular aberta), cuja fase estacionária é depositada na forma de um filme fino e uniforme na parede interna do tubo, deixando a parte central oca, (LANÇAS,1993).

□ Detector

A função do detector é acusar a presença e medir a quantidade de componentes no efluente da coluna. De acordo com a forma de resposta os detectores se classificam em integrais ou diferenciais. Os detectores diferenciais medem a diferença instantânea na composição do efluente da coluna, enquanto que os integrais medem a quantidade acumulada dos componentes da amostra que chegam ao detector.

Os detectores podem ser sensíveis à concentração ou a massa de um dado analito, com respeito a seletividade, podem ser universais, seletivos ou específicos. Dentre as diversas características para um bom detector, as principais são: sensibilidade elevada, baixo nível de ruído (amplitude), resposta (universal ou seletivo), ampla faixa de linearidade, quantidade mínima detectada.

O detector utilizado no trabalho foi o detector por captura de elétrons (ECD), cujo funcionamento é baseado na captura de elétrons pela amostra, sendo que os elétrons são gerados pela ionização do gás de arraste por uma fonte radioativa, o esquema encontra-se na Figura 6.

Os elétrons coletados após a ionização do gás de arraste pela fonte radioativa, ao serem capturados pela amostra irão gerar um sinal elétrico, que é enviado a um eletrômetro que o amplifica e remete ao registrador para desenhar o cromatograma (LANÇAS, 1993).

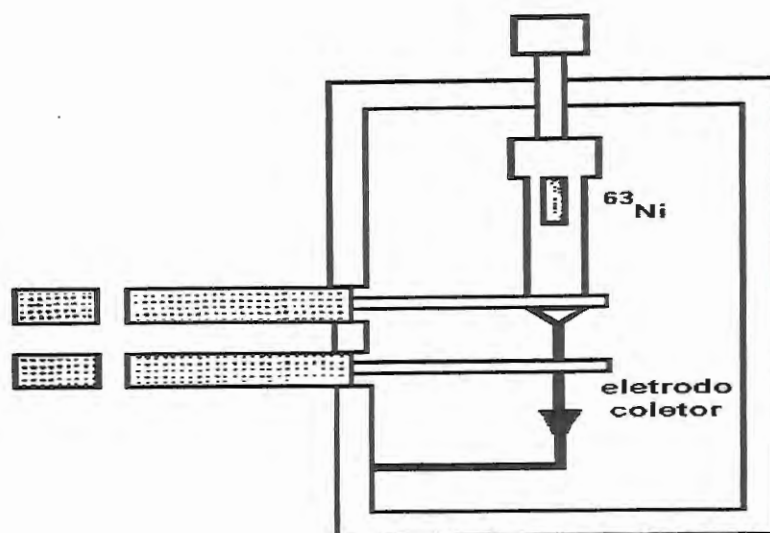


FIGURA 6: Esquema de um detector por captura de elétrons. (LANÇAS, 1993).

□ Registrador

A função do registrador é imprimir, geralmente na forma de uma gaussina, o sinal elétrico proveniente do detector, o qual deverá ser proporcional à quantidade da amostra injetada no sistema cromatográfico. O cromatograma obtido no registrador permite uma análise qualitativa ou quantitativa da amostra. Os integradores além de apresentarem o cromatograma, permitem ainda o registro dos tempos de retenção, altura do pico e área dos picos.

1.6.2 - Espectrometria de Massas (MS)

A cromatografia gasosa de alta resolução e a cromatografia líquida de alta eficiência são as técnicas mais utilizadas na determinação e caracterização de pesticidas, porém a técnica de espectrometria de massas tornou-se uma grande aliada na identificação dos pesticidas e seus metabólitos.

Esta técnica permite a obtenção de dados sobre a estrutura e sobre a massa molecular dos pesticidas e de seus produtos de degradação, desde que a fragmentação das moléculas seja feita de maneira reprodutível e, o espectro obtido pode ser considerado como característico de cada composto (LUCHINI, 1995).

O acoplamento da cromatografia gasosa à espectrometria de massas (GC/MS) tem sido utilizada com bastante eficiência na análise de resíduos de pesticidas como foi observado por GARRISON et al. (1972); SINGH et al. (1986); STAN (1989); SCHUETT et al. (1990); HOLLAND (1990); LIAO (1991) entre outros.

O acoplamento de cromatografia líquida a espectrometria de massas tem também mostrado bons resultados como relataram entre outros BARCELÓ et al. (1987); PARKER (1982); HOLMSTEAD & CASSIDA (1974).

1.7 - Validação

Um conjunto de variáveis como por exemplo concentrações de diversas soluções de analito injetadas no cromatógrafo e o respectivo conjunto de variáveis que depende

das concentrações injetadas, como as áreas dos picos eluídos, necessita do auxílio de métodos estatísticos a fim de avaliar a qualidade dos dados segundo critérios padronizados.

O objetivo da validação de um método analítico é demonstrar que ele é adequado para a aplicação analítica desejada (FRANCOTE, DAVATZ & RICHERT, 1996)

A validação de um método é um processo dinâmico e contínuo que deve ser considerado como parte de um programa de segurança da qualidade (QA), isso pressupõe que dados pertinentes à aferição e calibração do instrumental envolvido estão de conformidade com as boas prática de laboratório (GLP). Quaisquer que sejam as técnicas a serem utilizadas, deve-se preconizar um protocolo de validação da metodologia a ser desenvolvida. Isso inclui, basicamente, três estágios: delineamento experimental, padronização analítica e controle da qualidade de resultados (CHASIN, CHASIN & SALVADOR, 1994).

Os parâmetros de validação que devem ser incluídos em um trabalho, ainda, são motivos de controvérsias. Neste trabalho foram apresentados os seguintes:

- Limite de Detecção - LOD

É a menor quantidade de analito a qual pode ser detectada nas condições experimentais estabelecidas. De acordo com a IUPAC o limite é calculado como sendo correspondente a concentração que produziria um valor do sinal medido, três vezes maior que o nível de ruído médio medido com a solução de controle ou branco.

- Limite de Quantificação - LOQ

É a menor quantidade de analito que pode ser quantificada nas condições experimentais estabelecidas. De acordo com a IUPAC o limite é calculado como sendo correspondente a concentração que produziria um valor do sinal medido, dez vezes maior que o nível de ruído médio medido com a solução de controle ou branco.

- Linearidade

Um método é linear se há uma relação linear entre a resposta analítica e a concentração do analito na amostra sobre uma determinada faixa de concentração do analito.

- Exatidão

A exatidão expressa a concordância entre o valor encontrado e o valor aceito como verdadeiro ou aceito como referência.

- Precisão

É o grau de dispersão dos resultados e é usualmente relatado como uma porcentagem do desvio padrão relativo. Usualmente quando se fala em precisão, está se falando também em repetibilidade que é a precisão em medidas da replicata da mesma solução, e reprodutibilidade que é a precisão dos resultados de medidas de diferentes soluções.

- Recuperação

A recuperação é uma medida de eficiência do processo de isolamento do analito de interesse da matriz no qual encontra-se presente. GARP (1997) sugere que a faixa de aceitação para a recuperação deve ser 70-110%.

No procedimento de validação são utilizados os conceitos básicos da estatística, os principais para o presente estudo são:

- Coeficiente de Correlação

Quando se deseja um número para avaliar a qualidade dos dados, e não somente a interpretação de uma representação gráfica em escala conveniente, pode-se utilizar o coeficiente de correlação.

- Desvio Padrão

A avaliação da dispersão dos valores experimentais em torno da média é dada freqüentemente pelo desvio padrão (DP).

- Desvio Padrão relativo

O coeficiente de variação ou desvio padrão relativo, é obtido em relação a média aritmética, em unidades percentuais, que é muito útil para comparar as precisões de resultados que possuem magnitudes ou unidades diferentes.

Segundo GARP e ANDEF,1997 os valores aceitos estão na faixa de +-15%, e para US-EPA são aceitos valores na faixa de +-30%.

1.8 - OBJETIVOS

□ GERAIS

1- Desenvolvimento de metodologia analítica para determinação de multiresíduos de pesticidas em águas de abastecimento da cidade de São Carlos - SP.

2- Após o desenvolvimento da metodologia adequada, determinação da eventual presença e das concentrações dos multiresíduos nas águas do Ribeirão do Feijão e córrego Laranja Azeda.

□ ESPECÍFICOS

1. Desenvolver metodologia analítica por extração líquido-líquido (LLE) para multiresíduos de pesticidas.
2. Desenvolver metodologia analítica por extração em fase sólida (SPE) para multiresíduos de pesticidas.
3. Desenvolver metodologia analítica por extração com fluido supercrítico (SFE) para multiresíduos de pesticidas.
4. Otimizar a análise cromatográfica com detector de captura de elétrons.
5. Comparar as metodologias analíticas desenvolvidas.

2.0 - MATERIAIS E MÉTODOS

2.1- Características gerais da área de estudo “Ribeirão do Feijão”

A bacia do Ribeirão do Feijão está localizada na região centro leste do Estado de São Paulo, entre os paralelos de 4745 - 4755 W de longitude e 2200 - 2215 S de latitude (PRADO et al., 1981). Abrange uma área de aproximadamente 227 km². O principal rio formador da bacia tem suas nascentes no alto da Serra do Cuscuzeiro e drena o planalto de Itirapina, correndo de NE para SW e de E para W, sobre solo de formação Botucatu no seu curso médio e alto, sendo que na sua parte baixa, corre sobre solos de origem basáltica. Segundo CHIARINI & DONZELI (1973) a maior parte dos solos da Bacia são de cerrado e campo, classificados como arenosos, de terras planas, com sérios problemas de fertilidade, mais indicados à pastagens e reflorestamento. São encontradas pequenas áreas de terras cultiváveis que são próprias para culturas anuais, com problemas desde simples a complexos para a manutenção de produtividade e conservação, e solos que não devem ser utilizados continuamente com culturas anuais, sendo mais apropriados para culturas perenes e pastagens, podendo ser cultivados

ocasionalmente. Também são encontradas pequenas áreas de terras impróprias para exploração agrícola, sendo indicadas somente para o abrigo da flora e fauna. Ao longo das margens dos cursos d'água aparecem as matas ciliares, enquanto nas planícies de inundação predominam as várzeas.

A bacia do Ribeirão do Feijão faz a divisa dos municípios de São Carlos, Analândia e Itirapina, sendo de grande importância para os mesmos, especialmente para São Carlos (Figura 7), que tem aí sua principal fonte de abastecimento da água.

[A água fornecida à população de São Carlos provém 50% de águas superficiais, sendo o Ribeirão do feijão o maior contribuinte, e 50% de águas subterrâneas.]

O Ribeirão do Feijão está localizado na Área de Proteção Ambiental (APA de Corumbataí), classificado na classe 2, destinando-se ao abastecimento doméstico, à proteção das comunidades aquáticas, à recreação de contato primário, à irrigação de hortaliças, plantas frutíferas e à agricultura (CETESB, 1977).

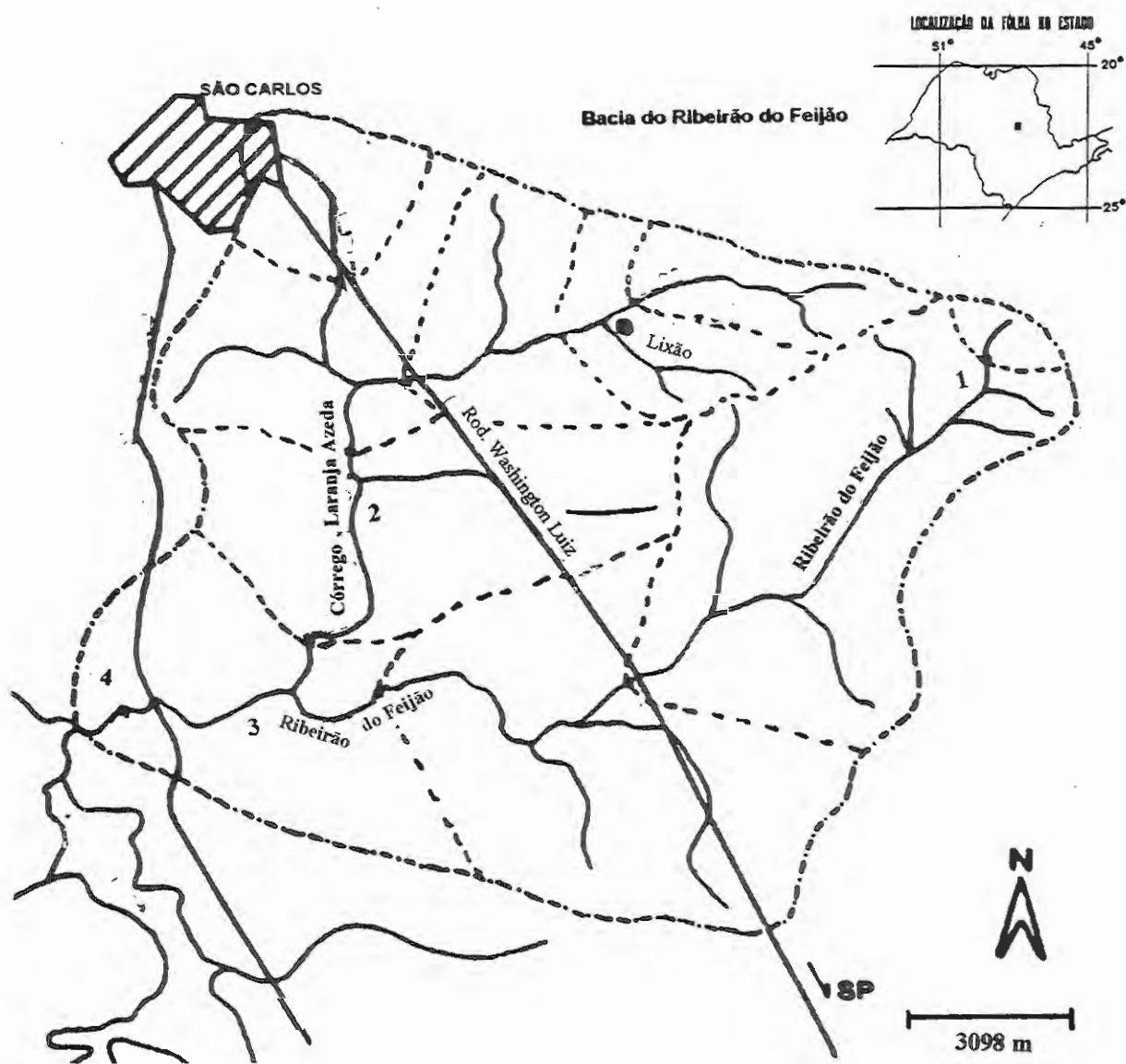


FIGURA7.- Localização dos pontos de coleta – Ribeirão do Feijão e Laranja Azeda.

Segundo TOLENTINO (1967), a região de São Carlos tem os seguintes dados climatológicos:

- Temperatura média anual.....21,3 °C
- Temperatura média do mês mais frio.....18,1 °C
- Temperatura média do mês mais quente.....23,1 °C
- Precipitação total1520,6 mm
- Precipitação do mês mais seco.....24,1 mm
- Precipitação do mês mais úmido.....285,9 mm

De acordo com MATTOS (1984), a estação mais chuvosa vai de outubro a março, com clima super úmido/super tropical e a estação seca de abril a setembro, com clima sub úmido/temperado.

Na bacia do Ribeirão do Feijão, são desenvolvidas várias atividades econômicas, onde se abriga parte da zona industrial de São Carlos, utilização da terra para pastagens, agricultura com grande diversidade de culturas, ocupando grande parte com reflorestamento por Pinus sp, Eucaliptus sp, e, plantação de laranja. Encontrava-se localizado o depósito de resíduos sólidos urbano (lixão) do município de São Carlos, próximo ao córrego Laranja Azeda, o qual foi desativado recentemente, tendo permanecido em atividade por dezessete anos.

2.2. – Amostragem

O conjunto de pontos selecionados, tem a intenção de representar a situação atual ao longo do Ribeirão do Feijão até o local de captação de água para abastecimento.

- 1º ponto:- Cabeceira do Ribeirão do Feijão, bem abaixo da Fazenda Palmeira (fazenda de plantação de laranja).
- 2º ponto:- Córrego Laranja Azeda, que é o principal tributário do Ribeirão do Feijão, sendo sua localização à jusante do ‘lixão’ da cidade de São Carlos, próximo à pista Washington Luiz.
- 3º ponto:- Ribeirão do Feijão já com a contribuição de todos os afluentes que o forma, vizinho à Fazenda Yolanda..
- 4º ponto: Represa de captação da água, antes de qualquer tipo de tratamento, sendo sua localização na área rural.

2.3 – Época de Coletas das Amostras

As coletas de amostras de águas foram efetuadas nas estações de verão e inverno.

O verão é a estação chuvosa da região, onde há maior carreamento de material para os corpos d’água, sendo o período mais característico de outubro a março.

O inverno é a estação mais seca na região que compreende o período de abril a setembro.

Analisando as águas dos rios nestas estações bem características que é o inverno e o verão, e, com amostragens ao longo do Ribeirão do Feijão e o córrego Laranja Azeda, pode-se detectar a presença de pesticidas, se existentes nos corpos d'água.

2.4 - Metodologia de análises

A otimização de metodologia para multiresíduos de pesticidas é longa porque envolve várias etapas, quando em ambientes naturais como a água de rios, torna-se mais complexa, pois as interações químicas são maiores.

Foram feitas extração líquido-líquido, extração em fase sólida e extração com fluido supercrítico e posterior análise cromatográfica dos extratos, utilizando cromatografia gasosa de alta resolução (HRGC)

O cálculo de rendimento das extrações tem por objetivo a aplicação da melhor metodologia em amostra reais.

A metodologia mais indicada é a obtida com recuperações na faixa de 70 à 110% (GARP,1997), com menor volume de solvente gasto, menor tempo de duração de análise, com menor número de etapas no processo, com menor uso de solventes tóxicos, e além de outros fatores relevantes é necessário que tenha menor custo.

2.5 – MATERIAIS

□ PADRÕES

Bromopropilato:- Ciba

Dicofol:-Chemser

Diazinon: - Ciba

Dimetoato:- Hoechst

Etion:- Hoecht

Malation:- Chemserv

Metidation:- Ciba

Pirazofós:- Hoechst

Triclorfon:- Defesa

Tiometon:- Chemserv

□ SOLVENTES

Água:- Purificada pelo sistema MILLI-Q da Waters

Acetato de etila: - Merck e Mallinckrodt – (P.A)

Ciclohexano:- Merck e Mallinckrodt – (P.A)

Hexano:- Merck e Mallinckrodt – (P.A)

Metanol :- Merck e Mallinckrodt – (PA)

Acetonitrila: - Merck e Mallinckrodt – (P.A)

Pentano:- Merck e Mallinckrodt – (P.A)

Acetona: - Merck e Mallinckrodt – (P.A)

□ ADSORVENTE

Octadecilsilano (C₁₈):- Supelco, Alltech e Varian

Florisil: - Supelco

Alumina:- Merck

XAD-4: - Aldrich

Chromosorb:- Johns-ManVille

Sílica:- Merck

2.6 - PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

2.6.1 Extração Líquido-Líquido (LLE)

Em um funil de separação (250 mL), adicionou-se 100 ml de água Milli-Q (água isenta de íons orgânicos e inorgânicos) e 1 mL da mistura de padrões (Dimetoato, Metidation, Malation, Dicofol, Diazinon, Bromopropilato, triclorfon, Tiometon, Etion e Pirazofós). As concentrações da mistura de padrões foram de 10 µg/mL, 1 µg/mL e 0,1 µg/mL.

Foram avaliadas extrações com os solventes diclorometano (DCM), acetato de etila e ciclo hexano/diclorometano (1:1). Foram utilizados 60 mL de solvente por três vezes consecutivas. Recolheu-se a fase orgânica em um becker e procedeu-se ao “clean-up” com sulfato de sódio anidro (10 g) em uma bureta, com a intenção de remover a água da fase orgânica. Logo a seguir essa solução foi evaporada até a secura em um rotaevaporador e o extrato obtido foi solubilizado em 1mL de acetato de etila. Da solução resultante foi injetada no cromatógrafo 1µL.

A Figura 8 ilustra, de forma esquemática, a metodologia empregada na extração líquido-líquido (LLE) para a análise de amostra de água enriquecida com os pesticidas dimetoato, metidation, malation, dicofol, diazinon, triclorfon, etion, tiometon. pirazofós e bromopropilato.

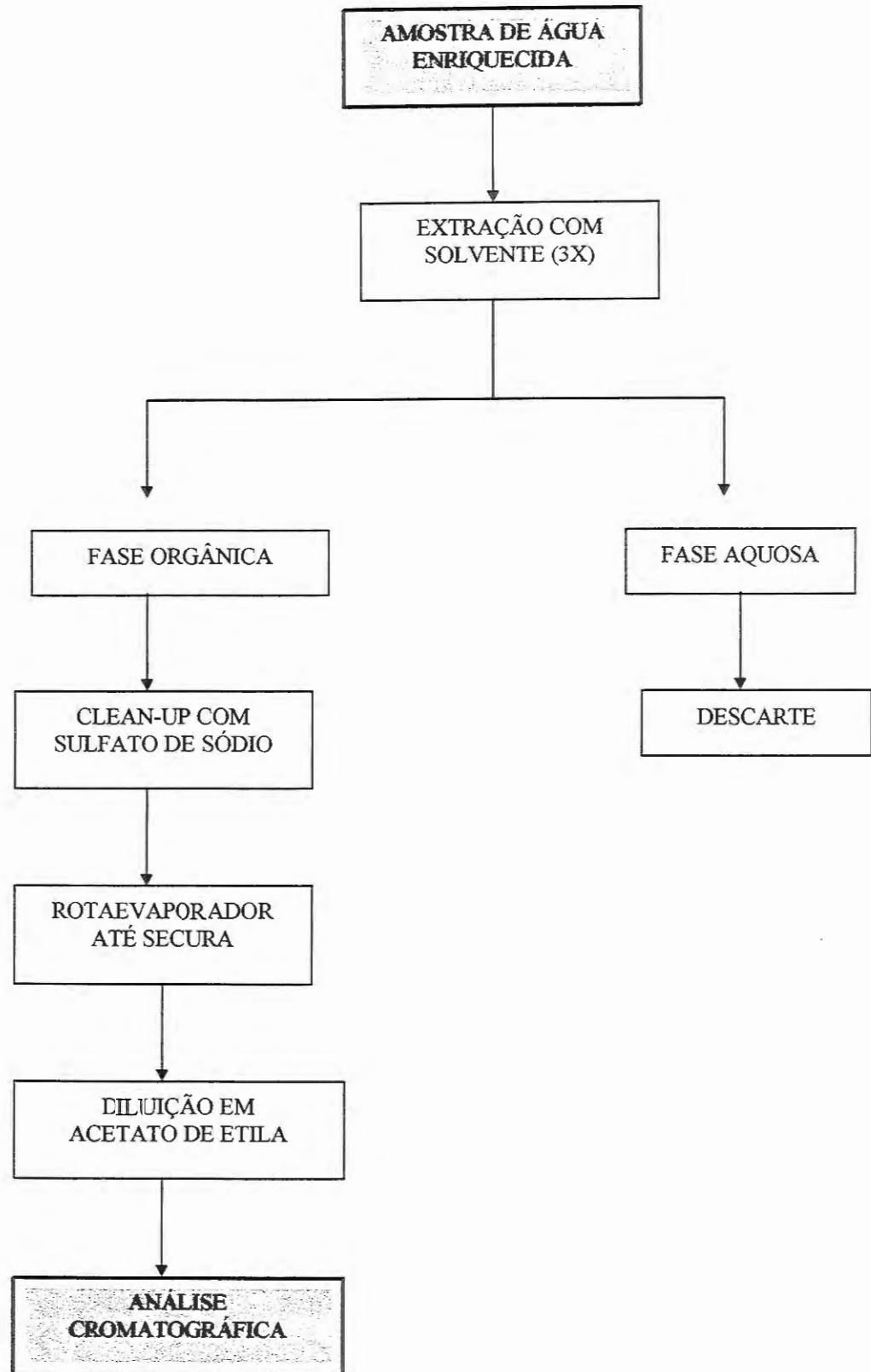


FIGURA 8: Procedimento de Extração Líquido-Líquido (LLE)

2.6.2 - Extração em Fase Sólida (SPE)

Para a extração em fase sólida foram avaliados solventes para condicionamento da fase sólida, solventes para a eluição dos analitos e adsorventes para o empacotamento da coluna de extração (Tabela 8).

A coluna de extração em fase sólida foi condicionada e eluída com vários solvente, sendo que na mistura de dois solventes a proporção foi de 1:1 . Para o empacotamento da coluna de extração foram testados vários adsorventes, sendo a mistura dos dois (1:1) e a massa sempre de 1g, para os diversos padrões estudados.

TABELA 8 – Solventes usados no condicionamento, eluição e adsorventes da coluna de extração

CONDICIONAMENTO	ELUIÇÃO	ADSORVENTES
10mL Acetato de etila	Acetona	C ₁₈
10 mL Metanol	Acetato de Etila	Florisil
5mL Acetato/5mL Água	Metanol	Alumina neutra
5mL Metanol/5mL Água	Acetonitrila	Sílica
10mL Acetato/10mL Água	Pentano	C ₁₈ /Florisil
10 mL Metanol/10 mL Água	Pentano/Acetato	XAD-4
	DCM/Acetato	Chromosorb-106
		XAD/C ₁₈
		Alumina/Sílica
		Chromosorb/C ₁₈

Avaliou-se também o efeito da acidificação da mistura enriquecida com os padrões.

Os adsorventes utilizados tem polaridades, tamanho de partículas e propriedades químicas diferentes, assim como os solventes utilizados para condicionamento e eluição.

Enriqueceu-se 100 mL de água milli-Q (água isenta de íons orgânicos e inorgânicos) com 1 mL da mistura de padrões na concentração de 10 µg/mL, 1 µg/mL e 0,1 µg/mL. Condicionou-se a coluna de extração com solvente (à vácuo), depois percolou-se a água enriquecida pela coluna, descartando-se o filtrado.

Utilizou-se para a eluição 20 mL de solvente. Coletou-se o filtrado e evaporou-se até a secura em um rotaevaporador a 50 °C. O extrato foi dissolvido em 1 mL de acetato de etila e injetado 1 µL no cromatógrafo.

A Figura 9 ilustra, de forma esquemática, a metodologia empregada na extração em fase sólida (SPE) para a análise de amostra de água enriquecida com os pesticidas malation, dicofol, dimetoato, metidation, diazinon, triclofon, bromopropilato, tiometon, etion e pirazofós.

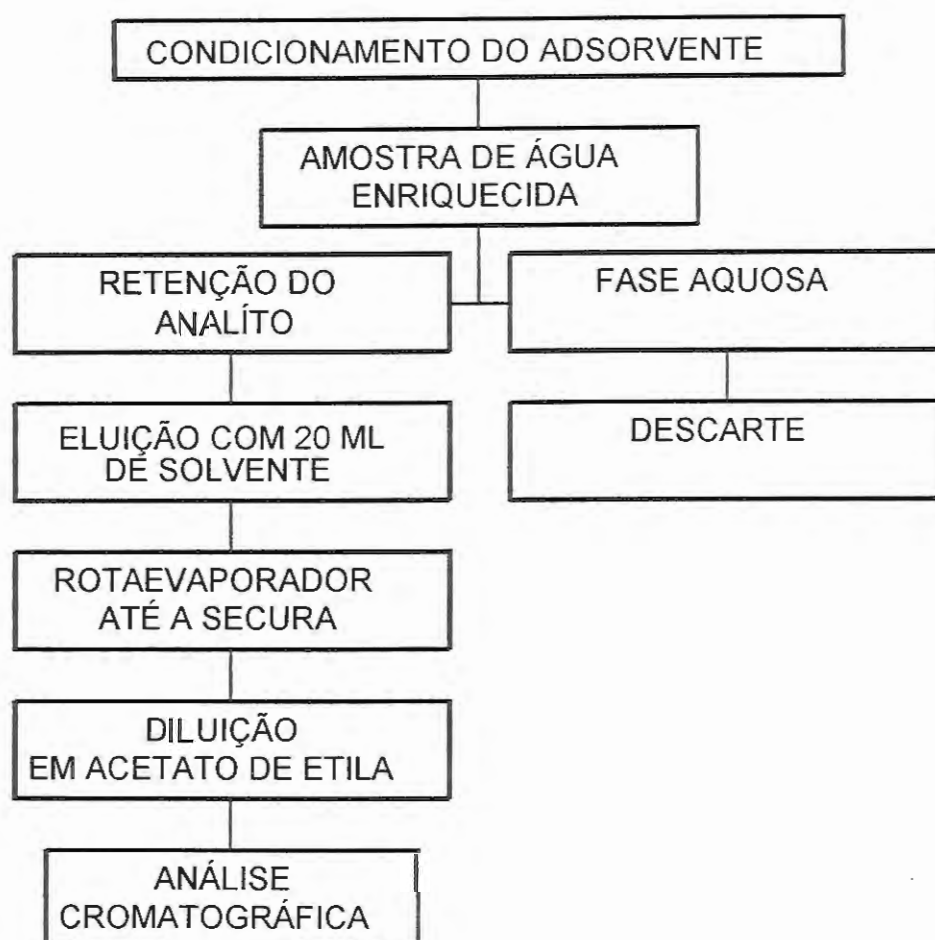


FIGURA 9: Procedimento para extração em fase sólida (SPE).

2.6.3. -Extração com Fluido Supercrítico (SFE)

Existem dois procedimentos para a extração com fluido supercrítico de analitos em água. Em um deles desenvolveu-se uma cela especial que aprisiona a água e deixa passar apenas os analitos a serem extraídos, isto é um sistema de extração direta para matrizes aquosas. A outra opção consiste em adsorver a amostra líquida em uma matriz sólida e depois efetua-se a extração de forma indireta. Os dois procedimentos foram avaliados.

O procedimento experimental para a extração direta consistiu em colocar 100 mL de água MilliQ enriquecida com 1mL da mistura de padrões de pesticidas triclorfon, dimetoato, diazinon, malation, dicofol, metidation, etion, tiometon, pirazofós e bromopropilato na concentração de 10 µg/mL e 1µg/mL. Esta cela foi colocada dentro de um forno a temperatura de 60 °C, pressão de 300 atm, sendo a extração feita por 30 minutos no modo estático e 1 hora no modo dinâmico com dióxido de carbono. Avaliou-se também a extração adicionando-se sulfato de sódio à cela com a amostra de água enriquecida.

O equipamento utilizado para a extração com fluido supercrítico de modo indireto consiste de um forno, onde a amostra é colocada na cela de extração, uma bomba que atinge até 700 atm de pressão para pressurizar o solvente extrator, (dióxido de carbono, CO₂), e o solvente modificador, o qual é introduzido dentro da própria cela de extração.

A cela de extração (20cm x 1cm) foi empacotada com 1 g de fase C₁₈-octadecil silano e florisil, acoplada a uma peça com torneira e com ajuste para se adaptar a uma bomba de vácuo. Essa coluna foi condicionada com 5 mL de acetato de etila seguida de

5 mL de água, e, a seguir, eluiu-se a água enriquecida com a mistura de padrões de 10 $\mu\text{g/mL}$, descartando-se o filtrado.

Essa cela em seguida foi colocada no sistema de extração, previamente ajustada a temperatura de 60 °C, com pressão de 300 atm, por um tempo de 10 minutos, sendo a extração feita em modo dinâmico.

Nos dois procedimentos de extração utilizou-se como fluido supercrítico o dióxido de carbono, e como modificador a acetona na concentração de 10% . Recolheu-se o extrato em um tubo de ensaio contendo acetato de etila, acondicionado em gelo. Evaporou-se até a secura, dissolveu-se o resíduo em acetato de etila, 1 μL do extrato foi injetado no cromatógrafo.

Para a extração com fluido supercrítico foram avaliados os seguintes parâmetros: temperatura do forno, pressão variando de 120 atm até 350 atm, tempo de extração, sem modificador e com os modificadores hexano, metanol, acetona e acetato de etila.

O restritor utilizado media 10 cm de comprimento por 50 μm de diâmetro.

A Figura 10 mostra uma síntese da metodologia utilizada; a Figura 11 mostra o equipamento utilizado para adsorção em matriz sólida e a Figura 12 mostra o equipamento de extração direta para matrizes aquosas.

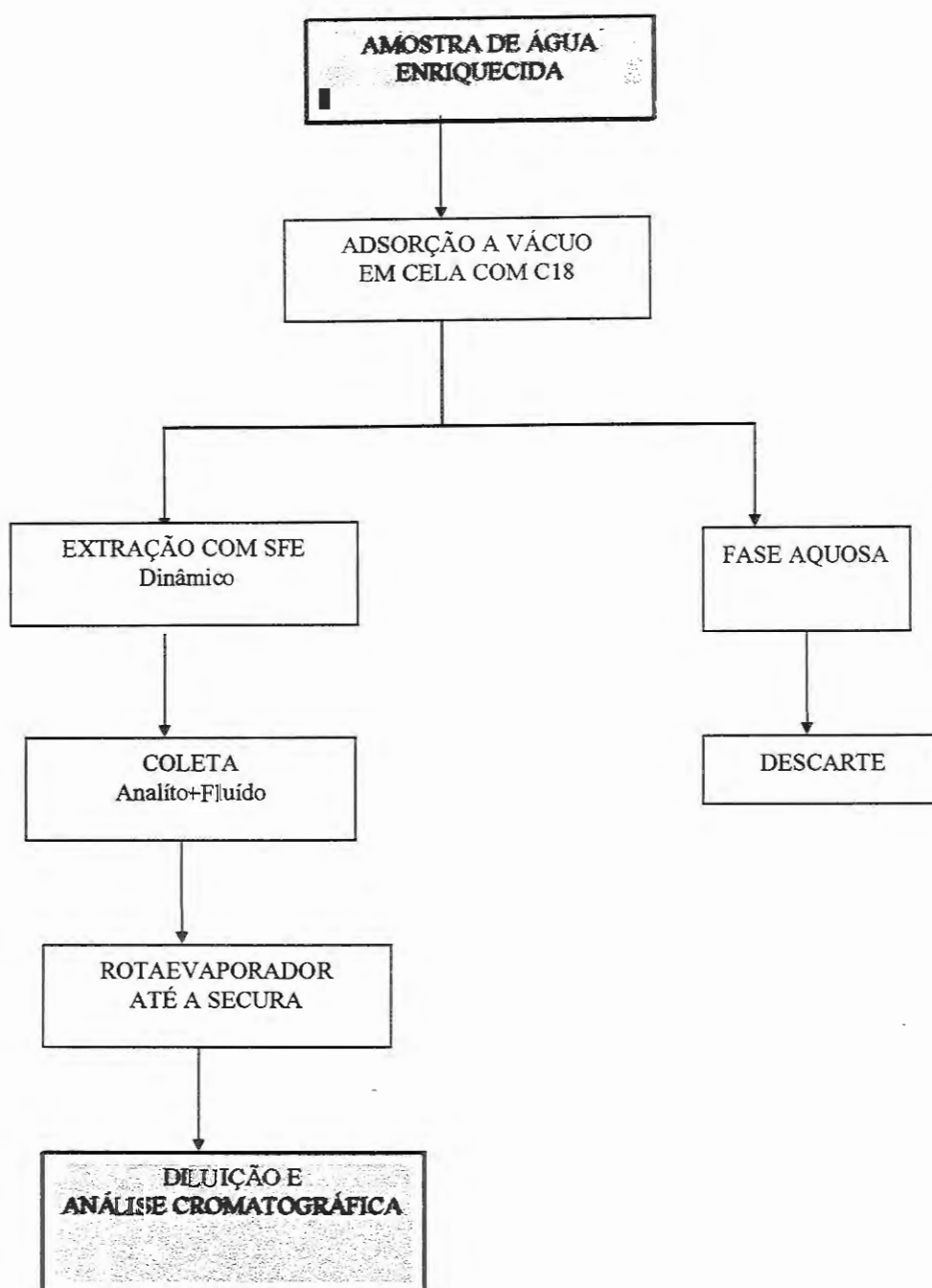


FIGURA 10: Procedimento experimental da extração com fluido supercrítico (SFE)

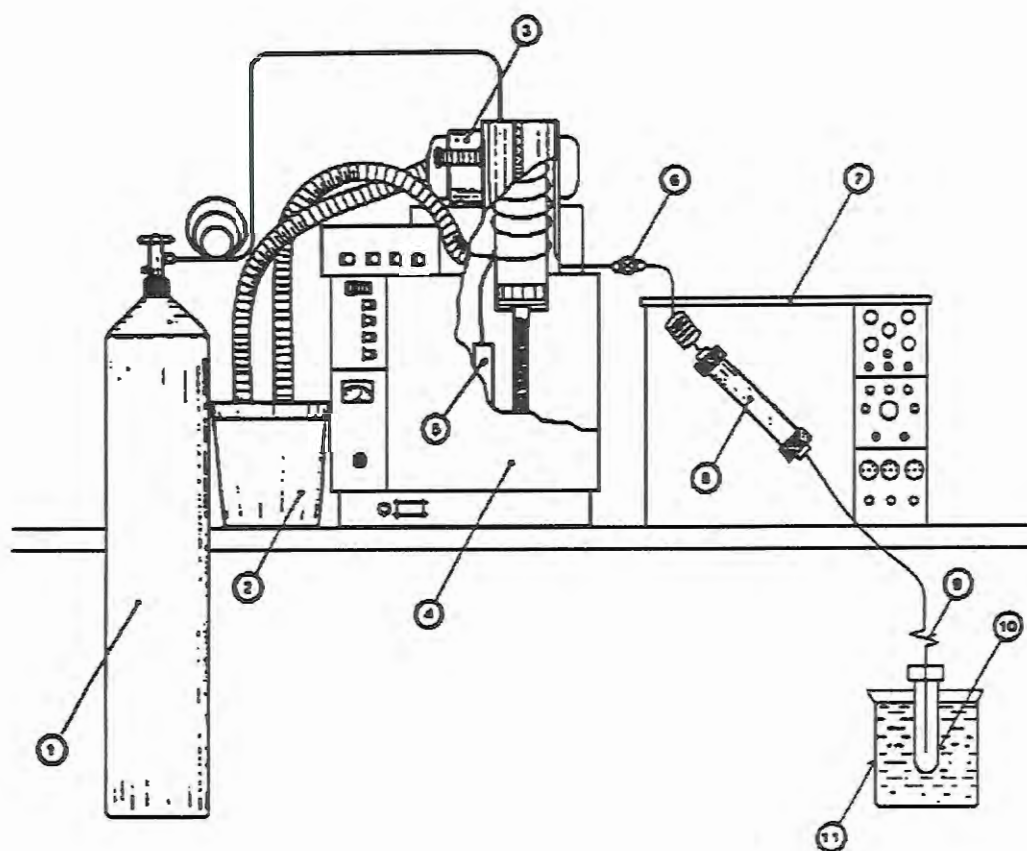
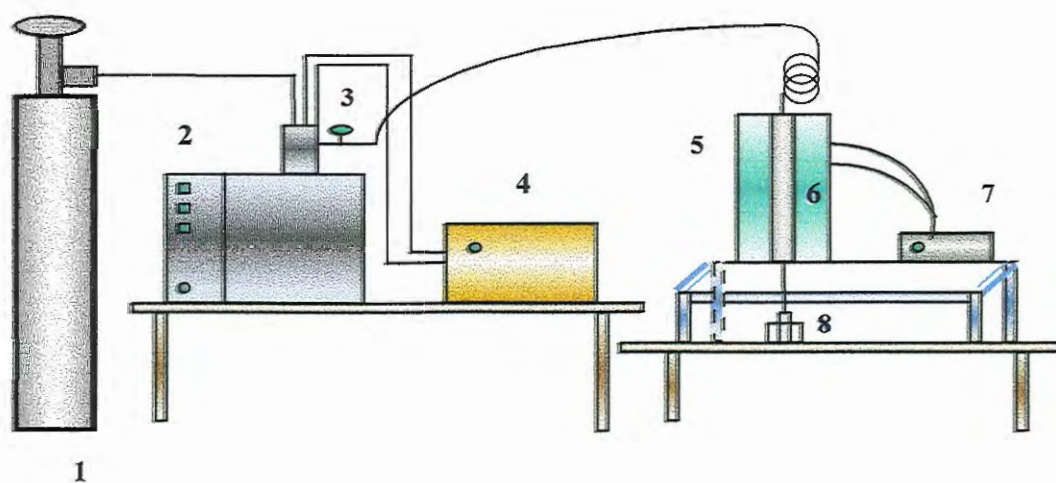


FIGURA 11: Sistema de extração com fluido supercrítico(SFE):

1.Cilindro de CO₂; 2.Banho de gelo; 3. Bomba de circulação; 4. Bomba de HPLC; 5. Reservatório de solvente; 6. Válvula; 7. Forno; 8. Vaso de extração; 9. Restritor; 10. Vaso coletor; 11. Banho de gelo. GALHIANE, 1996.



.FIGURA12: - Diagrama esquemático do sistema de extração direta da matriz aquosa com fluido supercrítico. 1- Dióxido de carbono; 2 – Bomba de alta pressão; 3 – Adaptador; 4 – Sistema de refrigeração; 5 Forno; 6 – Cella de extração; 7 – Controlador de temperatura; 8 – Sistema coletor. ALVES, 1998.

2.6.4 – Cromatografia gasosa

□ Sistema GC/ECD

O solvente acetato de etila, os padrões isolados e a mistura de padrões com concentrações de 1 µg/mL, 0,5 µg/mL, 0,25 µg/mL e 0,1 µg/mL, bem como dos extratos obtidos pelas extrações em fase sólida, líquido-líquido e com fluido supercrítico foram injetados no cromatógrafo. As condições experimentais do cromatógrafo foram.

- Cromatógrafo: HP - 5890 Série II
- Coluna: Sílica fundida, 25m x 0,25mm D.I x 0.33µm
- Fase Estacionária: 5% fenil-dimetil polisiloxano (LM-5)
- Temperaturas: Injetor =250 °C

Detector = 300 °C

Coluna = 140 °C(0min) - 4 °C/min - 250 °C - 12 °C/min - 300 °C(1 min).

- Gás de Arraste: Hidrogênio
- Razão do Split: 1:20
- Volume injetado: 1 µL.
- Detector: Detector por captura de elétrons

□ Sistema GC/MS

Foram injetados os padrões de pesticidas isoladamente para confirmação de identidade, a mistura dos padrões e os extratos das amostras reais.

- Cromatógrafo: Shimadzu – QP 5000
- Coluna: -Sílica fundida, 30m x 0,25mm D.I x 0.3µm
- Fase Estacionária: 5% fenil-dimetil polisiloxano (LM-5)
- Temperaturas: Injetor =250 °C

Interface = 280 °C

Coluna = 120 °C(3min) - 6 °C/min - - 300 °C(3 min).

- Gás de Arraste: Helio
- Modo de injeção:- Splitless
- Volume injetado: 1 µL.
- Detector: Espectrômetro de massas

2.6.5 – Amostra Real

A coleta das amostras de água foi realizada como previsto, nas estações de verão e inverno. Foram coletadas amostras de água em 4 pontos distintos:

- 1º ponto:- Cabeceira do Ribeirão do Feijão, bem abaixo de uma fazenda de plantação de laranja.
- 2º ponto:- Córrego Laranja Azeda, que é o principal tributário do Ribeirão do Feijão, sendo sua localização à jusante do 'lixão' da cidade de São Carlos.
- 3º ponto:- Ribeirão do Feijão já com a contribuição de todos os afluentes que o forma.

- 4º ponto: Represa de captação da água, antes de qualquer tipo de tratamento, sendo sua localização na área rural.

Mediu-se o pH, a temperatura, a condutividade, a turbidez e o oxigênio dissolvido da água de cada ponto de coleta.

A água coletada foi da superfície, sendo o frasco coletor de vidro, na cor âmbar, segundo normas da CETESB (1987).

As amostras foram estocadas na geladeira a 4°C, e as análises não excederam três dias, não ultrapassando o limite de tempo para armazenamento, que no caso de organofosforados são sete dias. Para organoclorados são quatorze dias, segundo manual de Resíduos de Pesticidas em Alimentos de 1999.

Foram congeladas amostras de todos os pontos, para o caso de confirmação de alguns resultados.

Foram percolados 1L de cada amostra em cartuchos com o adsorvente octadecilsilano (C₁₈) e congelados; esse procedimento conserva as amostra por um mês sem ocorrer perdas (Jeannot, 1994, e Colina, et al.,1996).

Para se efetuar as análises, foi necessário a filtração das amostras de água, utilizando filtro quantitativo de 12,5 cm de diâmetro e 42µm de porosidade.

O volume utilizado para cada extração foi de 1L de amostra, sendo que todas as análises foram feitas em duplicatas.

Para a extração em fase sólida, o adsorvente utilizado foi o octadecilsilano (C₁₈), porque demonstrou melhor eficiência para os compostos estudados.

3.0 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para a análise dos pesticidas foram feitas várias injeções repetidas para cada padrão de pesticida para se obter o tempo de retenção (T_r), a área média (\bar{X}) para a concentração de $1\mu\text{g/mL}$, o coeficiente de correlação (r) variando a concentração de 0,1, 0,25, 0,5 e $1\mu\text{g/mL}$, sendo a equação da reta ($Y = A + BX$), o limite de detecção (*limit of detection*-LOD) e o limite de quantificação (*limit of quantitation*-LOQ). Os dados estão apresentados na Tabela 9.

O limite de detecção obteve-se diminuindo a concentração gradativamente até a resposta ser três vezes superior a altura média do ruído da linha de base do branco, e para o limite de quantificação uma resposta dez vezes superior a altura média do ruído da linha de base do branco.

O cromatograma GC/ECD da mistura de $1\mu\text{g/mL}$, está representado na Figura 13.

TABELA 9: - Tempo de retenção (Tr), área média (X) para concentração de 1 µg/mL, coeficiente de correlação (R), limite de detecção (LOD) e limite de quantificação (LOQ).

PESTICIDAS	Tr	ÁREA - (X)	r	LOD (µg/L)	LOQ (µg/L)
TRICLORFON	1,352	108746	0,99596	50,0	150,0
TIOMETON	5,802	170712	0,99849	30,0	100,0
DIMETOATO	6,018	773045	0,98921	5,0	15,0
DIAZINON	7,454	441830	0,99793	5,0	15,0
MALATION	10,705	644735	0,99632	5,0	15,0
DICOFOL	11,039	243681	0,98823	20,0	50,0
METIDATION	13,282	682071	0,99420	5,0	15,0
ETION	17,078	81367	0,98926	50,0	150,0
BROMOPROPILATO	20,703	1488064	0,99866	5,0	15,0
PIRAZOFÓS	23,985	343319	0,99211	10,0	30,0

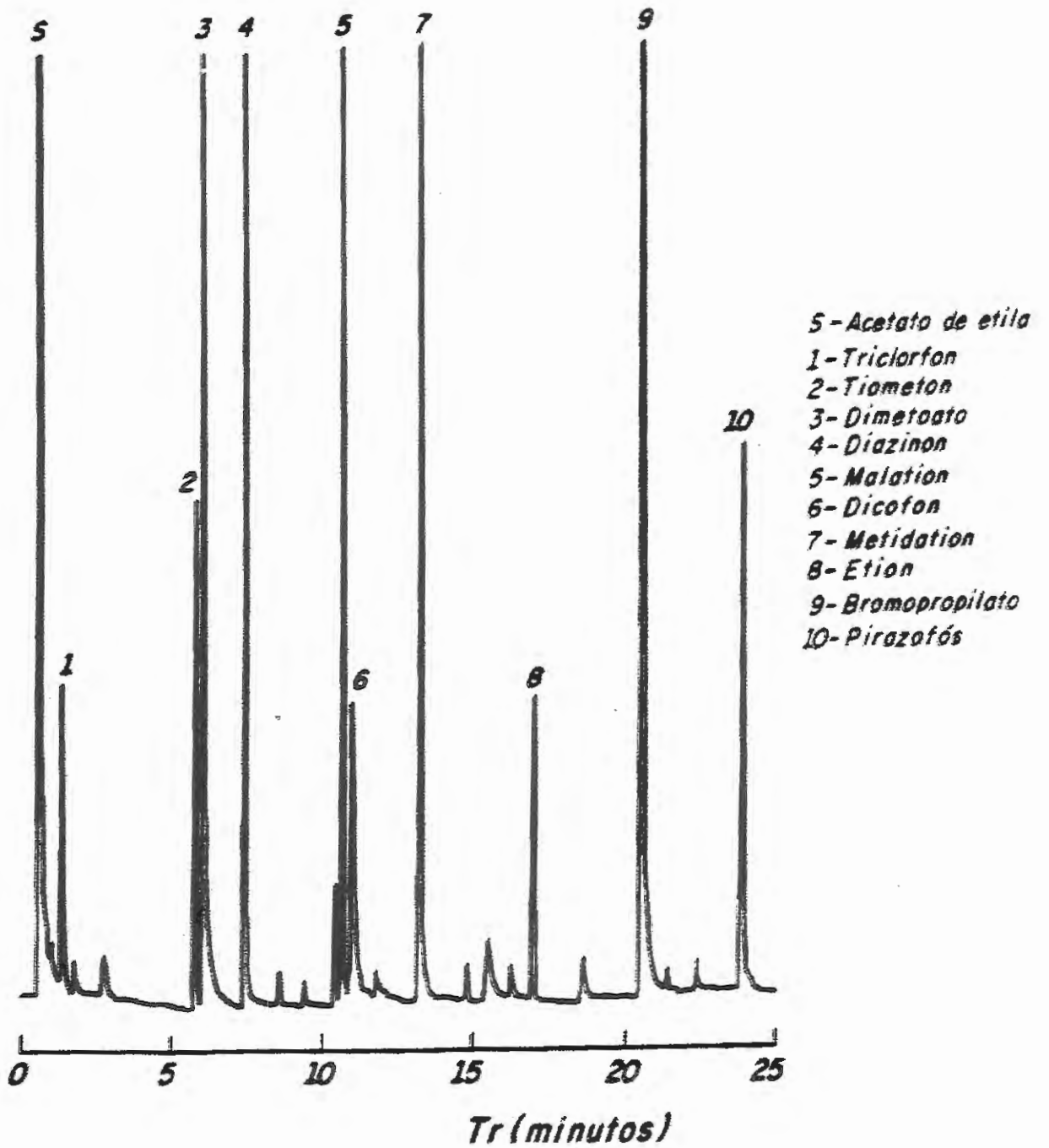


FIGURA 13 :- Cromatograma GC/ECD da mistura de padrões com concentração de 1 .
 $\mu\text{g/mL}$.

3.1 Extração em fase sólida (SPE)

Os resultados expressos em porcentagens das recuperações das amostras feitas por extração em fase sólida empregando os adsorventes sílica-gel, alumina-neutra e a mistura sílica/alumina (1:1), florisil, florisil/C₁₈ (1:1), XAD-4 (Amberlite-estireno-DVB), XAD/C₁₈ (1:1), chromosorb 102 (polimetilacrilato), chrom/C₁₈ (1:1) e C₁₈ estão na Tabela 10.

Os adsorventes foram selecionados de acordo com a escala de polaridade, desde polar como alumina, moderadamente polar como florisil até apolar como o chromosorb-102.

O adsorvente octadecilsilano-C₁₈ é uma fase quimicamente ligada, isto é a sílica ligada com grupos silanóis, o que o torna mais propício para análise de multiresíduos em matriz aquosa. A Agência de Proteção Ambiental americana (EPA) tem proposto, no Método 525, para análise em água potável a extração em fase sólida com o octadecil ligado (FONT et al., 1993).

A partir do adsorvente mais indicado para o método multiresíduo, aquele que propiciou maior rendimento para a maioria dos compostos, foi escolhido, juntamente com o solvente para condicionamento do cartucho de extração assim como o solvente de eluição.

Com esses parâmetros otimizados, foram feitas várias extrações, calculando a recuperação média (X -%), o desvio padrão relativo (DPR-%) e a exatidão (%). Os resultados estão apresentados na Tabela 11.

TABELA 10: - Recuperações percentual dos padrões de pesticidas por extração em fase sólida (SPE), variando os adsorventes*.

PESTICIDAS	SIL	ALU	SIL/ALU	FLOR	FLOR/C ₁₈	XAD	XAD/C ₁₈	CHRO	CHRO/C ₁₈	C ₁₈
Triclorfon	-	-	-	113,21	41,18	11,30	21,38	115,12	113,21	55,74
Tiometon	6,12	-	-	131,15	120,21	56,37	61,67	126,90	118,30	83,31
Dimetoato	-	-	-	-	16,14	13,82	33,50	155,8	151,60	64,50
Diazinon	24,36	21,64	19,19	125,38	100,02	64,60	119,46	152,6	144,38	100,80
Malation	9,69	5,97	6,08	134,11	118,34	63,24	144,83	147,61	149,4	101,27
Dicofol	56,05	65,44	60,04	66,41	44,32	52,72	89,99	61,87	99,49	88,37
Metidation	7,96	-	-	117,96	81,35	55,72	138,92	133,77	135,7	94,41
Etion	-	-	-	58,78	61,15	32,35	52,89	110,32	86,21	71,72
Bromopropilato	38,64	41,94	37,64	94,18	61,24	54,07	103,16	103,40	149,72	98,45
Pirazofós	18,40	21,36	19,23	67,47	58,16	48,90	76,54	141,04	150,29	95,54

* SIL= Sílica, ALU= Alumina, Flor= Florisil, C₁₈= octadecilsilano, CHRO= Chromosorb

TABELA11: - Recuperação média em porcentagem de extração em fase sólida (SPE) com desvio padrão relativo (DPR) e exatidão.

PESTICIDAS	RECUPERAÇÃO %	DPR (%)	EXATIDÃO %
TRICLORFON	55,74	12,68	39,00
TIOMETON	83,31	14,48	16,69
DIMETOATO	64,50	8,80	35,5
DIAZINON	100,80	5,04	7,87
MALATION	101,27	4,42	13,46
DICOFOL	88,37	14,24	13,04
METIDATION	94,41	11,09	5,22
ETION	71,72	13,17	34,76
BROMOPROPILATO	98,45	11,61	3,70
PIRAZOFÓS	95,54	9,83	4,42

A recuperação dos pesticidas analisados foi melhor quando se empacotou a coluna de extração com o adsorvente C₁₈ -octadecilsilano. Na Tabela 10 pode se verificar a influência do adsorvente no aumento das recuperações, sendo o octadecilsilano-C₁₈ o mais adequado.

Resultados semelhantes foram obtidos por BÁEZ; RODRIGUEZ; LASTRA & CONTRERAS, 1997 com o adsorvente octadecilsilano sendo o melhor para extração de organofosforados, triazinas e triazoles em amostras de água, e obtendo também para o padrão dimetoato baixa recuperação.

A coluna de extração foi condicionada com vários solventes, misturas de solventes e também com volumes diferentes, sendo que a recuperação foi mais eficiente quando se utilizou a mistura de 5 mL do solvente acetato de etila + 5 mL de água.

O procedimento de acidificação para a água enriquecida com a mistura de padrões, não influenciou na boa recuperação para os pesticidas estudados.

Foram avaliados vários solventes para eluição, sendo que o acetato de etila mostrou-se o melhor solvente de eluição para os compostos estudados.

VINUESA et al., (1989) trabalhando com 10 pesticidas organofosforados em água, estudando métodos alternativos de extração utilizando solventes orgânicos obteve, também, resultado similares para o acetato de etila.

MOLTO et al., (1991), avaliando pesticidas organofosforados em água, obtiveram também melhor eficiência com a extração em fase sólida, com exceção dos pesticidas dimetoato e triclorfon.

A recuperação do pesticida triclorfon neste trabalho também foi a menor, isto provavelmente deve ocorrer porque ele é termicamente lábil, muito polar, aumentando, assim sua estabilidade em água, [SHIMAMURA (1998); MOLINA, GRASSO, BENFENATI & BARCELO (1996); LOPEZ-AVILA, BENEDICTO & BAUER (1998)].

Segundo a revisão de LISKA, KRUPČIK & LECLERCQ (1989)], sobre o uso de adsorventes sólidos para acumulação de compostos orgânicos em água, a técnica de extração em fase sólida é superior a técnica líquido-líquido, em função de alguns parâmetros, como:

-
- Por ser uma técnica de pré concentração para grandes volumes, no caso de amostras aquosas que tem de ser transportadas do campo para o laboratório, com o cartucho de SPE, pode ser feito a adsorção no próprio local de coleta.
 - A extração em fase sólida (SPE) baseia-se num procedimento simples, utilizando apenas um cartucho de extração no modo “off-line”, podendo também sofisticar o sistema incluindo bomba, válvula de agulha, bomba de vácuo e outros meios para melhorar a eficiência na preparação de amostras e minimizar operações trabalhosas, e também oferece a facilidade de automação.
 - A formação de emulsão é um dos grandes problemas da extração líquido-líquido (LLE); na extração em fase sólida esse problema é completamente eliminado.
 - Esse método minimiza a exposição de riscos, quando comparado com a LLE que utiliza grandes quantidades de solventes tóxicos. A SPE utiliza pequenas quantidades de solventes para a eluição de analitos.
 - Além da economia obtida por transportar somente pequenos cartuchos, ao invés de grandes quantidades de amostras para à análise em laboratório, há a economia de materiais necessários para a análise. Enquanto na LLE, utiliza-se grandes quantidades de solventes, somente poucos mililitros de solventes orgânicos são necessários para análise, e somente pequenos cartuchos contendo 1g de adsorventes são necessários para o procedimento da SPE. Além disso, o adsorvente do cartucho pode ser regenerado e então ser reutilizado. O tempo gasto em SPE é de 5 a 10 vezes menor que o da LLE.

-
- Enquanto a LLE requer o solvente imiscível na água, na SPE não há quase limitação na escolha do solvente; há também grande flexibilidade na escolha do adsorvente variando de apolar à polar.

BENGTSSON & RAMBERT (1995), enriqueceram com 62 pesticidas de diferentes polaridades amostras de águas de rios utilizando-se de extração em fase sólida obtendo recuperações entre 72 a 81%, comparando com a extração líquido-líquido perceberam maior precisão, melhor recuperação, superioridade em velocidade e redução de custos na SPE. THOMPSON E MORPHI (1995), analisando uma série de herbicidas em águas de abastecimento constataram também a superioridade de extração em fase sólida

O cromatograma típico de extração em fase sólida de uma solução aquosa contendo uma mistura de padrões de pesticidas está representado na Figura 14.

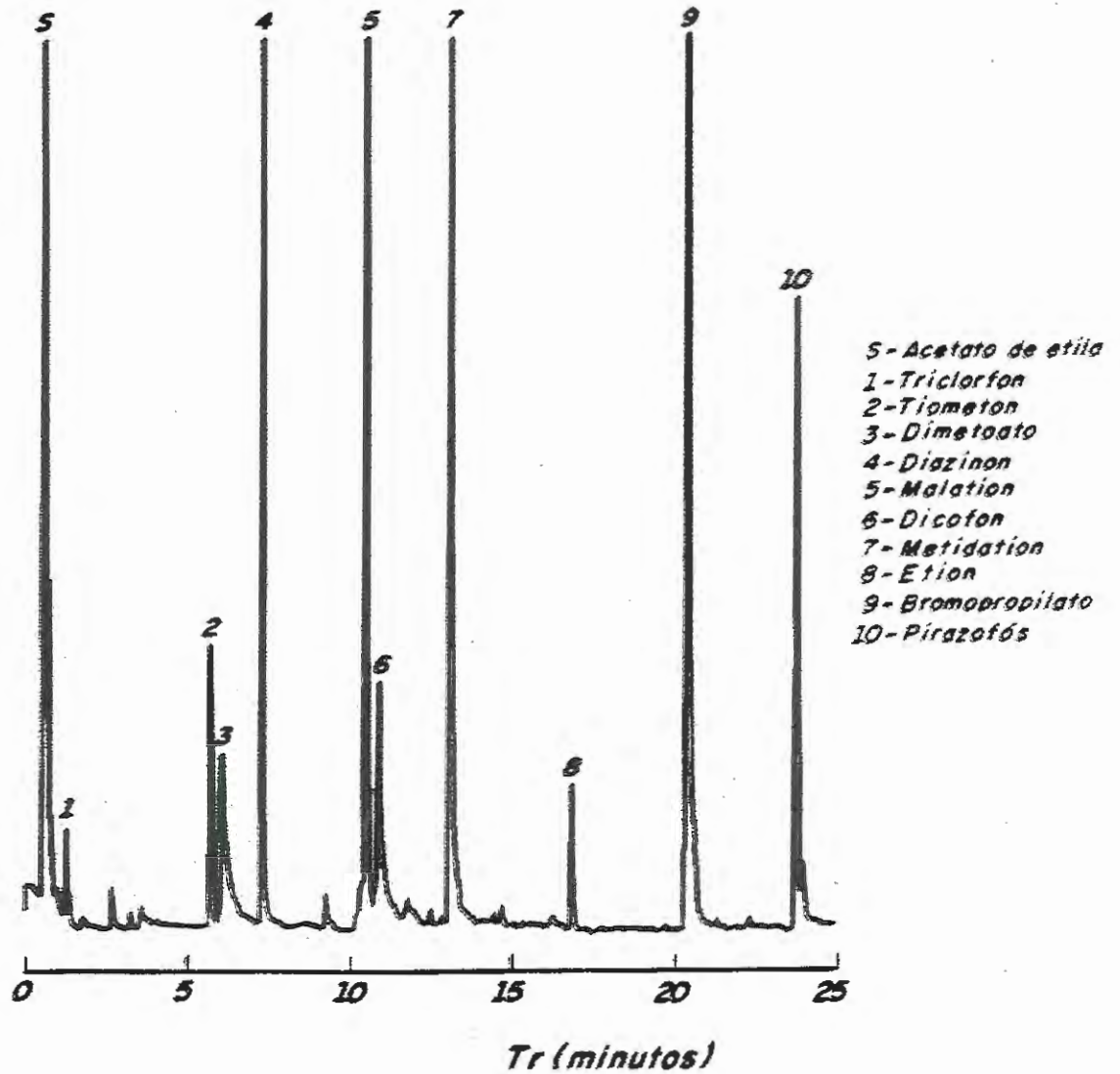


FIGURA 14 – Cromatograma GC/ECD obtido da extração em fase sólida (SPE) da mistura de padrões de pesticidas.

3.2- Extração Líquido-Líquido (LLE)

Na extração líquido-líquido os resultados foram melhores quando se utilizou o solvente diclorometano. Após várias extrações com duplicatas foram calculadas as recuperações em porcentagens, o desvio padrão relativo (DPR - %) e exatidão (%), que estão apresentados na Tabela 12.

Os resultados de recuperação dos compostos estudados pela técnica de extração líquido-líquido foram satisfatórios, para a maioria dos compostos, variando de 75,45% à 96,72%, com exceção dos compostos triclorfon (134,37%) e dimetoato (46,58).

Segundo Psathaki et al., (1994) esta técnica é bem simples e inteiramente desenvolvida, sendo muito usada como método oficial para análise de pesticidas, apesar de ter desvantagens tais como necessidade de evaporação de grandes volumes de solventes, emulsificação, contato com solventes tóxicos e a análise ser trabalhosa e gastar muito tempo.

A extração líquido-líquido em relação a extração em fase sólida e a extração com fluido supercrítico, além dos inconvenientes já citados, é uma técnica que exige muito esforço físico do analista, principalmente no caso de amostras reais.

A extração líquido-líquido apesar de ser uma técnica consagrada pelo uso, é inviável economicamente pelo alto consumo de solvente. Atualmente é extremamente inconveniente, porque gera problemas ambientais com o descarte desses solventes.

Um cromatograma típico representando a extração líquido-líquido pode ser visto na Figura 15.

TABELA 12: - Recuperação média de extração líquido-líquido (LLE) em porcentagem desvio padrão relativo (DPR-%) e exatidão (%).

PESTICIDAS	RECUPERAÇÃO(%)	DPR (%)	EXATIDÃO (%)
TRICLORFON	134,37	13,04	22,26
TIOMETON	91,21	13,56	17,54
DIMETOATO	46,38	30,03	44,70
DIAZINON	96,40	10,54	3,6
MALATION	96,72	13,52	3,28
DICOFOL	95,01	16,77	4,99,
METIDATION	93,93	18,28	6,07
ETION	75,45	15,30	21,77
BROMOPROPILATO	95,27	13,44	4,73
PIRAZOFÓS	89,39	12,90	10,61

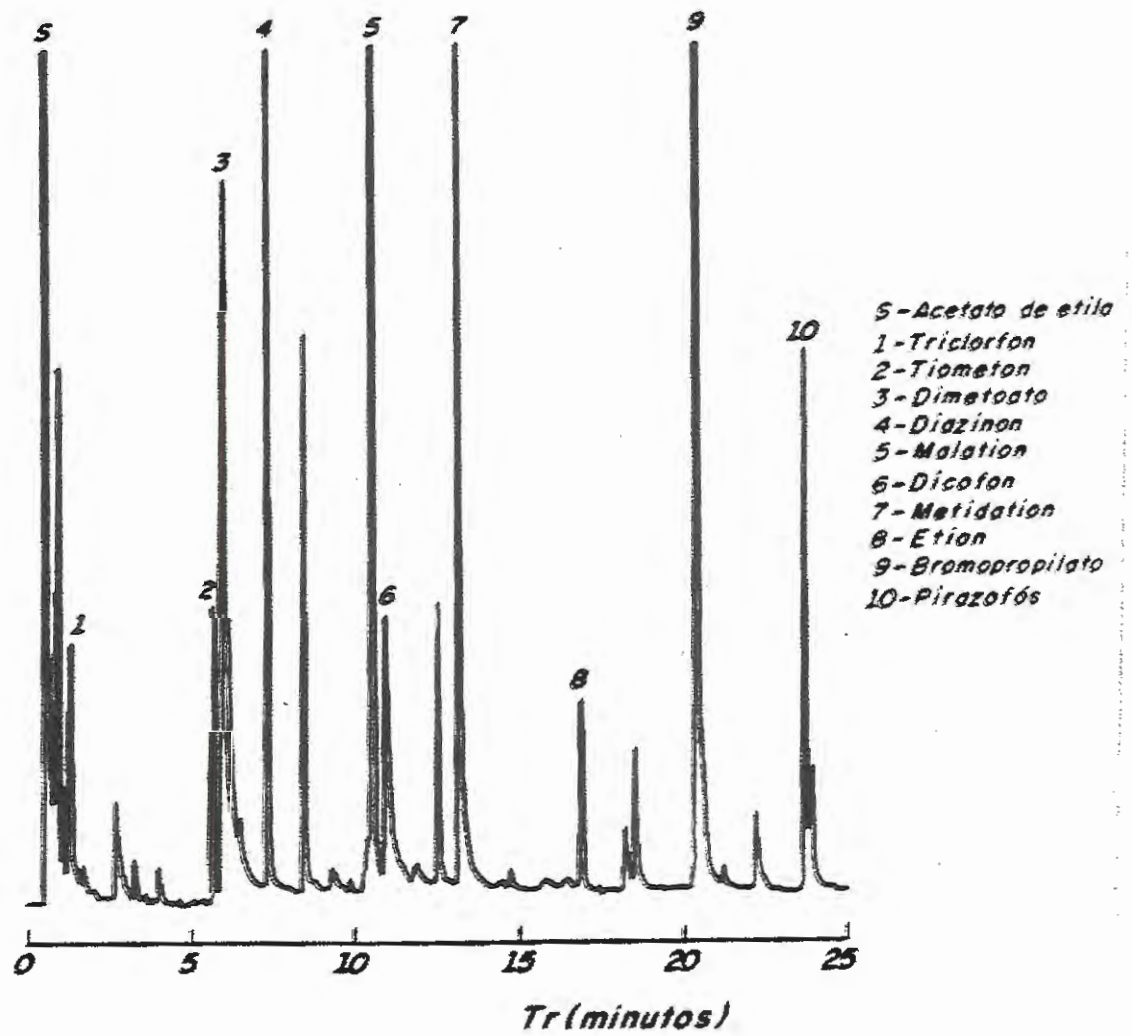


FIGURA 15: - Cromatograma GC/ECD da extração líquido-líquido (LLE) para a .
mistura de padrões.

3.3- Extração com Fluido Supercrítico (SFE)

Os resultados de recuperação em porcentagem da extração com fluido supercrítico pelo modo direto em água e com adição do sal sulfato de sódio estão apresentados na Tabela 13.

Observa-se na Tabela 13 que a recuperação da extração com fluido supercrítico que se utiliza da extração direta da matriz água, foi muito pequena, não recuperando os pesticidas dicofol, metidation, etion e triclorfon. Com a adição do sal sulfato de sódio, as recuperações elevaram-se ligeiramente, mas ainda não recuperando o triclorfon.

A princípio esse procedimento de extração é interessante, mas é recente, necessitando de vários ajustes para sua otimização; no momento ainda não é ideal para os compostos estudados.

TABELA 13- Recuperação em porcentagem por extração com fluido supercrítico (SFE) pelo modo direto em água e com adição do sal sulfato de sódio.

PESTICIDAS	REC (%)-ÁGUA	REC (%)-ÁGUA/SAL
TRICLORFON	-	-
TIOMETON	10,15	18,63
DIMETOATO	9,8	6,43
DIAZINON	34,39	32,60
MALATION	17,62	28,48
DICOFOL	-	12,65
METIDATION	-	19,30
ETION	-	9,24
BROMOPROPILATO	8,9	13,60
PIRAZOFÓS	7,36	21,39

No procedimento pelo modo indireto utilizando a adsorção em matriz sólida foi observada a importância do adsorvente, como na extração em fase sólida, e a relação direta do aumento da pressão no aumento da recuperação dos analitos. Este comportamento pode ser observado pela Figura 16.

Levy (1995), observou que o aumento de pressão a uma temperatura constante, ou um aumento da temperatura à uma pressão constante eleva a recuperação

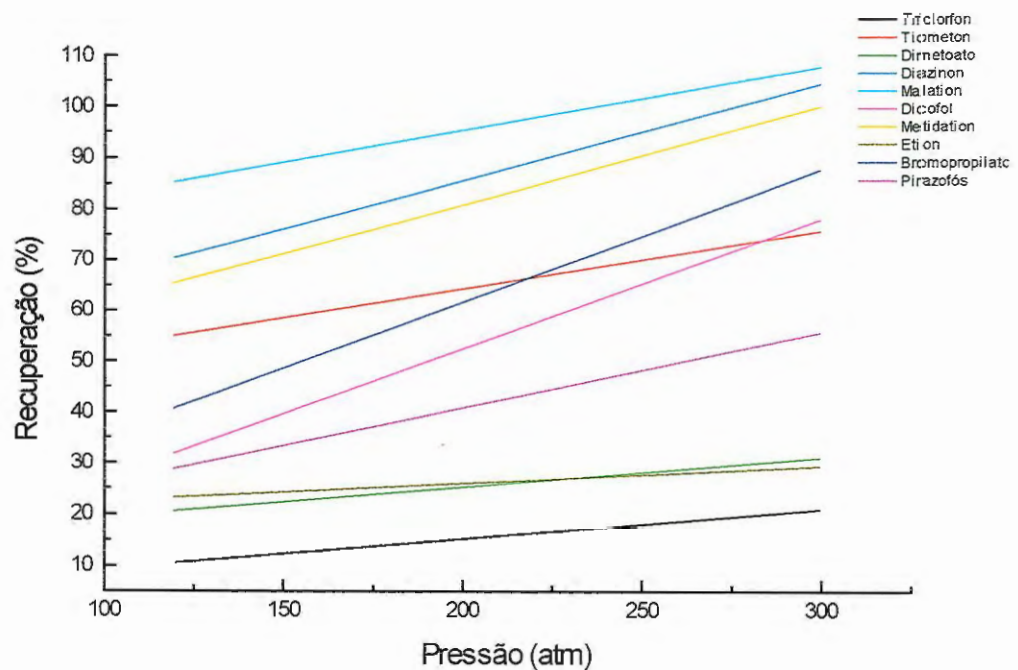


FIGURA 16: - Influência da pressão na recuperação dos analitos na extração com fluido supercrítico (SFE).

No procedimento de extração por fluido supercrítico que utiliza adsorção em matriz sólida, as recuperações são melhores quando se utiliza o adsorvente C₁₈-octadecilsilano, temperatura do forno de 60 °C, tempo de extração de 10 minutos e acetona à 10% como solvente modificador e pressão de 300 atm, pode-se observar pela Tabela14.

Os pesticidas tiometon, diazinon, malation, metidation e bromopropilato obtiveram recuperações entre 69,53% à 100,34%, enquanto os pesticidas triclorfon, dimetoato, dicofol, etion e pirazofós estiveram abaixo do desejado, variando de 24,54% à 64,73%..

TABELA14: - Recuperação em porcentagem da média de extração com fluido supercrítico (SFE) desvio padrão relativo (DPR-%) e exatidão (%).

PESTICIDAS	RECUPERAÇÃO(%)	DPR (%)	EXATIDÃO (%)
TRICLORFON	24,54	24,93	70,42
TIOMETON	94,44	14,58	5,50
DIMETOATO	34,27	21,44	70,89
DIAZINON	89,75	23,10	14,94
MALATION	100,34	10,51	1,12
DICOFOL	64,73	31,63	35,27
METIDATION	104,11	3,46	4,11
ETION	31,33	31,12	68,66
BROMOPROPILATO	69,53	23,45	30,47
PIRAZOFÓS	59,49	30,74	40,50

Comparando-se os dois procedimentos de extração SFE, modo direto e modo indireto, o que utiliza a adsorção em matriz sólida (indireto) é mais adequado aos compostos em estudo. SARGENTI & MCNAIR (1998), estudando PAHs em águas de abastecimento, concluíram também que o método indireto é o mais satisfatório.

Os resultados de recuperação para o diazinon e o malation foram muito bons comparados com os obtidos por BARNABAS et al., (1994) que utilizou como modificador o metanol, pressão de 350 atm e temperatura de 50 °C, obtendo recuperação para o diazinon de 93% e para o malation de 84,6%.

3.4 - Comparação entre as Técnicas de Extração

Os resultados apresentados na Tabela 15, mostram a recuperação das técnicas de extração líquido-líquido (LLE), extração em fase sólida (SPE) e extração com fluido supercrítico (SFE).

TABELA 15 – Recuperação em porcentagens dos pesticidas obtidos por extração Líquido -Líquido (LLE), em Fase Sólida (SPE) e com Fluido Supercritico (SFE)

PESTICIDAS	LLE	SPE	SFE
TRICLORFON	134,37	55,74	24,54
TIOMETON	91,21	83,31	94,44
DIMETOATO	46,38	64,50	34,27
DIAZINON	96,40	100,80	89,75
MALATION	96,72	101,27	100,34
DICOFOL	95,01	88,37	64,73
METIDATION	93,23	94,41	104,11
ETION	75,45	71,72	31,33
BROMOPROPILATO	95,27	98,45	69,53
PIRAZOFÓS	89,39	95,54	59,49

Os resultados apresentados na Tabela 15, mostram que a extração líquido - líquido e a extração em fase sólida foram eficientes com recuperações na faixa de 70 a 100%, com exceção dos padrões triclorfon e do dimetoato.

Os compostos triclorfon e dimetoato são polares e solúveis em água, o que torna difícil a partição e conseqüentemente a extração da matriz água.

A extração com fluido supercrítico mostrou ser a melhor técnica para extração de multiresíduos de pesticidas em frutas, tanto na eficiência da recuperação como viável economicamente (DÓREA, 1999), porém para matriz aquosa, há a necessidade de otimização para melhorar a eficiência.

A SFE é uma técnica promissora, para sua otimização não haverá muitos problemas principalmente no que se refere aos equipamentos utilizados.

Os equipamentos utilizados na extração pelo modo direto e pelo modo indireto foram desenvolvidos no próprio laboratório de cromatografia do Instituto de Química de São Carlos, sendo assim é mais fácil aperfeiçoar um equipamento conhecido.

No momento a extração em fase sólida (SPE) é mais adequada para os compostos estudados, sendo o procedimento mais simples, mais seguro e sobretudo como o uso de solventes é menor, esta extração se torna mais barata e com menor prejuízo ao meio ambiente.

O cromatograma da amostra da extração com fluido supercrítico (SFE) está representado na Figura 17.

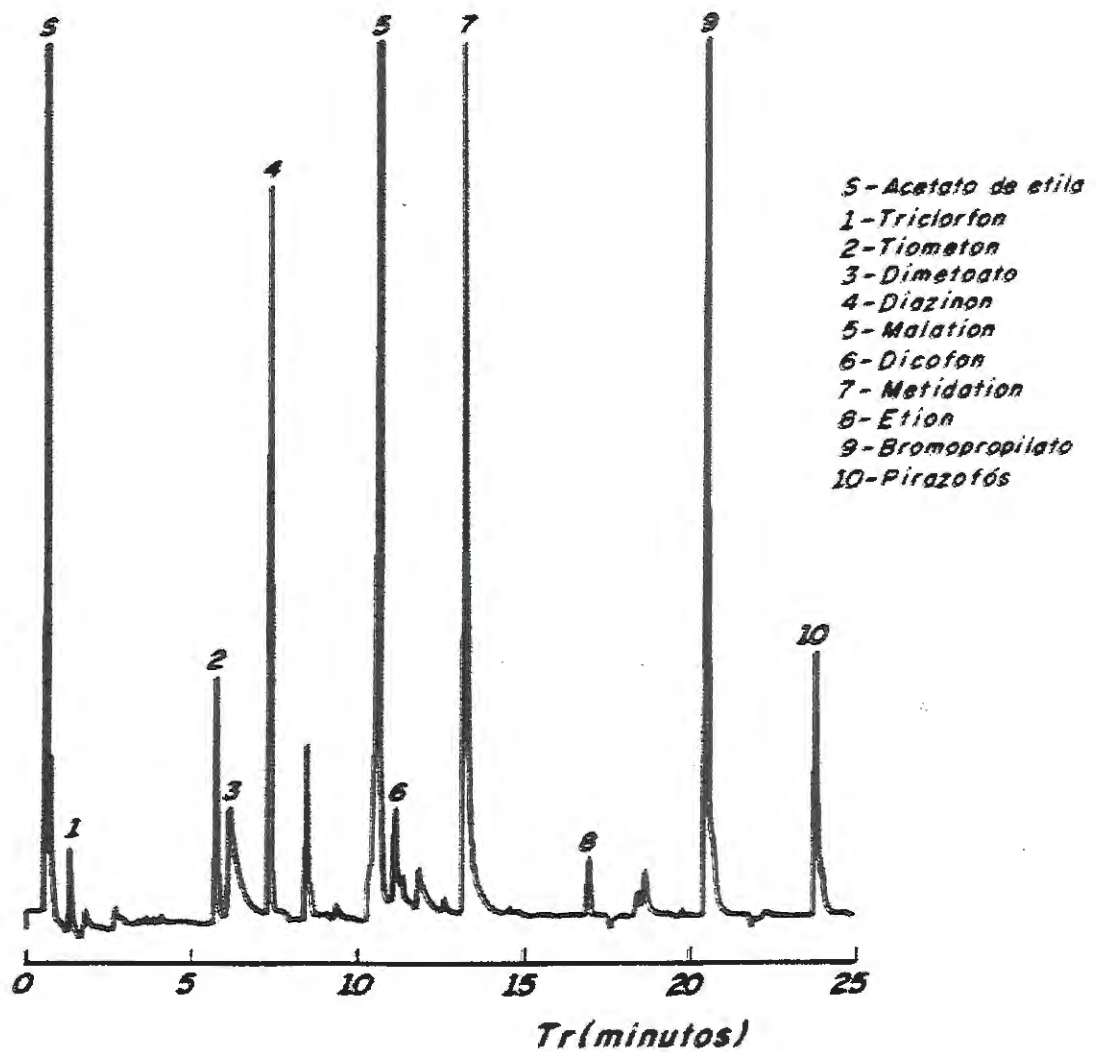


FIGURA 17: - Cromatograma GC/ECD da extração com fluído supercritico (SFE) para .
a mistura de padrões de pesticidas.

3.5 – Cromatografia Gasosa - Espectrometria de Massas (GC/MS)

Confirmou-se inicialmente a identidade de cada padrão de pesticida por cromatografia gasosa com detector de espectrometria de massas (GC/MS).

A identidade é confirmada com o auxílio da biblioteca de dados do sistema GC/MS QP5000 que através do banco de dados NIST, o que coincide com a literatura (Ministry of Public Health, 1996).

Operou-se o detector seletivo de massas no modo SCAN, injetando cada padrão individualmente e também o monitoramento seletivo do íon (Seletive Ion Monitoring – SIM)

A tabela 16 apresenta o tempo de retenção dos compostos analisados e o íons selecionados para o modo SIM.

O cromatograma da mistura de compostos do íon total esta apresentado na Figura 18.

TABELA 16: - Tempo de retenção dos compostos e os íons monitorados.

PESTICIDAS	Tr (min)	M/Z	SIM
TRICLORFON	10,792	109, 145-147, 185-187,221-223	185
TIOMETON	16,042	125, 158, 185,246	125
DIMETOATO	16,275	93, 125, 143, 229	229
DIAZINON	17,658	179, 199, 276, 304	179
MALATION	20,675	125, 158, 173, 256	173
DICOFOL	28,908	111-113,139-141,-199-201,250-255	251
METIDATION	23,,117	125, 145, 157, 302	145
ETION	25,825	125, 153, 231, 384	231
BROMOPROPILATO	28,625	155, 183-185, 339-343	341
PIRAZOFÓS	30,733	221, 232, 265, 373	221

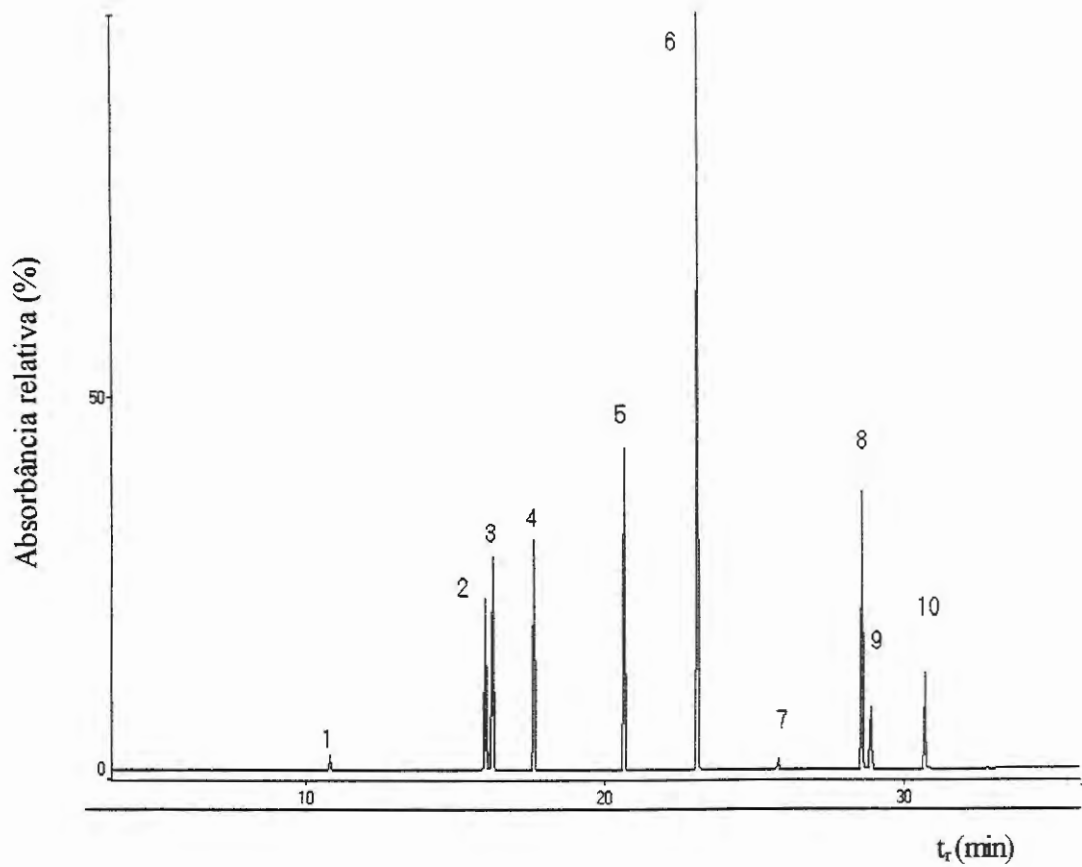


FIGURA 18:- Cromatograma do íon total (aquisição em SIM) para os pesticidas: 1-Triclorfon; 2-Tiometon; 3-Dimetoato; 4-Diazinon; 5-Malation; 6-Metidation; 7-Etion; 8-Bromopropilato; 9-Dicofol; 10-Pirazofós.

3.6 –Análise das Amostras de Água de Rio e Represa de Captação

O resultado das medidas de pH, temperatura (°C), condutividade ($\mu\text{s}/\text{cm}$), turbidez (ntu) e oxigênio dissolvido (mg/L) das águas do Ribeirão do Feijão, Laranja Azeda e represa de captação estão apresentados na Tabela 17, sendo os pontos de coleta:

- P1- Ribeirão do Feijão próximo à nascente e plantação de laranja
- P2 – Córrego Laranja Azeda
- P3 – Ponto médio do rio
- P4 – Represa de captação

Para a estação de inverno (seca) o resultado das análises feitas em todos os pontos de coleta representado pelo cromatograma após as extrações já descritas, não mostrou nenhum pico com tempo de retenção próximo aos picos dos padrões de pesticidas estudados.

O cromatograma da extração em fase sólida de água isenta de íons orgânicos e inorgânicos (água Milli-Q) e o cromatograma de água do rio enriquecida com a mistura de padrões estão representados na Figura 19.

Os cromatogramas de extração em fase sólida das amostras de inverno para os pontos de coleta P1 e P2 estão representados na Figura 20, enquanto que dos pontos P3 e P4 estão na Figura 21.

A ausência de picos com tempo de retenção semelhantes aos dos padrões dos compostos investigados nos leva a acreditar que não há nenhum dos pesticidas estudados no trabalho, pelo menos na época do ano, que se refere ao inverno.

Para a estação de verão, o cromatograma da extração em fase sólida da amostra de água do ponto 2 que corresponde ao Córrego Laranja Azeda, revelou a existência de dois picos com tempo de retenção próximos dos compostos metidation e pirazofós.

Com a suspeita de dois dos compostos-alvo contidos na amostra de água, foi necessário fazer a confirmação através da cromatografia gasosa com o detector de massas GC/MS.

Os cromatogramas de extração em fase sólida das amostras de verão para os pontos de coleta P1 e P2 estão representados na Figura 22, e para os pontos P3 e P4 estão na Figura 23.

TABELA 17: - Parâmetros medidos nos locais de coleta de água nas estações de inverno(seca) e verão (chuva).

LOCAL	T (C)		PH		COND. ($\mu\text{s}/\text{cm}$)		TURBIDEZ (ntu)		O D. (mg/L)	
	Seca	Chuva	Seca	Chuva	Seca	Chuva	Seca	Chuva	Seca	Chuva
P1	18	21,4	5,40	5,50	15	23	12	36,5	8,35	6,69
P2	18	22,3	5,50	5,71	20	34	10	31,5	7,23	4,42
P3	18	21,8	5,00	4,71	5	8	10	14	9,12	6,83
P4	17	22,3	5,00	5,00	10	14	10	31	14,18	8,21

Os cromatogramas de GC/MS para a confirmação da identidade dos picos para os pontos P1 e P2 estão representados na Figura 24, e para os pontos P3 e P4 estão na Figura 25.

Com o resultados da análise por GC/MS pode-se constatar que os picos suspeitos (1 e 2) que apareceram na análise por GC/ECD não correspondiam aos compostos metidation e pirazofós.

Na estação de verão (chuva), o pH e a condutividade são superiores devido provavelmente à temperatura e a intensidade de chuvas maiores que à do inverno, provocando grande carreamento de material alóctone para os rios variando, com isso, a concentração total de substâncias ionizadas dissolvidas na água e com isto levando o aparecimento de vários picos no cromatograma.

Porém, os picos que apareceram com tempo de retenção próximos aos compostos estudados, após confirmação com GC/MS foi verificado que correspondem aos compostos ftalatos, que provavelmente são provenientes do armazenamento das amostras ou dos extratos.

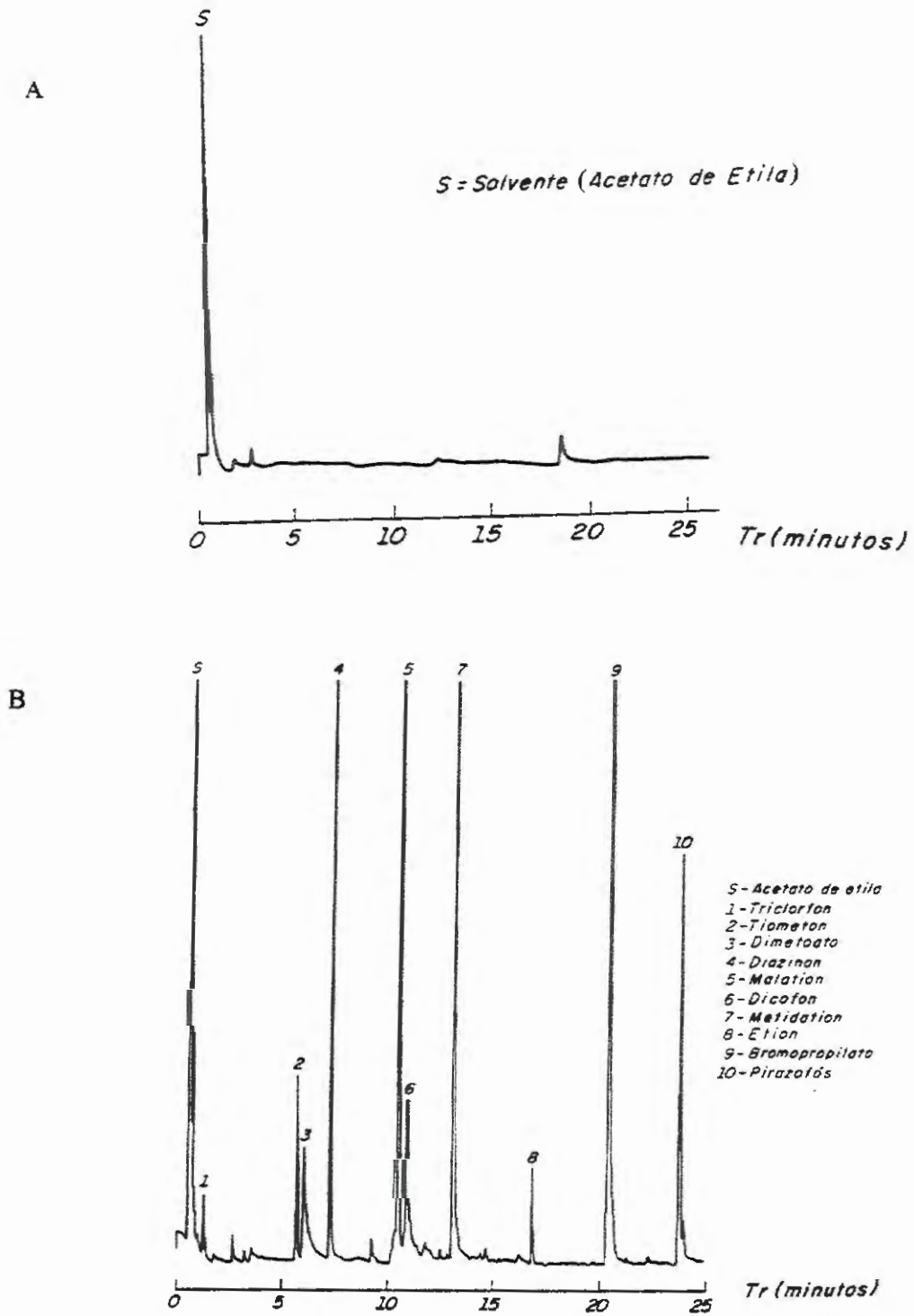


FIGURA 19 – Cromatograma GC/ECD da extração em fase sólida (SPE) de água deionizada (branco)– A; e enriquecimento de água do Ribeirão do Feijão (testemunha)–B

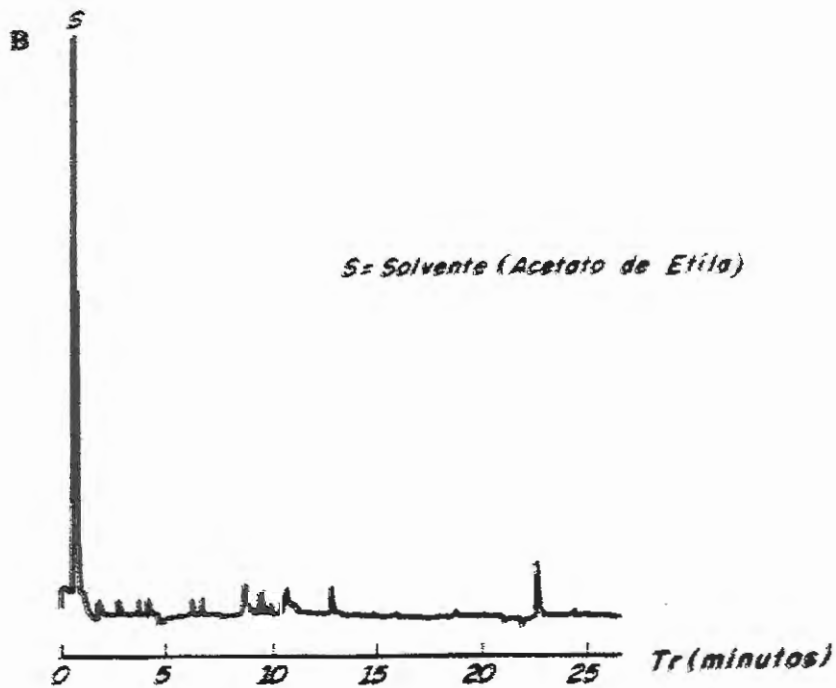
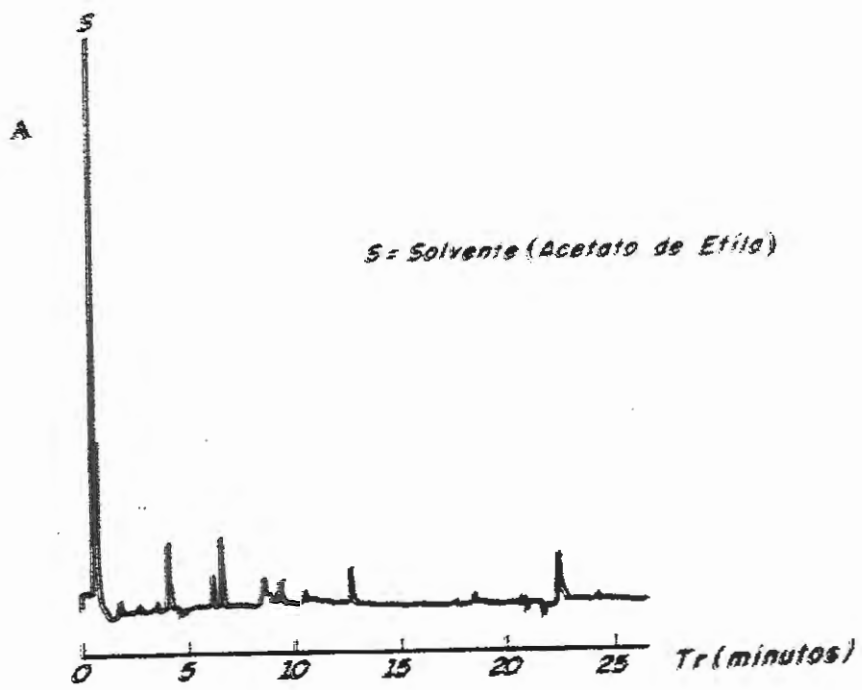
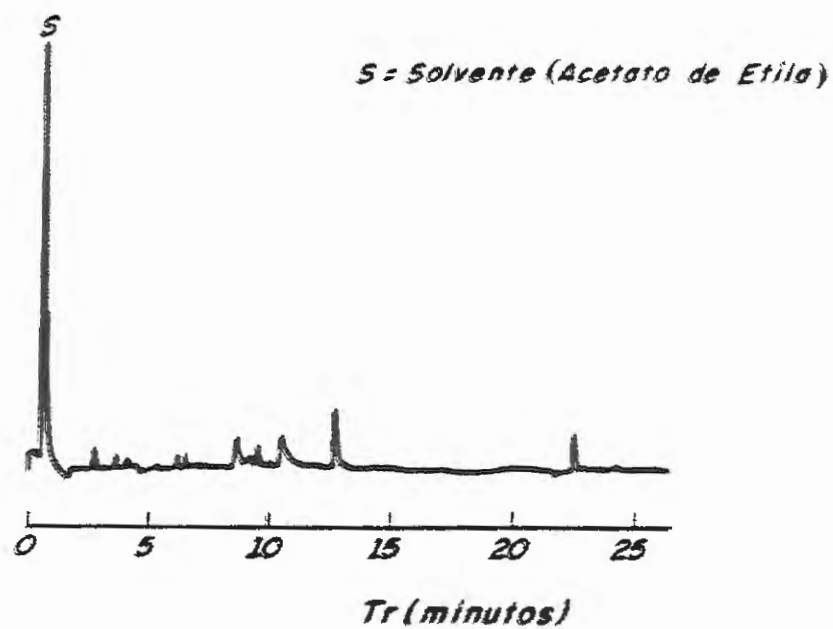


FIGURA 20: - Cromatograma obtido por GC/ECD da amostra de inverno (seca) por SPE para o ponto P1 - A; e para o ponto P2 - B.

A



B

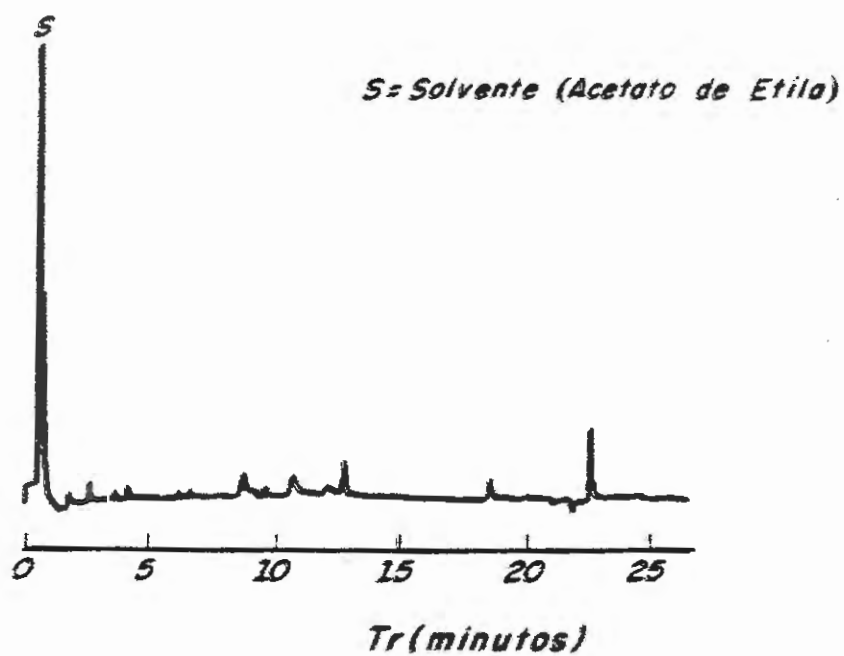


FIGURA 21: - Cromatograma obtido por GC/ECD da amostra de inverno (seca) por SPE para o ponto P3 - A; e para o ponto P4 - B.

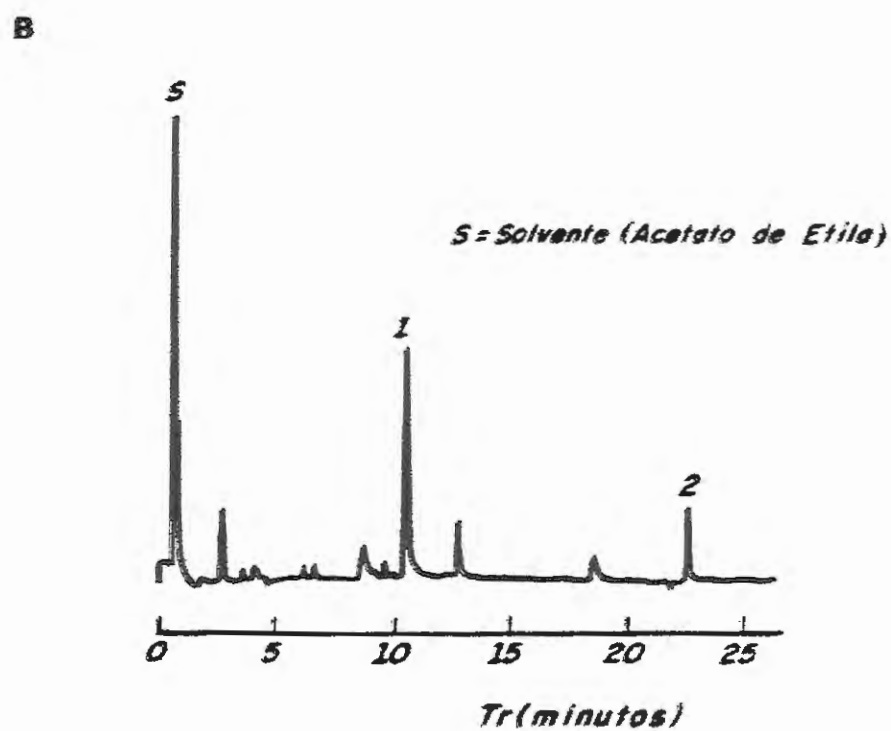
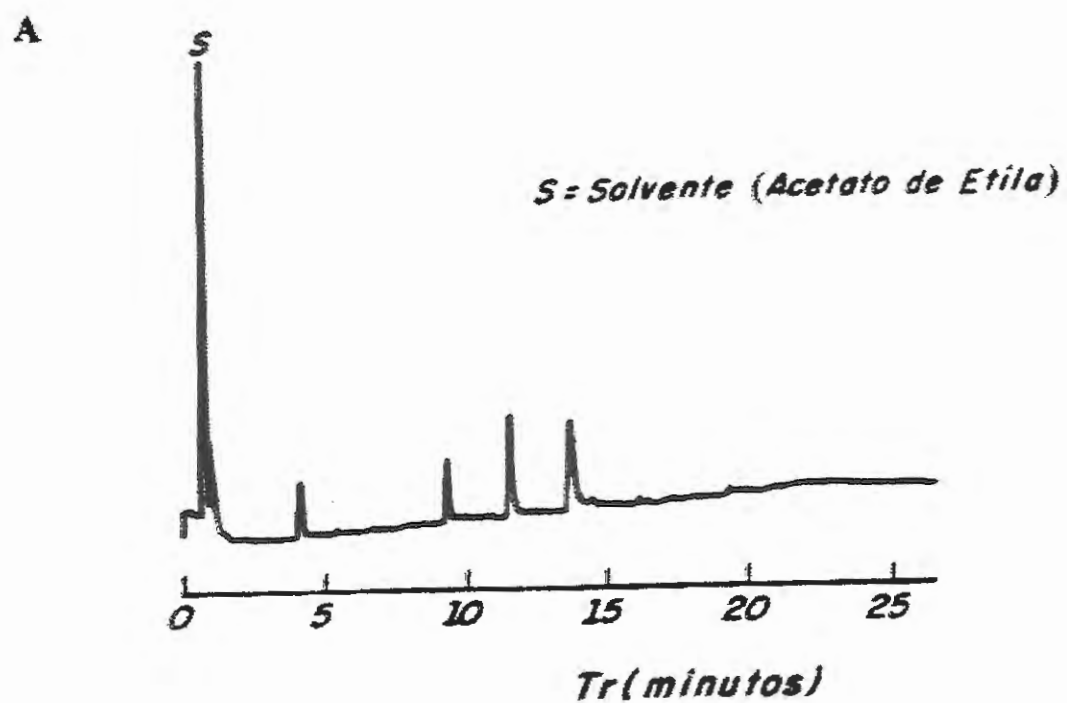
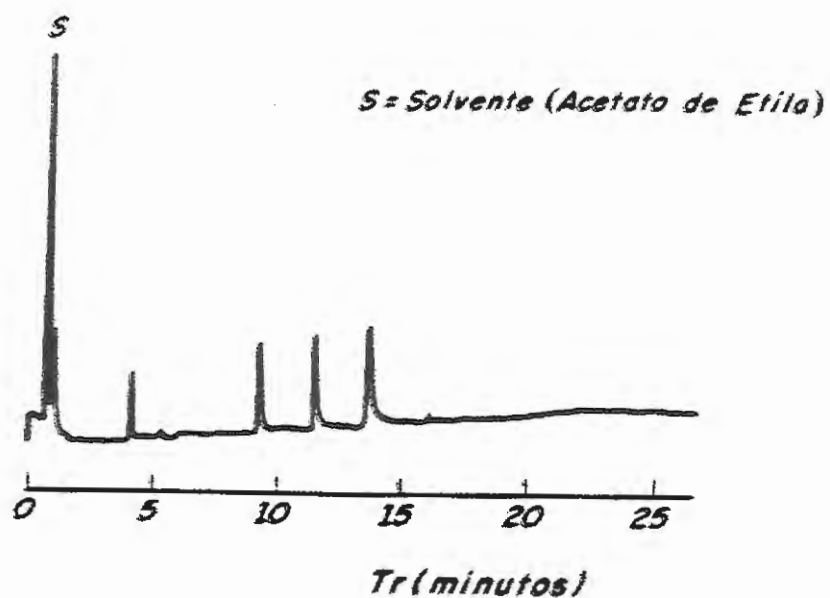


FIGURA 22: - Cromatograma obtido por GC/ECD da amostra de verão (chuva) por SPE para o ponto P1 - A; e para o ponto P2 - B.

A



B

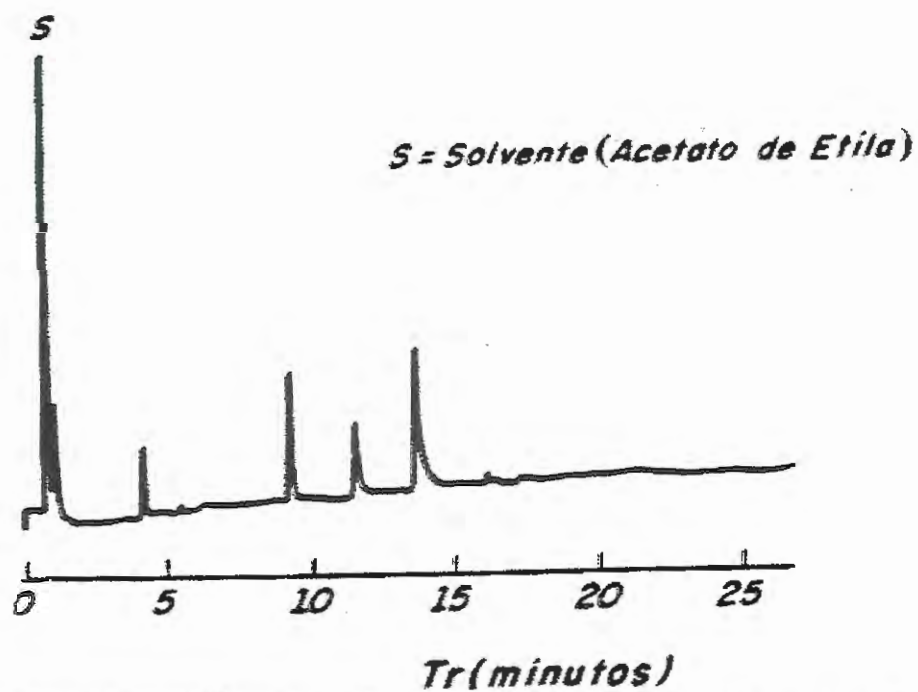


FIGURA 23: - Cromatograma obtido por GC/ECD da amostra de verão (chuva) por SPE para o ponto P3 - A; e para o ponto P4 - B.

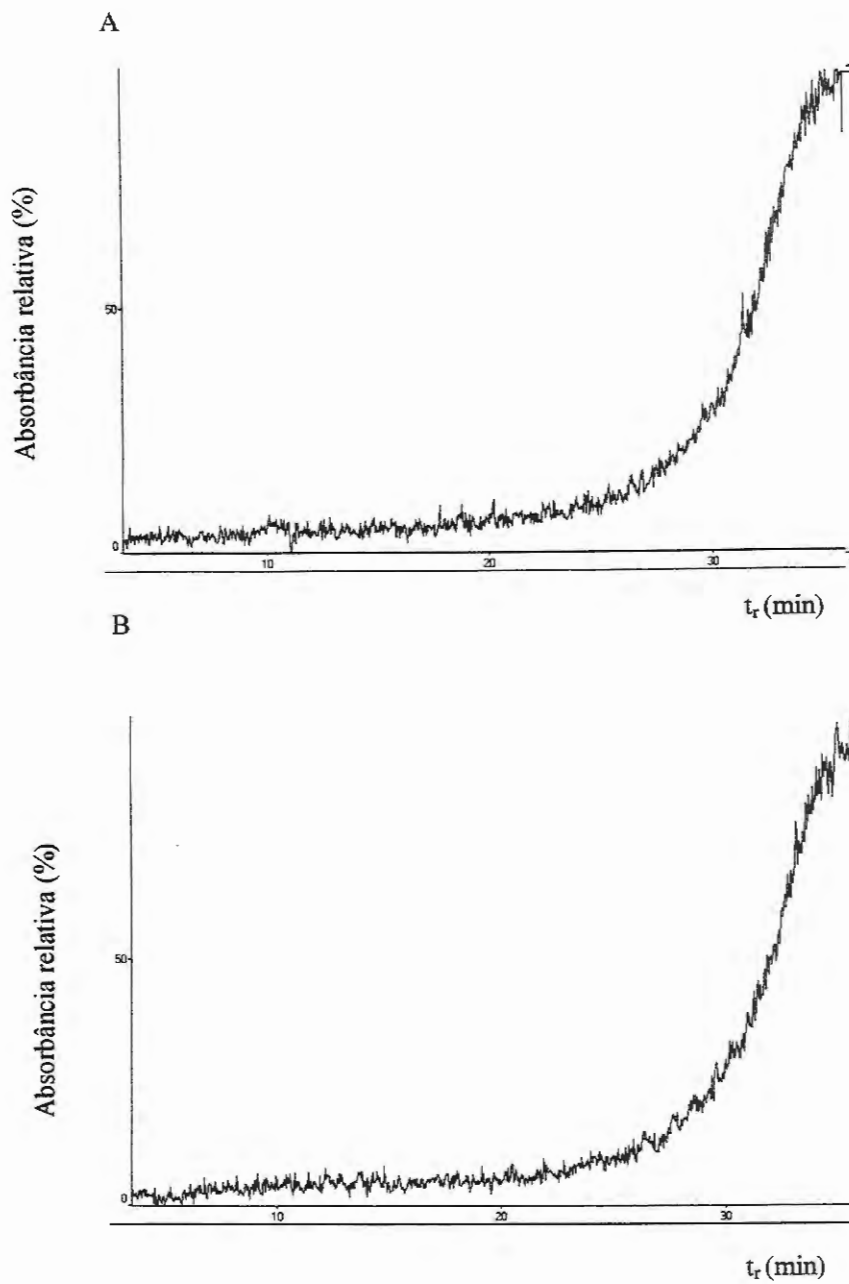


FIGURA 24: - Cromatograma obtido por GC/MS (modo SIM) da amostra de verão (chuva) por SPE para o ponto P1 – A; e para o ponto P2 – B.

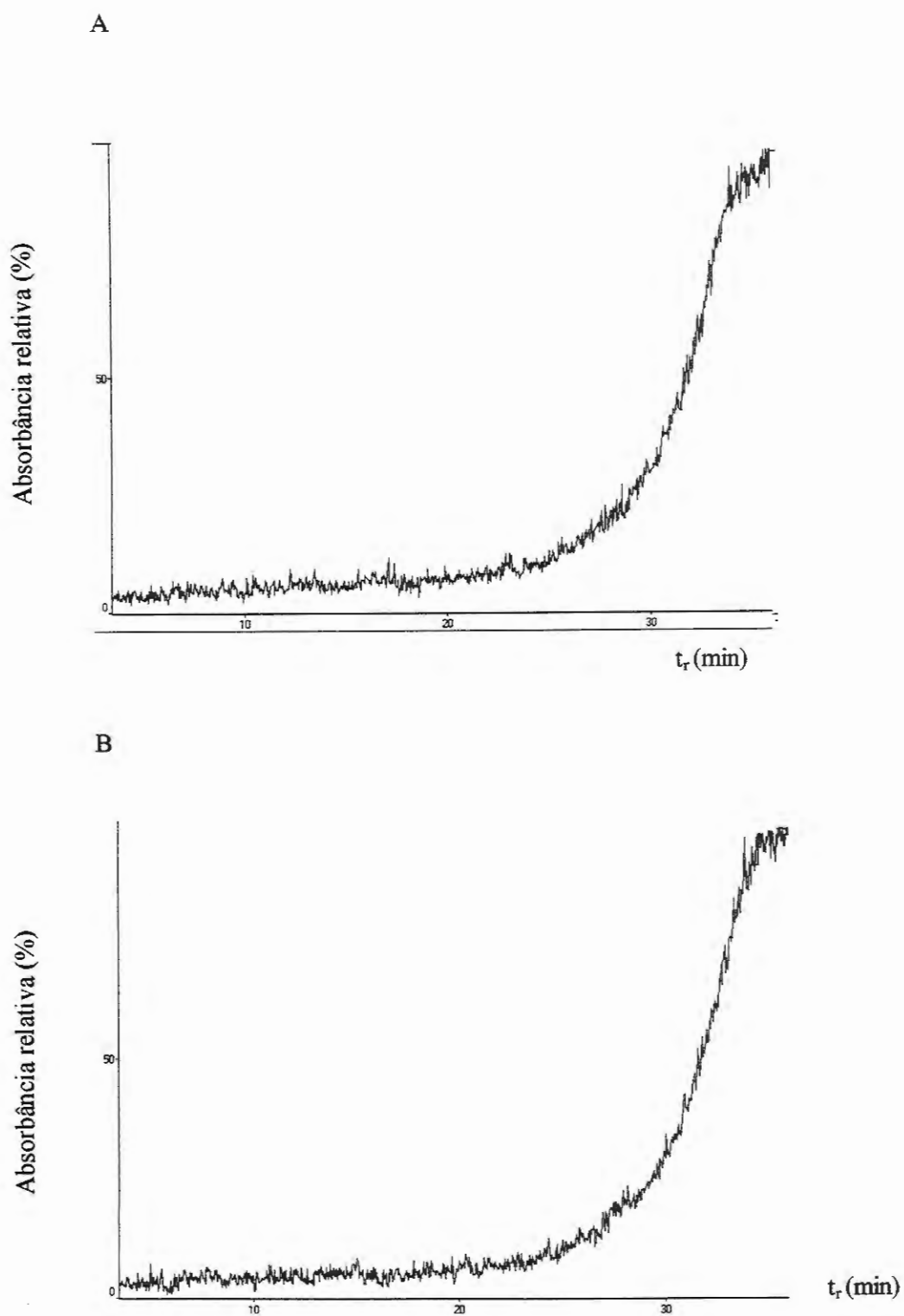


FIGURA 25: - Cromatograma obtido por GC/MS (modo SIM) da amostra de verão (chuva) por SPE para o ponto P3 – A; e para o ponto P4 – B.

4.0 CONCLUSÕES

O procedimento de extração com fluido supercrítico com adsorção em matriz sólida, modo indireto, mostrou-se mais eficiente que o procedimento no modo direto o qual utiliza extração direta da água.

A extração com fluido supercrítico, com adsorção em matriz sólida, de forma geral foi eficiente, utilizando a temperatura do forno à 60 °C e pressão de 300 atm e, como modificador, a acetona 10% nas condições empregadas.

A extração com fluido supercrítico com extração direta de matriz aquosa é interessante, mas necessita de otimização para aumentar seu desempenho.

A extração em fase sólida mostrou ser muito eficiente quando se utiliza o adsorvente octadecilsilano C₁₈ para empacotamento da coluna, quando é usado o solvente acetato de etila e água para o condicionamento da coluna e quando se usa o solvente acetato de etila para a eluição dos padrões.

A extração em fase sólida para a análise de multiresíduos de pesticidas em água mostrou-se superior à extração líquido-líquido e, com certeza, pode substituí-la em métodos oficiais de análise de águas, com a vantagem também da facilidade de automação “on line”.

A cromatografia gasosa (GC/ECD) mostrou-se uma técnica excelente para analisar os pesticidas triclorfon, dimetoato, malation, dicofol, metidation, diazinon, bromopropilato, tiometon, etion e pirazofós.

A cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (GC/MS) é fundamental na análise de multiresíduos, quando há a necessidade de identificação e confirmação de resultados com precisão e segurança, conforme constatado.

Portanto, pode-se afirmar com que a água analisada, a qual abastece a cidade de São Carlos, não contém os pesticidas triclorfon, dimetoato, malation, dicofol, metidation, diazinon, bromopropilato, tiometon, etion e pirazofós no período estudado.

A aplicação da metodologia desenvolvida, após a ampliação com a inclusão de novos pesticidas e novos pontos de coletas, poderá ser utilizada no monitoramento destes compostos em águas de abastecimento.

4.1 - SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Desenvolver metodologia para analisar multiresíduos de pesticidas em água por Micro Extração em fase sólida (SPME).
- Desenvolver metodologia para analisar os metabólitos e os produtos de transformação de pesticidas em água.
- Desenvolver metodologia para analisar multiresíduos de pesticidas no sedimento, através de Extração com Fluido Supercrítico (SFE).

5.0 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABECITRUS (2000) – Associação Brasileira dos Exportadores de Cítricos –

<http://www.abecitrus.com.br>.

ALBANIS, T. A.; HELA, D. G. (1995) Multi-residue pesticide analysis in environmental water samples using solid-phase extraction discs and gas chromatography with flame thermionic and mass-selective detection. *J. chromatogr. A.* v. 707, p. 283-292.

ANDEF (2000) – Associação Nacional dos Produtores de Defensivos Agrícolas –

<http://www.undef.com.br>.

ALDERS, L. (1992) *Liquid-Liquid Extraction - Theory and Laboratory Experiments*. Elsevier Publishing company, New York.

ALVES, C. (1998) *Extração com Fluido Supercrítico de Amostras Aquosas de Interesse Ambiental*. Monografia, Laboratório de Cromatografia, IQSC, USP, 56 p.

ANDERSON, R. *Sample Pretreatment and Separation Analytical Chemistry by Open Learning* John Wiley & Sons.

BÁEZ, M. E.; RODRIGUEZ, M.; LASTRA, O; CONTRERAS, P.(1997) Solid phase extraction of organophosphorus, triazine, and triazole-derived pesticides from water sample. A critical study. *J. High Resol. Chromatogr.*, v. 20, p. 591-596.

-
- BAGHERI, H.; BROWER, E.R., GHIJSEN, R.T.;BRINKMAN, U. A. Th.(1993) On-line low-level screening of polar pesticides in drinking and surface waters by liquid chromatography-thermospray mass spectrometry. *J. Chromatogr.*, v. 647, p. 121-129.
- BALINOVA., A.(1993) Solid-phase extraction followed by high performance liquid chromatographic analysis for monitoring herbicides in drinking water. *J. Chromatogr.*, v. 643, p. 203-207.
- BARCELÓ, D., MARIS, F. A., GEERDINK, R. B., FREI, R. W., JONG, G. J., BRINKMAN, U. A. Th.(1987) Comparison between positive, negative and chlorine-enlance negative chemical ionization of organophosphorus pesticides in on-line liquid chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr.*,_v.394, p. 65-76.
- BARNABAS, I.J., DEAN, J.R., HITCHEN, S.M., OWEN, S,P.(1994) Seletive extraction of organochlorine and organophosphorus pesticides using a combined solid phase extraction-supercritical fluid extraction approach. *Anal. Chim. Acta*, v. 291, p. 261-267.
- BENGTSSON, S.; RAMBERG. A(1995). Solid-phase extraction of pesticides from surface water using bulk sorbents. *J. Chromatogr. Sci.* v.33, p. 554-556, october .
- BICCHI, C.; D'AMATO, A.; BALBO, C.(1997) Multiresidue method for quantitative gas chromatographic determination of pesticide residues in sweet cherries. *J. of AOAC Inter.* v. 80, N°6, p.1281-1286.

- BRATTSTEIN, L.B., HOLYKOTE, C. W., LEPER, J.R., RAFFA, K. F. (1986)
Inseticide resistance: Challenge to pest manange and basic research. *Science*, 231,
1255-1260..
- CAMEL, V., TAUBUTE, A., CLAUDEL, M., (1992). *Analisis*, p. 503, v. 20.
- CETESB – (1987). Companhia Tecnológica e de Saneamento do Estado de São Paulo.
Guia de Coleta e Preservação de Amostras de Água. Coord. Edmundo Garcia
Agudo (et al.). São Paulo: CETESB.
- CETESB. – (1977). *Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental do Estado de
São Paulo*. - Estudo preliminar. Governo do Estado de São Paulo, São Paulo, 88p.
- CETESB. (1993). *Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental do Estado de
São Paulo*. - Relatório de Qualidade de Águas Interiores do Estado de São Paulo.
São Paulo.
- CHASIN, A . A.; CHASIN, M.; SALVADOR, M. C. (1994) Validação de métodos
cromatográficos em análises toxicológicas. *Ver. Farm. Bioquím.* Universidade de
São Paulo, v.30, n.2, p.49-53.
- CHAU, A. S.Y. (1982) *Analysis of pesticides in water*. V. II- McGraw-Hill.
- CHAU, A. S.Y.; RIPLEY,, B. D.; KAWAHARA, F. (1982) *Organophosphorous
pesticide*. In: ALFRED S. Y. CHAU & B. K. ATGHAM. Eds. *Analysis of
Pesticides in Water*. V.II. p. 61-154.
- CHIARINI, J.V., & DONZELI, P.L. (1973) *Levantamento por fotointerpretação das
Classes de São Paulo*. Instituto Agrônomo, Campinas, Boletim técnico nº3, 20p.



-
- COLINA, C. SÁNCHEZ-RASERO, F., DIOS, G., ROMERO, E., PEÑA, A. (1996) Effect of Storage on the Recovery of Different Types of Pesticides Using a Solid Phase Extraction Method. *Royal Society of Chemistry*. P. 1-18.
- COLLINS, C.H., BRAGA, G. L., BONATO, P. S.(1990) *Introdução a Métodos Cromatográficos*. Edit. UNICAMP.
- DÓREA, H. S. (1999) *Análise de multiresíduo de Pesticidas organofosforados e piretróides em frutas por CGC, após extração com fluido supercrítico. Comparação com LLE, SPE e MSD. 214p. Tese (DOUTORADO) – Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo.*
- ETO, M. (1974) *Organophosphorus Pesticides:- Organic and Biological Chemistry*, CRC, Press, Boca Raton, Fla. .
- FRANCOTE, E.;DAVATZ, A; RICHERT, P. (1996). Development and validation of chiral high-performance liquid chromatographic methods for the quantitation of valsartan and of the tosylate of valinebenzyl ester. *J. Chromatogr.B.* n. 686, p. 77-83.
- GALHIANE, M. S. (1996) *Cromatografia líquida em micro escala (μ -LC) teoria, instrumentação e aplicações. São Carlos,, tese de doutorado, IQSC – USP, 131p.*
- GARRISON, A. W., KEITH, L. H., ALFORD, A. L.(1972) Confirmation of pesticide residues by mass spectrometry and NMR techniques. In: Fate of Organic Pesticides in the Aquatic Environmental. *Proceeding of 16^o meeting of the American Chem. Soc., Los Angeles, 1971. American Chem. Soc.*

-
- GARP, ANDEF (1997). *Validação de Metodologia Analítica visando a determinação de resíduos de pesticidas*. Laboratório Vegetal do Ministério da Agricultura. Versão 1.
- GOODMAN, A.S. (1984) *Principles of Water Resources Planning*. New Jersey: Prentice - Hall, .
- GRAY, N. F. (1994) *Drinking water Quality-Problems and Solutions*. Published by John Wiley & Sons, USA, 315p.
- GROSSER, ZOE A.;RYAN J. F.; DONG, M. W. (1993) Environmental chromatographic methods and regulations in the U.S.A. *J. Chromatogr.* v. 642, p. 75-87.
- HARTRÍK, S; TEKEL, J. (1996) Extraction methodology and chromatography for the determination of residue pesticides in water. *J.Chromatography A*, v. 733, p. 217-233.
- HASSET, P.T., LEE, F.G. (1975) Modeling of pesticide in aqueous environment. In: HAQUE,R., FREED,W.H., eds. *Environmental Dynamic of Pesticides*. New York, Plenum Press, p. 173-184.
- HASSE, G. (1987) *A laranja no Brasil*. São Paulo, Edição de Duprat & Iobe Propaganda.
- HOLLAND, P. T.(1990) Mass spectrometric determination of pesticide residues. *Pure Appl. Chem.*, v. 162, p. 317-336.
- HOLMSTEAD, R. L., CASSIDA, J. E. (1974) Chemical ionization mass spectrometry of organophosphorus inseticides. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, v. 28, p. 1050.

- KIPS, R.H. (1985) Environmental Aspects. In: HASKELL, P.T. Ed. *Pesticide Application Principle and Practices*. Oxford, Clarendon Press, p.190-201.
- JEANNOT, R. (1994) Preservation Techniques for Analysis of Organic Compounds in Water Samples - A Review- *Intern. J. Environ. Anal. Chem.* V. 57, p. 231 – 236.
- JENNINGS, W., (1979) *J.High Resol. Chromatogr.*, v. 2 p. 221-229, 1979.
- JOHNSON, E. L.; STEVENSON, R. (1977) *Basic liquid chromatography*. ed. Varian. California. 354 p.
- KOHN, G. K.; O'BRIEN, R. D.; HENTNARSKI, B. (1974). *Mechanism of pesticide action*. Editor R. K. Triparthi and G. J. Hart. Ed. II. American Chemical Society Division of Pesticide Chemistry.
- LANGENFELD, J. J.; HAWTHORNE, S. B.; MILLER, D. J.; PAWLLSZYN, J. (1994) Liquid Chromatography. *Anal. Chem.* v. 66, p. 909-916.
- LANÇAS, F. M. (1986) Cromatografia Em Fase Gasosa. *Rev. Química Industrial*, v. 40.
- LANÇAS, F. M. (1993) *Cromatografia Em Fase Gasosa*, São Carlos : Acta, . 254 p.
- LANÇAS, F. M. (1997) Extração em fase sólida. Apostila, 53p. – Instituto de Química de São Carlos – Universidade de São Paulo.
- LARINI, L. (1999). *Toxicologia dos praguicidas*. São Paulo, Manole Ltda.
- LAWS, E. A. (1994) *Aquatic Pollution - An Introductory Text*. 2nd ed. An Interscience Publication. U.S.A, 611p.
- LEVY, J. M. (1995) Supercritical fluid extraction of phenoxy acid from water. *J. high Resol. Chromatogr.*v. 18, p. 446-448.

- LIAO, W. (1991) Multiresidue screening method for fresh fruits and vegetable with gas chromatographic/mass spectrometry detection. *J. Off. Anal. Chem.*, v. 74, p. 554.
- LISKA, I., KRUPCIK, J., LECLERCQ, P. A (1989). The use of Solid of Solid Sorbents for Direct Accumulation of Organic Compounds from Water Matrices – A Review of Solid-Phase Extraction Techniques. *J.High Resol. Chromatogr.*, v. 12 p. 577-590.
- LOPEZ-AVILA, V. ;BENEDICTO, J. ; BAUER, K. M. (1998) Stability of organochlorine and organophosphorus pesticides when extracted from solid matrixes with microwave energy. *J. of AOAC Internat.*, v. 81, p. 1224 – 1232.
- LUCHINI, L. C. (1995) *Degradação do Inseticida Paration Etilico em Diversas Matrizes Ambientais por Meio de Radiação ionizante Gama do Cobalto-60*. São Carlos, SP -USP, 124 p, 1995. Tese (Doutorado em Química Analítica).
- MANAHAN, S. E. (1994) *Environmental Chemistry*. U.S.A. 6º edição. 1994
- MANUAL DE ANÁLISE DE RESÍDUOS DE PESTICIDAS EM ALIMENTOS.(1999)
Grupo de analistas de resíduos de pesticidas – São Paulo, 131p.
- MARGALEF, R. (1983) *Limnologia*. Barcelona: Ediciones Omega, S.A Patón 26, 1010 p.
- MCNAIR, H. M; ESQUIVEL, H. B. (1980) *Cromatografia líquida de alta presión*. Washington, OEA, (Série de Química, 10).
- MCNAIR, H.M.; GALHIANE, M. S.; LANÇAS, F. M. (1985) Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). *Revista de Química Industrial*. v. 301, p. 66-71.
- MARQUIS, J. K. (1986) *Contemporary issues in pesticide toxicology and pharmacology*. Karger – New York

-
- MATTERN, G. C., LIU, C. H., LOUIS, J. B., ROSEN, J.D. (1991) *J. Agric. Food Chem.*, v. 39, p. 700.
- MERKLEM M. G.; BOVERY, R. W. (1986) *Pesticides in soil & water*. Madison, Wiscosin, W. D. Guenzi – Soil Science Society of America, Inc.
- MEYER, V. R. (1994) *Practical high-performance liquid chromatography*. 2. ed. Chichester, John Wiley, 376 p.
- MINISTÉRIO DA AGRICULTURA. (1987) *Métodos de análises e informações técnicas*. Ministério da Agricultura - Laboratório Nacional de Referência Vegetal. Universidade Federal do Paraná. Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos, v. 1 e v. 2. Curitiba.
- MOLINA, C., GRASSO, P.; BENFENATI, E. ; BARCELO, D. (1996) Automated sample preparation with extraction columns followed by liquid chromatography ionspray mass spectrometry – interference, determination and degradation of polar pesticides in water samples. *J. Chromatogr. A*, v. 737, p. 47 – 58.
- MOLTÓ, J. C.; PICÓ, Y ; FONT, G.; MAÑES, J. (1991) Determination of triazines and organophosphorus pesticides in water samples using solid – phase extraction. *J. Chromatogr.*, V. 555, p. 137 – 145.
- NAM, K.S AND KING, J.J. (1994) Coupled SFE/SFC/GC for the trace analysis of pesticide residues in fatty food samples. *J. High Resol. Chromatogr.*, 17, p. 577-582.
- NYLE, R., BRADY, S. (1979) *Natureza e Propriedade dos Solos*. Trad. Antonio B. N. Figueiredo Filho. Liv. Freitas Bastos S.A 5º ed.

- O'CONNOR, D.J. (1976) The concentration of dissolved solids and rivers flow. *Water Resource Research*. Washington: v. 12, n.2, p.279-294, April.
- OKUMURA, T; NISHIKAWA, Y. (1995) Determination of organophosphorous pesticides in environmental samples by capillary gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr.*, v. 709, p 319-331.
- PERRY, J. A. (1981) *Introduction to Analytical Gas Chromatographic - History, Principles and Practica*. New York, Marcel Pakker, Inc.
- PRADO, H., OLIVEIRA, J.B & ALMEIDA, C. L. F (1981) *Levantamento Pedológico semi detalhado do Estado de São Paulo: Quadricula de São Carlos*, I carta de solo. Inst. Agr., Campinas, mapa: escala 1:100000.
- PSATHAKI, M.; MANAUSSARIDOU, E.; STEPHANOU, E. G. (1994). Determination of organophosphorus and triazine pesticides in ground and drinking water by solid-phase extraction and gas chromatography with nitrogen-phosphorus or mass spectrometric detection. *J. chromatogr. A*, v. 667, p. 241-248.
- SARGENTI, S.R. (1994). *Extração com fluido supercrítico: Projeto e construção de um novo sistema e sua aplicação em produtos naturais*. Tese de Doutorado, IQSC-USP.
- SARGENTI, S. R., McNair, H. M. (1998). Comparison of solid-phase extraction and supercritical fluid extraction for extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons from drinking water. *J. Microcolumn Separation*, n.1, v.10, p. 125-131.
- SCOTT, R. P. W. (1994). *Liquid chromatography for the analysis*, New York, Marcel Dekker, v.67, 328 p.

-
- SHIMAMURA, Y.; TOMIYAMA, N. ; MURAKOSHI, M. ;KOBAYASHI, H. ; MATANO, O. (1998). Multiresidue method of pesticides in water using automated solid phase extraction and liquid chromatography atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. *J. of Pesticide Science*. V. 23, p. 241 – 249.
- SINDAG (2000) – Sindicato Nacional da Indústria de Defensivos Agrícolas. <http://www.sindag.com.br>.
- SNYDER, L. R.; KIRKLAND, J. J. (1979) *Introduction to modern liquid chromatography*. 2 ed. New York, John Wiley.
- SOUZA, D. A. (1993) *Bacia do Ribeirão e represa do Lobo: Bases ecológicas para o planejamento regional, manejo e conservação*. São Carlos. 157p. Dissertação (Mestrado) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo.
- SCHUETT, S. A., SMITH, R. G., HOLDEN, L. R., GRAHAM, J. A. (1990) Solid-phase extraction of herbicides from well water for determination by gas chromatographic-mass spectrometry. *Anal. Chem. Acta*, v.236, p.142-144.
- SINGH, A. K., HEWETSON, D. W., JORDAN, K. C., ASHRAF, M. (1986) Analysis of organophosphorous insecticides in biological in biological samples by selective ion monitoring gas chromatography mass spectrometry. *J. Chromatogr.*, v.369, p.83-96.
- STAN, H. S. (1989). Application of capillary gas chromatography with mass selective detection to pesticide residue analysis. *J. Chromatogr.*, v.467, p.85-98.
- SUFFET, I. H., WU, C., WONG, D. T.L. (1975). Guidelines for Quantitative Liquid-Liquid extraction of Organophosphate Pesticides from Water. *Water quality parameters*. American Soc. Test. and Materials.

- THOMPSON, T. S.; MORPHY, L. (1995). Rapid extraction of chlorinated phenoxyacid herbicides from drinking water using octadecylsilane extraction disks. *J. Chromatogr. Sci.* v.33, p. 393-398, july.
- TOLENTINO, M. (1967). *Estudo Crítico sobre o Clima da Região de São Carlos*. Concurso de monografias municipais - São Carlos, 78 p.
- TRÍSKA, J. (1995). Testing of membrane extraction disks for analysis of eighteen pesticides in Marsh Water samples by GC/MS. *Chromatographia*, v. 40, n. 11/12, p. 712-717, june.
- VANOORT, R. W.; CHERVET, J. P.; LINGEMAN, H.; DE JONG, G. J.; BRINKMAN U. A. Th. (1990). Coupling of supercritical fluid extraction with chromatographic techniques. *J. Chromatogr.* v. 505, p. 45-77.
- VINUESA, J.M., MOLTÓ CORTEZ, J.C., CANÃS, C.I., PÉREZ, G.F. (1989). Isolation and concentration of organophosphorus pesticides from water using a C₁₈ reversed phase. *J. Chromatogr.* v. 472, p. 365-370.
- VINK, M.; VAN DER POLL, J. M. (1996). Gas chromatographic determination of acid herbicides in surface water samples with electron-capture detection and mass spectrometric confirmation. *J. chromatogr. A*, v. 733, p. 361-366.
- WEED, S., WEBER, J. B. Pesticide Organic Water Interaction. (1974). *Pesticide in soil & water*. Guenzi, W. (ed) Madison, Wiscosin U.S.A., 1974.
- ZAMBRONE, F. A. D. (1986). Defensivos Agrícolas ou Agrotóxicos? *Ciência Hoje*, v. 4, n. 22, p.44-64.
- ZAMBRONE, F. A.D; SANTIAGO, J. P. C; LARA, W .H. (1986). *Ciência Hoje*, v. 4, n. 22, p.161-166.

ZIEF, M.; KISER, R. J. T. (1982). *Solid phase extraction sample preparation*. Backer
Inc.

ZWEIG, G., SHERMA, J.(1972). *Handbook of Chromatography*. Cleveland CRC
Press, 191 p, v. II.

ANEXO

Informações a respeito dos compostos estudados

1- Princípio Ativo :ETION

- Identificação do Produto

- Nome comum : Etion
- Nome comercial: Etion
- Classe: Inseticida e acaricida

- Características Químicas

- Nome químico (IUPAC): O,O,O'- tetraetil s,s'-metileno bis (fosforoditioato).
- Nome químico (C.A.): O,O,O -tetraetil s,s'-metileno di (fosforoditioato).
- Fórmula Estrutural:



- Fórmula bruta: C₉H₂₂O₄P₂S₄
- Massa molecular: 384
- Estabilidade: Calor -instável.-Luz -Relativamente estável- Umidade -Relativamente Estável

Ácidos - Estável em meio levemente ácido

Álcalis - Estável em meio levemente alcalino.

- Corrosividade: Não corrosivo.

- Características Físicas

- Estado físico: Líquido
- Cor: Ambar
- Odor: Característico.
- Densidade a 20°C : 1,215 - 1,230 g/cm³.
- Solubilidade nos solventes mais comuns: água-2ppm, acetona e cloroformio-50%
- Dados Toxicológicos
- DL 50 oral (ratos): 208 mg/Kg.
- DL 50 dermal (coelhos): 915 mg/Kg.
- Classe toxicológica do produto técnico: II.

2- Princípio Ativo :TIOMETON

- Identificação do Produto
 - Nome comum : Tiometon
 - Nome comercial: Ekaton
 - Classe: Inseticida e acaricida
- Características Químicas
 - Nome químico (IUPAC): S-2-etiltioetil O,O-dimetil fosforoditioato.
 - Nome químico (C.A.): S-(2-(etiltio)etil) o,o-dimetil fosforoditioato.
 - Fórmula Estrutural:



- Fórmula bruta: C₆H₁₅O₂PS₃
- Massa molecular: 246,3
- Estabilidade: Calor - Estável.--Luz - Estável-- Umidade - Estável
- Ácidos - Estável a ácidos fracos
- Álcalis - Estável a álcalis fracos.
- Corrosividade: Não corrosivo.
- Características Físicas
 - Estado físico: Líquido
 - Cor: Amarelado
 - Odor: Característico.
 - Densidade a 20°C : 1,209 g/cm³.
 - Solubilidade nos solventes mais comuns: Na maioria dos solventes orgânicos, água-200mg/l
- Dados Toxicológicos
 - DL 50 oral (ratos): 120 - 130 mg/Kg.
 - DL 50 dermal (ratos): 1000 mg/Kg.
 - Classe toxicológica do produto técnico: II.

3- Princípio Ativo :PIRAZOFÓS

- Identificação do Produto

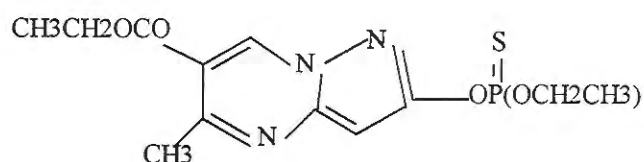
- Nome comum : Pirazofós
- Nome comercial: Pirazofós
- Classe: Fungicida.

- Características Químicas

- Nome químico (IUPAC): etil 2-dietoxifosfinotioiloxi-5-metilpirazolo[1,5-a]pirimidine-6=carboxilato;0-6etoxicarbonil-5-metilpirazolo[1,5-a]pirimidin-2-il0,0-dietil fosforotioato.

- Nome químico (C.A.): etil2-[[diétoxi-fosfinotioil]oxi]-5metilpirazolo[1,5-a]] pirimidina-6=carboxilato

- Fórmula Estrutural:-



- Fórmula bruta: C₁₄H₂₀N₃O₅PS

- Massa molecular: 373,4

- Estabilidade: Calor - Estável.--Luz - Estável-- Umidade - Estável

Ácidos – Sofre hidrólise, Alcalis - Hidrolisa-se .

- Corrosividade: Não corrosivo.

- Características Físicas

- Estado físico: Sólido

- Cor:Cristal incolor

- Odor: Característico.

- Densidade a 25°C : 1,348 g/cm³.

- Solubilidade: Em água 4,2 mg/l e na maioria dos solventes orgânicos

- Dados Toxicológicos

- DL 50 oral (ratos): 151 - 778 mg/Kg.

- DL 50 dermal (ratos): 2000 mg/Kg.

- Classe toxicológica do produto técnico: I.

4- Princípio Ativo: DIMETOATO

- Identificação do Produto:

Nome comum : Dimetoato

- Nome comercial: Perfekthion

- Classe: Acaricida e inseticida

- Características Químicas

- Nome químico (IUPAC): O,O-dimetil S-metilcarbomoilmetil fosforoditioato.

- Nome químico (C.A.): O,O-dimetil S-[2-(metilamino)-2-oxoetil]fosforoditioato.

- Fórmula Estrutural:



- Fórmula bruta: C₅H₁₂NO₃PS₂

- Massa molecular: 229,20

- Estabilidade:

Calor - Instável

Luz - Instável

Umidade - Estável

Ácidos - Moderadamente estável

Álcalis - Hidrolizado por álcalis aquosos

- Corrosividade: Não é corrosivo

- Características Físicas

- Estado físico: Sólido; - Cor: Branca

- Odor: Característico.

- Ponto de fusão: 51 - 52 °C

- Solubilidade nos solventes mais comuns: Água (25 g/l), acetona e etanol.

- Inflamabilidade: Não inflamável.

- Dados Toxicológicos

- DL 50 oral (ratos): 320 - 380 mg/Kg-

- Classe toxicológica do produto técnico: II.

5 -- Princípio Ativo: MALATION

- Identificação do Produto

- Nome comum: Malation

- Nome comercial: Cythion - Enmatos - Fyfanon - Malatol

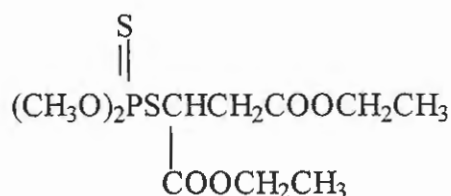
- Classe: Inseticida e acaricida

- Características Químicas

- Nome químico (IUPAC) : dietil(dimetoxitiofosforiltio)succinato

- Nome químico (C.A.): dietil (dimetoxifosfinotioil)tiobutanodiato.

- Fórmula estrutural:



- Fórmula bruta: C₁₀H₁₉O₆PS₂

- Massa molecular: 330,3

- Estabilidade: Calor - Estável até 45 °C. - Luz - Instável à radiação ultra violeta

Umidade - Instável

Ácido - Estável entre pH 5 a 7; Alcalis - Instável

- Corrosividade: Corrosivo ao ferro, aço, folha de flandres, chumbo e cobre

- Características Físicas

- Estado físico: Líquido

- Cor: Ambar claro; - Odor: Característico

- Densidade a 20 °C: 1,220 g/cm³ (produto puro)

- Solubilidade nos solventes mais comuns: Água (145 mg/l), acetona e acetato de etila.

- Inflamabilidade: Não é inflamável.

- Dados Toxicológicos

- DL 50 oral (ratos): 1375 mg/Kg

- DL 50 dermal (coelhos): 4100 mg/Kg

- Classe toxicológica do produto técnico: III.

-

6 - Princípio Ativo: METIDATION

- Identificação do Produto

Nome comum : Metidation

- Nome comercial: Supracide - Ultracide

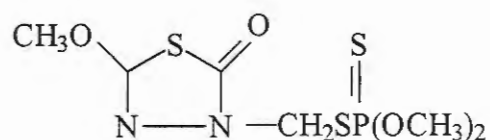
- Classe: Inseticida

- Características Químicas

- Nome químico (IUPAC): S-2,3-dihidro-5-metoxi-2-oxo-1,3,4-tiadiazol-3-ilmetil-o,o-dimetil fosforoditioato.

- Nome químico (C.A.): S-[(5-metoxi-2-oxo-1,3,4-tiadiazol-3(2H)-il)metil]o,o-dimetil foroditioato.

- Fórmula Estrutural:



- Fórmula bruta: C₆H₁₁N₂O₄PS₃

- Massa molecular: 302,3

- Estabilidade: Calor – Estável. - Luz – Estável. - Umidade - Estável

Ácidos - Instável

Álcalis - Hidrolizado por álcalis

- Corrosividade: Corrosivo ao ferro e folha de flandres.

- Características Físicas

- Estado físico: Sólido

- Cor: Cristais incolores; - Odor: Característico.

- Ponto de fusão: 39 - 40 °C

- Solubilidade nos solventes mais comuns: Água (250 mg/l), acetona e etanol.

- Inflamabilidade: Não inflamável.

- Dados Toxicológicos

- DL 50 oral (ratos): 25 - 54 mg/Kg

-DL50 dermal (ratos): 1546 mg/kg.

- Classe toxicológica do produto técnico: I.

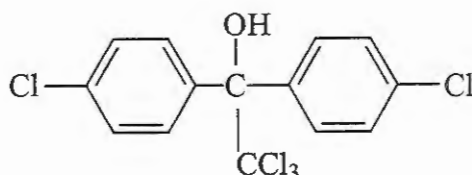
7 - Princípio Ativo : DICOFOL

- Identificação do Produto

- Nome comum : Dicofol
- Nome comercial: Kelthane
- Classe: Acaricida.

- Características Químicas

- Nome químico (IUPAC): 2,2,2-tricloro-1,1-bis(4-clorofenil) etanol
- Nome químico (C.A.): 4-cloro- α -(4-clorofenil)- α -triclorometil) benzenometanol
- Fórmula Estrutural:



- Fórmula bruta: $C_{14}H_9Cl_5O$
- Massa molecular: 370,5
- Estabilidade: Calor - Estável em condições normais de armazenamento
Luz - Estável quando mantido em sua embalagem original. Umidade - Estável
Ácidos - Moderadamente estável - Alcalis - Instável
- Corrosividade: Levemente corrosivo aos metais.
- Características Físicas
- Estado físico: Cera sólida; - Cor: Vermelho marron
- Odor: Característico.
- Ponto de fusão: acima de 52 °C
- Solubilidade nos solventes mais comuns: Sóluvel na maioria dos solventes alifáticos e aromáticos.
- Inflamabilidade: Não inflamável.
- Dados Toxicológicos
- DL 50 oral (ratos): 684-809 mg/Kg
- DL dermal (coelhos): maior que 2100 mg/Kg.
- Classe toxicológica do produto técnico: II.

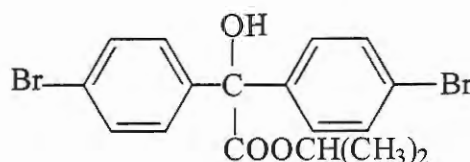
8 - Princípio Ativo : BROMOPROPILATO

- Identificação do Produto

- Nome comum : Bromopropilato
- Nome comercial: Neoron - Acarol
- Classe: Acaricida.

- Características Químicas

- Nome químico (IUPAC): Isopropil 4, 4'-dibromobenzilato
- Nome químico (C.A.): 1- metiletil 4-bromo- α -(4-bromofenil) - α -hidroxi benzenoacetato.
- Fórmula Estrutural:



- Fórmula bruta: $C_{17}H_{16}Br_2O_3$
- Massa molecular: 428,1
- Estabilidade: Calor – Estável. - Luz - Estável
- Umidade - Estável
- Ácidos - Estável em ácidos fracos; Álcalis - Estável em álcalis fracos.
- Corrosividade: Não corrosivo.
- Características Físicas
- Estado físico: Sólido; - Cor: Esbranquiçado
- Odor: Característico.
- Ponto de fusão: 77 °C - produto puro
- Solubilidade nos solventes mais comuns: Acetona, Metanol e Acetato de etila.
- Inflamabilidade: Não inflamável.
- Dados Toxicológicos
- DL 50 oral (ratos): maior que 5000 mg/Kg.
- DL 50 dermal (ratos): maior que 4000 mg/Kg.
- Classe toxicológica do produto técnico: III.

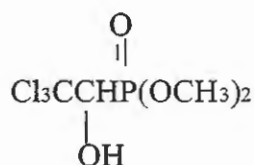
9- Princípio Ativo : TRICLORFON

- Identificação do Produto

- Nome comum : Triclorfon
- Nome comercial: Dipterex - Neguvon - Tugon -Dylox
- Classe: Inseticida .

- Características Químicas

- Nome químico (IUPAC): dimetil 2,2,2-tricloro-1-hidroxietilfosfanato.
- Nome químico (C.A.): dimetil(2,2,2-tricloro-1-hidroxietil) fosfanato.
- Fórmula Estrutural:



- Fórmula bruta: $\text{C}_4\text{H}_8\text{Cl}_3\text{O}_4\text{P}$
- Massa molecular: 257,5
- Estabilidade: Calor - Estável a temperatura ambiente.--Luz - Estável-- Umidade - instável

Ácidos -Instável em condições fortemente ácidas

Álcalis - Instável em condições fortemente básicas.

- Corrosividade: Corrosivo aos metais .

- Características Físicas

- Estado físico: Sólido
- Cor: Branca; - Odor: Característico.
- Ponto de fusão: 83-84 °C .
- Solubilidade nos solventes mais comuns: Na maioria dos solventes orgânicos e água - 154 g/l.

- Dados Toxicológicos

- DL 50 oral (ratos): 560 - 630 mg/Kg.
- DL 50 dermal (ratos): maior que 200 mg/Kg.
- Classe toxicológica do produto técnico:II.

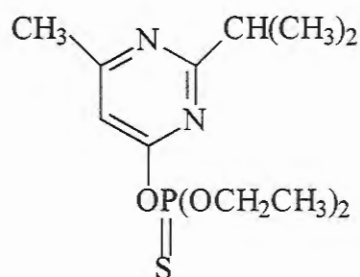
10- Princípio Ativo : DIAZINON

- Identificação do Produto

- Nome comum : Diazinon
- Nome comercial: Basudin - Diazitol - Neocidol - Nucidol
- Classe: Inseticida.

- Características Químicas

- Nome químico (IUPAC): o,o-dietil o-2-isopropil-6-metilpirimidin-4-il fosforotioato.
- Nome químico (C.A.): o,o-dietil o-[6- metil-2-(1-metiletil)-4-pirimidinil] fosforotioato.
- Fórmula Estrutural:



- Fórmula bruta: $C_{12}H_{21}N_2O_3PS$
- Massa molecular: 304,3
- Estabilidade: Calor - Decompõe-se acima de 120 C.--Luz - Estável-- Umidade - Instável

Ácidos – Instável; Álcalis - Estável em alcalinidade média

- Corrosividade: Não corrosivo.

- Características Físicas

- Estado físico: Líquido; - Cor: Marrom-claro
- Odor: Característico; - Densidade a 20°C : 1,110 g/cm³.
- Solubilidade nos solventes mais comuns: Na maioria dos solventes orgânicos, água 40mg/l.

- Dados Toxicológicos

- DL 50 oral (ratos): 300 - 850 mg/Kg.
- DL 50 dermal (ratos): maior que 2150 mg/Kg.
- Classe toxicológica do produto técnico:II.