

ANÍZIO MÁRCIO DE FARIA

**DISSULFOTON: AVALIAÇÃO DA
MOBILIDADE E EXTRAÇÃO PONTO NUVEM**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de “Magister Scientiae”.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2003

ANÍZIO MÁRCIO DE FARIA

**DISSULFOTON: AVALIAÇÃO DA
MOBILIDADE E EXTRAÇÃO PONTO NUVEM**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agroquímica, para obtenção do título de "Magister Scientiae".

APROVADA: 18 de julho de 2003

Prof. Antônio Augusto Neves
(Conselheiro)

Prof. Cláudio Ferreira Lima
(Conselheiro)

Prof. César Reis

Profª Carol Hollingworth Collins

Profª Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz
(Orientadora)

*Aos meus pais Maria Rita e Vantuil (in memoriam),
Às minhas irmãs Aline e Adriana,
Às minhas sobrinhas Fabiana, Fabíola e Bruna,
À Leila,
Pelo amor que lhes tenho,
dedico este trabalho.*

AGRADECIMENTOS

À professora Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz, pela oportunidade, confiança, ensinamentos, pela dedicada orientação, e, principalmente, pela sincera amizade.

Ao professor Antônio Augusto Neves, pelos ensinamentos, aconselhamentos, pela dedicada orientação e sincera amizade.

Ao professor Cláudio Ferreira Lima, pelos ensinamentos, aconselhamentos e amizade.

À estudante de iniciação científica Raquel pelo auxílio na condução dos experimentos e pela amizade.

A todos os amigos do laboratório de química analítica “LAQUA”; Simone, Telma, Fabrícia, Heulla, Raquel, Patrícia, Fábio, Iracema e Róbson, pelo auxílio, amizade e pelo agradável convívio.

A todos os amigos de curso; em especial, Claudinei, Alberto, Luiz Cláudio, Lucimar, pelo companheirismo e amizade.

À universidade Federal de Viçosa, particularmente ao Departamento de Química e ao corpo docente, que contribuíram, através dos conhecimentos transmitidos, para a conclusão do trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, pelo suporte financeiro.

A todos aqueles que, direta ou indiretamente, contribuíram para a conclusão deste trabalho.

BIOGRAFIA

ANÍZIO MÁRCIO DE FARIA, filho de Vantuil Lopes de Faria e Maria Rita Rosa Faria, nasceu em Viçosa, Minas Gerais, em 20 de Novembro de 1977.

Em abril de 1997, iniciou o Curso de Graduação em Química, pela Universidade Federal de Viçosa, diplomando-se como bacharel e licenciado em agosto de 2001.

Em agosto de 2001, iniciou o curso de pós-graduação em Agroquímica, em nível de mestrado, na Universidade Federal de Viçosa, submetendo-se à defesa de tese em julho de 2003.

ÍNDICE

RESUMO	x
ABSTRACT	xiii
INTRODUÇÃO GERAL	1
Utilização de agrotóxicos na agricultura	1
Utilização de agrotóxicos na cafeicultura	3
Comportamento dos agrotóxicos no solo	6
Mobilidade dos agrotóxicos no solo	9
Avaliação de resíduos de agrotóxicos	11
Extração ponto nuvem	13
O fenômeno das micelas	13
Separações de fases por ponto nuvem	15
Considerações experimentais	16
Extração ponto nuvem de compostos orgânicos de interesse ambiental	18
Remoção do material extraído	19
CAPÍTULO 1: MOBILIDADE DO DISSULFOTON E DE SEUS PRODUTOS DE DEGRADAÇÃO EM UM LATOSSOLO VERMELHO-AMARELO	22
1. INTRODUÇÃO	22
2. MATERIAIS E MÉTODOS	24
2.1. Amostra de solo	24
2.1.1. Caracterização da amostra de solo	24
2.2. Soluções padrão de Dissulfoton e de seus produtos de degradação	24
2.3. Extração do Dissulfoton e de seus produtos de degradação do solo e da água	25

2.3.1. Extração de água	25
2.3.2. Extração de solo	26
2.4. Análise Cromatográfica	27
2.5. Eficiência e validação do método analítico	27
2.5.1. Linearidade de resposta do detector	28
2.5.2. Limite de detecção e limite de quantificação	28
2.6. Estudo da percolação do Dissulfoton	28
2.6.1. Sistemas de percolação	28
2.6.2. Aplicação do princípio ativo no solo	30
2.6.3. Ensaio de simulação de chuva	30
2.6.4. Homogeneização das amostras de solo	31
2.6.5. Extração do princípio ativo e dos produtos de degradação	31
2.6.5.1. Extração do Dissulfoton e/ou produtos de degradação da água percolada	32
2.6.5.2. Extração do Dissulfoton e/ou produtos de degradação nas camadas de solo	32
2.6.5.3. Quantificação do Dissulfoton e de seus produtos de degradação	33
2.6.5.4. Conversão da percentagem dos produtos de degradação encontrados nas amostras em percentagem de Dissulfoton	33
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
3.1. Caracterização da amostra de solo	35
3.2. Análise cromatográfica dos produtos estudados	36
3.2.1. Linearidade de resposta do detector	37
3.2.2. Limite de detecção e limite de quantificação	38
3.3. Extração do Dissulfoton e produtos de degradação na água e no solo	38
3.3.1. Avaliação da eficiência de solventes na recuperação do Dissulfoton e de seu análogo oxigenado na água	38
3.3.2. Otimização da técnica de extração do Dissulfoton e de seus produtos de degradação na amostra de solo	40
3.3.2.1. Escolha do solvente extrator	41

3.3.2.2. Determinação do tempo de extração	42
3.4. Estudo da percolação do Dissulfoton no solo	44
3.4.1. Cálculo da massa de solo para a coluna de 5 cm	44
3.4.2. Avaliação da percolação do Dissulfoton e de seus produtos de degradação no solo	45
3.4.2.1. Avaliação do Dissulfoton e de seus produtos de degradação na camada superficial (0 a 5 cm)	45
3.4.2.2. Avaliação do Dissulfoton e de seus produtos de degradação na segunda camada (5 a 10 cm)	47
3.4.2.3. Avaliação do Dissulfoton e de seus produtos de degradação na terceira camada (10 a 15 cm)	50
3.4.3. Análise do Dissulfoton e de seus produtos de degradação na água percolada	51
3.4.4. Avaliação global da degradação do Dissulfoton em latossolo vermelho-amarelo	53
4. CONCLUSÕES	57
CAPÍTULO 2: EXTRAÇÃO DO DISSULFOTON DE ÁGUA PELO MÉTODO DO PONTO NUVEM	59
1. INTRODUÇÃO	59
2. MATERIAIS E MÉTODOS	62
2.1. Preparo de soluções	62
2.1.1. Preparo de soluções padrão de Dissulfoton	62
2.1.2. Preparo de soluções de Triton X-114	62
2.2. Determinação das condições ideais para a separação de fases do Triton X-114	63
2.2.1. Temperatura de ponto nuvem	63
2.2.2. Volume da fase rica em surfactante	63
2.2.3. Condições de centrifugação	64
2.3. Determinação das melhores condições de remoção do Triton X- 114 dos extratos de Dissulfoton	64
2.3.1. Avaliação do eluente	65
2.3.2. Avaliação do adsorvente	66
2.3.3. Análise dos eluatos por espectrofotometria de absorção UV/Vis.	67

2.4. Análise cromatográfica	67
2.5. Avaliação da concentração de Triton X-114 para extração ponto nuvem do Dissulfoton na água	68
2.6. Avaliação dos fatores que afetam a eficiência da extração ponto nuvem do Dissulfoton na água	69
2.6.1. pH	69
2.6.1.1. Preparo das amostras	69
2.6.1.2. Extração ponto nuvem de Dissulfoton em função do pH	69
2.6.2. Força iônica	69
2.6.2.1. Preparo de soluções de NaCl	69
2.6.2.2. Extração ponto nuvem de Dissulfoton em função da variação da força iônica	70
2.6.3. Outros surfactantes	70
2.6.3.1. Planejamento experimental de misturas de surfactantes ..	70
2.7. Validação da metodologia	71
2.7.1. Faixa de aplicação e linearidade de resposta	72
2.7.2. Limite de detecção e limite de quantificação	73
2.7.3. Precisão	73
2.7.3.1. Repetibilidade	73
2.7.3.2. Precisão intermediária	74
2.7.4. Exatidão	74
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	76
3.1. Determinação da temperatura de ponto nuvem do Triton X-114	76
3.2. Separação das fases por extração ponto nuvem	78
3.2.1. Determinação das condições de centrifugação	78
3.2.2. Determinação do volume da fase micelar	80
3.3. Sistema para a remoção do surfactante do extrato	82
3.3.1. Avaliação do eluente	82
3.3.1.1. Avaliação da retenção do Triton X-114	83
3.3.1.2. Avaliação da recuperação do Dissulfoton	85
3.3.2. Avaliação do adsorvente	87

3.3.2.1. Avaliação da retenção do Triton X-114	87
3.3.2.2. Avaliação da recuperação do Dissulfoton	88
3.4. Avaliação da concentração de Triton X-114 na extração do Dissulfoton na água	90
3.5. Avaliação dos fatores que afetam a eficiência da extração ponto nuvem do Dissulfoton na água	92
3.5.1. pH	92
3.5.2. Força iônica	94
3.5.3. Outros surfactantes	96
3.6. Validação da metodologia de extração ponto nuvem do Dissulfoton na água	99
3.6.1. Faixa de aplicação e linearidade de resposta	100
3.6.2. Limite de detecção e limite de quantificação	101
3.6.3. Precisão	101
3.6.3.1. Repetibilidade	102
3.6.3.2. Precisão intermediária	102
3.6.4. Exatidão	103
3.6.4.1. Comparação da eficiência dos métodos de extração ponto nuvem e extração líquido-líquido do Dissulfoton na água	103
4. CONCLUSÕES	107
CONCLUSÕES GERAIS	109
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	111

RESUMO

FARIA, Anízio Márcio de, M.S., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2003.

Dissulfoton: avaliação da mobilidade e extração ponto nuvem.

Orientadora: Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz. Conselheiros: Antônio Augusto Neves e Cláudio Ferreira Lima.

Foram conduzidos dois projetos distintos neste trabalho com o inseticida sistêmico organofosforado Dissulfoton. Na primeira série de experimentos, foi avaliada a possibilidade de contaminação de águas subterrâneas pelo Dissulfoton e seus produtos de degradação, avaliando a mobilidade do inseticida, na sua forma pura, em um latossolo vermelho-amarelo. Para tal, foram montados sistemas de percolação constituídos de 10 séries de colunas de 15 cm de altura, divididas em três camadas de 5 cm cada, preenchidas com solo. As colunas foram submetidas a simulações de eventos de chuva, por um período de 90 dias. A cada 10 dias, um evento de chuva era simulado e a mobilidade do Dissulfoton era avaliada pela quantificação do mesmo e de seus produtos de degradação em cada camada das colunas de solo e na água percolada. Técnicas de extração líquido-líquido e líquido-sólido, previamente otimizadas, foram empregadas para a extração do Dissulfoton das matrizes (água e solo). Após 90 dias de experimento, os resultados mostraram que o Dissulfoton foi detectado somente na camada superficial do solo, de 0 a 5 cm. Após a primeira simulação de chuva, o inseticida sofre degradação contínua até o 60º dia de experimento, a partir do qual o composto não é mais detectado no solo. Após esse período são encontrados apenas os produtos finais de sua rota de degradação, o Dissulfoton sulfona e seu análogo oxigenado. Estes compostos, ao contrário do Dissulfoton, são encontrados nas camadas mais profundas de solo, de 5 a 10 e 10 a 15 cm, e também na água percolada. A

quantidade destes dois compostos aumenta continuamente, chegando a um total de 92 % da quantidade do Dissulfoton aplicada, no 90º dia de experimento. Quanto à água percolada, somente o Dissulfoton sulfona e seu análogo oxigenado foram detectados, em quantidades inferiores a 5 % da massa de Dissulfoton aplicada inicialmente. Conclui-se então, que a possibilidade de se encontrar o Dissulfoton em águas subterrâneas é pequena, devido a sua baixa mobilidade no solo e sua rápida degradação a outros compostos. Porém o Dissulfoton sulfona e seu análogo oxigenado são mais persistentes e apresentam alta mobilidade, aumentando a probabilidade de serem lixiviados ou percolados pelo solo e contaminar águas mais profundas. O uso de quantidades excessivas de solventes orgânicos, aliado a outros problemas relacionados com a extração líquido-líquido, tem limitado o emprego desta técnica. Tornou-se imprescindível, então, o desenvolvimento de metodologias alternativas de extração que possibilitem a redução destes problemas. Na segunda série de experimentos deste trabalho, foi desenvolvida uma metodologia de extração de Dissulfoton de águas, baseada nas características anfífilicas das moléculas de surfactantes. Esta técnica é conhecida como extração ponto nuvem (“cloud point extraction”). A técnica de extração do Dissulfoton em água consistiu em acrescentar a amostra aquosa contendo Dissulfoton, uma certa quantidade de surfactante. Em condições otimizadas, a mistura foi separada por centrifugação e a fase rica em surfactante separada para a análise. Para possibilitar as análises dos extratos por cromatografia gasosa, foi otimizado um sistema de “cleanup”, com colunas cromatográficas, para a remoção do surfactante, Triton X-114, do material extraído. Os adsorventes que proporcionaram os melhores resultados foram a sílica-gel e o Florisil, dispostos em duas colunas em série. A mistura de metanol:hexano (1:1) foi o eluente com que se obtiveram os melhores resultados. A quantidade de surfactante necessária para a extração do Dissulfoton foi avaliada e a que proporcionou maior percentagem de recuperação, acima de 90 %, foi uma solução de Triton X-114 a 1,0 % (m/v). Verificou-se, também, a influência de alguns fatores na eficiência da extração do Dissulfoton na água, tais como a variação do pH da amostra, o aumento da força iônica e a presença de outros surfactantes. A força iônica foi o fator de maior influência, aumentando a percentagem de recuperação do Dissulfoton

para valores próximos de 100 %, enquanto que a presença de outros surfactantes, como o Triton X-100 e o SDS, reduziu a eficiência de extração do método. A metodologia de extração ponto nuvem do Dissulfoton de água, acoplada a um sistema de “cleanup”, composto de colunas de sílica-gel e Florisil, se mostrou, pelos parâmetros de validação avaliados, pelo menos, comparável ao método convencional, além de ser um método simples e de fácil execução. Devido à redução significativa do volume de solvente empregado, se mostrou também, econômica e ecologicamente viável.

ABSTRACT

FARIA, Anízio Márcio de, M.S., Universidade Federal de Viçosa, July 2003.

Disulfoton: evaluation of the mobility and cloud point extraction.

Adviser: Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz. Committee Members: Antônio Augusto Neves and Cláudio Ferreira Lima.

In this work two distinct projects with the systemic organophosphorus insecticide Disulfoton have been carried out. In one series of experiments, the possibility of underground water contamination by Disulfoton and its products of degradation was evaluated, using the mobility of the insecticide, in its pure form, on a red-yellow latossolo. For such, percolation systems constituted of 10 series of columns of 15 cm of height were mounted, divided in three layers of 5 cm each, filled with soil. The columns were submitted to simulated rain events over a period of 90 days. Every 10 days, a rain event was simulated and the mobility of Disulfoton was evaluated for its quantification and that of its products of degradation, in each layer of the columns of soil and in the percolated water. Techniques of liquid-liquid and liquid-solid extraction, previously optimized, were employed for the extraction of the Dissulfotons from the matrices (water and soil). After 90 days of experiments, the results show that Disulfoton was only detected in the superficial layer of the soil, of 0 to 5 cm. After the first rain simulation, the insecticide suffers a continuous degradation until the 60th day of the experiment, after which the compound is no longer found in the soil layer. After this period only the last products of its route of degradation, Disulfoton sulfone and its oxygenated analog are found. These compounds, in contrast of Disulfoton, are found in the deepest soil layers, of 5 to 10 and 10 to 15 cm, and also in the percolated water. The mass of these two compounds increases continuously, arriving at a total of 92 % of the amount of Disulfoton applied, in

90th day of experiment. With respect to the percolated water, only the Disulfoton sulfone and its oxygenated analog were detected, in amounts inferior to 5 % of the mass of Disulfoton initially applied. It was concluded then, that the possibility to find Disulfoton in underground waters is small, due its low mobility in the soil and its fast degradation to other compounds. However, the Disulfoton sulfone and its oxygenated analog are more persistent and present high mobility, increasing their probability to be leached or percolated in the soil and to contaminate deeper waters. The use of large amounts of organic solvents, allied to other problems related with liquid-liquid extraction, has limited the use of this technique. It then became essential to develop alternative methodologies of extraction that make the reduction of these problems possible. In the other series of experiments of this work, a methodology of extraction of Disulfoton from waters was developed, based on the amphiphilic characteristics of surfactant molecules. This technique is known as cloud point extraction. The technique of extraction of Disulfoton in water consisted of adding to the aqueous sample containing Disulfoton a certain amount of surfactant. In optimized conditions, the mixture was separated by centrifugation and the surfactant-rich phase separated for the analyses. To make possible the analyses of extracts by gas chromatography, a system of "cleanup" with small chromatographic columns was optimized for the removal of the surfactant Triton X-114 from the extracted material. The adsorbents that provided the best results were silica-gel and Florisil, disposed in two columns in series. A methanol:hexane mixture (1:1) was the eluent that it got the best results. The amount of surfactant necessary for the extraction of Disulfoton was evaluated and that which provided the greatest recovery percentage above 90 % was 1.0 % (w/v) of Triton X-114. It was verified, also, the influence of some factors in the efficiency of the extraction of Disulfoton from water, such as variation of the pH of the sample, the increase of the ionic strength and the presence of other surfactants. The ionic strength was the factor of largest influence, increasing the percentage of recovery of Disulfoton to nearly 100 %, while the presence of other surfactants, such as Triton X-100 or SDS, reduced the efficiency of extraction of the method. The cloud point extraction of Disulfoton from water, coupled to a system of "cleanup", composed of silica-gel and Florisil columns, was shown, for the evaluated parameters of validation, to be at least

comparable to the conventional method, besides being a simple method with easy execution. Due to significant reduction of the volume of solvent employed, it also was, economical and ecologically viable.

INTRODUÇÃO GERAL

Utilização de agrotóxicos na agricultura

Apesar do desenvolvimento de técnicas alternativas como controle biológico e melhoramento genético de plantas, o uso de pesticidas é ainda a principal estratégia no campo para o controle e a prevenção de pragas agrícolas. Esses compostos, porém, são potencialmente tóxicos ao homem, podendo causar efeitos adversos ao sistema nervoso central e periférico, câncer, ter ação imunodepressora, entre outros (CALDAS e SOUZA, 2000).

No âmbito da América Latina, o Brasil desponta como o maior consumidor de agrotóxicos, com um consumo estimado em 50 % da quantidade comercializada nesta região (SILVA et al., 2001). Esse alto consumo de agrotóxicos tem garantido alimento suficiente para a população.

O desenvolvimento agrícola, a partir da década de setenta, que resultou na produtividade dos dias atuais, foi dirigido, em parte, por aspectos políticos de incentivo ao homem do campo, para compra de insumos e máquinas para a lavoura, levando assim ao consumo excessivo de agrotóxicos (RUEGG, 1991).

A utilização dos agrotóxicos no meio rural brasileiro tem trazido uma série de conseqüências tanto para o ambiente como para a saúde do trabalhador. Em geral, essas conseqüências são condicionadas por fatores intrinsecamente relacionados, tais como o uso inadequado dessas substâncias, a alta toxicidade de certos produtos, a não utilização de equipamentos de proteção e a precariedade dos mecanismos de vigilância. Esse quadro é ainda agravado pelo baixo nível socioeconômico e cultural da grande maioria desses trabalhadores (SILVA et al., 2001).

Casos agudos de intoxicações por agrotóxicos são freqüentemente observados e relatados, principalmente nos trabalhadores rurais. Por outro

lado, os resíduos liberados no ambiente ou remanescentes nas culturas são progressivamente transferidos para os alimentos e para o homem. Esta exposição continuada, por longos períodos, em níveis relativamente baixos de agrotóxicos, pode afetar a saúde humana (TURK, 1989).

De um modo geral, o consumo de agrotóxicos no meio rural decresce na seguinte ordem: herbicidas > inseticidas > fungicidas. Embora os herbicidas sejam mais utilizados, em geral a toxicidade deste grupo de substâncias é inferior à dos inseticidas. Os inseticidas englobam compostos quimicamente bastante diferenciados, que podem ser agrupados em quatro categorias principais: os organoclorados, os piretróides, os organofosforados e os carbamatos. Os compostos pertencentes à classe dos organofosforados e à dos carbamatos apresentam mecanismo comum de ação com inibição da acetilcolinesterase, e são responsáveis pelo maior número de intoxicações no meio rural, porém, têm a vantagem de serem menos persistentes no solo, além de não apresentar propriedades bioacumulativas. Os organoclorados são usados com grande restrição, em virtude do longo tempo de permanência no solo, quando comparado com as demais classes, e de suas características bioacumulativas (SILVA et al., 2001).

Em virtude da sua baixa persistência e alta eficácia, os inseticidas organofosforados são atualmente muito utilizados. Apesar de serem muito tóxicos, os organofosforados apresentam a vantagem, em relação aos demais inseticidas, de serem hidrofílicos e rapidamente degradáveis. Absorvidos por via dérmica ou oral, não se acumulam nos tecidos adiposos e são prontamente eliminados pelas fezes e pela urina. Devido à grande aplicação no campo, os inseticidas organofosforados são os principais responsáveis pela maioria dos casos de intoxicação na zona rural (MOREIRA, 1995).

O uso de pesticidas pode também levar a vários outros problemas como a contaminação não somente de solos, mas a contaminação de rios, alimentos e das pessoas que aplicam o produto. Portanto, o cuidado no manuseio destes produtos é de extrema importância para se evitar altos níveis de contaminação.

Os pesticidas podem ser utilizados de diferentes formas, dependendo do tipo de pragas que se deseja controlar. Para o controle de plantas daninhas, insetos e microrganismos que atacam a parte aérea das plantas, normalmente, utiliza-se a pulverização foliar. Para o controle de pragas e doenças que

atacam o sistema radicular das plantas fazem-se aplicações diretamente no solo, em concentrações relativamente altas.

A proteção de plantas contra pragas agrícolas é muitas vezes realizada com compostos sistêmicos. Esta proteção é caracterizada pela aplicação do princípio ativo no solo seguido da absorção e translocação do produto químico pela planta, para a partir daí produzir sua ação protetora. Os compostos sistêmicos apresentam-se, quase que em sua totalidade, na forma de grânulos, facilitando assim a sua aplicação direta no solo. Cabe ressaltar que ultimamente muito desses produtos estão sendo utilizados de forma inadequada, pois muitas vezes não visam apenas o controle de doenças e de pragas, mas também a melhoria do crescimento das plantas e maior produtividade. Assim, nada impede que tais produtos possam se acumular no solo ou nas plantas e que, posteriormente, venham causar problemas de poluição no meio ambiente (MONDRAGÓN, 1998).

Os agrotóxicos atingem o solo, não só pela incorporação direta pela superfície, mas também através do tratamento de sementes com fungicidas, ou pela eliminação de ervas daninhas por herbicidas. Estes compostos podem ainda atingir o solo de maneira indireta pela pulverização das partes verdes dos vegetais e pela queda de frutos ou folhas que receberam aplicação de agrotóxicos (MUSUMECI, 1992). Uma vez no solo, os agrotóxicos podem ser transportados pelas águas das chuvas até o lençol freático e daí para poços e minas d'água, córregos, represas, rios, etc. O transporte de agrotóxicos pela água pode ocorrer também pela superfície do solo, juntamente com a água de enxurrada. A importância relativa dessas duas formas de transporte depende em grande parte do tipo de solo e do relevo da região (RIGITANO e SOUZA, 1994).

Utilização de agrotóxicos na cafeicultura

A cultura do café, como tantas outras culturas, utiliza excessivamente de produtos químicos para o controle de pragas. O café é um dos principais produtos de exportação do Brasil, sendo que o país participa com cerca de 28 % da produção mundial. Segundo dados da previsão de safra para o biênio de

2003/04, o Estado de Minas Gerais contribuirá com 40 % de todo o café produzido no país (Figura 1) (BRASIL, 2003).

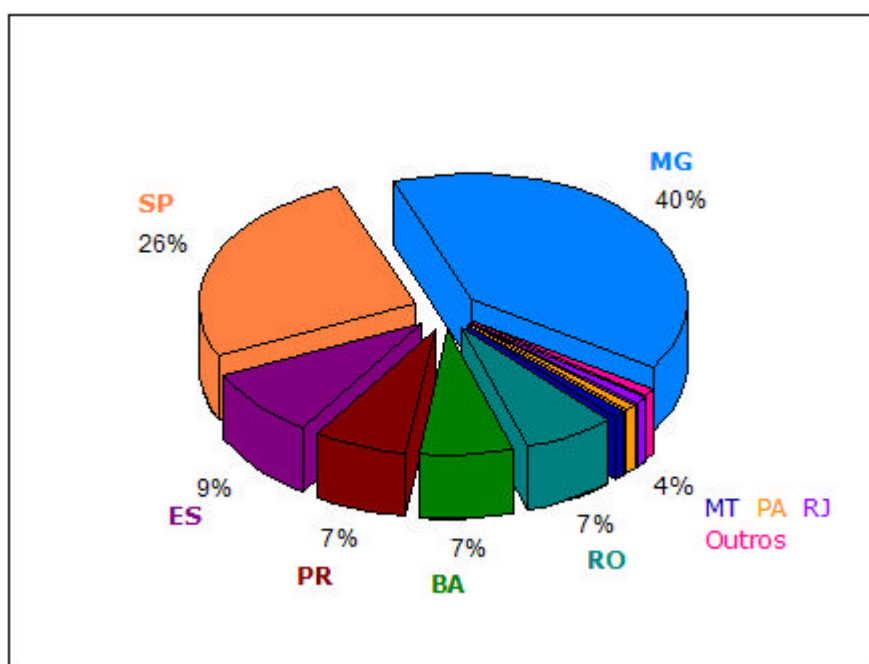


Figura 1: Participação dos Estados na produção de café, previsão de safra 2003/04 (IMA, 2003).

Com base em estudos técnicos científicos, realizados em conjunto pela EMATER, EPAMIG e IMA, foram demarcadas 4 regiões produtoras de café no Estado de Minas Gerais (IMA, 2003):

1. Sul de Minas
2. Cerrado de Minas
3. Montanhas de Minas
4. Jequitinhonha de Minas

Na Figura 2 está representado o mapa estadual situando geograficamente estas quatro regiões (IMA, 2003).

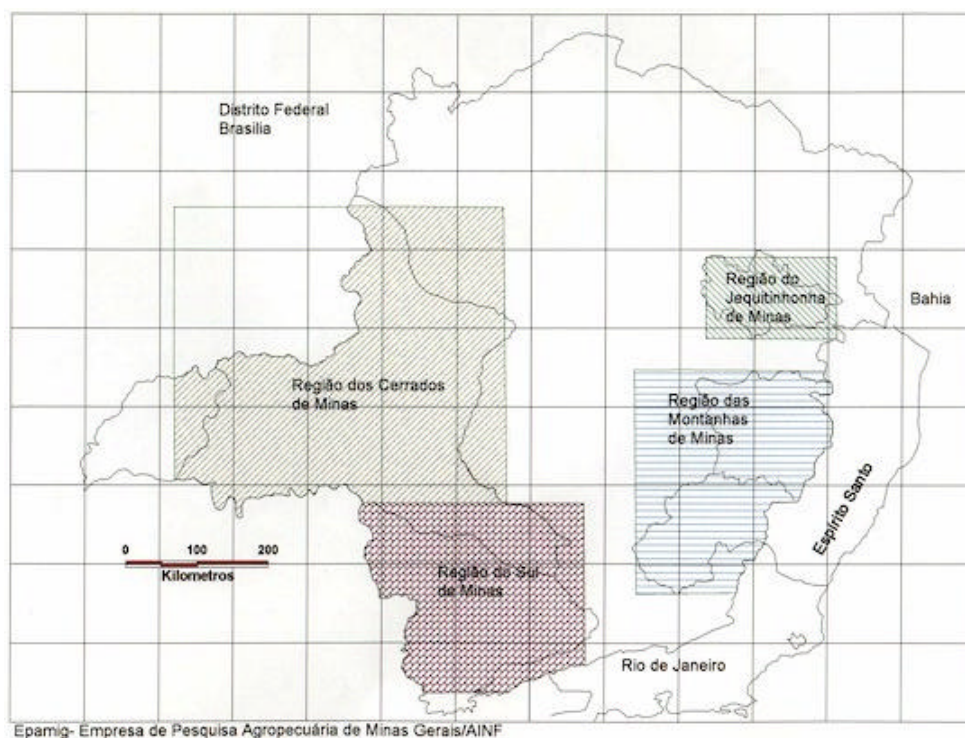


Figura 2: Mapa estadual das regiões produtoras de café do Estado de Minas Gerais (IMA, 2003).

A região das Montanhas de Minas se refere à Zona da Mata Mineira e é responsável por 27,6 % de toda produção do café no Estado (BRASIL, 2003).

Cerca de 85 % da produção total de café produzido na Zona da Mata Mineira é oriundo de cultivares de *Coffea arábica*, espécie suscetível ao bicho mineiro (*Perileucoptera Coffeella*), à broca do café (*Hypothenemus hampei*), às cigarras (*Quesada gigas*, *Carineta sp*, *Fidicina pronoe* e *Dorisiana spp*) e às cochonilhas de raiz (*Dismicococus criptus*); que são as principais pragas que atacam a lavoura cafeeira (UFLA, 2003).

O bicho mineiro, quando adulto, é uma pequena mariposa, que no estágio de lagarta mina as folhas do cafeeiro, causando o desfolhamento das plantas e a queda da produção (SÃO PAULO, 1985). Uma queda de 67 % das folhas do cafeeiro, na época da primeira florada, provoca uma redução de colheita de aproximadamente 50 % (MINAS GERAIS, 2003).

O controle do bicho mineiro tem sido feito, quase que exclusivamente, através do uso de inseticidas sistêmicos, destacando-se o Dissulfoton, presente em formulação granulada (BRIGGS, 1984).

O Dissulfoton [O,O-dietil-S[2-(etiltio)etil]fosforoditioato] é um

inseticida/acaricida organofosforado, introduzido pela Bayer em 1956. É um inseticida sistêmico altamente tóxico - classe I de toxicidade. Sua estrutura está apresentada na Figura 3 (CHAPMAN et al., 1994).

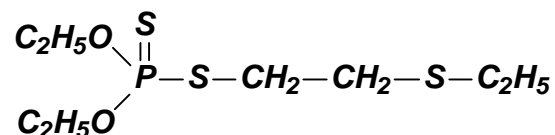


Figura 3: Fórmula estrutural do Dissulfoton: [O,O-dietil S[2-(etiltio)etil] fosforoditioato]

O Dissulfoton, na sua forma pura, se apresenta como um óleo incolor com um odor de enxofre, cujo ponto de ebulição é 128 °C, sua densidade é de 1,14 g cm⁻³ e a pressão de vapor de 24 mPa a 20 °C. Sua solubilidade em água, a 20 °C é de 15 mg L⁻¹, sendo ainda mais solúvel em solventes orgânicos. Em formulações, o Dissulfoton é encontrado normalmente na forma de grânulos ou como um óleo amarelado (PESTICIDE DOCUMENTS, 2002).

O Dissulfoton é aplicado na forma de grânulos no solo e absorvido pelas raízes, movendo-se com a rota de nutriente da planta e exercendo sua ação inseticida pela forma biotransformada, onde o sulfeto do Dissulfoton é metabolizado a sulfóxido e sulfona (IBRAHIM et al., 1969; ANDREA, 1986).

A eficiência do Dissulfoton granulado depende da umidade do solo, necessária para dissolvê-lo e translocá-lo, dependendo portanto da quantidade de chuva (DEGÁSPARI, 1978). O Dissulfoton reduz o número de larvas, apresentando mortalidade do bicho mineiro entre duas a quatro semanas (WANJALA, 1976) e um controle total do inseto na lavoura em até sete semanas, após a aplicação (PESTICIDE DOCUMENTS, 2002).

Comportamento dos agrotóxicos no solo

Diante dos inúmeros casos de contaminação com resíduos de pesticidas em lençóis freáticos, poços e minas d'água, pesquisadores no mundo inteiro têm somado esforços para estudar o comportamento dos pesticidas em solos, permitindo elaborar questões sobre os riscos de contaminação ambiental.

(SCORZA JR et al., 2000).

Segundo REDONDO et al. (1996), uma pequena quantidade de todos os agrotóxicos usados na agricultura alcança o solo, até mesmo quando aplicados nas folhagens das plantas. Assim, o solo é o maior reservatório e o local potencial de degradação. O termo degradação tem sido utilizado para a descrição de transformações de todo o tipo, incluindo aquelas que originam produtos mais tóxicos que o composto inicial. Inclui também a inativação, assim como as transformações responsáveis pela completa mineralização do produto até CO_2 , H_2O , NO_3^- , etc. Os compostos organossintéticos podem desaparecer do solo por vários processos, como volatilização, lixiviação e reações químicas de natureza hidrolítica ou por fotólise. Em muitas circunstâncias, o desaparecimento do agrotóxico é atribuído à atividade microbiana do solo (MUSUMECI, 1992).

A maioria dos agrotóxicos é muito pouco volátil, permanecendo portanto no solo. O seu movimento é governado, principalmente, pelo movimento da água no solo e pelo grau de sorção do agrotóxico nas partículas do solo. Já a duração do seu efeito e sua permanência no meio ambiente são influenciados pela estrutura química do composto e pelas condições ambientais (RIGITANO, 1996).

Resíduos de agrotóxicos organofosforados podem persistir no meio ambiente por vários dias, e as degradações biótica e abiótica podem ocorrer, com a formação subsequente de vários produtos de degradação, talvez mais tóxicos que o composto original (LACORTE e BARCELÓ, 1995).

Embora a persistência desses compostos seja curta, há grande preocupação em relação aos metabólitos desenvolvidos, que são também inibidores da atividade acetilcolinesterásica (MUSUMECI, 1992).

Um destes inseticidas tiofosforados é o Dissulfoton, e embora seja classificado como pouco persistente e com pequeno efeito residual (ETO, 1974), alguns estudos têm demonstrado que ele se degrada rapidamente em subprodutos que permanecem por longos períodos nos solos (TOMIZAWA e KAZANO, 1979, citados por ANDRÉA, 1986).

Em um estudo detalhado OLIVEIRA (1999) avaliou o comportamento do Dissulfoton e seus metabólitos no solo e no cafeeiro. Verificou que após 270 dias da aplicação do produto comercial foram encontrados resíduos de alguns

subprodutos do Dissulfoton. A persistência dos produtos de degradação encontrados por este período de tempo é fator de preocupação, tendo em vista a dosagem aplicada, que, por sua vez, governa a razão de desaparecimento do Dissulfoton (SINGH et al., 1983).

De acordo com IBRAHIM et al. (1969) e ANDREA (1986) o Dissulfoton quando aplicado ao solo segue uma rota de degradação, apresentada na Figura 4.

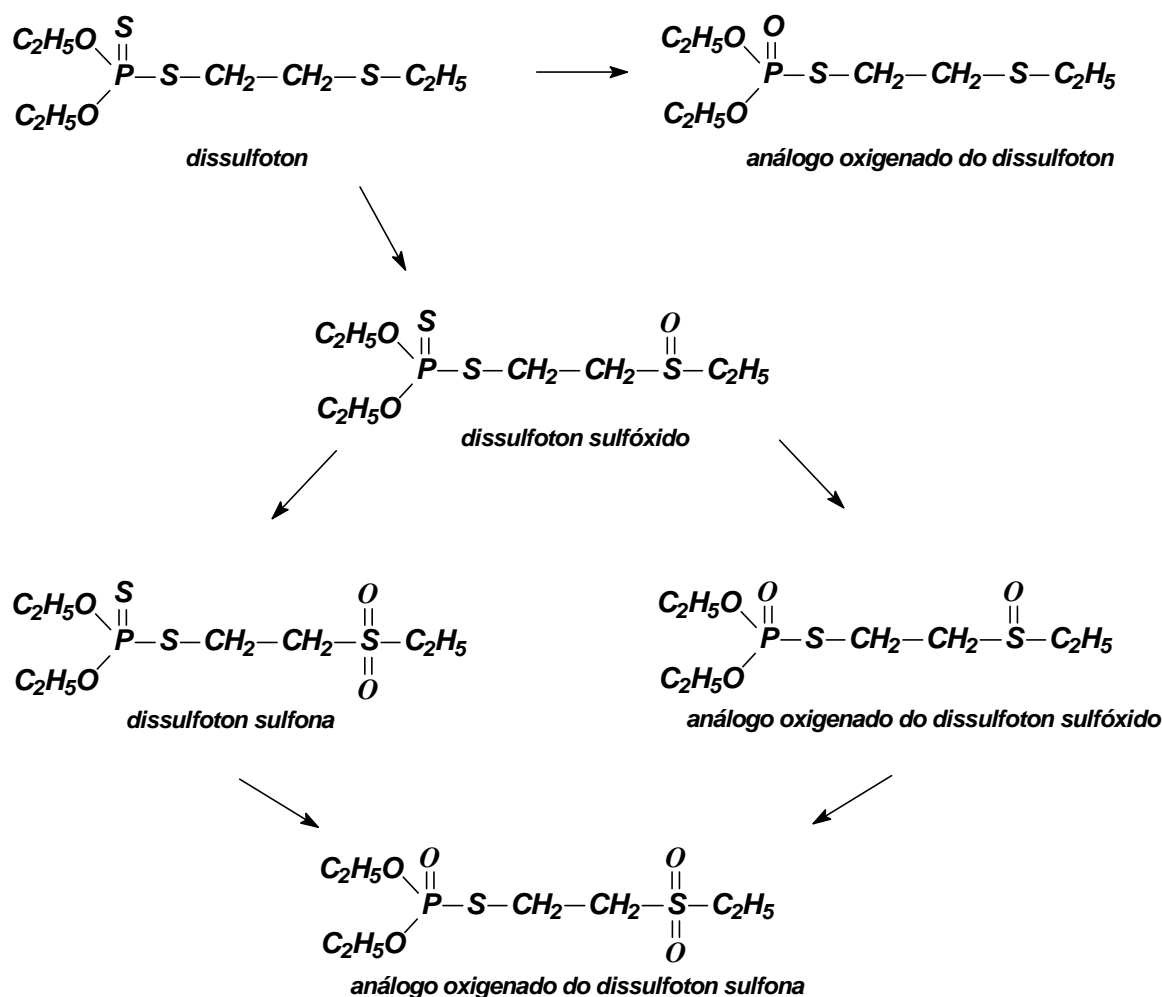


Figura 4: Rota de degradação do Dissulfoton (IBRAHIM et al., 1969).

SZETO et al. (1983) observaram em seus estudos a presença de resíduos de sulfóxidos e sulfonas do Dissulfoton em solos e plantas e observaram, ainda, que a quantidade destes resíduos foi aumentando enquanto que a de Dissulfoton foi diminuindo, no decorrer do experimento.

RIGITANO e SOUZA (1994) confirmaram esta acumulação lenta e gradual dos produtos de oxidação do Dissulfoton nas folhas de cafeeiro.

Mobilidade dos agrotóxicos no solo

A mobilidade de defensivos no solo, especialmente aqueles aplicados diretamente ao mesmo, é dependente de uma série de fatores ligados ao solo, ao ambiente e a características do próprio produto químico aplicado. Com relação aos agrotóxicos, a dose aplicada, a solubilidade em água e as características químicas do produto, que condicionam a adsorvidade da molécula às partículas coloidais do solo determinam a maior ou menor mobilidade do produto no perfil do solo. O ambiente condiciona a movimentação do agrotóxico no solo através da temperatura e, principalmente, da quantidade de chuva após a aplicação do agrotóxico no solo. No solo é importante destacar a drenagem, a textura e o teor de matéria orgânica (capacidade adsortiva); assim, quanto maior a capacidade de adsorção de um solo, menor é a mobilidade do agrotóxico (CRUCIANI et al., 1996).

Estudos desenvolvidos em várias regiões do mundo têm mostrado que a percentagem dos produtos utilizados na agricultura que atingem os ambientes aquáticos é geralmente baixa. Entretanto, pesticidas persistentes e com grande mobilidade no ambiente têm sido detectados em águas superficiais e subterrâneas (DORES e FREIRE, 2001).

O grau de lixiviação de um inseticida no solo está correlacionado com sua solubilidade em água, mas é também afetado pela capacidade de adsorção. Moléculas de água podem competir com o inseticida por sítios nas partículas do solo, tanto que, em solos encharcados, o inseticida provavelmente ficará mais disponível (EDWARDS, 1973).

Várias são as técnicas utilizadas para avaliar o movimento e a dissipação de agrotóxicos no solo, sendo as mais comuns: lisímetro (WINTON e WEBER, 1996), deslocamento miscível (DOWLING et al., 1994) e coluna de percolação (MATRANGOLO, 1999; LOPES, 2000).

Experimentos com colunas são ferramentas utilizadas para estudar o comportamento de agrotóxicos em solos. A hidrologia do solo pode determinar

o caminho do fluxo de água e determinar, também, o transporte e a interação dos agrotóxicos. Na prática, a água e os solutos podem ser transportados pelos macroporos, evitando a reação com a matriz do solo. Dessa forma, o desvio do fluxo da água torna-se o mais importante caminho para o transporte de agrotóxicos, através do movimento da água, para profundidades (LOPES, 2000). Assim, o tempo de reação dos agrotóxicos com os sítios de sorção dos solos, como também a exposição total dos agrotóxicos com as superfícies adsorventes, diminuem consideravelmente. Acredita-se que tal explicação é uma das principais razões para a lixiviação dos agrotóxicos e a sua presença em águas subterrâneas e de superfície (EDWARDS, 1973; JOHNSON et al., 1996; VINK et al., 1997).

Nos experimentos que utilizam colunas para avaliação do movimento dos agrotóxicos no solo, são empregadas algumas técnicas de análise para monitorar a presença dos resíduos ao longo da coluna. Uma delas consiste em aplicar material radioativo no topo da coluna e analisar a percolação do material por cintilação do produto ao longo da coluna de solo (ARIENZO et al., 1994). Outra técnica de análise consiste na extração e quantificação dos compostos, ao longo da coluna (MATRANGOLO, 1999; LOPES, 2000).

O método mais adequado é aquele que melhor se aproxima das condições de campo e que apresente boa reprodutibilidade. Por isso, o método da coluna de percolação tem sido utilizado nos ensaios com o Dissulfoton e outros inseticidas organofosforados (ARIENZO et al., 1994; LOPES, 2000).

Muitos estudos têm sido realizados no intuito de avaliar a mobilidade de inseticidas utilizando colunas de solos. Compostos como aldicarbe (SCORZA JR. et al., 2000), Triadimenol (MATRANGOLO, 1999) e uma formulação granulada contendo Dissulfoton e Triadimenol (LOPES, 2000), já foram avaliados, e os resultados demonstraram que este método apresenta boa reprodutibilidade, além de simular, com precisão, as condições de campo.

Avaliação de resíduos de agrotóxicos

Diversas técnicas são utilizadas para quantificação e identificação de resíduos de Dissulfoton em diferentes amostras de material vegetal, solos e águas. Em geral, os métodos usados na análise de resíduos de pesticidas nas diferentes matrizes exigem que se efetue previamente a extração e pré-concentração destes compostos. Os métodos oficiais utilizam técnicas analíticas de extração líquido-líquido (ELL) e extração sólido-líquido (ESL). (SILVA et al., 1999).

Na literatura, vários trabalhos ressaltam o grande uso destas técnicas na remoção de pesticidas de diferentes matrizes, utilizando diferentes solventes como; metanol, acetato de etila, hexano, acetona ou misturas de solventes, tais como clorofórmio/acetona, acetato de etila/metanol, etc. (CHAPMAN et al., 1994; SPECHT, 1977; SZETO e BROWN, 1982; SCORZA JR et al., 2000; SZETO et al., 1982).

Apesar de serem técnicas relativamente simples e de bons resultados de recuperação, a ELL e a ESL apresentam algumas desvantagens como, por exemplo, a formação de emulsões durante o processo de extração, a falta de recuperação para analitos mais voláteis, o uso de uma grande quantidade de solventes orgânicos para se obter uma boa recuperação dos analitos, além da necessidade de solventes de alta pureza (SICILIA et al., 1999).

Visando eliminar os problemas e minimizar o uso de solventes orgânicos nos métodos convencionais de extração, outras metodologias têm sido desenvolvidas para a extração e pré-concentração de compostos em nível de traços, tais como extração por membranas, extração em fase sólida (ELS), microextração em fase sólida (MEFS), etc. (MARTÍNEZ et al., 2000).

Vários trabalhos empregando a EFS (LACORTE e BARCELÓ, 1995; SHENCK e DONOGHUE, 2000; SANDAU et al., 2003) ou a MEFS (SILVA et al., 1999; CORREIA et al., 2000; YAO et al., 2001) demonstraram redução da quantidade de solventes orgânicos e dos problemas originários das técnicas tradicionais para a extração dos mais diversos compostos de água.

Métodos alternativos de extração que fazem uso de fases líquidas também têm sido propostos; entre estes se destacam métodos que empregam

polímeros ou surfactantes.

Extrações através do uso de polímeros podem ocorrer de duas maneiras: sistema aquoso bifásico (SAB) e extrações usando sistemas de polímeros por termo-separação (SPT). No caso da SAB, dois ou mais polímeros solúveis em água são adicionados na presença de uma dada concentração de sal. Quando as concentrações dos polímeros adicionados estão acima de uma certa concentração, uma ou duas novas fases são formadas. No SPT é necessário aumentar a temperatura da solução contendo o polímero até um nível satisfatório a fim de se obter duas fases; fenômeno conhecido como temperatura de ponto nuvem. Ambas as técnicas têm sido utilizadas principalmente na separação de biomoléculas (MARTÍNEZ et al., 2000).

Soluções aquosas de alguns surfactantes são usadas em Extração Micelar (EM) e Extração Ponto Nuvem (EPN). Na extração micelar, a separação seletiva pode ser alcançada devido ao fato de que os agregados micelares têm um tamanho que lhes impede de passar por certas membranas de ultrafiltração, juntamente com a capacidade das micelas em solubilizar diferentes compostos. Esta metodologia tem sido usada, principalmente, para a separação de nitratos provenientes de águas subterrâneas usando membranas de celulose e o surfactante Brometo de Cetiltrimetilamônio (CTAB) (MARTÍNEZ et al., 2000).

Soluções aquosas de certas micelas de alguns surfactantes exibem comportamento de separação de fases, com uma turbidez da solução, devido à alteração da temperatura. A temperatura à qual este fenômeno ocorre é conhecida como temperatura de ponto nuvem. Este fenômeno pode ser explorado na técnica da separação para o desenvolvimento de extração, purificação e esquemas de pré-concentração para os analitos desejados. Uma vez que é necessária a adição de apenas uma pequena quantidade de surfactante aniônico (ou zwitteriônico) na solução aquosa da amostra, este método se torna conveniente e muito oportuno, eliminando a necessidade do uso de grandes quantidades de solventes orgânicos, como na extração líquido-líquido convencional (QUINA e HINZE, 1999). Esta metodologia é conhecida como extração ponto nuvem (EPN) ou extração intermediada por micelas (micelle-mediated extraction).

Extração ponto nuvem

O fenômeno das micelas

A palavra surfactante é a simplificação do termo “agente ativo de superfície” e se refere a uma classe de compostos químicos conhecidos como anfifílicos (do grego, “não tem certeza do que gostam”), onde uma das partes (a cabeça) é polar ou hidrofílica e a outra (a cauda) é hidrofóbica. Esta última parte é geralmente uma cadeia de hidrocarbonetos com números diferentes de átomos de carbono e pode ser linear ou ramificada. Pode também conter anéis aromáticos. Os surfactantes são classificados como iônicos (aqueles possuem cargas positivas ou negativas nas moléculas), não-iônicos (não possuem cargas) ou zwitteriônicos (possuem cargas positiva e negativa na molécula). Em solução aquosa, e em baixas concentrações, moléculas de surfactantes são encontradas na forma de monômeros, embora dímeros e trímeros também sejam detectados (MARTÍNEZ et al., 2000).

Baseado neste fato, os surfactantes não-iônicos podem formar micelas (agrupamentos dinâmicos de moléculas de tamanho coloidal), quando a concentração é aumentada de um certo valor limiar, chamado de concentração micelar crítica (cmc) (FRÖSCHL et al., 1997). Estes agregados, micelas, contendo entre 30 e 500 monômeros (referidos como número de agregação, N) estão em equilíbrio na solução, com uma concentração de surfactante próxima a cmc. O processo de agregação dos monômeros de surfactantes, que resulta na formação das micelas, ainda é objeto de discussões. Entretanto, dependendo sobretudo da especificidade do surfactante e das condições da solução, as micelas podem adotar uma variedade de formas, desde esférica a elipsoidal. No caso de surfactantes da série dos tritons, a região interior da micela contém a parte hidrofóbica da molécula de surfactante e a superfície exterior consiste de grupos hidrofílicos hidratados, ligados por moléculas de água (QUINA e HINZE, 1999).

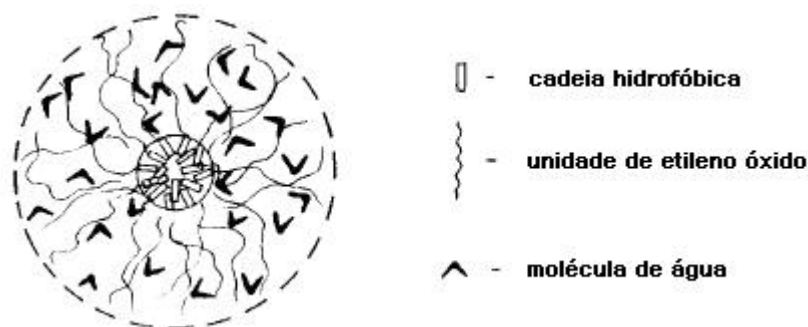


Figura 5: Representação esquemática de uma micela de surfactante não-iônico. No caso específico é uma micela de Brij-35 (polioxietileno-23-dodecanol), o agregado micelar é composto de 40 moléculas individuais de Brij-35, é um pouco compacta e tem uma forma arredondada. (QUINA e HINZE, 1999)

Do ponto vista analítico, uma das mais importantes propriedades destas estruturas organizadas é a sua capacidade de solubilizar analitos de diferentes características e naturezas. Estes solutos podem interagir eletrostaticamente, hidrofobicamente ou por uma combinação destes dois efeitos (MARTÍNEZ et al., 2000).

Quaisquer componentes presentes originalmente em solução, que sejam capazes de se ligarem ou serem dissolvidos no interior hidrofóbico do agregado micelar, pode ser extraído da solução original e concentrado em um pequeno volume da fase rica em surfactante. A extensão da extração depende fortemente da força de interação entre o soluto e a micela (FRÖSCHL et al., 1997, HINZE e PRAMAURO, 1993).

QUINA et al. (1995) encontraram a relação entre a constante de equilíbrio, para a incorporação de um soluto na fase micelar, e diferentes parâmetros como hidrofobicidade, capacidade de formar ligações de hidrogênio, refração molar e dipolaridade. Além da estrutura do soluto, outros fatores também estão envolvidos neste processo, como a estrutura do surfactante, a presença de sais ou aditivos orgânicos, e a temperatura.

Separações de fases por ponto nuvem

Quando uma solução micelar de um surfactante não-iônico é aquecida acima da temperatura de ponto nuvem, duas fases são formadas. Acima desta temperatura, o sistema – inicialmente contendo uma fase isotrópica – é separado em duas fases isotrópicas, uma delas rica em surfactante e a outra aquosa (ou fase diluída de surfactante), contendo uma concentração de surfactante próxima a cmc. O fenômeno é reversível e, sob resfriamento, uma única fase é novamente obtida. A separação das fases resulta da competição entre entropia, a qual favorece a miscibilidade das micelas em água, e entalpia, a qual favorece a separação das micelas da água. Dependendo da variação destas duas contribuições com a temperatura, pode resultar em um ponto consolutivo. A separação de fases ocorre em uma estreita faixa de temperatura (MARTÍNEZ et al., 2000; QUINA e HINZE, 1999; PINTO et al., 1995; HINZE e PRAMAURO, 1993).

O mecanismo pelo qual a separação ocorre ainda não foi completamente compreendido e é fonte de controvérsias. Alguns autores dizem ser devido a um aumento no número de agregação micelar (aumento no tamanho das micelas), quando a temperatura é aumentada. Outros têm sugerido que o mecanismo de separação de fase poderia ser causado por uma mudança na interação micelar, que é repulsiva a baixas temperaturas e atrativa a temperaturas mais altas. Outros autores têm explicado o fenômeno baseando-se no processo de desidratação que ocorre na camada externa de micelas de surfactantes não-iônicos quando a temperatura é aumentada. A constante dielétrica da água decresce com o aumento da temperatura, formando assim um solvente mais pobre para a porção hidrofílica do surfactante (MARTÍNEZ et al., 2000).

A separação física das fases é facilitada devido à diferença de densidade entre as duas fases formadas, já que a fase rica em surfactante possui normalmente uma densidade maior. Outro fator importante é que as temperaturas de ponto nuvem da maioria dos surfactantes são normalmente baixas, entre 20 °C e 80 °C, para os surfactantes mais comumente empregados (MERINO et al., 2002).

No Quadro 1 estão representados algumas temperaturas de ponto nuvem, números de agregação (N), cmc e estruturas dos surfactantes mais empregados no processo de extração ponto nuvem, de acordo com a literatura.

Os surfactantes não-iônicos do tipo OPE (octilfenoxipolioxietileno éteres) são os mais empregados, sobretudo devido às suas baixas temperaturas de ponto nuvem e a viabilidade comercial na obtenção do produto. Em especial, o Triton X-114 apresenta a conveniência de separar as fases à temperatura de 25 °C, o que o torna viável para a extração e pré-concentração de compostos de interesse ambiental.

Estas temperaturas podem ser modificadas, monitoradas ou controladas pela presença de aditivos, como por exemplo, sais, álcalis, ácidos, polímeros, uréia, outros surfactantes. Estes aditivos podem também afetar a eficiência de extração e o fator de pré-concentração do processo de extração ponto nuvem. (AL-GHAMDI e NASR-EL-DIN, 1997).

Apesar de muitas aplicações recentes, é surpreendente que só uma quantidade muito limitada dos trabalhos foi dedicada a investigar os vários parâmetros experimentais que afetam a eficiência de extração e o fator de pré-concentração do processo de extração ponto nuvem (FRANKEWICH e HINZE, 1994). FRANKEWICH e HINZE (1994) avaliaram e otimizaram diferentes fatores, tais como pH, força iônica, hidrofobicidade do surfactante, etc. que afetam o processo de extração e separação de fases do surfactante éter monoctil poli(oxietileno glicol), obtendo boas percentagens de recuperação de uma série de compostos fenólicos clorados.

Considerações experimentais

Normalmente, as etapas do processo de extração ponto nuvem são as seguintes; primeiramente, o surfactante puro (ou uma solução concentrada do surfactante) é adicionado à solução aquosa contendo o(s) componente(s) a ser(em) extraído(s) e/ou pré-concentrado(s). A quantidade de surfactante adicionada deve ser necessária para assegurar a formação dos agregados micelares em solução, ou seja, a concentração final do surfactante em solução deve exceder a concentração micelar crítica (cmc). Qualquer espécie que se

associe e se ligue ao agregado micelar em solução pode ser subsequente extraída a diferentes extensões, dependendo da força da interação da ligação micela-soluto. Em seguida, as condições são alteradas (aumento ou decréscimo da temperatura, adição de sal ou de um outro surfactante) para assegurar que a solução micelar se separe na fase rica em surfactante e na fase aquosa diluída. A centrifugação pode ser empregada, se necessária, para acelerar a separação das duas fases. A fase rica em surfactante contendo o(s) componente(s) extraído(s) pode ser submetida a um fracionamento adicional ou a uma etapa de quantificação desejada (HINZE e PRAMAURO, 1993).

A extração de um analito de uma amostra sólida pode acontecer de maneira semelhante; primeiro, adicionando a solução contendo surfactante e permitindo um tempo de contato adequado, de forma que ocorra a desorção do analito da matriz sólida (o emprego de ultra-som pode acelerar este processo), em seguida, adotando as etapas descritas para amostras líquidas (HINZE e PRAMAURO, 1993).

WATANABE et al. (1978) foram os primeiros a utilizar o fenômeno do ponto nuvem dos surfactantes como método de extração, e empregaram-no para a extração de íons metálicos, que formavam complexos parcialmente solúveis em água. Neste caso a eficiência do processo dependeu principalmente da hidrofobicidade do ligante e do complexo formado, da constante de equilíbrio aparente no meio micelar, e da cinética de formação do complexo na transferência entre as fases.

Atualmente, o campo das aplicações da extração ponto nuvem é muito amplo, o método é empregado na extração de íons metálicos de águas, em sistemas de biosseparação e purificação de macromoléculas, extração de compostos orgânicos, como pesticidas, vitaminas, e até mesmo na extração de produtos naturais, dentre outras (SICILIA et al., 1999; PINTO et al., 1995; AL-GHAMDI e NASR-EL-DIN, 1997; FANG et al., 2000).

Extração ponto nuvem de compostos orgânicos de interesse ambiental

Mais recentemente, o uso da técnica de extração ponto nuvem, como uma etapa de preparo e pré-concentração da amostra que antecede a análise cromatográfica (líquido ou gás) de compostos orgânicos de importância ambiental, tem se tornado um foco de interesses consideráveis. Isto é o fruto da intensa busca em desenvolver procedimentos para o preparo de amostra rápidos, simples e eficientes para ensaios ambientais em nível de traço. Além da segurança e relação custo-benefício, associados à necessidade de se evitar o uso de grandes quantidades de solventes orgânicos tóxicos e inflamáveis, a técnica de extração ponto nuvem oferece outras vantagens potenciais sobre procedimentos que empregam a extração líquido-líquido convencional, como, por exemplo, o enriquecimento na detecção, devido ao alto fator de pré-concentração; a eliminação de perdas do analito durante a evaporação de solventes usados na extração líquido-líquido; o enriquecimento do analito na amostra durante o armazenamento (o surfactante elimina ou reduz a taxa à qual o analito é sorvido nas paredes do recipiente, permitindo assim recuperações crescentes do analito), entre outras (QUINA e HINZE, 1999).

Em particular, esta última vantagem da extração ponto nuvem é um efeito benéfico causado pelos surfactantes durante o armazenamento da amostra. Dois dos mais sérios problemas que freqüentemente levam às baixas recuperações, quando se trabalha com amostras de interesse ambiental, são; a perda do analito, devido a sua adsorção na superfície do frasco; e/ou a sua interação com o material orgânico particulado (materiais húmicos, etc.) e sedimentos de solo. Problemas que podem ser diminuídos ou eliminados pela presença do surfactante (QUINA e HINZE, 1999; PINTO et al., 1994).

Outra vantagem do uso de surfactantes não-iônicos nos processos de extração é quanto à sua toxicidade. A maioria dos surfactantes não-iônicos empregados na extração ponto nuvem são classificados como relativamente não-tóxicos e inofensivos ao homem. Os surfactantes não-iônicos da classe dos polioxietilenados (OPEx e NPEn) são parcialmente biodegradáveis, pois bactérias do gênero *Pseudomonas* de origem marinha conseguem degradar 4

ou 5 grupos etoxi da cadeia polioxietilenada. A toxicidade para o homem e a biodegradabilidade dos surfactantes ainda são objetos de estudos (SCOTT e JONES, 2000).

Devido à necessidade de se utilizar uma etapa de pré-concentração no preparo das amostras para as análises de interesse ambiental, a técnica de extração ponto nuvem se tornou um método alternativo na extração de compostos orgânicos de interesse ambiental, e vêm sendo amplamente empregado pelos mais diversos grupos de pesquisadores. MARTÍNEZ et al. (1996), empregando a extração ponto nuvem, determinaram resíduos de fungicidas em águas, utilizando o surfactante Triton X-114 e cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). O método mostrou boa recuperação e precisão, comparáveis às técnicas tradicionais de extração. A metodologia de extração ponto nuvem, utilizando a CLAE para análise dos extratos, foi empregada com sucesso, também, na pré-concentração de clorofenóis (SERONERO et al., 2000) e na extração de vários compostos orgânicos hidrofóbicos (SAITOH et al., 2000).

A separação por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) com detecção por absorção UV-visível, fluorescência, e/ou detecção eletroquímica, têm sido empregada com sucesso para a quantificação de compostos orgânicos, utilizando a extração ponto nuvem (QUINA e HINZE, 1999). Porém são muito raros os trabalhos que empregam a cromatografia gasosa (CG) como método de quantificação desses compostos, principalmente porque a fase rica em surfactante, à qual normalmente está presente o analito após a separação das fases, deve ser tratada adequadamente, visando eliminar o surfactante antes da sua introdução no sistema cromatográfico a gás.

Remoção do surfactante do material extraído

Não somente para análises por cromatografia gasosa, mas em muitas outras aplicações envolvendo a extração ponto nuvem, é necessário separar o surfactante do material extraído. Diferentes sistemas têm sido desenvolvidos para este propósito, dependendo, sobretudo, do objetivo e/ou subsequente utilização do material a ser recuperado (HINZE e PRAMAURO, 1993). Por

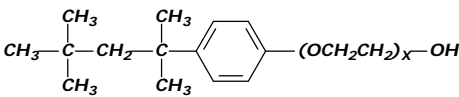
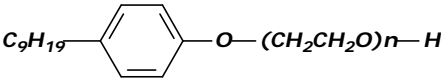
exemplo, quando a extração ponto nuvem é utilizada como uma etapa no preparo da amostra para análise por cromatografia líquida com detecção por absorção UV, o surfactante pode interferir na detecção do analito, sendo que os surfactantes não-iônicos do tipo alquil fenóis polioxietilenados (OPE_x e NPE_n) absorvem na região do UV e o pico de absorvância pode ocultar o pequeno sinal do analito de interesse (QUINA e HINZE, 1999).

A maioria dos surfactantes não-iônicos é, provavelmente, mais bem extraídos com solventes mais polares ou uma mistura de solventes. O método mais comum e mais fácil de se remover o surfactante é a diálise. Este método é simples e eficaz para aqueles surfactantes que têm um valor de cmc relativamente alto (acima de 1 mmol L^{-1}), sendo muito empregado para a remoção da maioria dos surfactantes zwitteriônicos. Porém, a diálise é ineficiente na remoção de surfactantes não-iônicos, devido aos seus baixos valores de cmc. Para surfactantes com baixos valores de cmc, o contato com resinas sintéticas tais como Bio-Beads SM2 (material copolimérico com afinidade para surfactantes do tipo Triton) ou amberlite XAD-2 podem ser utilizadas para remover o surfactante (QUINA e HINZE, 1999; HINZE e PRAMAURO, 1993).

O surfactante não-iônico pode ser removido também pela passagem através de colunas de materiais como Bio-Gel HTP, hidroxiapatite, sílica-gel ou Florisil, bem como a combinação destes (FERRER et al., 1996; FRÖSCHL et al., 1997; QUINA e HINZE, 1999), ou ainda, através da precipitação do surfactante na fase micelar, seguido de filtração e injeção da parte filtrada (SIRIMANE et al., 1996).

Dentre as técnicas mais utilizadas para análises dos extratos de compostos de interesse ambiental destaca-se a cromatografia gasosa (CG), pois, as análises são mais rápidas, mais sensíveis e, em geral, mais baratas, além da maior facilidade de manipulação da aparelhagem. Por sua vez, a CLAE não é tão sensível e nem tão rápida, além do instrumento ser consideravelmente mais caro (COLLINS et al., 1990), fazendo com que métodos de análises por cromatografia gasosa sejam cada vez mais difundidos.

Quadro 1: Estruturas e características micelares dos surfactantes não iônicos mais comuns (MARTÍNEZ et al., 2000; HINZE e PRAMAURO, 1993).

Tipo	Estrutura	Abreviação	Nome	cmc (mmol L ⁻¹)	N	T (°C)
1 Éteres octilfenoxi polioxietileno	 $\text{CH}_3-\overset{\text{CH}_3}{\underset{\text{CH}_3}{\text{C}}}-\text{CH}_2-\overset{\text{CH}_3}{\underset{\text{CH}_3}{\text{C}}}-\text{C}_6\text{H}_4-(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_x-\text{OH}$	OPE _x	(Triton X-114) OPE ₇₋₈	0,20	60-100	23 – 25
			(Triton X-100) OPE ₉₋₁₀	0,24	120	65
			(Brij 30) C ₁₂ E ₄	0,047	40	2 – 7
2 Monoéteres Polioxietileno glicol	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{i-1}\text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_j\text{H}$	C _i E _j	(Brij 35) C ₁₂ E ₂₃	0,091	40	>100
			(Brij 56) C ₁₆ E ₁₀	0,0006	624	64 – 69
			(PONPE-7,5) NPE _{7,5}	0,085	-	5
3 Éteres nonilfenil polioxietileno	 $\text{C}_9\text{H}_{19}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{O}-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O})_n-\text{H}$	NPE _n	(PONPE-10) NPE ₁₀	0,0055	100	70 – 72

Capítulo 1: Mobilidade do Dissulfoton e de seus produtos de degradação em um Latossolo vermelho-amarelo.

1. Introdução

As inovações técnicas introduzidas na agricultura brasileira a partir dos anos sessenta, através do processo conhecido como a “modernização conservadora”, modificaram o meio rural em seus aspectos social e ecológico (BERNARDE, 1971). O objetivo da introdução destas novas técnicas era a obtenção de níveis mais elevados de produtividade, intensificando-se o uso de insumos como máquinas, equipamentos, fertilizantes e defensivos agrícolas.

Um dos fatores negativos de maior influência na produtividade, são as perdas provocadas por pragas e doenças agrícolas. O controle destas pragas e doenças têm sido realizado, principalmente com o uso de substâncias químicas com propriedades biocidas. Deve-se ressaltar, no entanto, que os defensivos agrícolas nem sempre se apresentam como melhor solução no controle de pragas, pois não são tóxicos apenas aos insetos e microorganismos prejudiciais às lavouras, mas também ao homem. Apesar do desenvolvimento de técnicas alternativas para o controle de pragas, os defensivos químicos ainda são os mais utilizados, pois se mostram mais rápidos e mais eficientes.

Os métodos de aplicação dos defensivos químicos utilizados na agricultura variam de acordo com o tipo de pragas que se deseja controlar. Plantas daninhas, insetos e microorganismos que atacam a parte aérea das plantas são controlados através da pulverização foliar dos agrotóxicos. Pragas e doenças que atacam o sistema radicular de plantas, fazem-se o controle através de aplicações diretamente no solo e em concentrações relativamente altas. Em razão da praticidade na aplicação, os agrotóxicos sistêmicos são

muito utilizados no controle de pragas. Estes agrotóxicos são aplicados no solo ou nas folhas, e seus princípios ativos são rapidamente absorvidos e translocados com a seiva para toda a planta. As quantidades translocadas são letais para os insetos que se alimentam das partes superiores das plantas.

No Brasil, o emprego de agrotóxicos sistêmicos nas monoculturas vem crescendo muito nos últimos anos e, devido a esta ampla utilização, um volume muito grande de resíduos destes compostos se acumula no solo, levando à sua contaminação. Uma vez no solo, os resíduos podem se movimentar, juntamente com a água, através da lixiviação ou da percolação, podendo contaminar águas superficiais e subterrâneas.

O café é um dos principais produtos de exportação do Brasil, sendo a Zona da Mata Mineira uma das principais regiões produtoras do país. Para manter o alto nível de produtividade, utilizam-se excessivamente de produtos químicos para o controle de pragas na cafeicultura. Um produto sistêmico amplamente empregado é o inseticida organofosforado Dissulfoton, em diferentes formulações, com a finalidade de controlar o bicho mineiro, principal praga da cultura de café. O produto comercial é apresentado em formulação granulada, sendo aplicado diretamente no solo.

No solo, o Dissulfoton é oxidado a sulfóxidos e sulfonas, e estes produtos de degradação também têm ação inseticida, sendo tão tóxicos quanto o produto de origem. A utilização indiscriminada de formulações contendo o Dissulfoton e as freqüentes intoxicações de agricultores levaram a várias indagações quanto ao comportamento desse produto no ambiente.

Neste trabalho procurou-se avaliar a mobilidade do Dissulfoton e de seus produtos de degradação, através do estudo da percolação desses compostos em um solo característico da Zona da Mata Mineira. O experimento foi realizado, utilizando-se colunas de percolação empacotadas com solo, nas quais se aplicou o Dissulfoton na sua forma pura. Sobre as colunas foram simulados eventos de chuvas, equivalente à média de precipitação pluviométrica na região, no período de aplicação do produto comercial. A avaliação da mobilidade dos resíduos foi realizada através da extração dos produtos do solo, ao longo da coluna e da água percolada. Os extratos foram quantificados por cromatografia gasosa, com detecção por ionização em chama (CG-DIC).

2. Materiais e Métodos

2.1. Amostra de solo

O solo foi coletado na estação experimental do viveiro de café da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa - MG. O local foi o escolhido por ainda não ter sido feita nenhuma aplicação do Dissulfoton em suas lavouras.

A amostra de solo, um latossolo vermelho-amarelo, foi coletada em duas profundidades. Depois de retirada a cobertura vegetal, foi coletada a primeira porção de 0 a 5 cm, e em seguida, foi coletada a porção de 5 a 20 cm.

2.1.1. Caracterização da amostra de solo

Para um melhor conhecimento da estrutura do solo, as amostras coletadas foram submetidas a análises físico-químicas e texturais nos Laboratórios de Rotina e de Física do Solo do Departamento de Solos da UFV, seguindo as técnicas propostas pela EMBRAPA (1979).

2.2. Soluções padrão de Dissulfoton e de seus produtos de degradação

As soluções de Dissulfoton e de seus produtos de degradação; análogo oxigenado do Dissulfoton, Dissulfoton sulfóxido, análogo oxigenado do Dissulfoton sulfóxido, Dissulfoton sulfona e análogo oxigenado do Dissulfoton sulfona; foram preparadas em acetato de etila a partir dos produtos puros fornecidos pela NOVARTIS.

Foram preparadas soluções estoque de $2.500,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ de Dissulfoton e de seus produtos de degradação. A solução de $100,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ do Dissulfoton e dos produtos foi preparada a partir da diluição da solução estoque, e as demais soluções; $0,5$; $1,0$; $2,5$; $5,0$; $10,0$; $20,0$ e $50,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ foram preparadas a partir da solução de $100,0 \mu\text{g mL}^{-1}$.

2.3. Extração do Dissulfoton e de seus produtos de degradação do solo e da água

As técnicas selecionadas para a recuperação do Dissulfoton e de seus produtos de degradação no solo e na água, foram submetidas a testes preliminares, com o intuito de reduzir os custos das análises e se obter altas eficiências de extração. Foram otimizadas a extração e a análise simultânea do Dissulfoton e de seus produtos de degradação.

2.3.1. Extração de água

Foram investigados quatro solventes para a extração do Dissulfoton e de seu análogo oxigenado da água; diclorometano, éter etílico, hexano e clorofórmio. Todos os testes foram realizados em triplicatas.

Adicionaram-se $10,0 \text{ mL}$ de água deionizada em um funil de separação de 125 mL e acrescentou-se $1,0 \text{ mL}$ de padrão de Dissulfoton e $1,0 \text{ mL}$ de padrão de análogo oxigenado do Dissulfoton, em três diferentes concentrações, $5,0$; $10,0$ e $20,0 \mu\text{g mL}^{-1}$.

Foram acrescentados ao funil de separação, $10,0 \text{ mL}$ do solvente extrator (diclorometano, éter etílico, hexano ou clorofórmio) e agitou-se por dois minutos, recolhendo a parte orgânica em um erlenmeyer de 50 mL .

Acrescentaram-se ao erlenmeyer, aproximadamente, 5 gramas de sulfato de sódio anidro e deixou-se em repouso por 20 minutos . Em seguida, o sobrenadante do erlenmeyer foi transferido quantitativamente para um balão de fundo redondo de 125 mL .

Foram adicionados no balão de fundo redondo, 3 mL de acetato de etila destilado. Este foi levado para o evaporador rotatório e reduziu-se o volume até aproximadamente 1 mL. Este volume foi transferido, quantitativamente, para um balão volumétrico de 10,0 mL e o volume completado com acetato de etila. Transferiu-se o extrato para um frasco amostra de 10 mL, rotulando-o e armazenando-o em freezer até o momento da análise.

2.3.2. Extração do solo

Para a determinação das condições ótimas de extração do Dissulfoton e de seus produtos de degradação da amostra de solo, foram realizados testes para a escolha do melhor solvente extrator; acetona, diclorometano e acetato de etila; e melhor tempo de extração; 5, 10 e 15 min.

Os produtos estudados foram o Dissulfoton, análogo oxigenado do Dissulfoton, Dissulfoton sulfóxido, análogo oxigenado do Dissulfoton sulfóxido, Dissulfoton sulfona e análogo oxigenado do Dissulfoton sulfona.

Em um erlenmeyer de 125 mL, 10,0 g de amostras de solo foram fortificadas com 250,0 μL de solução padrão de Dissulfoton e seus produtos de degradação, a $1.000,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ e deixadas em contato por 24 h.

Logo após o tempo de contato, as amostras foram submetidas a extração sólido-líquido. Um volume de 15,0 mL do solvente extrator (acetona, diclorometano ou acetato de etila) foi adicionado aos erlenmeyers com as amostras e agitados por 5 minutos em agitador horizontal. O sobrenadante foi filtrado, utilizando papel de filtro de filtração rápida. Ao extrato, adicionaram-se aproximadamente 2 g de sulfato de sódio anidro para eliminação da água. Os extratos foram transferidos quantitativamente para balões de fundo redondo contendo acetato de etila (grau pesticida), e o volume reduzido em evaporador rotatório, para aproximadamente 1 mL. O volume final dos extratos foi aferido com acetato de etila (grau pesticida), em balões volumétricos de 10,0 mL e transferidos para frascos amostras e armazenados em freezer até o momento das análises. Todo o procedimento foi realizado em triplicatas.

2.4. Análise cromatográfica

A análise dos extratos orgânicos foi realizada por cromatografia gasosa, usando detector por ionização em chama (DIC). O estabelecimento das condições ideais de análise destes compostos foi realizado em um cromatógrafo a gás Shimadzu, GC-17A. As condições analíticas determinadas, foram as seguintes:

- Coluna BP-5 com fase estacionária composta de 95 % de metilpolisiloxano e 5 % de fenilsiloxano, 30 m de comprimento; 0,25 mm de diâmetro interno e 1 μm de espessura de filme.
- Temperatura inicial da coluna: 180 °C $\xrightarrow{20^\circ\text{C}/\text{min}}$ 280 °C (7,5 min)
- Tempo total de análise: 12,5 minutos
- Temperatura do injetor: 250 °C
- Temperatura do detector: 300 °C
- Volume injetado: 1,0 μL
- Vazão do gás de arraste: 1,2 mL min⁻¹
- Gás de arraste: Nitrogênio
- Razão split: 1:5

2.5. Eficiência e validação do método analítico

A eficiência e a validação do método analítico foram realizadas através da determinação do limite de detecção, da linearidade de resposta do detector e das percentagens de recuperação dos compostos, obtidas através dos testes de recuperação em amostras fortificadas com quantidades conhecidas dos padrões. As condições cromatográficas utilizadas foram as descritas no item 2.4.

2.5.1. Linearidade de resposta do detector

A linearidade de resposta do detector foi determinada pela injeção dos padrões do Dissulfoton e de seus produtos de degradação em concentrações crescentes: 0,5; 1,0; 2,5; 5,0; 10,0; 20,0; 50,0; 100,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Após a análise cromatográfica, foram construídas curvas analíticas, relacionando as áreas dos picos dos padrões com as concentrações dos produtos estudados. A linearidade foi avaliada, através da regressão linear destas curvas analíticas.

2.5.2. Limite de detecção e limite de quantificação

Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) para o Dissulfoton foram determinados através da análise de soluções padrão em concentrações decrescentes. O limite de detecção foi determinado como sendo a concentração que proporcionou um pico duas vezes maior que o ruído de fundo do aparelho, conforme sugerido por COLLINS et al. (1990). Para a determinação do limite de quantificação foi avaliada a concentração que proporcionou um pico dez vezes maior que o nível médio do ruído no cromatograma.

2.6. Estudo da percolação do Dissulfoton

Após a determinação das condições ótimas de extração do Dissulfoton e de seus produtos de degradação em água e solo, montaram-se sistemas de percolação para o estudo da mobilidade e degradação do Dissulfoton no solo.

2.6.1. Sistemas de percolação

Para montar os sistemas de percolação foram utilizados tubos de PVC de 10 cm de diâmetro, cortados em anéis de 5 e 7 cm de altura. Os anéis de PVC de 7 cm foram marcados a 2,0 cm da borda com lápis preto nº 2, em sua

superfície interna, delimitando o volume do anel para o preenchimento com solo.

Foram montadas colunas contendo 3 anéis de tubo de PVC, sendo 2 anéis de 5 cm e sobre estes, um de 7 cm de altura. Os pontos de contato entre os anéis foram colados com fitas adesivas, para garantir a estabilidade do sistema. As superfícies internas dos tubos de PVC foram recobertas com parafina derretida, a fim de se evitar caminhos preferenciais para a percolação da água. Na base de cada coluna foi adaptado um papel de filtro, de filtração rápida, e sobre o papel, uma tela fina, sendo fixados com um anel de borracha. Um esquema típico do sistema de percolação montado, está apresentado na Figura 6.

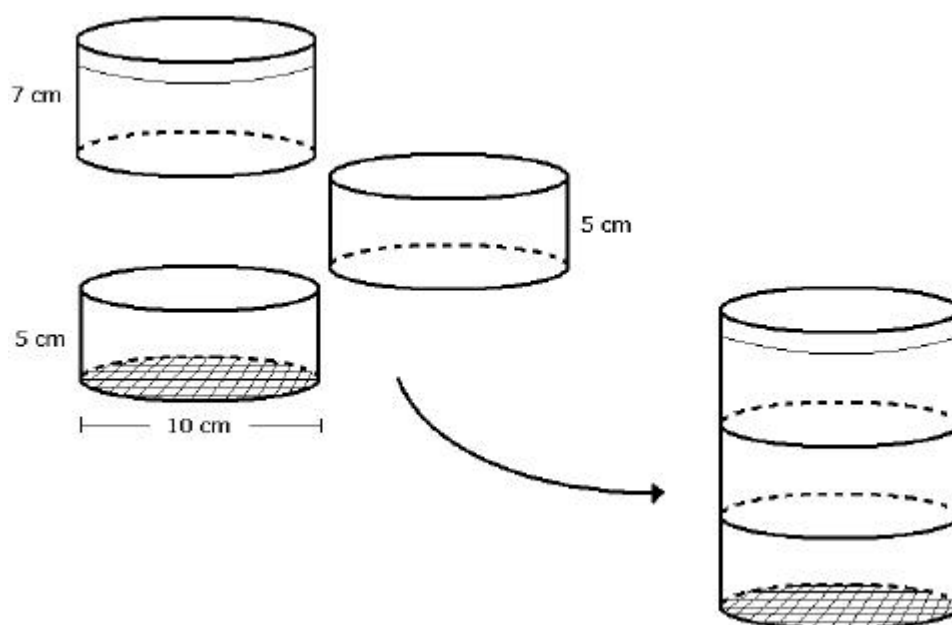


Figura 6: Representação esquemática do sistema de percolação em coluna, montado para o estudo do comportamento do Dissulfoton no solo

O movimento e a degradação do Dissulfoton no solo foram avaliados durante 90 dias. Para tal, foram montadas 10 séries de colunas, com cada série contendo 4 colunas, sendo 3 repetições e um branco.

Nos dois anéis de PVC, inferior e intermediário, de cada coluna, foi colocado o solo coletado na profundidade de 5 a 20 cm, e no anel superior colocou-se o solo coletado na profundidade de 0 a 5 cm, preenchendo assim até a marcação feita na face interior do tubo de PVC. A massa necessária de solo, para preencher cada anel de PVC até a marca de 5 cm, 460 g; foi

calculada a partir da densidade do solo, $\rho = 1,17 \text{ g cm}^{-3}$.

Após a montagem dos sistemas de percolação, as colunas de solo foram colocadas sobre uma bandeja contendo água destilada, até que todo o solo se encharcasse, atingindo sua saturação de água. Em seguida, os sistemas foram colocados sobre uma grade, a fim de se retirar o excesso da água.

2.6.2. Aplicação do princípio ativo no solo

No topo de cada coluna de percolação foi aplicado 1,0 mL do padrão de Dissulfoton, numa concentração de $2.500,0 \mu\text{g mL}^{-1}$. Esta concentração representa a massa de Dissulfoton recomendada pelo fabricante para a aplicação do produto comercial em uma área de solo, correspondente ao tubo de PVC, empregado no experimento. A dosagem recomendada pelo fabricante é de 40 kg ha^{-1} do produto comercial, que por sua vez, contém 75 g kg^{-1} de Dissulfoton.

2.6.3. Ensaio de simulação de chuva

As colunas de percolação foram submetidas a simulações de chuva durante 90 dias. A cada 10 dias um evento de chuva foi realizado.

Os sistemas de percolação foram colocados sobre jarras previamente lavadas com água deionizada, sendo utilizadas como frascos coletores para a água que percolou as colunas de solo. A cada coluna foi aplicado um volume de água de aproximadamente 270 mL, por evento de chuva, que corresponde a 35 mm de precipitação pluviométrica. Este volume foi definido com base no período de Novembro de 1996 à Abril de 1997 (período de aplicação do produto comercial nas lavouras de café da região), onde a média de água de chuva por dia correspondeu a 35 mm, o equivalente a 274 mL de água para o sistema montado.

A cada 10 dias uma simulação do evento de chuva era realizada, e as colunas correspondentes às amostras daquele dia eram retiradas do experimento, após o evento de chuva, e submetidas às análises. Por exemplo,

as colunas de 0 dia foram analisadas após a primeira simulação realizada, as de 10 dias após o segundo evento de chuva e assim por diante. A água que percolou as colunas de solo eram coletadas e, imediatamente após a coleta, era realizado o processo de extração, haja vista que a permanência da água por um período maior nos frascos poderia levar a adsorção de resíduos do princípio ativo ou de seus produtos de degradação na parede dos mesmos.

Cada coluna de solo retirada era dividida em três partes (anéis de PVC) de acordo com sua profundidade; 0 a 5, 5 a 10 e 10 a 15 cm. A massa de solo, contida nos anéis de PVC, era retirada e colocada em bandejas e deixada sob aeração (ao ar livre), para que ocorresse a secagem natural do solo. Depois de seco, foi realizada a homogeneização do solo.

2.6.4. Homogeneização das amostras de solo

O solo contido em cada camada da coluna foi triturado, para que se obtivesse uma textura fina, e logo após, foi realizado o quarteamento dos mesmos. Ou seja, o solo foi dividido em quatro partes iguais, sendo duas partes desprezadas e as outras duas, submetidas a novo quarteamento, este procedimento foi realizado até que restasse uma pequena, porém representativa, quantidade de amostra, cerca de 15 g de solo.

Desta massa de solo restante de cada uma das partes, foram medidos 10,0 gramas, realizando a extração do princípio ativo e de seus produtos de degradação, pelo método de extração previamente otimizado.

2.6.5. Extração do princípio ativo e de seus produtos de degradação

O Dissulfoton e seus produtos de degradação foram extraídos do solo; em cada uma das partes da coluna correspondentes às profundidades de 0 a 5, 5 a 10 e 10 a 15 cm. Realizou-se a extração do Dissulfoton e de seus produtos de degradação da água percolada pelos sistemas montados. Os métodos utilizados para extração do Dissulfoton de solo e de água, foram

aqueles otimizados anteriormente.

2.6.5.1. Extração do Dissulfoton e/ou produtos de degradação da água percolada

Em funil de separação de 125 mL foram adicionados 10,0 mL da água percolada e 10,0 mL de diclorometano. Agitou-se essa mistura por 2 minutos, recolhendo-se a parte inferior em um erlenmeyer de 50 mL. Repetiu-se este procedimento por mais duas vezes, reunindo-se os sobrenadantes no erlenmeyer de 50 mL. Foram adicionados cerca de 5 g de sulfato de sódio anidro, deixando a mistura em repouso por 20 minutos. Em seguida, o sobrenadante do erlenmeyer foi transferido quantitativamente para um balão de fundo redondo de 125 mL.

Foram adicionados no balão de fundo redondo, 3 mL de acetato de etila destilado. Este foi levado para o evaporador rotatório e reduziu-se o volume até aproximadamente 1 mL. Este volume foi transferido, quantitativamente, para um balão volumétrico de 10,0 mL e o volume completado com acetato de etila. Transferiu-se o extrato para um frasco amostra de 10 mL, rotulando-o e armazenando-o em freezer até o momento da análise.

2.6.5.2. Extração do Dissulfoton e/ou produtos de degradação das camadas de solo

Mediram-se 10,0 gramas da amostra de solo em um erlenmeyer de 250 mL. Em seguida adicionou-se uma alíquota de 15,0 mL de acetona e deixou-se o sistema sob agitação por 5 minutos. O sobrenadante foi filtrado em papel de filtro de filtração lenta, contendo aproximadamente 5 gramas de sulfato de sódio anidro, recolhendo-se a parte líquida em um balão de fundo redondo de 250 mL. Este procedimento foi repetido por mais duas vezes. Foi acrescentado ao balão 3 mL de acetato de etila destilado e depois levado ao evaporador rotatório, onde a amostra foi concentrada até aproximadamente 1 mL. O volume foi então aferido em balão volumétrico de 10,0 mL, com acetato de

etila. Em seguida as amostras foram colocadas em frascos amostra e armazenadas em freezer até a realização das análises cromatográficas.

2.6.5.3. Quantificação do Dissulfoton e de seus produtos de degradação

A concentração dos produtos de interesse nos extratos, foi determinada pelo método do padrão externo, que relaciona as respectivas concentrações dos padrões com as áreas dos picos nos cromatogramas, na forma de uma curva analítica. Obtém-se por regressão linear desta curva, a equação da reta, que permite calcular a concentração do produto na amostra, a partir do valor da área do pico.

2.6.5.4. Conversão da percentagem dos produtos de degradação encontrados nas amostras em percentagem de Dissulfoton

As percentagens dos produtos de degradação do Dissulfoton encontrados nas amostras de solo e água, foram calculadas a partir da massa de Dissulfoton aplicada inicialmente no experimento. As massas dos produtos de degradação do Dissulfoton encontradas nas amostras foram então convertidas em massa de Dissulfoton, e as percentagens de cada produto determinadas.

$$m_{DST} = m_S \frac{M_{DST}}{M_S}$$

Onde: m_{DST} = massa do produto de degradação convertida em massa de Dissulfoton;

m_S = massa do produto de degradação de interesse.

M_{DST} = massa molar do Dissulfoton

M_S = massa molar do produto de degradação de interesse

Quadro 2: Massas molares do Dissulfoton e de seus produtos de degradação

<i>Dissulfoton</i>	274 g mol⁻¹
<i>Análogo oxigenado do Dissulfoton</i>	258 g mol⁻¹
<i>Dissulfoton sulfóxido</i>	290 g mol⁻¹
<i>Análogo oxigenado do Dissulfoton sulfóxido</i>	274 g mol⁻¹
<i>Dissulfoton sulfona</i>	306 g mol⁻¹
<i>Análogo oxigenado do Dissulfoton sulfona</i>	290 g mol⁻¹

As percentagens dos produtos de degradação do Dissulfoton foram calculadas de acordo com a expressão:

$$\%S = \frac{m_{DST}}{m_{pa}} * 100$$

onde: %S = Percentagem do produto de degradação de interesse

m_{pa} = massa do padrão de Dissulfoton aplicada ao sistema

3. Resultados e Discussão

3.1. Caracterização da amostra de solo

O solo utilizado no estudo da percolação do Dissulfoton, em colunas, é típico da região, com sua porção argila constituída basicamente de óxidos e de caulinita. É um solo de textura argilosa (teor de argila superior a 50 %), com densidade de $1,17 \text{ g cm}^{-3}$ (Tabela 1).

Tabela 1: Análise textural do solo nas diferentes profundidades

Amostras de Solo	% de silte	% de areia fina	% de areia grossa	% de argila	Classe textural
<i>0 – 5 cm</i>	7,0	16,0	29,0	48,0	Argiloso
<i>5 – 20 cm</i>	8,0	17,0	22,0	53,0	Argiloso

Como é um solo bastante intemperizado e utilizado na cultura do café, foi adubado e o pH do solo corrigido. Por essa razão os resultados mostram valores compatíveis com essa situação, Tabela 2.

Tabela 2: Análise química do solo nas profundidades, 0 a 5 e 5 a 20 cm.

Amostras de solo	pH em H₂O	% de Matéria Orgânica	CTC (cmol dm⁻³)
<i>0 – 5 cm</i>	6,20	2,1	8,02
<i>5 – 20 cm</i>	5,60	2,1	7,30

CTC = capacidade de troca catiônica

Este solo não apresenta muitas diferenças químicas e físicas, quanto as duas diferentes profundidades estudadas. É um solo ácido (pH = 5,6), com baixa capacidade de troca catiônica ($\approx 8 \text{ cmol dm}^{-3}$), tipicamente um solo pobre, que o torna representativo dos solos utilizados na cafeicultura da Zona da Mata Mineira.

3.2. Análise cromatográfica dos produtos estudados

A análise cromatográfica dos padrões foi realizada empregando-se as condições analíticas estabelecidas e descritas no item 2.4. Um cromatograma representativo da solução padrão de $50,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ do Dissulfoton e de seus produtos de degradação está representado na Figura 7. O tempo total de análise foi de 12,5 minutos, considerado como relativamente curto, para a quantidade de produtos estudados. Pelo cromatograma, observa-se que as condições estabelecidas, como a programação de temperatura, coluna utilizada e a vazão, possibilitaram uma boa separação dos seis compostos estudados.

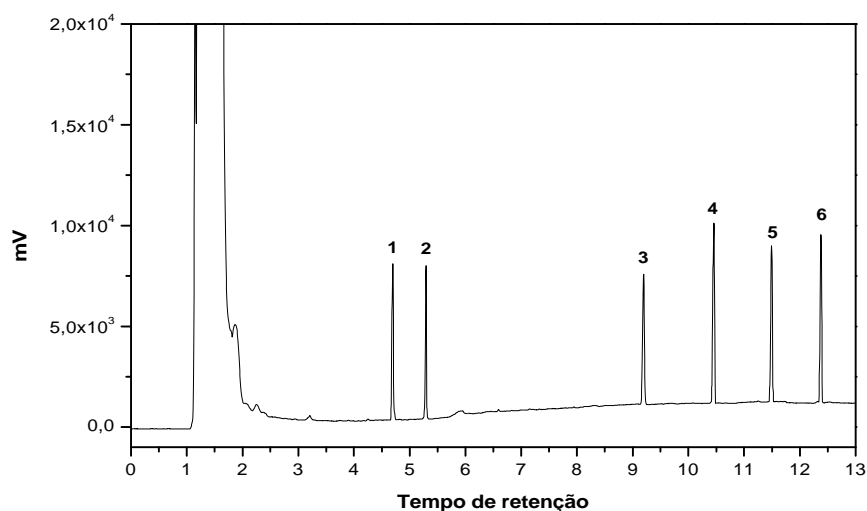


Figura 7: Cromatograma representativo de uma solução padrão de $50,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ de Dissulfoton e de seus produtos de degradação, onde: 1- $t_R = 5,6$ min: análogo oxigenado do Dissulfoton sulfóxido; 2- $t_R = 6,2$ min: Dissulfoton sulfóxido; 3- $t_R = 9,3$ min: análogo oxigenado do Dissulfoton; 4- $t_R = 10,1$ min: Dissulfoton; 5- $t_R = 11,4$ min: análogo oxigenado do Dissulfoton sulfona; 6- $t_R = 12,4$ min: Dissulfoton sulfona; e $t_R =$ tempo de retenção.

3.2.1. Linearidade de resposta do detector

A linearidade de resposta do detector é a obtenção de resultados em proporção direta às concentrações das substâncias em estudo. Para o estudo da linearidade faz-se necessária a construção de uma curva analítica, onde o eixo X é o da concentração do composto estudado e o eixo Y é o da resposta, no caso específico da área do pico do composto no cromatograma (LEITE, 1998). Teoricamente a linearidade determina a região da curva analítica ou de resposta em que há relação direta sinal/concentração.

A linearidade de resposta do sistema de detecção foi verificada através da injeção de soluções padrão de Dissulfoton e de seus produtos de degradação, em crescentes concentrações e analisadas, nas condições analíticas pré-determinadas. Construíram-se as curvas analíticas, e os respectivos coeficientes de regressão linear das diversas faixas de concentração estão apresentados na Tabela 3.

Tabela 1: Linearidade de resposta do detector DIC para o Dissulfoton e seus produtos de degradação avaliada pelos respectivos valores de R^2 .

Faixa de concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Linearidade de resposta (R^2)					
	DST	AODST	DSO	AODSO	DSA	AODSA
0,5 a 5,0	0,996	0,994	1,000	0,997	0,999	0,999
0,5 a 10,0	0,999	0,998	0,998	0,994	0,998	0,998
0,5 a 20,0	0,992	0,993	0,998	0,994	0,998	0,998
0,5 a 50,0	0,995	0,998	0,999	0,999	0,997	0,997

DST = Dissulfoton; AODST = análogo oxigenado do Dissulfoton; DSO = Dissulfoton sulfóxido; AODSO = análogo oxigenado do Dissulfoton sulfóxido; DSA = Dissulfoton sulfona e AODSA = análogo oxigenado do Dissulfoton sulfona.

Os resultados apresentados na Tabela 3 indicaram que, para todos os compostos existe resposta linear do detector de ionização em chama (DIC) na faixa de 0,5 a 50,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Faixas de trabalho mais amplas não foram avaliadas, porque essa faixa foi suficiente para o estudo.

3.2.2. Limite de detecção e limite de quantificação

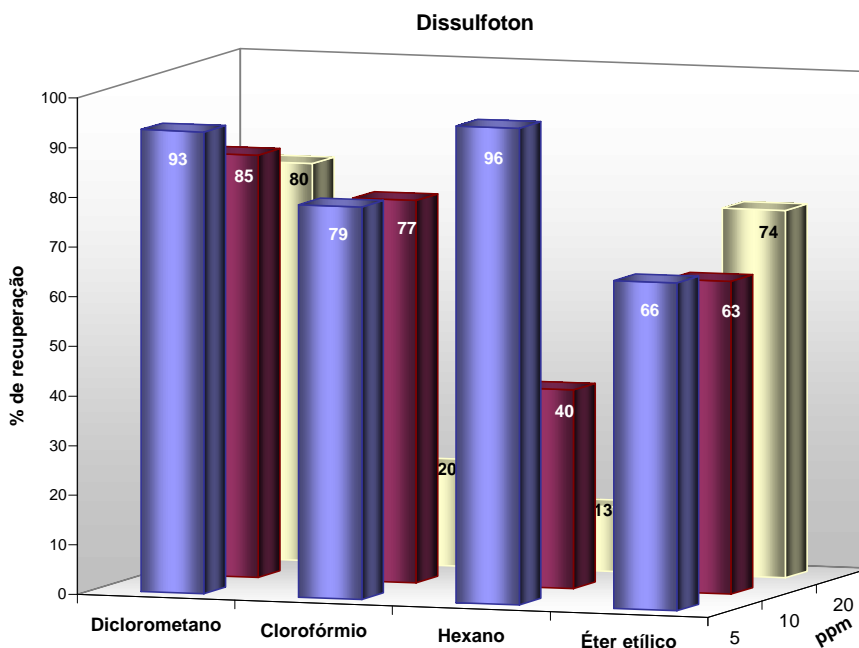
O limite de detecção é a quantidade mínima detectável do composto, capaz de produzir um sinal analítico duas vezes maior que o nível do ruído de fundo (COLLINS et al., 1990). O ruído de fundo do aparelho foi determinado através da injeção de um branco, extrato sem a presença do Dissulfoton.

Os limites de detecção e quantificação foram obtidos após injeções de soluções padrão de Dissulfoton e de seus produtos de degradação em concentrações decrescentes, nas condições de análise pré-determinadas. Os limites de detecção obtidos para todos os compostos; Dissulfoton, análogo oxigenado do Dissulfoton; Dissulfoton sulfóxido, análogo oxigenado do Dissulfoton sulfóxido, Dissulfoton sulfona e análogo oxigenado do Dissulfoton sulfona; foram de $0,5 \mu\text{g mL}^{-1}$, e os limites de quantificação obtidos foram de $2,5 \mu\text{g mL}^{-1}$.

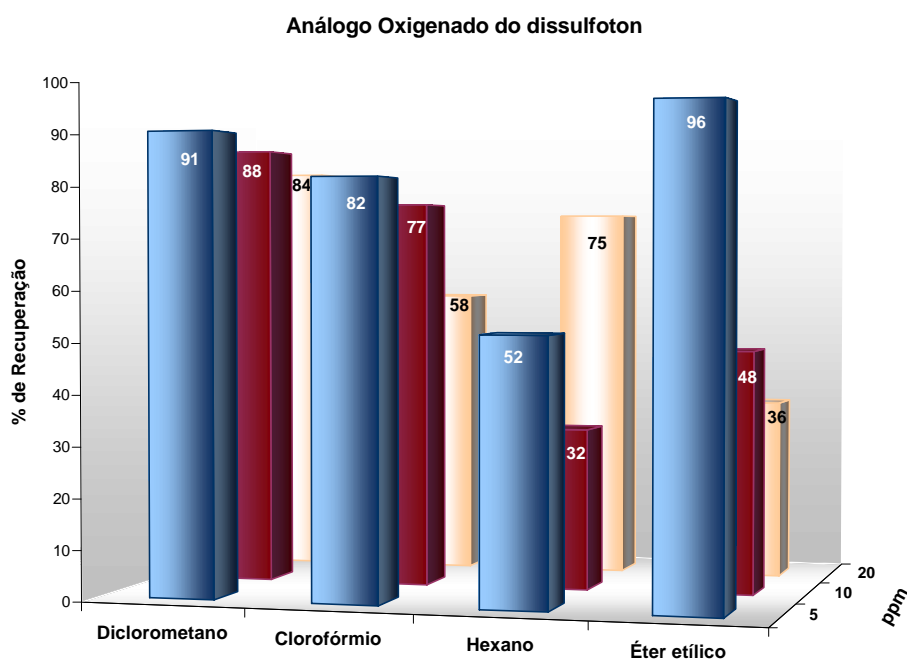
3.3. Extração do Dissulfoton e produtos de degradação na água e no solo

3.3.1. Avaliação da eficiência de solventes na recuperação do Dissulfoton e de seu análogo oxigenado na água

Na otimização da técnica de extração simultânea do Dissulfoton e do seu análogo oxigenado na água foram avaliados solventes de diferentes polaridades: diclorometano, clorofórmio, hexano e éter etílico. Na Figura 8a estão representadas as taxas de recuperação da extração líquido-líquido do Dissulfoton de água. Na Figura 8b estão representadas as taxas de recuperação do análogo oxigenado do Dissulfoton para os mesmos solventes.



(a) Dissulfoton



(b) Análogo oxigenado do Dissulfoton

Figura 8: Eficiência dos solventes na extração do Dissulfoton (a) e de seu análogo oxigenado de água (b).

Pode-se observar, na Figura 8, que o diclorometano apresenta um melhor rendimento na recuperação do Dissulfoton e do análogo oxigenado do

Dissulfoton de amostras de água, apresentando resultados que variaram de 93 a 80 % para o Dissulfoton e de 91 a 84 % para o seu análogo oxigenado, de acordo com a concentração dos compostos. Os demais solventes apresentaram uma maior dispersão dos valores obtidos, seguidos de uma menor eficiência na recuperação do princípio ativo e de seu produto de degradação, se comparados com o diclorometano. Desta forma, o diclorometano foi empregado para a extração do Dissulfoton das amostras de água percolada, no estudo da percolação do composto.

Nota-se também que a concentração dos padrões adicionados à água possui um efeito significativo na recuperação do princípio ativo e de seu correspondente análogo oxigenado, tendo em vista que os resultados demonstraram uma melhor recuperação para concentrações mais baixas destes compostos. As amostras de concentração de $5,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ obtiveram resultados mais expressivos que as amostras de concentração de 10,0 e 20,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Esse efeito é menos significativo para o diclorometano.

LOPES (2000) obteve resultados similares na extração simultânea do Dissulfoton e de seus produtos de degradação e do Triadimenol de água, em duas diferentes concentrações destes compostos, 5,0 e 50,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$, empregando o diclorometano como solvente extrator. As maiores percentagens de recuperação dos compostos foram obtidas para as amostras menos concentradas.

3.3.2. Otimização da técnica de extração do Dissulfoton e de seus produtos de degradação na amostra de solo

A determinação prévia das condições de extração dos resíduos em diferentes amostras é de fundamental importância nos métodos de separação. Características dos compostos como polaridade e afinidade pelo solvente devem ser levados em consideração na escolha do solvente extrator e para amostras mais complexas, como solo, o melhor tempo de extração também deve ser determinado.

3.3.2.1. Escolha do solvente extrator

A técnica de extração sólido-líquido (ESL) foi avaliada para a extração do Dissulfoton e de seus produtos de degradação em amostras de solo com diferentes solventes extratores. Os compostos podem ser extraídos, conforme descrito na literatura, com vários solventes ou mistura deles, como por exemplo, a acetona, acetato de etila, hexano:propan-2-ol (3:1), acetona:hexano (3:2), clorofórmio, diclorometano (SZETO e BROWN, 1982; SINGH et al., 1983; ALLMENDINGER, 1991; CHAPMAN et al., 1994; OLIVEIRA, 1999).

Neste trabalho para a extração simultânea do Dissulfoton e de seus produtos de degradação, amostras de solo foram fortificadas com 0,25 mL de solução padrão a $1.000,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ e extraídas sob agitação durante 5 minutos, com acetona, diclorometano e acetato de etila. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 4.

Tabela 4: Percentagem de recuperação do Dissulfoton e produtos de degradação em amostras de solo, fortificadas com padrões, utilizando diferentes solventes extratores com tempo de contato de 5 minutos

	% de Recuperação (s)		
	<i>Diclorometano</i>	<i>Acetona</i>	<i>Acetato de etila</i>
<i>DST</i>	78,5 (0,7)	86,9 (1,1)	83,0 (0,8)
<i>AODST</i>	88,5 (0,2)	86,4 (1,3)	82,6 (0,7)
<i>DSO</i>	86,2 (4,3)	87,4 (1,4)	88,3 (1,1)
<i>AODSO</i>	ND	66,7 (1,6)	17,0 (1,0)
<i>DSA</i>	91,2 (0,1)	88,0 (0,8)	91,0 (0,7)
<i>AODSA</i>	31,6 (0,4)	86,8 (0,8)	67,4 (0,2)

DST = Dissulfoton; AODST = análogo oxigenado do Dissulfoton; DSO = Dissulfoton sulfóxido; AODSO = análogo oxigenado do Dissulfoton sulfóxido; DSA = Dissulfoton sulfona; AODSA = análogo oxigenado do Dissulfoton sulfona; (s) = desvio padrão e ND = não detectado.

Pelos resultados apresentados na Tabela 4, verifica-se que a acetona foi

o solvente que apresentou melhor percentagem de recuperação para os compostos em estudo. Para a maioria dos compostos a percentagem ficou acima de 80 %, com exceção para o análogo oxigenado do Dissulfoton sulfóxido onde a percentagem de recuperação não alcançou os 70 %. Os demais solventes; diclorometano e acetato de etila, apresentaram percentagens de recuperação que variaram de composto para composto, obtendo baixa recuperação para os análogos oxigenados do Dissulfoton sulfóxido e sulfona. De acordo com BLUMHORST (1996) e BARCELÓ (1993), o valor aceitável de percentagens de recuperação para a maioria dos resíduos deve estar entre 70 a 120 %.

3.3.2.2. Determinação do tempo de extração

O tempo necessário de contato do solvente extrator com a matriz sólida contendo os produtos a serem extraídos deve ser avaliado com certa cautela. Na literatura, os dados são bastante divergentes. Segundo CHAPMAN et al. (1994), a extração do Dissulfoton em amostra de solos deve ser feita por uma hora. Por outro lado SZETO et al. (1982) sugerem que a extração seja feita, com agitação, por apenas 5 minutos.

A avaliação do tempo necessário para extração de produto em matrizes sólidas normalmente é feita pela adição de quantidades conhecidas do padrão na matriz e posterior extração com o solvente adequado. O que se observa é que o tempo decorrido entre a aplicação do padrão e sua extração é determinante nos resultados da percentagem de extração dos mesmos. Quanto maior o intervalo de tempo entre a aplicação e extração menor a percentagem de extração e maior o tempo necessário para a extração quantitativa.

Nesse trabalho utilizou-se o procedimento padrão descrito no item 2.3.2 para avaliar o tempo de contato necessário entre o solvente extrator e a matriz fortificada. Os resultados das análises estão apresentados na Tabela 5.

Tabela 5: Percentagem de recuperação do Dissulfoton e de seus produtos de degradação em amostras de solos em função do tempo, usando acetona como solvente extrator.

	% de Recuperação (s)		
	5 min	10 min	15 min
DST	88,2 (1,6)	86,9 (1,1)	84,8 (1,6)
AODST	91,8 (3,2)	86,4 (1,3)	86,1 (1,6)
DSO	87,6 (2,9)	87,4 (1,4)	86,0 (0,5)
AODSO	68,1 (1,6)	66,7 (1,6)	63,0 (1,8)
DSA	91,1 (0,7)	88,0 (0,8)	87,7 (0,9)
AODSA	90,9 (0,9)	86,8 (0,8)	88,6 (0,7)

DST = Dissulfoton; AODST = análogo oxigenado do Dissulfoton; DSO = Dissulfoton sulfóxido; AODSO = análogo oxigenado do Dissulfoton sulfóxido; DSA = Dissulfoton sulfona; AODSA = análogo oxigenado do Dissulfoton sulfona e (s) = desvio padrão.

Os resultados obtidos com a variação do tempo de extração, mostram que o tempo de contato de 5 minutos, entre o solvente extrator e a amostra fortificada com os padrões, foi suficiente para uma recuperação quantitativa dos compostos.

As taxas de recuperação obtidas no trabalho estão de acordo com a literatura, onde os compostos estudados foram extraídos de amostras de solo com vários tempos de extração de 5, 20 e até 60 minutos com taxas de recuperação variando de 80 a 110 % (TSAO e CLARK, 1961; TAKASE et al., 1972; SZETO e BROWN, 1982; OLIVEIRA, 1999; LOPES, 2000). O aumento no tempo de contato, dos produtos estudados com o solo, não gerou resultados melhores. As diferenças nas propriedades físico-químicas e na textura dos diferentes solos, citados na literatura, devem ser o principal motivo da discrepância nos tempos obtidos. Essa possibilidade se torna mais evidente quando comparamos com os resultados obtidos por OLIVEIRA (1999) e LOPES (2000). Estes autores empregaram o mesmo tipo de solo, latossolo vermelho-amarelo, e obtiveram os melhores resultados com tempos de contato,

entre os extratos e o solo, de 5 minutos.

3.4. Estudo da percolação do Dissulfoton no solo

Para o estudo da percolação do Dissulfoton no solo foram preparadas 40 colunas para serem analisadas durante 90 dias. O solo foi colocado nas colunas de PVC e sobre a superfície aplicou-se 1 mL de padrão de Dissulfoton a $2.500,0 \mu\text{g mL}^{-1}$. A cada 10 dias, foi aplicado um volume de 270 mL de água destilada, no intuito de percolar o produto pela coluna de solo. De 10 em 10 dias uma amostra de solo era retirada, extraíndo da mesma o princípio ativo, em três diferentes profundidades de 0 a 5 cm, de 5 a 10 cm e de 10 a 15 cm, para avaliar a mobilidade do Dissulfoton pelo solo. Fez-se também a extração do Dissulfoton da água que percolou as colunas de solos.

3.4.1. Cálculo da massa de solo para a coluna de 5 cm

A partir da densidade do solo, e sabendo-se que o volume dos anéis do tubo de PVC, utilizados no sistema de percolação, igual a 393 cm^3 , calcularam-se as massas de solo para cada tubo.

densidade do solo = $1,17 \text{ g cm}^{-3}$

volume do anel de PVC = 393 cm^3

$$m = r.v \quad \rightarrow \quad m = 1,17 \cdot 393 \quad \rightarrow \quad m = 460 \text{ g}$$

Assim, tem-se que a massa de solo por anel de PVC é igual a 460 g.

3.4.2. Avaliação da percolação do Dissulfoton e de seus produtos de degradação no solo

3.4.2.1. Avaliação do Dissulfoton e de seus produtos de degradação na camada superficial (0 a 5 cm)

Foram realizadas extrações do Dissulfoton e de seus produtos de degradação, contidos nas colunas de percolação, analisando sua presença em três diferentes profundidades 0 a 5 cm, 5 a 10 cm e 10 a 15 cm. Avaliou-se, desta forma, a movimentação do Dissulfoton e dos produtos de degradação no solo, após as simulações dos eventos de chuvas por um período de 90 dias. As percentagens de Dissulfoton e de seus produtos de degradação, encontrados na primeira camada de 5 cm de solo, estão dispostos na Tabela 6.

Tabela 6: Percentagem de Dissulfoton e de seus produtos de degradação detectada na amostra de solo na profundidade de 0 a 5 cm, após cada simulação de chuva.

Dias	DST	AODST	DSO	DSA	AODSA
	% recuperada (s)				
0	58,5 (1,2)	23,7 (1,2)	3,0 (1,4)	ND	ND
10	44,4 (1,3)	14,9 (0,6)	17,8 (1,9)	5,9 (1,1)	ND
20	28,2 (1,1)	8,2 (0,9)	13,9 (2,2)	7,3 (1,2)	ND
30	25,7 (0,6)	4,2 (1,1)	12,0 (1,3)	8,4 (0,7)	ND
40	13,9 (0,4)	2,8 (0,7)	6,3 (0,9)	18,2 (1,6)	ND
50	9,2 (1,4)	1,4 (0,2)	ND	35,6 (1,4)	ND
60	ND	ND	ND	19,9 (1,2)	ND
70	ND	ND	ND	12,2 (1,1)	ND
80	ND	ND	ND	2,7 (0,3)	9,8 (0,5)
90	ND	ND	ND	ND	8,0 (0,7)

DST = Dissulfoton; AODST = análogo oxigenado do Dissulfoton; DSO = Dissulfoton sulfóxido; DSA = Dissulfoton sulfona; AODSA = análogo oxigenado do Dissulfoton sulfona; (s) = desvio padrão; ND = não detectado.

Observa-se que a presença do Dissulfoton (DST) na camada de 0 a 5 cm do solo, após as várias simulações de chuvas, foi diminuindo até não mais ser detectada, após o 50º dia de experimento. Isto ocorreu principalmente devido a oxidação do Dissulfoton aos seus produtos de degradação, como o Dissulfoton sulfóxido (DSO), sulfona (DSA), e os respectivos análogos oxigenados. Segundo MUSUMECI (1992), a duração do efeito de um pesticida e sua permanência no meio ambiente são influenciados pela estrutura química do composto e pelas condições ambientais. Os compostos organossintéticos podem desaparecer do solo através de vários processos, como volatilização, lixiviação (ou percolação) e reações químicas, de natureza hidrolítica ou por fotólise. Em muitas circunstâncias, o desaparecimento do agrotóxico é atribuído à atividade microbiana do solo. Nota-se pelos resultados contidos na Tabela 6 que resíduos dos produtos da degradação do Dissulfoton foram detectados, em quantidades relativamente altas a partir de 0 (zero) dia de experimento. Provavelmente, no início do experimento (0 dia), o desaparecimento do DST deu origem, principalmente, ao seu análogo oxigenado (AODST). LOPES (2000) avaliou a percolação do Dissulfoton presente em uma formulação comercial, e também detectou compostos originários da degradação do Dissulfoton no início do experimento, porém em percentagens menores.

O análogo oxigenado do Dissulfoton sulfona (AODSA), que é o produto final da degradação do Dissulfoton, segundo a rota proposta por IBRAHIM et al. (1969), só foi detectado a partir do 80º dia de experimento nesta camada, enquanto que o análogo oxigenado do Dissulfoton sulfóxido (AODSO) não foi detectado, ou se encontrava em teores inferiores ao limite de detecção do sistema. Por outro lado, pode ser que o Dissulfoton sulfóxido (DSO) tenha oxidado somente a Dissulfoton sulfona (DSA) e não ao AODSA, de acordo com a rota de degradação.

Na Figura 9 estão representados os comportamentos do Dissulfoton e de seus produtos de degradação na camada de solo de 0 a 5 cm ao longo do período estudado.

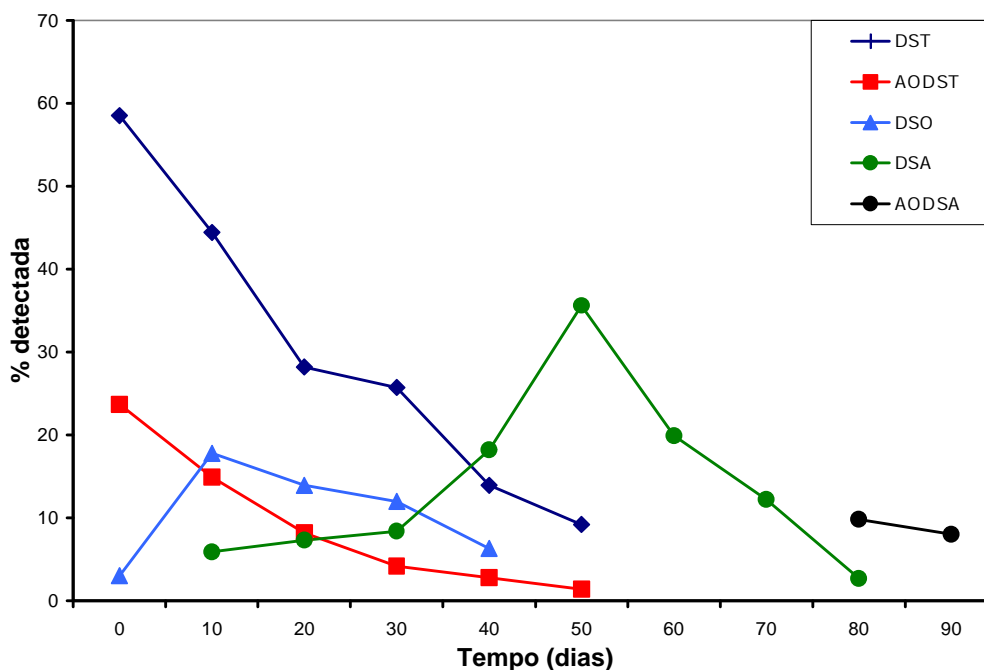


Figura 9: Comportamento do Dissulfoton e de seus produtos de degradação na profundidade de 0 a 5 cm ao longo de 90 dias de experimento.

Observa-se que a partir do 50º dia de experimento somente os produtos finais da rota de degradação do Dissulfoton, Dissulfoton sulfona e seu análogo oxigenado são detectados nessa camada de solo. Provavelmente, a partir deste período todo o Dissulfoton e os demais produtos de degradação tenham se oxidados ao sulfona e seu análogo oxigenado. Estes resultados são semelhantes aos obtidos por LOPES (2000), que avaliou a degradação no solo de uma formulação comercial contendo Dissulfoton e Triadimenol e verificou que a partir do 60º dia de experimento somente os dois produtos finais da rota de degradação do Dissulfoton, Dissulfoton sulfona e seu análogo oxigenado, foram detectados.

3.4.2.2. Avaliação do Dissulfoton e de seus produtos de degradação na segunda camada (5 a 10 cm)

Na avaliação da percolação, o Dissulfoton não foi percolado ao longo dos 90 dias de experimento pelas colunas de solo, sendo detectado apenas na camada de 0 a 5 cm. A baixa solubilidade do Dissulfoton em água, 15 mg L^{-1} , é

possivelmente a principal razão de sua baixa mobilidade pelo solo. De acordo com a relação estabelecida por BRIGGS (1981), conhecendo-se o valor de K_{ow} (coeficiente de partição do composto entre octanol e água) e a percentagem de matéria orgânica (MO) do solo, é possível prever a mobilidade potencial de um agrotóxico no solo, conforme a equação:

$$\log K_d = 0,52 \log K_{ow} + 0,62 + \log (MO/100)$$

Segundo BRIGGS (1981), quanto menor o valor de K_d (coeficiente de distribuição do composto entre as partículas e a água do solo), maior será a sua mobilidade. A matéria orgânica do solo tem natureza lipofílica, facilitando ainda mais a incorporação de materiais lipofílicos como o Dissulfoton. O Dissulfoton possui um $\log K_{ow} = 4$ e o solo em estudo uma porcentagem de matéria orgânica igual a 2,1 %; seu K_d estimado com base na equação acima então será em torno de 11. Este valor é considerado elevado, uma vez que os compostos encontrados em águas subterrâneas possuem coeficiente de distribuição inferior a 5 (BRIGGS, 1981).

Portanto compostos, como o Dissulfoton, possuem grande probabilidade de se incorporarem ou de serem adsorvidos na superfície do solo. No entanto a baixa estabilidade do Dissulfoton faz com que ele seja rapidamente degradado aos seus produtos de degradação que, por sua vez, são percolados para as camadas mais profundas.

LOPES (2000) avaliou a percolação de uma formulação comercial, contendo Dissulfoton e Triadimenol, por colunas de solo, e obteve resultados para o Dissulfoton similares aos obtidos neste trabalho. O inseticida apresentou baixa mobilidade no solo, ficando retido na camada superficial, porém os produtos de sua degradação, principalmente o Dissulfoton sulfona e o análogo oxigenado do Dissulfoton sulfona, apresentaram uma alta mobilidade pelo solo, sendo detectados nas três profundidades estudadas.

Devido à baixa estabilidade do Dissulfoton, e a sua rápida transformação em produtos tão tóxicos quanto o próprio princípio ativo, o estudo do comportamento dos seus produtos de degradação no solo se torna de extrema importância para avaliar a possibilidade de contaminação de águas subterrâneas. Para isso, foi analisada a presença dos produtos de degradação

do Dissulfoton ao longo de 90 dias, nas camadas de 5 a 10 cm e de 10 a 15 cm de profundidade. Os resultados das análises nas camadas de 5 a 10 cm estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7: Percentagens dos produtos de degradação do Dissulfoton detectadas nas amostras de solo na profundidade de 5 a 10 cm, após simulação de chuva.

Dias	AODST	DSO	DSA	AODSA
	% detectada (s)			
0	ND	ND	ND	ND
10	ND	ND	ND	ND
20	13,5 (0,7)	10,5 (0,1)	6,8 (0,02)	ND
30	12,3 (0,08)	3,9 (0,03)	8,8 (0,09)	ND
40	1,0 (0,07)	1,9 (0,02)	25,7 (0,2)	9,3 (0,1)
50	ND	1,0 (0,03)	21,2 (0,2)	8,8 (0,01)
60	ND	ND	15,7 (0,06)	8,9 (0,07)
70	ND	ND	15,0 (0,09)	8,7 (0,06)
80	ND	ND	13,2 (0,1)	4,2 (0,3)
90	ND	ND	11,5 (0,09)	3,5 (0,4)

AODST = análogo oxigenado do Dissulfoton; DSO = Dissulfoton sulfóxido; DSA = Dissulfoton sulfona; AODSA = análogo oxigenado do Dissulfoton sulfona; (s) = desvio padrão e ND = não detectado.

Observa-se pelos resultados contidos na Tabela 7, referente à presença dos produtos de degradação do Dissulfoton na camada de solo de 5 a 10 cm, que, a partir do 20º dia, estes produtos de degradação, com exceção do análogo oxigenado do Dissulfoton, foram detectados no solo. Após o 50º dia, somente os produtos finais da rota de degradação do Dissulfoton, sugerida por IBRAHIM et al. (1969), são encontrados nesta camada de solo, o Dissulfoton sulfona (DSA) e o seu análogo oxigenado (AODSA).

Além do Dissulfoton, também não foi encontrado o análogo oxigenado do Dissulfoton sulfóxido (AODSO), sendo que este já não havia sido encontrado na primeira camada de 0 a 5 cm do sistema de percolação, possivelmente pela mesma razão citada anteriormente.

3.4.2.3. Avaliação do Dissulfoton e de seus produtos de degradação na terceira camada (10 a 15 cm)

As percentagens de Dissulfoton e de seus produtos de degradação na última camada de solo estudada ao longo dos 90 dias de experimento, estão representadas na Tabela 8.

Tabela 8: Percentagem dos produtos de degradação do Dissulfoton, detectada na amostra de solo na profundidade de 10 a 15 cm, após simulação de chuva.

Dias	DSA	AODSA
	% detectada (s)	
0	N.D	ND
10	ND	ND
20	ND	ND
30	ND	ND
40	6,1 (1,2)	3,3 (0,06)
50	ND	7,2 (0,9)
60	19,5 (0,3)	10,2 (0,3)
70	16,3 (0,9)	17,3 (0,9)
80	15,7 (0,02)	28,9 (1,8)
90	13,9 (1,0)	31,4 (2,1)

DSA = Dissulfoton sulfona; AODSA = análogo oxigenado do Dissulfoton sulfona; (s) = desvio padrão e ND = não detectado.

Nesta camada de solo, de 10 a 15 cm, de acordo com a tabela 8, os únicos produtos de degradação do Dissulfoton detectados pela análise das amostras foram o Dissulfoton sulfona e seu análogo oxigenado, que são os produtos finais da rota de degradação (Figura 4). Nota-se também que, nas amostras de 50 dias não foi detectada a presença de Dissulfoton sulfona. Algum erro durante o processo de extração, evaporação, ou da própria homogeneização da amostra poderá ter ocorrido, já que o mesmo aparece em concentrações até mais elevadas nas próximas amostras.

Analisando os dados das Tabelas 7 e 8, pode-se avaliar a mobilidade

dos produtos de degradação do Dissulfoton no solo, através das camadas de 5 cm de espessura cada. Os produtos de degradação do Dissulfoton, principalmente o Dissulfoton sulfona (DSA) e o análogo oxigenado do Dissulfoton sulfona (AODSA), possuem maior mobilidade que o Dissulfoton e os demais produtos de degradação, sendo os únicos compostos encontrados nas camadas mais profundas de solo. Aos 90 dias ainda foram encontrados, na camada de 10 a 15 cm, cerca de 45 % de DSA e AODSA, do total do produto aplicado inicialmente.

3.4.3. Análise do Dissulfoton e de seus produtos de degradação na água percolada

A presença do Dissulfoton ou de seus produtos de degradação na água percolada pelo sistema montado pode levar a concluir sobre a possibilidade de águas subterrâneas, localizadas sob regiões onde há o cultivo de café e, subsequente, aplicação de compostos contendo este princípio ativo em suas formulações, serem ou estarem contaminadas. A Zona da Mata Mineira é bastante montanhosa e os cafezais ficam localizados em regiões elevadas. Como os solos são profundos, com horizonte B com alguns metros, a probabilidade de contaminação dos lençóis por percolação é pequena.

As análises cromatográficas das amostras de água percolada foram realizadas, após a extração do princípio ativo desta matriz, e as percentagens do Dissulfoton e de seus produtos de degradação detectadas nas amostras estão apresentadas na Tabela 9.

Tabela 9: Percentagem do Dissulfoton e dos produtos de sua degradação, detectada na água após simulações de chuva.

Dias	DSA	AODSA
	% detectada (s)	
0	ND	ND
10	ND	ND
20	ND	ND
30	ND	ND
40	0,2 (0,02)	0,8 (0,03)
50	0,7 (0,10)	2,8 (0,04)
60	0,5 (0,02)	3,2 (0,2)
70	0,5 (0,04)	3,1 (0,03)
80	1,0 (0,03)	3,9 (0,09)
90	1,8 (0,05)	5,0 (0,3)

DSA = Dissulfoton sulfona; AODSA = análogo oxigenado do Dissulfoton sulfona; (s) = desvio padrão e ND = não detectado.

Os resultados obtidos, com a percolação do Dissulfoton, mostram que os primeiros traços de alguns dos compostos da degradação do Dissulfoton na água percolada, são detectados a partir do 40º dia. Os produtos de degradação detectados foram o Dissulfoton sulfona e o seu análogo oxigenado confirmando a maior mobilidade destes compostos pelo solo. Pelos dados da Tabela 9, observa-se que somente estes dois compostos percolaram e que as suas concentrações aumentam com o transcorrer do experimento.

Mesmo havendo a percolação dos dois produtos de degradação finais da rota do Dissulfoton pelas colunas de solo do sistema estudado, as concentrações encontradas, se comparadas com a aplicada ao solo não são muito elevadas, obtendo um máximo, nas amostras de 90 dias, de 1,8 % para o Dissulfoton sulfona e aproximadamente 5 % para seu correspondente análogo oxigenado.

A explicação para a detecção de apenas dois produtos de degradação, pode estar no fato de que estes estão nos níveis de oxidação máxima do Dissulfoton, adquirindo portanto, uma estabilidade maior. Estes compostos são mais polares que os demais produtos de degradação do Dissulfoton, portanto

possuem uma afinidade maior pela água, movimentando mais pelo solo. O análogo oxigenado do Dissulfoton sulfona possui mobilidade maior que o Dissulfoton sulfona, sendo então detectado em concentrações mais elevadas (5 %). Estes resultados conferem com os obtidos por ANDRADE (2000), que avaliou a adsorção do Dissulfoton sulfona (DSA) e de seu análogo oxigenado (AODSA) no solo, e verificou que o AODSA é menos adsorvido que o DSA.

3.4.4. Avaliação global da degradação do Dissulfoton em latossolo vermelho-amarelo

Analisando os dados das Tabelas 6 a 9, que mostraram a percentagem de cada composto detectada tanto em água quanto nas três camadas de solo, e somando-as, encontra-se a percentagem total de Dissulfoton e de seus produtos de degradação recuperados, em relação à massa de Dissulfoton aplicada inicialmente no latossolo vermelho amarelo. Os resultados finais estão na Tabela 10.

Tabela 10: Percentagem total dos compostos detectada ao longo de 90 dias, nas camadas de solo e na água percolada.

Dias	DST	AODST	DSO	DSA	AODSA	Total
	% detectada					
0	58,5	23,7	3,0	ND	ND	85,5
10	44,4	14,9	17,8	5,9	ND	82,9
20	28,2	21,6	24,4	14,1	ND	88,4
30	25,7	16,5	15,8	17,2	ND	75,2
40	13,9	3,8	7,9	50,2	13,4	89,2
50	9,2	1,4	1,0	57,7	19,6	88,9
60	ND	ND	ND	56,2	25,9	82,1
70	ND	ND	ND	45,4	35,9	81,3
80	ND	ND	ND	34,6	56,7	91,5
90	ND	ND	ND	30,2	61,8	92,0

DST = Dissulfoton; AODST = análogo oxigenado do Dissulfoton; DSO = Dissulfoton sulfóxido; DSA = Dissulfoton sulfona; AODSA = análogo oxigenado do Dissulfoton sulfona e ND = não detectado.

Observa-se pela a análise dos dados da Tabela 10, que a técnica utilizada para recuperar o Dissulfoton é de grande viabilidade, haja vista a alta percentagem encontrada de Dissulfoton e produtos de degradação, em relação à quantidade aplicada inicialmente no solo. Acima de 75 % da massa de Dissulfoton aplicada inicialmente no solo foi recuperada, através do método empregado, na forma de compostos originários da sua degradação. Observa-se que a massa de análogo oxigenado do Dissulfoton sulfona vai aumentando gradativamente no solo com o decorrer do experimento. Este fato pode ser explicado tendo em vista que o Dissulfoton e os demais produtos intermediários da rota, sugerida por IBRAHIM et. al (1969), vão se convertendo ao último produto da rota, apresentada na Figura 4.

A Figura 10 permite uma melhor visualização da degradação do Dissulfoton em seus metabólitos com o decorrer do experimento. Na figura estão representadas as percentagens totais dos compostos, encontradas em cada fase do experimento, por exemplo, na amostra de 60 dias, está representada a percentagem de Dissulfoton sulfona e seu análogo oxigenado encontradas nas três camadas de solo e na água.

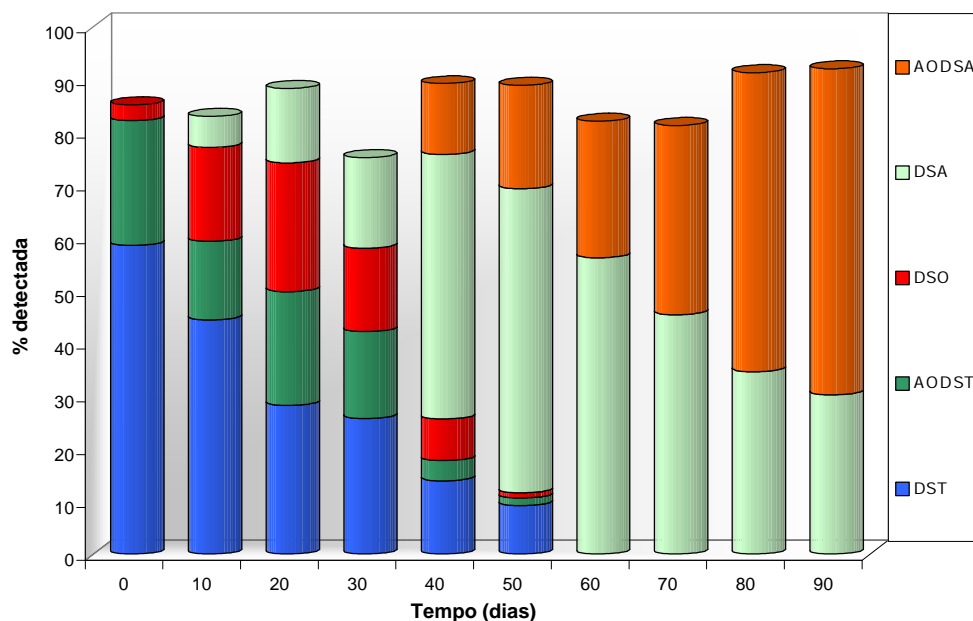


Figura 10: Degradação do Dissulfoton em seus produtos de degradação ao longo dos 90 dias de experimento.

Através da análise da Figura 10, observa-se nitidamente a oxidação do Dissulfoton a compostos como o Dissulfoton sulfóxido (DSO), Dissulfoton sulfona (DSA) e análogo oxigenado do Dissulfoton (AODST) e do sulfona (AODSA), obedecendo a rota proposta por IBRAHIM et al. (1969), com exceção apenas do análogo do Dissulfoton sulfóxido (AODSO) que não foi detectado. Observa-se ainda que o AODSA é certamente o produto final da rota, haja vista o aumento da concentração de tal composto no decorrer do experimento.

LOPES (2000) verificou uma degradação mais lenta do Dissulfoton, isto ocorreu porque a incorporação do inseticida ao veículo, na formulação comercial, o expõe menos do contato direto com o solo. A liberação gradual do Dissulfoton do veículo resulta numa maior estabilidade do inseticida. O autor não detectou a presença dos análogos oxigenados do Dissulfoton (AODST) e do Dissulfoton sulfóxido (AODSO) durante o experimento, o que sugere, de acordo com a rota de degradação, que o DSO é convertido essencialmente a DSA, tendo em vista a não detecção do AODSO também neste trabalho.

Nota-se que, pelos resultados contidos na Figura 10, no decorrer do experimento a percentagem de detecção do AODST nas camadas de solo foi diminuindo, e, simultaneamente, o teor de AODSA detectado nas camadas de solo foi aumentando. Esta observação possivelmente se deve à oxidação do AODST, que se converte gradativamente em AODSA. Esta conversão em AODSA, no entanto, pode ocorrer de duas formas; diretamente ou se converter primeiramente no AODSO, que por sua vez, converte-se rapidamente em AODSA, devido ao curto tempo de meia vida deste produto intermediário. Estes resultados se contradizem com a rota proposta por IBRAHIM et al. (1969) (Figura 4), que propõem que o AODST seja um produto final da degradação do Dissulfoton. Uma rota de degradação para o Dissulfoton, com base nos resultados obtidos neste trabalho, está apresentada na Figura 11. A única modificação da proposta original de IBRAHIM et al. (1969) é a conversão direta e/ou indiretamente do AODST em AODSA.

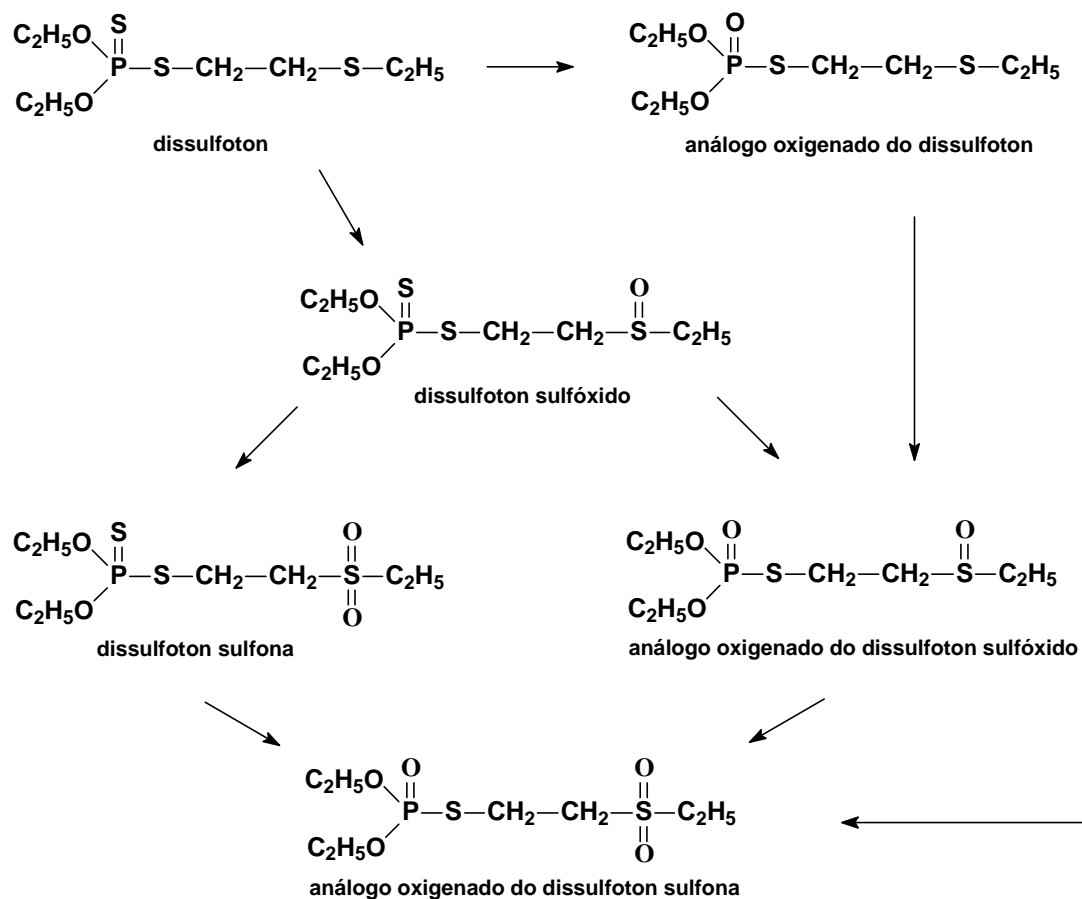


Figura 11: Rota de degradação do Dissulfoton, segundo os resultados experimentais.

4. Conclusões

Neste trabalho procurou-se avaliar a mobilidade do Dissulfoton, inseticida sistêmico organofosforado amplamente empregado na cultura de café, e a possibilidade de contaminação de águas subterrâneas pela sua percolação em um Latossolo Vermelho Amarelo. Para isto foram preparadas 10 séries de colunas de solo onde foi aplicado o princípio ativo na forma de solução padrão. Sobre estas colunas foram realizadas simulações de chuva, equivalentes a 35 mm de precipitação pluviométrica a cada 10 dias, durante 90 dias. A cada dez dias foi avaliada a mobilidade do Dissulfoton, pela análise de seus resíduos em três diferentes profundidades da coluna de solo (0 a 5, 5 a 10 e 10 a 15 cm) e na água percolada.

As técnicas de extrações líquido-líquido e sólido-líquido foram otimizadas e adaptadas para a extração do Dissulfoton e de seus subprodutos de água e de solo, respectivamente, e permitiram avaliar a mobilidade dos produtos, com rendimentos superiores a 80 %.

De acordo com o experimento montado e os resultados obtidos, concluiu-se que o Dissulfoton possui uma baixa mobilidade pelo solo. Porém, a sua degradação a outros compostos, como sulfóxidos e sulfonas, é rápida e esses produtos, ao contrário, apresentam uma mobilidade maior pelo solo. Principalmente, o Dissulfoton sulfona e o análogo oxigenado do Dissulfoton sulfona, últimos produtos da rota de degradação, foram os únicos compostos encontrados na camada mais profunda de solo e na água percolada. Isto evidencia o caráter mais polar destes compostos se movimentando com a água para as camadas mais profundas.

Portanto a possibilidade de se encontrar Dissulfoton em águas subterrâneas é muito pequena, devido a sua baixa mobilidade pelo solo. Porém a sua rápida degradação a compostos tão tóxicos quanto o próprio Dissulfoton, que persistem por um período de tempo maior e que possuem maior

mobilidade pelo solo, faz com que a possibilidade de contaminação dos lençóis freáticos seja real, sobretudo em regiões de cultivo de café, onde o solo utilizado possua as características de um Latossolo Vermelho Amarelo.

Capítulo 2: Extração do Dissulfoton de água pelo método do ponto nuvem.

1. Introdução

Um dos principais fatores de poluição do solo, subsolo e águas doces é a utilização abusiva de pesticidas nas lavouras. A média anual brasileira de emprego de agrotóxicos nas lavouras é duas vezes superior à do resto do mundo, sendo que a classe de inseticidas organofosforados é uma das mais empregadas (SCORZA JR et al., 2000). A utilização destes inseticidas ocorre, normalmente, de forma indiscriminada nas mais diversas culturas, resultando num acúmulo de resíduos nos alimentos, nas águas e solos.

O controle e monitoramento dos resíduos dos inseticidas nos solos e em águas têm se tornado imprescindível para a redução do impacto ambiental. Este monitoramento é realizado através da análise dos resíduos dos inseticidas, e fazem uso de técnicas convencionais de extração para o preparo das amostras, como a extração líquido-líquido e a sólido-líquido. Estas técnicas, no entanto, apresentam uma série de desvantagens; como o uso de quantidade excessiva de solventes, formação de emulsões, baixa sensibilidade para compostos voláteis, entre outras. Essas desvantagens vêm reduzindo o emprego das mesmas, e direcionando estudos, no sentido de se obter novas metodologias que sejam simples, rápidas, economicamente viáveis e que não demandem quantidades excessivas de solventes orgânicos.

Algumas destas técnicas, como a microextração em fase sólida, já são amplamente empregadas, e apesar de reduzirem significativamente a quantidade de solventes orgânicos, apresentam algumas desvantagens, como a falta de reprodutibilidade, requerendo maior habilidade do analista no preparo

das amostras, o que acaba limitando o emprego das mesmas. Desta forma, outros métodos, que fazem uso de fases líquidas, vêm sendo estudados, como aqueles que empregam surfactantes, para a extração de diversos compostos (MARTÍNEZ et al., 2000). Estes métodos se baseiam no fato de que surfactantes possuem características anfífilas, e podem formar micelas acima de uma determinada concentração, conhecida como concentração micelar crítica (cmc) (HINZE e PRAMAURO, 1993). Quando a temperatura crítica de uma solução de surfactante, conhecida como temperatura de ponto nuvem, é excedida, a solução se turva e se separa em duas fases, uma rica em surfactante e outra aquosa, contendo uma concentração próxima à cmc. Esta metodologia é denominada extração ponto nuvem (cloud point extraction) ou extração intermediada por micelas (micelle-mediated extraction). A sua aplicação analítica é condicionada ao fato de que qualquer componente presente na água que seja capaz de se associar às micelas, ou de ser dissolvido em seu interior orgânico, que atua como uma fase pseudo-orgânica, são extraíveis por este método.

Dentre as principais vantagens desta técnica, destacam-se a simplicidade na execução do método, a disponibilidade comercial dos surfactantes, e, sobretudo, a possibilidade de minimizar ou eliminar o uso de solventes orgânicos durante a etapa de extração, reduzindo o impacto ambiental causado pelos solventes. Entretanto, a sua grande inconveniência é que, em muitas aplicações, necessita-se separar o surfactante extrator do material extraído, principalmente quando são empregadas análises por cromatografia gasosa. Como o surfactante não é um composto facilmente volatilizável, a sua presença na amostra torna-se um risco para as colunas cromatográficas, podendo haver acúmulo do surfactante no seu interior, levando à sua deterioração, como consequência.

Nesse trabalho teve-se como objetivo principal estabelecer uma metodologia otimizada e validada para a análise do Dissulfoton em água por cromatografia gasosa. Como o método cromatográfico para análise do Dissulfoton é bastante sensível, procurou-se uma técnica de extração do princípio ativo que não apresentasse os problemas clássicos das extrações convencionais. Utilizou-se, no processo de extração do princípio ativo, a técnica de extração ponto nuvem. Para tal, foi necessário estabelecer algumas

características da separação de fases do surfactante estudado; como a temperatura de ponto nuvem, o volume da fase rica em surfactante e o tempo gasto para a separação; e um sistema de “cleanup” para a remoção do surfactante do material extraído.

2. Materiais e Métodos

2.1. Preparo de soluções

2.1.1. Preparo de soluções padrão de Dissulfoton

As soluções de Dissulfoton empregadas neste trabalho, foram preparadas em metanol (Tedia[®] Brasil) a partir do produto, com 94 % de pureza, fornecido pela BAYER[®]. Para tal, 100,0 mL de uma solução estoque de 1.000,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de Dissulfoton foi preparada, a partir de 106,4 μg do Dissulfoton puro, em 100 mL de metanol. A solução padrão de 100,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ de Dissulfoton foi preparada a partir da diluição da solução estoque. As demais soluções padrão do Dissulfoton, empregadas no estudo, foram preparadas a partir da solução de 100,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

2.1.2. Preparo de soluções de Triton X-114

Foi preparada uma solução de Triton X-114 (Sigma[®]) a 10,0 % (m/v) em água deionizada. As demais soluções de Triton X-114, empregadas no estudo, foram preparadas a partir da solução a 10,0 % (m/v) por diluições sucessivas.

2.2. Determinação das condições ideais para a separação de fases do Triton X-114

2.2.1. Temperatura de ponto nuvem

Para a determinação do ponto nuvem do Triton X-114, foram preparadas soluções de 50,0 mL do surfactante em diferentes concentrações [0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 1,2; 1,4; 1,6; 1,8; 2,0; 5,0 e 10,0 % (m/v)] que foram a 15 °C em banho termostaticado por 5 minutos. Em seguida, aumentou-se gradativamente a temperatura de cada solução de Triton X-114 de 0,1 em 0,1 °C até o turvamento. A temperatura do ponto nuvem para cada uma das misturas foi determinada visualmente pelo aparecimento da turbidez das soluções. O experimento foi realizado em triplicata e a temperatura do ponto nuvem calculada pela média dos valores obtidos.

2.2.2. Volume da fase rica em surfactante

Para a determinação do volume da fase rica em surfactante, foram preparadas 10 soluções de 10,0 mL de Triton X-114 em diferentes concentrações [0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 1,2; 1,4; 1,6; 1,8; 2,0; 5,0 10,0 % (m/v)] em frascos de fundo cônico. Estas soluções foram deixadas em banho termostaticado à temperatura de 40 °C, até que as fases se separassem (1 h e 30 min). Separadas as fases, calculou-se os volumes da fase rica em surfactante através da fórmula do volume de um cone reto ($V = 1/3 \cdot \pi \cdot r^2 \cdot h$), para cada solução de Triton X-114. Onde V = volume; r = raio do cone reto; e h = altura alcançada pela fase rica em surfactante. Este procedimento foi realizado em triplicatas.

2.2.3. Condições de centrifugação

Foram preparadas 10 soluções de 10,0 mL de Triton X-114 em tubos de centrífuga, em diferentes concentrações [0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 1,2; 1,4; 1,6; 1,8; 2,0; 5,0 10,0 % (m/v)], e mantidas em banho termostaticado a 40 °C por 10 minutos. Após o turvamento das soluções, os tubos foram centrifugados (centrífuga FANEM excelsa II modelo 206MP) variando-se o tempo de centrifugação e a velocidade de rotação. A melhor condição de centrifugação (tempo e velocidade de rotação) para a completa separação das fases foi assim determinada.

2.3. Determinação das melhores condições de remoção do Triton X-114 dos extratos de Dissulfoton

Em uma primeira etapa, foram determinadas as condições ideais para a separação das fases do Triton X-114, e obtenção de fases ricas em surfactantes, que, posteriormente, deverão conter o Dissulfoton. Porém, para a análise do Dissulfoton por cromatografia gasosa é necessário que este princípio ativo esteja em um solvente orgânico livre do surfactante, pois o mesmo possui um alto ponto de ebulição. Estudos preliminares foram realizados no intuito de se remover o surfactante, Triton X-114, do extrato (fase rica em surfactante). Para tal, foi montado um sistema em série, que consistia de duas colunas (11,5 cm de altura por 1,3 cm de diâmetro interno), a primeira recheada com 2,0 g de sílica gel (0,063-0,200 mm) e a segunda com 0,8 g de Florisil (0,150-0,250 mm).

O experimento foi idealizado para que se tivesse um adsorvente/eluente que retivesse todo o surfactante.

2.3.1. Avaliação do eluente

A avaliação do eluente adequado para o “cleanup” da fase rica em surfactante, foi realizada usando o sistema da Figura 12, consistindo em duas colunas em série, recheadas com sílica gel e Florisil. Os eluentes avaliados foram o hexano; o metanol; o clorofórmio e misturas de hexano:metanol em diferentes proporções.

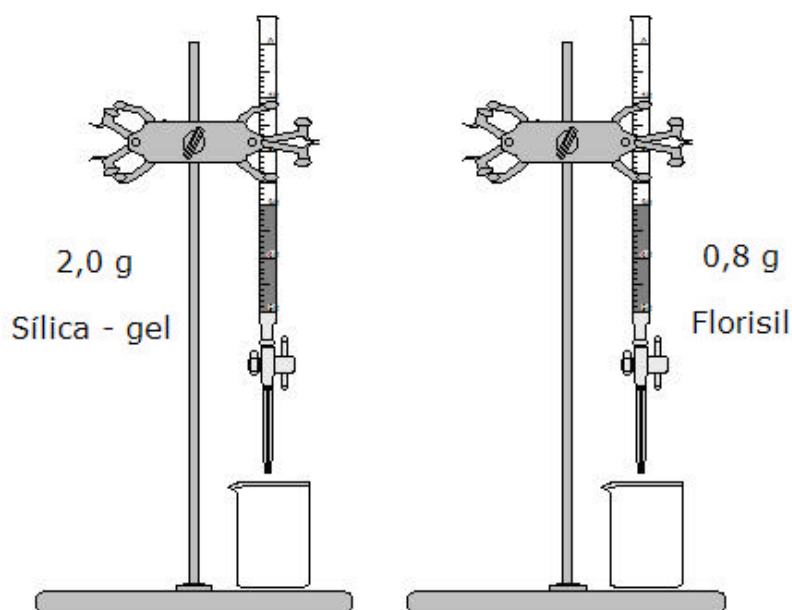


Figura 12: Sistema montado para a remoção do Triton X-114 do extrato da amostra

Primeiramente, a avaliação foi feita aplicando-se a fase rica em surfactante, sem a presença do Dissulfoton, sobre a coluna de sílica-gel. Para isto, foram preparadas 10,0 mL de soluções de Triton X-114, em diferentes concentrações [0,2; 0,5; 0,1 e 2,0 % (m/v)], as quais foram mantidas por 10 minutos em banho termostatizado a 40 °C e, em seguida, centrifugadas por 10 minutos a 830 G. As fases superiores foram descartadas, e das fases inferiores restantes (fases ricas em surfactante), foram retirados 100,0 µL com auxílio de uma micropipeta automática.

Em uma segunda etapa, avaliaram-se os mesmos eluentes para a recuperação do Dissulfoton. Para tal, foram aplicados 100,0 µL de uma solução

padrão de Dissulfoton a $100,0 \mu\text{g mL}^{-1}$, sem a presença do surfactante, sobre a coluna de sílica gel.

Depois da aplicação de $100,0 \mu\text{L}$, da fase rica em surfactante ou da solução padrão de Dissulfoton, sobre a coluna de sílica gel, fez-se a eluição com $5,0 \text{ mL}$ dos eluentes. O eluato foi recolhido em béquer de 10 mL e evaporado por nitrogênio (N_2). O béquer foi então lavado com $0,5 \text{ mL}$ do eluente e aplicados no topo da coluna de Florisil, sendo em seguida, eluídos com $5,0 \text{ mL}$ dos eluentes. Os eluatos, novamente, foram recuperados em béqueres e os eluentes evaporados com N_2 .

Os eluatos de surfactante obtidos foram aferidos com metanol para $5,0 \text{ mL}$ em balão volumétrico e analisados por espectrofotometria de absorção UV. Os eluatos de Dissulfoton foram aferidos com metanol para $1,0 \text{ mL}$ em balão volumétrico e analisados por cromatografia gasosa.

2.3.2. Avaliação do adsorvente

Além da sílica gel e do Florisil contidos em duas colunas em série (Figura 12), foram avaliados outros adsorventes, contidos em colunas únicas, como o carvão ativado; o Florisil, a celulose microcristalina e a sílica gel; para verificar qual deles retinha maiores quantidades de Triton X-114 e, conseqüentemente, em qual o Dissulfoton ficava menos retido. Foram avaliados, também, dois cartuchos para extração em fase sólida (EFS), um contendo $0,5 \text{ g}$ de C_8 (octilsiloxano) e o outro $0,5 \text{ g}$ de C_{18} (octadecilsiloxano) empregando um sistema Visiprep para a EFS.

Primeiramente, a avaliação foi feita aplicando-se a fase rica em surfactante, sem a presença do Dissulfoton, sobre o topo de colunas contendo os diferentes adsorventes. Em uma segunda etapa, aplicou-se uma solução padrão de Dissulfoton, sem surfactante.

O seguinte procedimento foi empregado para a avaliação dos adsorventes. Aplicaram-se $100,0 \mu\text{L}$, da fase rica em surfactante ou de uma solução padrão de Dissulfoton a $100,0 \mu\text{g mL}^{-1}$, sobre o topo de colunas contendo $2,0 \text{ g}$ dos diferentes adsorventes, fez-se a eluição com $5,0 \text{ mL}$ da mistura de metanol:hexano (1:1). O eluato foi recolhido em béquer de 10 mL e

evaporado por nitrogênio (N₂). Em seguida, os eluatos de surfactante obtidos foram aferidos com metanol para 5,0 mL em balão volumétrico e analisados por espectrofotometria de absorção UV/Vis. Os eluatos de Dissulfoton foram aferidos com metanol para 1,0 mL em balão volumétrico e analisados por cromatografia gasosa.

2.3.3. Análise dos eluatos por espectrofotometria de absorção UV/Vis.

Para determinar as quantidades de Triton X-114 presente nos eluatos, foram realizadas análises por espectrofotometria de absorção UV/Vis, em um espectrofotômetro HITACHI UI-1100. Foi realizada, primeiramente, uma varredura de uma solução de 10,0 mL de Triton X-114 a 0,50 mmol L⁻¹, para a determinação do comprimento de onda de máxima absorção do surfactante ($\lambda_{\text{máx}} = 275,0 \text{ nm}$). Construiu-se uma curva analítica de Triton X-114 em metanol, e através da equação de regressão linear, determinou-se a concentração do surfactante nos eluatos obtidos.

2.4. Análise cromatográfica

As amostras foram analisadas em um cromatógrafo a gás SHIMADZU GC-17A, empregando um detector de ionização em chama (DIC ou FID).

As condições cromatográficas empregadas para as análises foram:

- Coluna BP-5 com fase estacionária composta de 95 % de metilpolisiloxano e 5 % de fenilsiloxano, 30 m; 0,25 mm de diâmetro interno, 1 μm de espessura de filme.
- Temperatura da coluna: 200 °C $\xrightarrow{20^\circ\text{C}/\text{min}}$ 280 °C (6 min)
- Temperatura do injetor: 250 °C
- Temperatura do detector: 300 °C
- Volume injetado: 1,0 μL
- Vazão do gás de arraste: 1,0 mL min⁻¹

- Razão Split: 1:5
- Gás de arraste: Nitrogênio

A concentração do Dissulfoton nos extratos, foi determinada pelo método do padrão externo, que relaciona as respectivas concentrações dos padrões com as áreas dos picos nos cromatogramas, na forma de uma curva analítica. Obtém-se por regressão linear desta curva, a equação da reta, que permite calcular a concentração do produto na amostra, a partir do valor da área do pico.

2.5. Avaliação da concentração de Triton X-114 para extração ponto nuvem de Dissulfoton na água

As amostras foram fortificadas adicionando 7,0 mL de água deionizada e 1,0 mL de solução padrão de Dissulfoton a $100,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ em frascos de fundo cônico de 10 mL, deixando-as em banho ultra-som por 15 minutos. Em seguida foram adicionados diferentes volumes de uma solução aquosa de Triton X-114 a 10,0 % (m/v), obtendo concentrações finais do surfactante de 0,2 a 2,0 % (m/v). O volume final da amostra foi completado para 10,0 mL com água deionizada, quando necessário. As amostras foram deixadas em repouso por 5 minutos a $40 \text{ }^\circ\text{C}$ ($\pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$) em banho termostatizado. Em seguida, os frascos contendo as amostras foram centrifugados a 830 G por 10 minutos. Depois de separadas as fases, descartou-se a fase superior (aquosa) de cada amostra e, das fases ricas em surfactante, retiraram-se com uma micropipeta automática $100,0 \mu\text{L}$. Este volume foi então aplicado ao sistema de “cleanup” para a remoção do Triton X-114, como descrito no item 2.3.1.

2.6. Avaliação dos fatores que afetam a eficiência da extração ponto nuvem do Dissulfoton na água

2.6.1. pH

2.6.1.1. Preparo das amostras

Foram adicionados 100 mL de água deionizada em 11 erlenmeyers de 125 mL e, com o auxílio de soluções diluídas de NaOH e HCl e de um pHmetro ajustaram-se os valores de pH das soluções, variando de 2 a 12.

2.6.1.2. Extração ponto nuvem de Dissulfoton em função do pH

Em frascos de fundo cônico de 10 mL foram adicionados 8,0 mL de água deionizada com valores de pH entre 2 a 12 fortificados com 1,0 mL de Dissulfoton a $100,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ e 1,0 mL de Triton X-114 a 10 % (m/v), de modo a obter uma concentração final do surfactante de 1,0 % (m/v). Realizou-se a extração ponto nuvem como descrito no item 2.5.

2.6.2. Força iônica

2.6.2.1. Preparo de soluções de NaCl

Foram preparados 100,0 mL de soluções de NaCl com diferentes forças iônicas, μ , (0,05; 0,10; 0,5 e $1,0 \text{ mol L}^{-1}$), no intuito de determinar o efeito da força iônica no rendimento da extração do Dissulfoton pela técnica de extração nuvem.

2.6.2.2. Extração ponto nuvem de Dissulfoton em função da variação da força iônica

Em um frasco de fundo cônico de 10 mL foram adicionados 8,0 mL de água deionizada em diferentes concentrações de NaCl fortificados com 1,0 mL de Dissulfoton a $93,1 \mu\text{g mL}^{-1}$ e 1,0 mL de Triton X-114 a 10,0 % (m/v), de modo a obter uma concentração final do surfactante de 1,0 % (m/v). Em seguida, realizou-se a extração ponto nuvem, como descrito no item 2.5.

2.6.3. Outros surfactantes

O surfactante não iônico Triton X-100 e o aniônico dodecil sulfato de sódio (SDS), foram adicionados às amostras para verificar a influência destes surfactantes no rendimento da extração ponto nuvem do Dissulfoton, empregando o Triton X-114. As quantidades, em massa, do Triton X-100 e do SDS foram adicionadas às amostras obtendo uma concentração final de 1,0 % (m/v) da mistura de surfactantes. As concentrações finais do Triton X-100 e do SDS na mistura foram inferiores às suas respectivas concentrações micelares crítica (cmc).

2.6.3.1. Planejamento experimental de misturas de surfactantes

Para avaliar o rendimento de extração do Dissulfoton por Triton X-114, na presença de SDS e/ou Triton X-100, fez-se um planejamento de mistura. Para tal, foram preparadas 10 amostras de diferentes misturas de Triton X-114 com SDS e/ou Triton X-100, escolhidas de acordo com o planejamento experimental apresentado no Quadro 3.

Quadro 3: Planejamento de mistura para a avaliação do rendimento de extração do Dissulfoton por Triton X-114 na presença de Triton X-100 e/ou SDS.

Amostras	<i>m (g)</i>					
	Triton X-114		Triton X-100		SDS	
1	0,1000	(1)	0,0000	(0)	0,0000	(0)
2	0,0900	(0)	0,0100	(1)	0,0000	(0)
3	0,0900	(0)	0,0000	(0)	0,0100	(1)
4	0,0900	(0)	0,0050	(1/2)	0,0050	(1/2)
5	0,0950	(1/2)	0,0050	(1/2)	0,0000	(0)
6	0,0950	(1/2)	0,0000	(0)	0,0050	(1/2)
7	0,0933	(1/3)	0,0033	(1/3)	0,0033	(1/3)
8	0,0966	(2/3)	0,0017	(1/6)	0,0017	(1/6)
9	0,0917	(1/6)	0,0066	(2/3)	0,0017	(1/6)
10	0,0917	(1/6)	0,0017	(1/6)	0,0066	(2/3)

A quantidade mínima de Triton X-114 nas amostras foi de 0,0900 g e a quantidade máxima de 0,1000 g, de modo a obter concentrações finais em torno de 1,0 % (m/v) da mistura dos surfactantes.

Após a mistura do Triton X-100, do SDS, e destes dois surfactantes com o Triton X-114, foi realizada a extração ponto nuvem, de acordo com o item 2.5. Os extratos foram quantificados por cromatografia gasosa, e as percentagens de extração foram calculadas. Com o auxílio de um microcomputador e de um software de tratamentos estatísticos (STATISTICA), aplicou-se o modelo cúbico especial e obteve-se o gráfico do planejamento experimental de misturas dos surfactantes.

2.7. Validação da metodologia

METODOLOGIA OTIMIZADA:

Em um erlenmeyer de 125 mL, adicionaram-se 35,0 mL de água deionizada resfriada (aproximadamente 15 °C), contendo força iônica igual a 0,1 mol L⁻¹ e 1,0 mL de solução padrão de Dissulfoton a 100,0 µg mL⁻¹. A

solução foi colocada em banho ultra-som por 15 minutos. Em seguida, foram adicionados 4,0 mL de uma solução aquosa de Triton X-114 a 10,0 % (m/v), de modo a obter concentração na amostra de 1,0 % (m/v). Colocou-se a solução em banho-maria a 40 °C (± 1 °C) por 5 minutos (para turvamento da solução), em seguida, a amostra foi transferida para tubos de centrifuga de 50 mL de capacidade (de fundo cônico) e procedeu-se a centrifugação a 830 G por 15 minutos. Após separação das fases, a fase superior (fase aquosa) foi descartada através de pipeta Pasteur, e da fase inferior (fase rica em surfactante) foram retirados 100,0 μ L através de micropipeta automática, e aplicado ao sistema de colunas, para a remoção do Triton X-114.

100,0 μ L da fase rica em surfactante, contendo Triton X-114 e Dissulfoton, foram, então, aplicados ao topo da primeira coluna, de 2,0 cm de diâmetro interno, contendo 2,0 g de sílica gel, e eluídos com 5,0 mL de hexano:metanol (1:1). O eluato foi coletado em um béquer de 10 mL e seco por N₂. Em seguida o béquer foi lavado e eluído com 5,0 mL de hexano:metanol (1:1) pela segunda coluna, contendo 0,8 g de Florisil. O eluato foi coletado em um béquer de 10 mL e novamente foi seco por N₂. O volume final foi aferido com metanol para 1,0 mL em balão volumétrico, transferido para frascos amostras e armazenado em freezer até o momento da análise cromatográfica. As condições de análise empregadas foram as descritas no item 2.4.

Para a validação da metodologia, as amostras de água fortificadas com Dissulfoton foram analisadas seguindo o método otimizado.

2.7.1. Faixa de aplicação e linearidade de resposta

Para o estudo da faixa de aplicação e linearidade de resposta para o Dissulfoton foram empregadas soluções padrão de Dissulfoton a 0,5; 1,0; 5,0; 10,0; 15,0; 30,0; 40,0; 60,0; 80,0 e 100,0 μ g mL⁻¹ em água deionizada.

A linearidade de resposta foi verificada através da curva analítica, que foi obtida relacionando, a concentração (em μ g mL⁻¹) do Dissulfoton pela área dos picos correspondentes no cromatograma.

2.7.2. Limite de detecção e limite de quantificação

Os limites de detecção (LD) e quantificação (LQ) para o Dissulfoton foram determinados através da análise de soluções padrão em concentrações decrescentes. O limite de detecção foi determinado como sendo a concentração que proporcionou um pico duas vezes maior que o ruído de fundo do aparelho, conforme sugerido por COLLINS et al. (1990). Para a determinação do limite de quantificação foi avaliada a concentração que proporcionou um pico dez vezes maior que o nível médio do ruído no cromatograma (RIBANI et al., no prelo).

2.7.3. Precisão

A precisão da metodologia de extração ponto nuvem foi avaliada a partir de estudos de repetibilidade e precisão intermediária conforme sugerido por GREEN (1996).

2.7.3.1. Repetibilidade

A repetibilidade representa a concordância entre os resultados de medições sucessivas de um mesmo método, efetuadas sob as mesmas condições de medição, chamadas condições de repetibilidade; mesmo procedimento, mesmo analista, mesmo instrumento usado sob as mesmas condições, mesmo local e repetições em um intervalo curto de tempo (RIBANI et al., no prelo).

A repetibilidade das medidas do Dissulfoton foi avaliada através do cálculo do desvio padrão entre as medidas de 6 replicatas de uma solução padrão de Dissulfoton de $100,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ submetidas à extração ponto nuvem sob as condições otimizadas. As análises foram realizadas sob as mesmas condições.

2.7.3.2. Precisão intermediária

Segundo RIBANI et al. (no prelo), a precisão intermediária indica o efeito das variações dentro do laboratório devido a eventos como: diferentes dias ou diferentes analistas ou diferentes equipamentos ou uma combinação destes fatores. Esta medida é reconhecida como a mais representativa da variabilidade dos resultados em um laboratório e, como tal, mais aconselhável de ser adotada.

A precisão intermediária da metodologia proposta para a extração de Dissulfoton de água pelo método da extração ponto nuvem foi avaliada através dos cálculos dos erros relativos entre valores teórico e experimentais, das concentrações de uma solução padrão a $15,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ de Dissulfoton, analisadas em três diferentes dias seguindo o método de extração ponto nuvem otimizado.

2.7.4. Exatidão

A exatidão representa o grau de concordância entre os resultados individuais encontrados em um determinado ensaio e um valor de referência aceito como verdadeiro. Os processos mais utilizados para avaliar a exatidão de um método são; os materiais de referência; comparação de métodos; ensaios de recuperação; adição padrão e comparações inter-laboratoriais (RIBANI et al, no prelo).

Neste trabalho foi empregado o processo de comparação de métodos para avaliar a exatidão da metodologia de extração ponto nuvem. A exatidão foi verificada através da comparação dos resultados obtidos pela extração ponto nuvem sob as condições otimizadas com os obtidos pela metodologia de extração líquido-líquido otimizada no capítulo 1.

Foi empregado o método descrito no item 2.3.1 do capítulo 1, para a extração líquido-líquido (ELL) de $100,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ de Dissulfoton de água deionizada e o método de extração ponto nuvem de Dissulfoton (item 2.7).

Foi empregado também o método de extração líquido-líquido modificado, alterando o volume de diclorometano de $30,0 \text{ mL}$ para $10,0 \text{ mL}$, para a

recuperação do Dissulfoton. Através de estimativa, foi possível também verificar o valor teórico de extração do Dissulfoton pelo método de ELL, de acordo com as condições otimizadas para o método de extração ponto nuvem, ou seja, com uma quantidade de amostra igual a 40,0 mL e de solvente igual a 10,0 mL.

3. Resultados e Discussão

3.1. Determinação da temperatura de ponto nuvem do Triton X-114

O fator mais importante no método da extração ponto nuvem é a temperatura em que ocorre o fenômeno da separação, conhecida como temperatura de ponto nuvem. Esta temperatura é dependente da concentração do surfactante empregado na extração. Ela pode ser alterada também pela presença de outros surfactantes, sais, ácidos ou bases, e/ou aditivos orgânicos. Dependendo do aditivo, esta temperatura pode ser alterada drasticamente (QUINA e HINZE, 1999).

As temperaturas de ponto nuvem para a maioria dos surfactantes já são bem conhecidas na literatura (HINZE e PRAMAURO, 1993). Foi, com base neste conhecimento prévio, que o Triton X-114 foi o surfactante escolhido para a extração ponto nuvem do Dissulfoton de água, basicamente, porque a sua temperatura de ponto nuvem é mais próxima da temperatura ambiente que a dos demais surfactantes, é um produto relativamente barato e de baixa toxicidade (HILLER e WANDRUSZKA, 1995).

Para verificar o valor da temperatura de ponto nuvem do Triton X-114, diferentes concentrações do surfactante foram preparadas e submetidas a um banho termostático, onde se aumentou gradativamente (de 0,1 em 0,1 °C) a temperatura do banho. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 13.

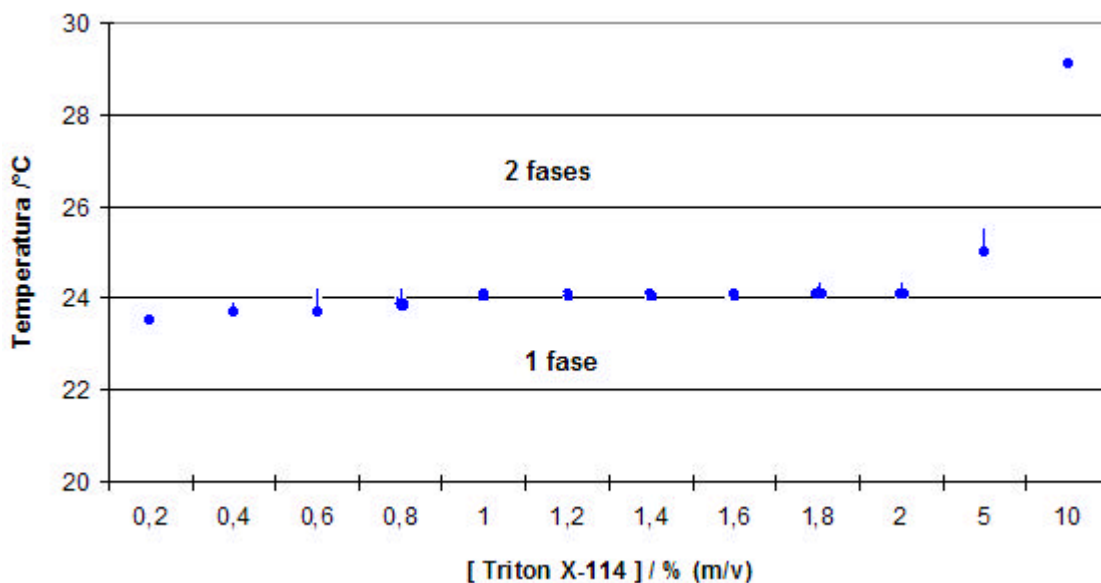


Figura 13: Variação da temperatura de ponto nuvem do Triton X-114 com a concentração do surfactante.

Observa-se que as características do Triton X-114 são muito interessantes do ponto de vista analítico, pois não há necessidade de se alterar drasticamente a temperatura para obtenção do ponto nuvem. Desse modo, esta técnica pode ser aplicada para compostos como os pesticidas, sem afetar a estabilidade dos mesmos. Nota-se também que não há uma variação acentuada da temperatura de ponto nuvem do Triton X-114 com o aumento da concentração do surfactante na amostra. Soluções extremamente concentradas do Triton X-114, como a de 10,0 % (m/v), apresentam temperatura de ponto nuvem de 29,1 °C, enquanto que a solução 0,2 % (m/v) de Triton X-114 apresentou temperatura de ponto nuvem de 23,5 °C. As temperaturas de ponto nuvem das demais soluções ficaram dentro desta faixa, ou seja, em torno da temperatura ambiente, de 25 °C.

Estes dados estão de acordo com os resultados da literatura, onde a temperatura de ponto nuvem do Triton X-114 varia de 22 a 30 °C, para uma faixa de concentração de 0,2 a 20,0 % (m/v), respectivamente (TANI et al., 1997; GÚ e GÓMEZ, 1995; HILLER et al., 1996, entre outros).

3.2. Separação das fases por extração ponto nuvem

A separação física das fases na extração ponto nuvem é facilitada pela diferença de densidade entre as duas fases formadas: a fase aquosa (ou fase diluída de surfactante) e a fase micelar (ou fase rica em surfactante). Observou-se que processo de separação é reversível e sob resfriamento, obtém-se novamente uma única fase. Esta separação, porém, é muito lenta, sendo necessário mais de uma hora para se obter as duas fases completamente separadas. Este longo período de tempo pode ser reduzido acelerando o processo da separação pela centrifugação da mistura.

3.2.1. Determinação das condições de centrifugação

Soluções de Triton X-114, em diferentes concentrações, 0,2 a 2,0 % (m/v) previamente aquecidas a 40 °C, foram transferidas para a centrífuga e submetidas à separação das fases. As condições de centrifugação foram determinadas, fixando-se o tempo de centrifugação e variando a velocidade de rotação (RPM). Observaram-se comportamentos semelhantes para as diferentes concentrações do Triton X-114. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 14.

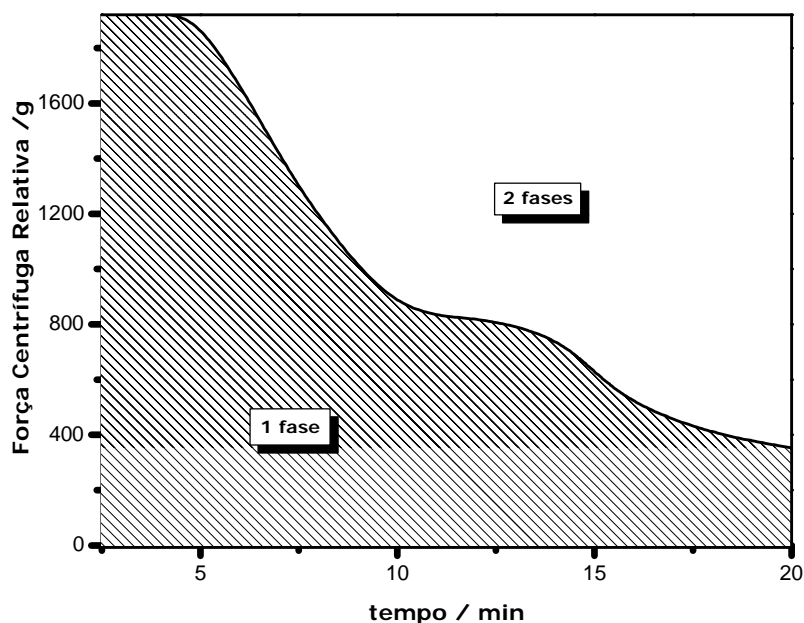


Figura 14: Relação entre tempo de centrifugação e força centrífuga relativa para a separação de fases de uma solução 1,0 % (m/v) de Triton X-114.

Pode ser observado, pelos dados apresentados na Figura 14, que quanto menor o tempo de centrifugação maior a força centrífuga relativa necessária para a separação das fases. A centrífuga empregada no experimento, apresenta alta instabilidade na rotação para os valores maiores de força centrífuga relativa, pois aproxima de sua capacidade máxima de velocidade de rotação. Portanto, as condições ideais selecionadas, baseando-se na estabilidade da centrífuga sob as condições experimentais empregadas, foram o tempo de centrifugação igual a 10 minutos e a velocidade de rotação igual a 2.300 rpm. Por se tratar de um processo reversível, as fases separadas poderiam retornar ao seu estado inicial, formando uma única fase, com a agitação da mistura. Porém, não foi observada qualquer alteração na separação das fases, porque a temperatura da mistura diminuía muito lentamente durante o processo, permanecendo acima dos 30 °C, após a centrifugação das soluções de Triton X-114.

FRANKEWICH e HINZE (1994) estudaram os efeitos da centrifugação em diversos parâmetros como a percentagem de extração, o coeficiente de distribuição e o volume das fases formadas de soluções de C_8E_3 [Éter

monoocil poli(oxietileno)], e observaram que não há um efeito significativo nestes parâmetros. Ainda segundo os autores, a centrifugação é uma ótima alternativa para acelerar a lenta separação das fases pelo método do ponto nuvem.

A força centrífuga relativa (FCR) foi calculada pela seguinte equação:

$$FCR = 1,12.r(mm).(\frac{RPM}{1000})^2$$

onde: r = o raio do rotor da centrífuga. A sua unidade é expressa em mm .

A força centrífuga relativa necessária para a separação das fases pelo método da extração ponto nuvem, empregando Triton X-114, foi de 829,5 G.

3.2.2. Determinação do volume da fase micelar

A separação das fases pelo método de extração ponto nuvem resulta na fase inferior, uma fase micelar, de algumas centenas de microlitros, o que permite um alto fator de pré-concentração obtido por este método. O volume desta fase depende do volume de amostra a ser pré-concentrado, da temperatura e da percentagem de surfactante. A razão entre as fases (volume da fase aquosa e volume da fase micelar) governa o fator de pré-concentração. Os volumes das fases ricas em Triton X-114 (fases micelares) em diferentes concentrações, empregando 10,0 mL de amostra, foram medidos e os resultados estão expressos na Tabela 11.

Tabela 11: Volume da fase rica em surfactante de Triton X-114, em diferentes concentrações.

% (m/v) de Triton X-114	$V_{FRS} / \text{mL (s)}$		% (m/v) de Triton X-114	$V_{FRS} / \text{mL (s)}$
0,2	0,093 ($\pm 0,013$)		1,4	0,687 ($\pm 0,034$)
0,4	0,229 ($\pm 0,018$)		1,6	0,806 ($\pm 0,022$)
0,6	0,262 ($\pm 0,012$)		1,8	0,936 ($\pm 0,025$)
0,8	0,349 ($\pm 0,011$)		2,0	1,038 ($\pm 0,071$)
1,0	0,455 ($\pm 0,047$)		5,0	3,815 ($\pm 0,000$)
1,2	0,556 ($\pm 0,029$)		10,0	10,00 ($\pm 0,000$)

V_{FRS} = volume da fase rica em surfactante; s = desvio padrão.

O volume da fase rica em Triton X-114 aumenta com o aumento da concentração do surfactante, como se observa na Tabela 11 e Figura 15. Nas soluções contendo Triton X-114 a 10,0 % (m/v), ocorreram os turvamentos, porém, após a centrifugação observa-se uma única fase em forma de gel, que é característica da fase rica em surfactante. Ou seja, o volume da fase rica em surfactante foi igual a 10,0 mL; $V_{FRS} = 10,0$ mL.

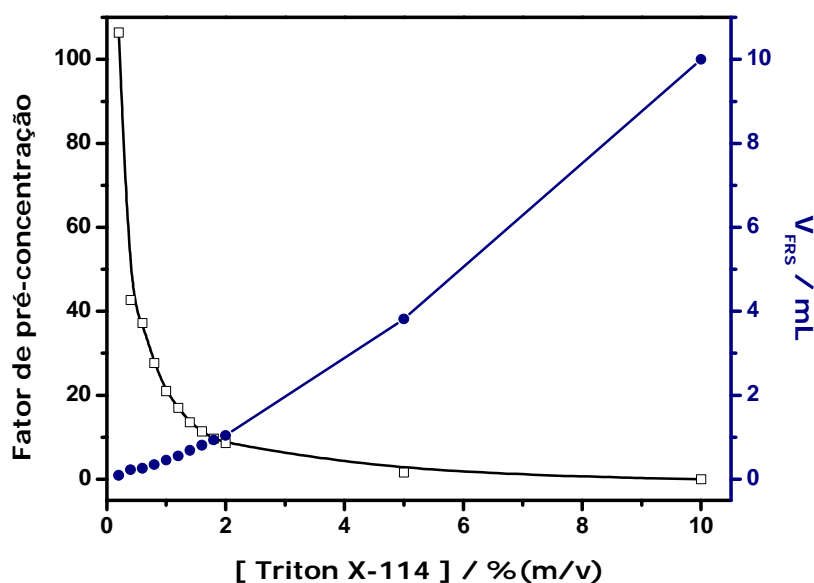


Figura 15: Variação do fator de pré-concentração teórico (□) e do volume da fase rica em surfactante (●) com a concentração de Triton X-114.

Pela análise dos resultados apresentados na Figura 15 e na Tabela 11, pode-se observar que a variação do volume da fase rica em surfactante com a concentração do Triton X-114 estudada é praticamente linear ($R^2 = 0,983$). A Figura 15 revela também o comportamento do fator de pré-concentração teórico com a concentração de Triton X-114. O maior valor do fator de pré-concentração foi obtido para a concentração de 0,2 % (m/v) de Triton X-114, a menor concentração avaliada, e cai exponencialmente até a concentração de 10,0 % (m/v), o que sugere que quanto maior a concentração de Triton X-114 utilizada para a extração de um composto orgânico menor será o fator de pré-concentração alcançado pelo método.

3.3. Sistema para remoção do surfactante do extrato

A presença do surfactante Triton X-114 na amostra interfere na análise por cromatografia em fase gasosa. O alto ponto de ebulição do Triton X-114, acima de 300 °C, não permite a injeção direta da fase rica em surfactante no cromatógrafo a gás. O acúmulo de surfactante na coluna cromatográfica pode provocar o seu entupimento e, conseqüentemente, prejudicar a sua utilização. É necessária, então, a remoção do Triton X-114 da amostra. Uma forma de remover o surfactante é através da eluição da amostra por colunas contendo adsorventes variados. Para isto diferentes eluentes e adsorventes foram avaliados, no intuito de estabelecer a melhor combinação destas fases, para uma máxima recuperação do Dissulfoton e uma máxima retenção do Triton X-114 nos adsorventes estudados.

3.3.1. Avaliação do eluente

Para a determinação da fase móvel, foi montado um sistema de duas colunas em série, a primeira contendo sílica-gel, e, a segunda contendo Florisil (ver Figura 12, pág. 65). Foram avaliados três eluentes de diferentes polaridades, hexano, clorofórmio e metanol, e, também diferentes misturas de hexano e metanol.

3.3.1.1. Avaliação da retenção do Triton X-114

Os volumes dos extratos obtidos, após a eluição de 100,0 μL de Triton X-114, foram aferidos em metanol para 5,0 mL, e analisados em um espectrofotômetro UV/Vis. Primeiramente, foi realizada a varredura de uma solução 0,5 mmol L^{-1} de Triton X-114 para a determinação do comprimento de onda de máxima absorção ($\lambda_{\text{máx.}}$) do surfactante (Figura 16). Em seguida, no $\lambda_{\text{máx.}}$ foram analisados todos os extratos, e, através de uma curva analítica, o Triton X-114 foi quantificado.

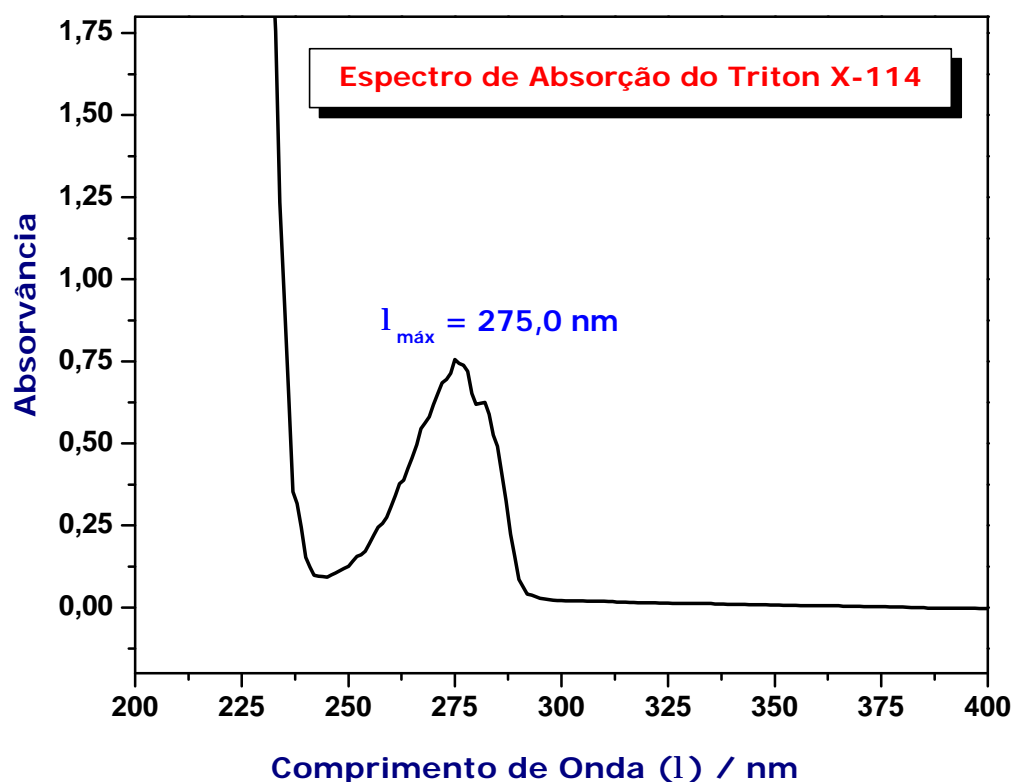


Figura 16: Espectro de absorção no UV de uma solução de Triton X-114 a 0,50 mmol L^{-1} .

Esta absorção do Triton X-114 na região do ultravioleta, pode ser prejudicial às análises por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), empregando detector por absorção UV, de compostos que absorvam próxima à região do Triton X-114. Este fato dá uma importância ainda maior na obtenção

de um sistema de “cleanup” para a remoção de surfactantes do material extraído, pois permitirá estender a aplicação da metodologia do ponto nuvem, não somente para análises por cromatografia gasosa, como também para compostos que absorvam na região do ultravioleta e que não sejam facilmente volatilizados.

Para avaliação dos diferentes eluentes, na tentativa de retenção do Triton X-114 no sistema de colunas em série de sílica-gel e Florisil, todos os extratos foram analisados em 275 nm, e quantificados através de uma curva analítica de Triton X-114. As percentagens de retenção do surfactante obtidas estão apresentadas na Tabela 12.

Tabela 12: Avaliação de diferentes eluentes na retenção do Triton X-114, empregando um sistema em série de colunas recheadas com sílica gel e Florisil.

Eluentes	[Triton] /mmol L⁻¹	% Triton X-114 retido	(s)
Metanol	0,716	91,2	(± 0,92)
Hexano	0,004	99,9	(± 0,25)
Clorofórmio	0,029	99,6	(± 0,03)
Metanol:Hexano (2:1)	0,520	93,6	(± 0,77)
Metanol:Hexano (1:1)	0,387	95,2	(± 0,44)
Metanol:Hexano (1:2)	0,182	97,8	(± 0,48)
Metanol:Hexano (1:3)	0,274	96,6	(± 0,18)

s = desvio padrão

De acordo com os dados da Tabela 12, observa-se que o hexano e o clorofórmio são os solventes que proporcionaram os melhores resultados de retenção do Triton X-114 nas colunas de sílica e Florisil; 99,9 e 99,6 %, respectivamente. As misturas de metanol:hexano que apresentaram melhor retenção do Triton X-114, foram aquelas que apresentavam uma maior proporção de hexano. Já o metanol e a mistura de metanol:hexano (2:1) foram os eluentes que apresentaram os menores resultados. Apesar destes dois arrastarem menos de 10 % de Triton X-114 da quantidade aplicada inicialmente, a injeção contínua de amostras no sistema cromatográfico a gás, contendo esta pequena quantidade de surfactante, poderá provocar um

acúmulo do Triton X-114, já que o mesmo é dificilmente volatilizado. Conseqüentemente ocorrerá a deterioração da coluna cromatográfica.

3.3.1.2. Avaliação da recuperação do Dissulfoton

O mesmo procedimento, realizado para se determinar o melhor eluente para a retenção do Triton X-114, foi aplicado ao Dissulfoton, para verificar qual dos eluentes proporcionariam a melhor recuperação do inseticida.

Os extratos foram analisados por cromatografia gasosa, sob as condições pré-determinadas no item 2.4. Dois cromatogramas típicos de uma solução padrão e de um eluato de Dissulfoton obtido após a etapa de “cleanup”, estão apresentados na Figura 17.

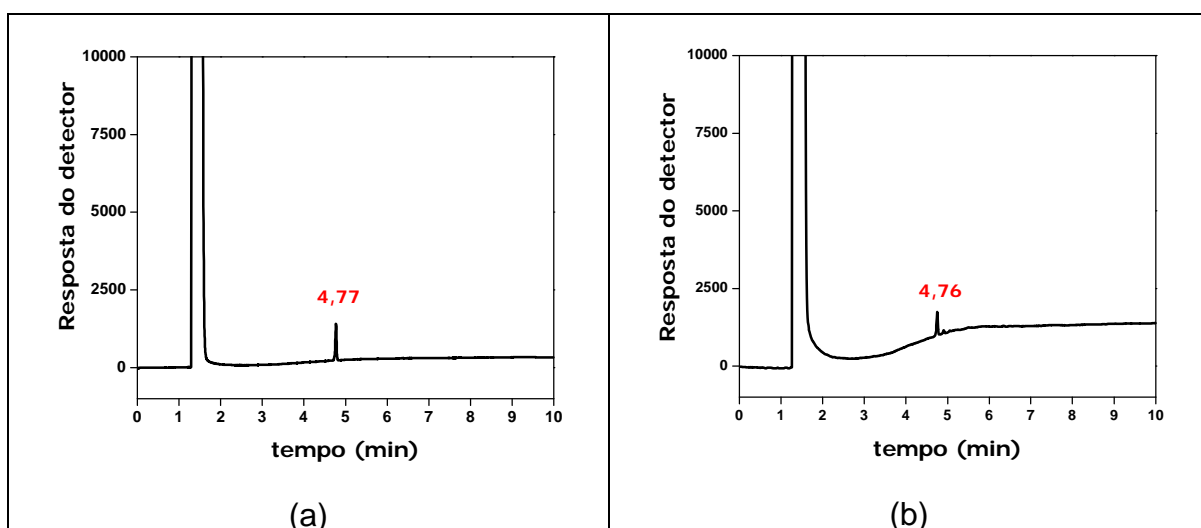


Figura 17: Cromatogramas típicos (a) de uma solução padrão de Dissulfoton a $40,0 \mu\text{g mL}^{-1}$, onde o tempo de retenção do pico do Dissulfoton é de 4.77 min e de uma amostra (b) após eluição pelo sistema de “cleanup” montado, empregando como eluente a mistura de metanol:hexano (1:1), ($t_R = 4,76$ min).

Os resultados que mostraram as eficiências de recuperação do Dissulfoton, empregando diferentes solventes na eluição pelo sistema de colunas de sílica-gel e Florisil, montadas em série, estão apresentados na Tabela 13.

Tabela 13: Avaliação de diferentes eluentes na recuperação do Dissulfoton, empregando um sistema em série de colunas contendo sílica gel e Florisil.

Eluentes	[DST] / $\mu\text{g mL}^{-1}$	% Recuperação (s)	
Metanol	0,21	0,23	($\pm 0,02$)
Hexano	ND	ND	
Clorofórmio	ND	ND	
Metanol:Hexano (2:1)	87,4	93,9	($\pm 0,7$)
Metanol:Hexano (1:1)	87,0	93,4	($\pm 0,7$)
Metanol:Hexano (1:2)	74,7	80,2	($\pm 1,4$)
Metanol:Hexano (1:3)	42,9	46,1	($\pm 1,5$)

ND = não detectado, s = desvio padrão.

De acordo com os dados da Tabela 13, os solventes que apresentaram melhores resultados na eluição de 100,0 μL de Dissulfoton pelo sistema de colunas em série (ver Figura 12, pág. 65), foram as misturas de metanol e hexano. Com as misturas de metanol:hexano (2:1) e (1:1), 93,9 e 93,4 %, respectivamente, do Dissulfoton aplicado inicialmente, foi recuperado. Os demais eluentes não apresentaram esta mesma eficiência. Empregando o clorofórmio ou o hexano, não foi possível detectar o Dissulfoton nos extratos, possivelmente, devido à baixa solubilidade do Dissulfoton nestes solventes, o que torna inviável a utilização destes solventes para a remoção do surfactante da amostra, apesar de apresentarem ótimos resultados na retenção do Triton X-114.

Pela análise dos dados das tabelas 12 e 13, observa-se que a mistura de metanol:hexano (1:1) foi o eluente que proporcionou a melhor combinação; para a retenção do Triton X-114 e recuperação do Dissulfoton. Portanto, esta mistura será o eluente empregado nas demais etapas do experimento.

3.3.2. Avaliação do adsorvente

Empregando a mistura metanol:hexano (1:1) avaliaram-se diferentes adsorventes; sílica-gel, Florisil, carvão ativado e celulose; e também cartuchos de C₈ e C₁₈, na retenção do Triton X-114 e na recuperação do Dissulfoton.

3.3.2.1. Avaliação da retenção do Triton X-114

Os extratos obtidos após a eluição de 100,0 µL de surfactante por metanol:hexano (1:1) através dos diferentes adsorventes avaliados foram analisados por espectrofotometria de UV/Vis, no comprimento de onda de máxima absorção, $\lambda_{\text{máx.}} = 275$ nm. As percentagens do Triton X-114 retido nos diferentes adsorventes estão apresentados na Tabela 14.

Tabela 14: Avaliação de diferentes adsorventes na retenção do Triton X-114, empregando a mistura de metanol:hexano (1:1) como eluente.

Adsorventes		[Triton] /mmol L ⁻¹	% retida	(s)
Sílica-gel	(0,063-0,200 mm)	2,19	73,0	(± 3,0)
Sílica-gel	(0,040-0,063 mm)	1,38	82,9	(± 6,0)
Florisil		3,87	52,2	(± 0,9)
Carvão ativado		1,16	85,6	(± 6,2)
Celulose microcristalina		2,08	74,4	(± 0,7)
Sílica-gel / Florisil		0,40	95,2	(± 0,5)
*Cartucho C ₈		6,77	16,4	(± 0,3)
*Cartucho C ₁₈		6,50	19,8	(± 0,5)

*Cartuchos vendidos comercialmente para extração em fase sólida. (s) = desvio padrão.

De acordo com os dados da Tabela 14, os adsorventes que proporcionaram a maior retenção do Triton X-114, foi a sílica-gel e o Florisil, dispostos em colunas em série; obtendo 95,2 % de retenção do surfactante. O carvão ativado e a sílica (0,040-0,063 mm) também apresentaram bons

resultados na retenção do Triton X-114. Entretanto, a vazão do eluente por estes adsorventes foi muito baixa, devido ao tamanho das suas partículas e do alto grau de empacotamento dos mesmos. A sílica (0,063-0,200 mm) e a celulose retiveram acima de 70 % do surfactante, porém o alto grau de empacotamento da celulose dificulta a sua utilização no processo de remoção do surfactante, devido à baixa vazão do eluente. Apesar da sílica (0,063-0,200 mm) reter menor quantidade de Triton X-114 que os demais adsorventes já citados, o tamanho de seus poros permite vazões maiores do eluente, tornando o processo mais rápido. A combinação em série deste adsorvente com o Florisil, que também apresenta uma alta vazão do eluente, foi ideal para a obtenção de um processo rápido e eficiente na remoção do Triton X-114 do material extraído.

Os cartuchos comerciais recheados com C_8 e C_{18} apresentaram resultados muito baixos, com aproximadamente 20 % do surfactante retido. A pequena quantidade dos adsorventes nos cartuchos, apenas 500 mg, e a fraca interação destes com a camada externa das micelas (região hidrofílica) devem ter sido os principais motivos da baixa retenção do Triton X-114.

3.3.2.2. Avaliação da recuperação do Dissulfoton

O carvão ativado, a sílica-gel (0,040-0,063 mm) e a disposição em série de sílica-gel e Florisil, foram os adsorventes que proporcionaram os melhores resultados na retenção do Triton X-114, empregando como eluente a mistura de metanol:hexano (1:1). Foi avaliada também a eficiência destes adsorventes na recuperação do Dissulfoton, empregando o mesmo eluente. Os resultados das análises dos eluatos por cromatografia gasosa estão dispostos na Tabela 15.

Tabela 15: Eficiência de diferentes adsorventes na recuperação do Dissulfoton, empregando a mistura de metanol:hexano (1:1) como eluente.

Adsorventes		[DST]/mg mL ⁻¹	% recuperação (s)	
Sílica-gel	(0,063-0,200 mm)	89,3	95,9	(± 1,2)
Sílica-gel	(0,040-0,063 mm)	79,4	85,3	(± 1,3)
Florisil		94,3	101,3	(± 2,8)
Carvão ativado		ND	ND	
Celulose microcristalina		64,3	69,1	(± 3,3)
Sílica-gel / Florisil		87,0	93,4	(± 0,7)
Cartucho C8*		49,7	53,4	(± 1,1)
Cartucho C18*		27,2	29,2	(± 0,5)

ND = não detectado, s = desvio padrão.

Pelos dados da Tabela 15 observa-se que a sílica-gel de maior tamanho de poro, (0,063-0,200 mm), o Florisil e a disposição em série destes dois adsorventes, foram os mais eficientes na recuperação do Dissulfoton, obtendo 95,9; 101,3 e 93,4 %, respectivamente. Porém, o Florisil e a sílica-gel que separadamente obtiveram bons resultados na recuperação do Dissulfoton, não se apresentaram tão eficientes na retenção do Triton X-114. Os demais adsorventes avaliados apresentaram recuperações entre 29 e 85 %, sendo que quando se empregou o carvão ativado como adsorvente, não foi possível detectar o Dissulfoton no extrato. Esta forte retenção do Dissulfoton no carvão ativado deve-se, principalmente, à lenta eluição pela coluna contendo este adsorvente, ao alto grau de empacotamento do carvão e a forte interação do composto com os sítios do carvão.

A melhor combinação dos resultados, retenção do Triton X-114 e recuperação do Dissulfoton, para os diferentes adsorventes avaliados foi para a disposição de colunas em série contendo sílica-gel e Florisil. Portanto, o sistema utilizado para a remoção do Triton X-114 da fase rica em surfactante, contendo o Dissulfoton extraído da amostra de água, foi composto de duas colunas, dispostas em série; a primeira contendo sílica-gel (0,063-0,200 mm) e a segunda contendo Florisil. O eluente empregado foi a mistura de metanol:hexano (1:1).

Além do emprego de colunas contendo adsorventes diversos, como a própria sílica e o Florisil, outros poucos métodos são citados na literatura para a remoção de surfactantes do material extraído, como a utilização de membranas (FROSCHL et al., 1997; MARTÍNEZ et al., 2000 e PINTO et al., 1994). Outro método foi citado por SIRIMANNE et al. (1996), onde os autores adicionaram acetonitrila à fase rica em Triton X-100, resultando na precipitação do surfactante. Os autores injetaram o sobrenadante diretamente no sistema cromatográfico a líquido, obtendo bons resultados de recuperação.

Durante a obtenção do sistema para a remoção do Triton X-114, através das colunas, foi avaliada também a possibilidade de remoção do Triton X-114 pela sua precipitação com acetonitrila na fase rica em surfactante, através da adição de 200 μ L do solvente. Porém não foi obtido sucesso, pois não houve uma precipitação perceptível do surfactante. Através da análise por espectrofotometria UV/Vis., foi encontrado mais de 90 % do Triton X-114 na parte superior do extrato, considerada como sobrenadante.

3.4. Avaliação da concentração de Triton X-114 na extração do Dissulfoton na água

Para avaliar a eficiência da extração do Dissulfoton pelo método do ponto nuvem, diferentes concentrações de Triton X-114; de 0,2 a 2,0 % (m/v); foram testadas na recuperação do Dissulfoton das amostras de água. Os resultados encontrados estão dispostos na Figura 18.

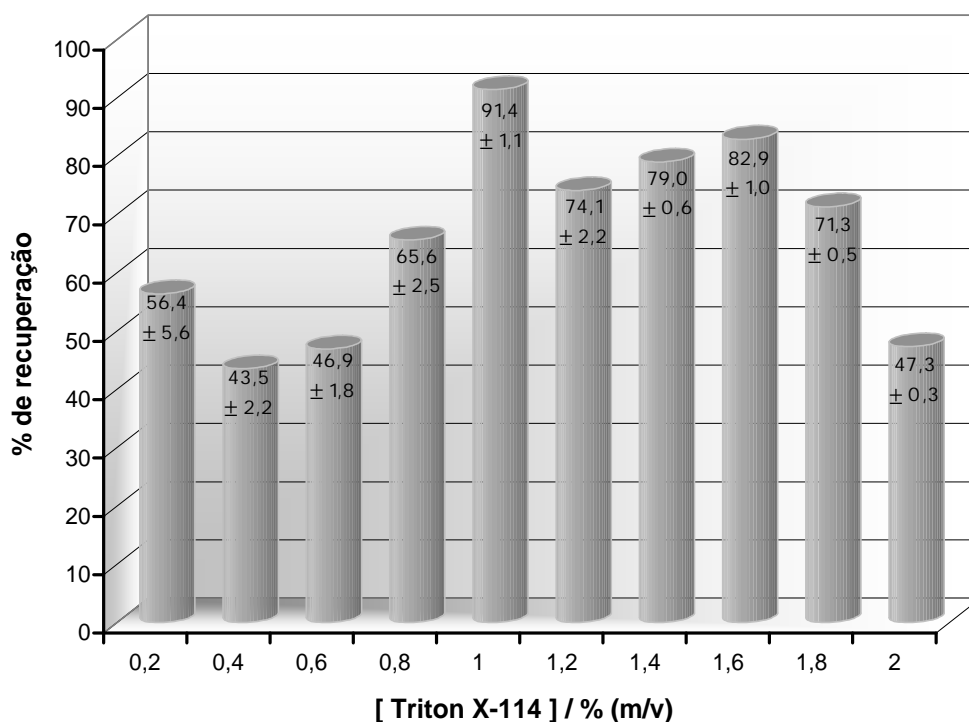


Figura 18: Eficiência de diferentes concentrações de Triton X-114, em % (m/v), na recuperação do Dissulfoton de amostras de água.

Pela análise dos resultados apresentados na Figura 18, pode-se observar que a percentagem de recuperação do Dissulfoton é baixa para as concentrações mais baixas de surfactante e aumenta até atingir um máximo de 91,4 %, em 1,0 % (m/v) de Triton X-114, voltando a diminuir para as concentrações mais elevadas de Triton X-114.

Possivelmente, as baixas percentagens de recuperação do Dissulfoton obtidas pelas concentrações mais baixas de Triton X-114, pode estar relacionada com o fato de que a quantidade de surfactante na amostra tenha sido insuficiente para a extração de todo o Dissulfoton presente no meio aquoso. Para as concentrações mais elevadas de Triton X-114, as fases ricas em surfactante são mais volumosas, e pode ser que estas concentrações sejam além da necessária para a extração do Dissulfoton que está presente na água. Levando em consideração que somente 100,0 μ L da fase rica em Triton X-114 são empregados nas etapas seguintes do experimento, a homogeneização do volume desta fase torna-se mais difícil, à medida que este volume aumenta, aumentando também as margens de erro nas medidas de recuperação do Dissulfoton.

Os resultados obtidos estão dentro dos valores de concentração de Triton X-114 encontrados na literatura, onde diferentes concentrações do surfactante são empregadas para extração e pré-concentração dos mais diversos compostos, obtendo bons resultados de recuperação. Por exemplo, MARTÍNEZ et al. (1996) empregaram 0,25 % (m/v) de Triton X-114 para a extração dos fungicidas Folpet, Captan e Captafol de amostras de água, e obtiveram recuperações destes compostos acima de 86 %.

PINTO et al. (1994) empregaram uma concentração de 0,1 % (m/v) de Triton X-114 para a extração ponto nuvem de alguns hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HPA) de diferentes amostras de águas, e obtiveram resultados que ficaram na faixa de 62-110 % de recuperação para tais compostos. Já FERRER et al. (1996) empregaram uma concentração de Triton X-114 de 1,0 % (m/v) para a recuperação de vários HPA em amostras de águas, obtendo resultados na faixa de 30 a 110 % de recuperação, que variaram de acordo com o HPA.

3.5. Avaliação dos fatores que afetam a eficiência da extração ponto nuvem do Dissulfoton na água

Alguns fatores, tais como pH, força iônica e a presença de outros surfactantes, podem afetar a eficiência da extração ponto nuvem. A influência destes fatores foi, então, avaliada na eficiência da extração ponto nuvem do Dissulfoton de água. Cada parâmetro foi avaliado individualmente.

3.5.1. pH

O pH da solução é um importante fator nas extrações ponto nuvem, envolvendo analitos que possuem em sua estrutura uma parte ácida ou básica, ou que sejam capazes de se ionizar com alteração do pH do meio. A forma iônica de uma molécula neutra, formada após a desprotonação de um ácido fraco (ou protonação de uma base fraca), normalmente não interage com o agregado micelar tão fortemente quanto a sua forma neutra. O resultado disto,

é a extração de apenas uma pequena quantidade da forma ionizada do analito. O efeito da variação do pH da amostra de água na extração ponto nuvem do Dissulfoton está apresentado na Figura 19. O experimento foi realizado em triplicatas, sendo que no gráfico estão representados os valores médios das medidas.

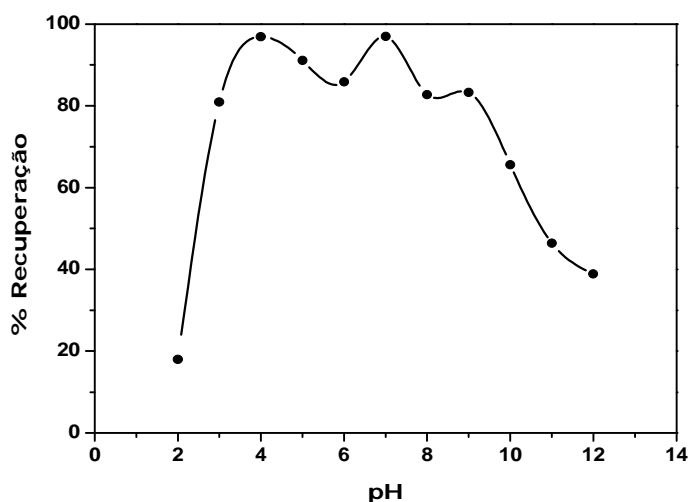


Figura 19: Percentagem de recuperação do Dissulfoton pela técnica ponto nuvem em função do pH da amostra.

De acordo com os resultados da Figura 19, observa-se que há dois picos de máxima percentagem de recuperação do Dissulfoton, aproximadamente 97 %, em pH 4,0 e 7,0. De uma forma geral, nas condições mais extremas de pH, 2 e 12, a recuperação do Dissulfoton cai consideravelmente para valores inferiores a 40 %. Provavelmente nestes valores de pH ocorre ionização da molécula de Dissulfoton, resultando na baixa recuperação do inseticida. Entretanto, não foi encontrados valores de pKa para o Dissulfoton na literatura. Nota-se ainda que em soluções de pH baixo a percentagem de recuperação é superior a 80 %, diferentemente das soluções de pH alto, onde a recuperação diminuiu com o aumento do valor de pH. Segundo o EPA (PESTICIDE DOCUMENTS, 2002), o Dissulfoton sofre hidrólise em meio alcalino, já em meio ácido apresenta uma maior estabilidade, o que pode explicar o comportamento da recuperação do Dissulfoton em função da variação do pH da amostra apresentado na Figura 19.

Outros trabalhos publicados também avaliaram o efeito da variação do

pH na extração ponto nuvem de outros compostos orgânicos. REVIA e MAKHARADZE (1999), por exemplo, avaliaram o efeito do pH no coeficiente de distribuição de ácidos fúlvicos e húmicos, empregando a extração ponto nuvem por Triton X-100 a 3,0 % (m/v), e observaram que o coeficiente de distribuição (K_d) dos compostos aumentou com a redução do valor do pH, principalmente, quando se atinge o valor de pKa dos dois compostos (pKa 4,15).

O pH da solução não possui efeito significativo sobre as moléculas de surfactantes não-iônicos. Portanto, a possibilidade da variação da eficiência de extração do Dissulfoton estar relacionado com o efeito do pH na molécula do Triton X-114, é pequena.

3.5.2. Força iônica

Um outro fator importante que pode afetar a formação do ponto nuvem de surfactantes não-iônicos é a força iônica do meio aquoso. Diversos autores mostram que a adição de um agente salino na amostra, diminui a temperatura de ponto nuvem de surfactantes não-iônicos, quando da adição de eletrólitos “salting-out”, como é o caso do cloreto de sódio (HINZE e PRAMAURO, 1993; FRANKEWICH e HINZE, 1994; GU e GÓMEZ, 1995; QUINA e HINZE, 1999; etc.). A influência da força iônica foi avaliada na determinação da eficiência de extração de $100,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ de Dissulfoton de água na presença de diferentes concentrações de NaCl. Os resultados obtidos estão dispostos na Tabela 16.

Tabela 16: Efeito da concentração de NaCl na eficiência da extração ponto nuvem de Dissulfoton de água, empregando Triton X-114.

[NaCl] / mol L ⁻¹	[DST] / mg mL ⁻¹	% de recuperação (s)
0,00	87,0	93,4 (± 0,7)
0,05	80,6	86,3 (± 0,2)
0,10	93,8	100,4 (± 2,0)
0,50	93,7	100,3 (± 5,1)
1,00	100,4	107,5 (± 0,8)

s = desvio padrão, DST = Dissulfoton.

Observa-se que, pelos dados da Tabela 16, a concentração de cloreto de sódio na amostra, de uma forma geral, influencia positivamente a extração ponto nuvem do Dissulfoton de água. Na Figura 17 foi mostrado que a 1,0 % (m/v) de Triton X-114, cerca de 91,4 % de Dissulfoton foi recuperado da amostra de água, sem a presença de qualquer aditivo. Empregando esta mesma concentração de surfactante, e adicionando diferentes concentrações de NaCl, as percentagens de recuperação do Dissulfoton foram alteradas. Onde, a recuperação do Dissulfoton aumentou com o aumento da força iônica, obtendo valores próximos a 100 % a partir da concentração de 0,1 mol L⁻¹ de NaCl.

Em seus experimentos, HILLER et al. (1996) observaram o efeito da adição de NaCl no número de agregação, *N*, do Triton X-114 e concluíram que o NaCl possui um efeito significativo no ponto nuvem deste surfactante. Após a ocorrência do fenômeno do ponto nuvem, observaram altos valores de número de agregação (*N* > 200), sendo que uma solução do Triton X-114 contém valores de *N* inferiores a 120. Isto significa um aumento no tamanho da agregado micelar do Triton X-114, acelerando o processo de separação das fases e aumentando a capacidade da micela em solubilizar quantidades maiores de solutos orgânicos em seu interior.

A explicação para este fenômeno pode ser mais bem compreendida pelos resultados de MATERNA e SZYMANOWSKI (2002) que avaliaram a influência de eletrólitos “salting-out” na separação de fenóis de água, pelo método do ponto nuvem, empregando o surfactante monometil poli(oxietileno glicol). Estes autores sugerem que os eletrólitos “salting-out” (NaCl) quebram efetivamente as ligações de hidrogênio entre as moléculas de água e a cadeia de polioxietileno e as moléculas do fenol. Após a separação das fases, entretanto, os eletrólitos permanecem na fase aquosa, não afetando as ligações de hidrogênio presentes na fase rica em surfactante.

Este fato pode explicar o aumento da percentagem de extração ponto nuvem do Dissulfoton com o aumento da força iônica do meio, aumentando a capacidade da micela em solubilizar quantidades maiores do Dissulfoton em seu interior. Portanto, será acrescentada à amostra fortificada com Dissulfoton,

uma quantidade de $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ de NaCl, para aumentar a eficiência do método de extração ponto nuvem.

Este comportamento, porém, não pode ser generalizado para qualquer espécie orgânica, e dependerá também do surfactante empregado. Haja vista o estudo realizado por FRANKEWICH e HINZE (1994), onde não observaram alteração significativa na extração ponto nuvem de fenol e 4-clorofenol de água, empregando uma concentração de $0,1 \text{ mol L}^{-1}$ de NaCl e o surfactante não iônico éter monoctil poli (oxietileno glicol) – C₈E₃.

3.5.3. Outros surfactantes

Outro parâmetro avaliado na extração ponto nuvem do Dissulfoton foi o efeito da adição de um outro surfactante na solução de Triton X-114. Os surfactantes adicionados foram o não-iônico Triton X-100 e o aniônico dodecil sulfato de sódio, SDS. As misturas destes surfactantes com o Triton X-114 corresponderam a uma concentração final na amostra de 1,0 % (m/v). As concentrações de Triton X-100 e de SDS nas misturas foram inferiores aos seus valores de cmc, ou seja; $8,5$ e $0,25 \text{ mmol L}^{-1}$, respectivamente. Desta forma, a quantidade destes dois surfactantes na amostra é insuficiente para a formação de micelas, e conseqüentemente, não há separação de fases causadas pelo Triton X-100 ou pelo SDS. Os surfactantes participam apenas como aditivos nas soluções de Triton X-114. As misturas dos surfactantes foram preparadas segundo um planejamento experimental. Usando essas misturas na extração do Dissulfoton de uma solução aquosa foram obtidos resultados que estão representados na Tabela 17.

Tabela 17: Rendimento de extração do Dissulfoton de água, empregando a metodologia de extração ponto nuvem, segundo o planejamento de misturas de surfactantes.

Amostras	Triton X-114	Triton X-100	SDS	% de Extração
1	0,1000 (1)	0,0000 (0)	0,0000 (0)	90,4
2	0,0900 (0)	0,0100 (1)	0,0000 (0)	0,0
3	0,0900 (0)	0,0000 (0)	0,0100 (1)	0,0
4	0,0900 (0)	0,0050 (1/2)	0,0050 (1/2)	24,7
5	0,0950 (1/2)	0,0050 (1/2)	0,0000 (0)	38,8
6	0,0950 (1/2)	0,0000 (0)	0,0050 (1/2)	24,9
7	0,0933 (1/3)	0,0033 (1/3)	0,0033 (1/3)	26,7
8	0,0966 (2/3)	0,0017 (1/6)	0,0017 (1/6)	40,3
9	0,0917 (1/6)	0,0066 (2/3)	0,0017 (1/6)	11,3
10	0,0917 (1/6)	0,0017 (1/6)	0,0066 (2/3)	10,2

O gráfico de superfície da Figura 20 mostra os resultados apresentados na Tabela 17.

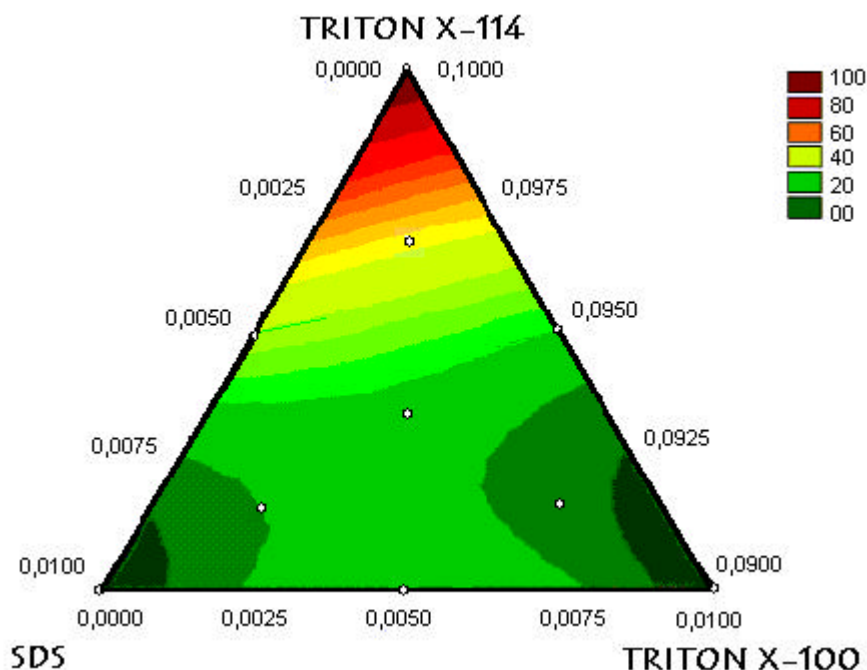


Figura 20: Eficiência da mistura de surfactantes na extração ponto nuvem do Dissulfoton de água, segundo o planejamento de misturas de surfactantes.

De acordo com os resultados contidos na Figura 20, as percentagens de extração mais elevadas do Dissulfoton de água (região vermelha) foram obtidas para as soluções contendo o máximo de Triton X-114 nas misturas, ou seja, que apresentavam quantidades mínimas ou nenhuma de SDS e Triton X-100. As misturas que apresentaram as mais baixas recuperações de Dissulfoton, região verde escuro, foram aquelas com as maiores proporções de SDS ou de Triton X-100.

Durante o aquecimento das amostras, para a formação do ponto nuvem, observou-se que as misturas com quantidades mais elevadas de SDS ou Triton X-100, proporcionavam um turvamento menos intenso nas amostras do que aquelas que apresentavam proporções menores destes dois surfactantes. Logo, a presença de outro surfactante na solução de Triton X-114 afeta o ponto nuvem, que conseqüentemente, afeta a recuperação do Dissulfoton de água, e como visto, de forma negativa, reduzindo a eficiência de extração da técnica.

Quanto ao efeito da presença do Triton X-100 em mistura com o Triton X-114, pode-se dizer que estas duas substâncias são idênticas, exceto pelo fato do Triton X-100 conter, em média, cerca de 1,5 unidades de óxido de etileno a mais por molécula que o Triton X-114, e apresentar ponto nuvem em torno de 65 °C, enquanto que do Triton X-114 é em torno de 25 °C. Estudos mostram que a temperatura de ponto nuvem, para uma série de Tritons, está relacionada com o comprimento da cadeia de óxido de etileno. Quanto maior o comprimento da cadeia, mais elevado será o ponto nuvem do respectivo Triton (TOERNE et al., 2003).

GU e GÓMEZ (1995) determinaram a temperatura de ponto nuvem de uma mistura de Triton X-100 e Triton X-114 e observaram que o ponto nuvem desta mistura é tão próximo do ponto nuvem do Triton X-114, quanto menor for a quantidade de Triton X-100 presente, e vice-versa.

Nesse trabalho, a quantidade de Triton X-100 misturada ao Triton X-114 foi baixa, porém a formação de micelas de Triton X-114 contendo algumas moléculas de Triton X-100 pode ter elevado a temperatura de ponto nuvem do Triton X-114. Como resultado, a separação total das fases pode não ter sido alcançada, ficando uma quantidade maior de Dissulfoton na fase aquosa, por não ter se separado durante o aquecimento. Assim a percentagem de recuperação do Dissulfoton de água foi diminuindo com a adição de

quantidades maiores de Triton X-100 na amostra.

Já para misturas contendo surfactantes não-iônicos e iônicos o efeito pode ser mais drástico. Segundo GU e GÓMEZ (1995) os surfactantes iônicos alteram a temperatura de ponto nuvem dos surfactantes não-iônicos, quando estes são adicionados à amostra. Estes autores mostraram que a adição de pequenas quantidades de surfactantes iônicos (aniônicos ou catiônicos) tem um efeito drástico na temperatura de ponto nuvem dos surfactantes não-iônicos. Por exemplo, a adição de 1 mmol L^{-1} de SDS elevará o ponto nuvem de uma solução de Triton X-114 a 1,0 % (m/v), de 25 °C para 74 °C. Esta elevação na temperatura está relacionada com a formação de micelas mistas. Como as moléculas iônicas do surfactante são adicionadas ao sistema, parte delas entra nas micelas não-iônicas e carregam a superfície da micela. Este fator aumenta a repulsão micela-micela, formando micelas mais hidrofílicas. A redução da capacidade de extração do Dissulfoton, pela adição de SDS ao Triton, pode estar relacionada com a diminuição da capacidade da micela em solubilizar o Dissulfoton, reduzindo a percentagem de recuperação do inseticida de água.

3.6. Validação da metodologia de extração ponto nuvem do Dissulfoton na água

A validação de um método consiste em estabelecer experimentalmente as suas características de desempenho e suas limitações, com o objetivo de constatar se o desempenho do método atende às especificações para o uso pretendido (NATA, 1997, citado por CARLOS, 2002).

Para validação do método de extração ponto nuvem, foram avaliados os seguintes parâmetros de desempenho: faixa de aplicação, linearidade de resposta, limites de detecção e quantificação, precisão (repetibilidade e precisão intermediária) e exatidão.

3.6.1. Faixa de aplicação e linearidade de resposta

A faixa de aplicação de um método é o intervalo entre os níveis de maior e de menor concentração da substância em estudo, capaz de determinar as concentrações das amostras, sob as condições estabelecidas para o experimento, com precisão, exatidão e linearidade (GREEN, 1996). O estudo da linearidade é a busca na obtenção de resultados em proporção direta às concentrações da substância analisada (LEITE, 1998).

A faixa de aplicação e a linearidade de resposta foram determinadas submetendo soluções padrão de Dissulfoton ao procedimento de análise. A curva analítica para o inseticida foi construída relacionando as concentrações do Dissulfoton, em $\mu\text{g mL}^{-1}$, com as áreas dos picos correspondentes no cromatograma.

A linearidade de resposta do método, na faixa de aplicação estudada, é verificada na Figura 21, onde está apresentada a curva analítica do Dissulfoton.

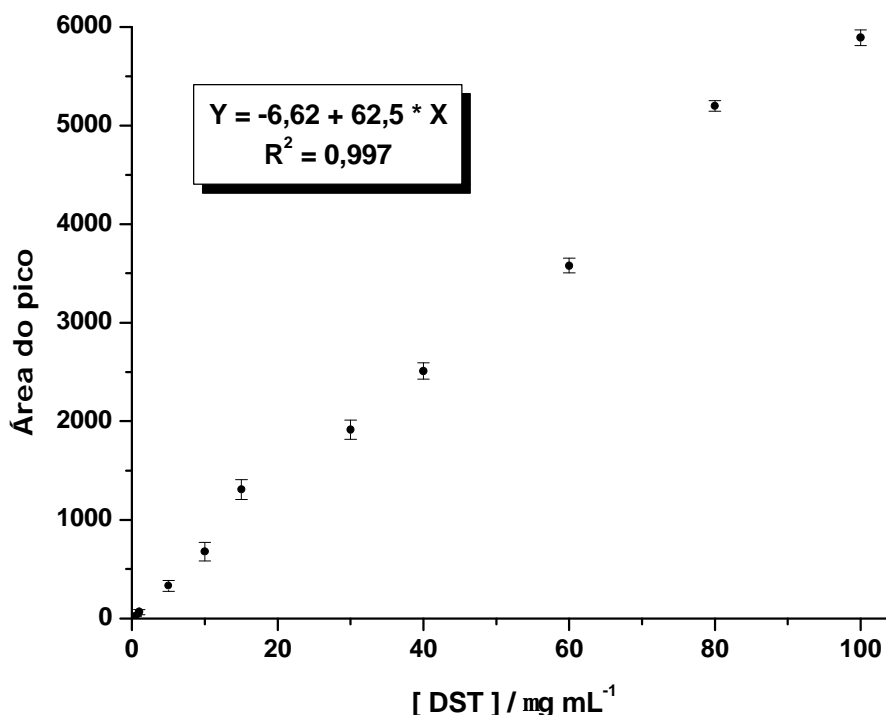


Figura 21: Determinação da linearidade de resposta do método de análise do Dissulfoton.

Como pode ser observado nos dados experimentais, há uma boa linearidade de resposta na faixa de 0,5 a 100,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$ do Dissulfoton. O coeficiente de regressão linear (R^2), da curva analítica da Figura 21, obtido para o Dissulfoton foi de 0,997, o que comprova a boa linearidade na faixa de aplicação estudada.

3.6.2. Limite de detecção e limite de quantificação

Os limites de detecção e quantificação para o Dissulfoton foram determinados através da injeção de 1,0 μL de soluções padrão do inseticida, em concentrações decrescentes, no sistema cromatográfico. Para a determinação do limite de detecção considerou-se a concentração da solução padrão que proporcionou um sinal analítico duas vezes maior que o sinal referente à linha de base do cromatograma. Para a determinação do limite de quantificação, este valor foi igual a dez vezes o sinal da linha de base.

O limite de detecção do método, para o Dissulfoton, foi de 31,25 $\mu\text{g L}^{-1}$, enquanto que o limite de quantificação foi de 156,25 $\mu\text{g L}^{-1}$. O alto fator de pré-concentração da técnica de extração ponto nuvem torna o método bastante sensível, para a determinação de Dissulfoton, mesmo empregando o detector de ionização em chama (DIC), que, por ser um detector quase universal, apresenta baixa detectabilidade para os compostos (LANÇAS, 1993).

3.6.3. Precisão

A precisão de um método é a concordância entre os vários valores experimentais obtidos. Quanto mais próximos entre si estiverem, maior será a precisão quanto menor for o desvio das medidas. As medidas de precisão podem ser realizadas sob condições de repetibilidade, ou seja, condições mais homogêneas possíveis: mesma amostra; mesmo analista, mesmo equipamento, mesmo dia; ou de precisão intermediária: mesma amostra, diferentes analistas, ou diferentes equipamentos, ou diferentes dias, ou diferentes técnicas, etc. (LEITE, 1998).

Neste trabalho avaliou-se a precisão do método de extração ponto nuvem sob condições de repetibilidade e precisão intermediária.

3.6.3.1. Repetibilidade

A precisão do método de extração ponto nuvem do Dissulfoton de águas, sob condições de repetibilidade, foi avaliada pelos resultados de seis análises de uma solução padrão de Dissulfoton a $100,0 \mu\text{g mL}^{-1}$, sob as mesmas condições. Ou seja, empregando a mesma solução padrão, mesmo operador, mesmo dia e mesmo equipamento, a repetibilidade foi avaliada através do desvio padrão e do erro relativo das medidas em relação à média das áreas dos picos do Dissulfoton no cromatograma.

A área média do pico do Dissulfoton e o desvio padrão, encontrados após as análises, foram de 1045 ± 35 . O erro relativo correspondente foi de 3,4 %. Em se tratando de um método instrumental a repetibilidade é boa. Usualmente a repetibilidade e a precisão intermediária, parâmetros estatísticos, estão associados a $1 - \alpha = 0,95$ (LEITE, 1998). Ou seja, este valor está dentro da faixa aceitável, de $\alpha = 5 \%$.

3.6.3.2. Precisão intermediária

A precisão intermediária do método de extração ponto nuvem foi avaliada através dos resultados obtidos da análise de soluções padrão de Dissulfoton em diferentes dias. Para tal, foi preparada uma solução padrão de Dissulfoton a $15,0 \mu\text{g mL}^{-1}$, e analisada em três diferentes dias. O teor de cada amostra padrão (valor teórico) e os teores determinados pelo método (valor experimental), com os respectivos erros relativos estão apresentados na Tabela 18.

Tabela 18: Avaliação da precisão intermediária do método de extração ponto nuvem do Dissulfoton de água, através da comparação de valores teóricos e experimentais de soluções padrão de Dissulfoton, em três diferentes dias.

Amostra	Data	Valor teórico ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Valor experimental (mg mL^{-1})	Erro relativo %
DST	20/04/03	15,0	$14,99 \pm 0,73$	0,1
DST	24/04/03	15,0	$14,67 \pm 0,44$	2,2
DST	26/04/03	15,0	$14,26 \pm 0,08$	4,9

DST = Dissulfoton

Os teores de Dissulfoton encontrados pelo método de extração ponto nuvem, refletem, pelos seus baixos valores de desvio padrão, boa precisão. A precisão intermediária do método avaliada pela comparação com o valor teórico da concentração da solução padrão do Dissulfoton a $15,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ é bastante satisfatória. O maior erro relativo encontrado foi inferior a 5 %.

3.6.4. Exatidão

A exatidão de um método refere-se à proximidade do valor medido ao valor verdadeiro e está geralmente associada à avaliação das taxas de recuperação de amostras contendo quantidades conhecidas do padrão e à análise de materiais de referência certificados (HUBER, 1998).

A avaliação da recuperação do método de extração ponto nuvem do Dissulfoton de água foi realizada, comparando os resultados da metodologia proposta com os resultados do método de extração líquido-líquido otimizado no capítulo 1 desta tese.

3.6.4.1. Comparação da eficiência dos métodos de extração ponto nuvem e extração líquido-líquido do Dissulfoton na água

Na comparação dos resultados da extração do Dissulfoton de água, entre o método de extração ponto nuvem, empregando Triton X-114, e o

método de extração líquido-líquido, otimizado no capítulo 1, foram avaliadas as eficiências de extração de uma solução padrão a $100,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ de Dissulfoton em água, além da linearidade de resposta e dos limites de detecção e quantificação dos métodos. Foram comparados também com os resultados obtidos para o método de extração líquido-líquido modificado, onde foi alterado o volume de solvente empregado na análise, de 30,0 para 10,0 mL; e com os resultados de uma estimativa do método de extração líquido-líquido, com alteração do volume de amostra para 40,0 mL e do solvente para 10,0 mL. Os resultados que comprovam a eficiência do método de extração ponto nuvem frente à extração líquido-líquido, estão apresentados na Tabela 19.

Tabela 19: Comparação das eficiências de extração, entre os métodos de extração ponto nuvem e extração líquido-líquido.

Métodos	V_{AM.} / mL	V_{SOLV.} / mL	Solvente	% recuperação
* ELL	10	30	Diclorometano	90,8
ELL	10	10	Diclorometano	62,6
** ELL	40	10	Diclorometano	29,4
EPN	40	10	Metanol:Hexano (1:1)	93,8

(*) = método otimizado; (**) = valor estimado; ELL = extração líquido-líquido e EPN = extração ponto nuvem

Pode ser observado pelos dados da Tabela 19, que o método de extração ponto nuvem (EPN) apresenta uma eficiência de extração do Dissulfoton de água superior ao método convencional otimizado (ELL), 93,8 e 90,8 %, respectivamente. Além disso, a EPN apresenta como principal vantagem frente a ELL, o volume de solvente utilizado durante a execução do experimento. Na EPN foram empregados 10 mL de solvente por amostra, enquanto que na ELL a quantidade para o mesmo volume de amostra foi três vezes maior, 30 mL. Outra vantagem da metodologia proposta foi a quantidade de amostra submetida ao procedimento, 40,0 mL, sendo que este volume é independente da quantidade de solvente. Somente 100,0 μL da fase rica em surfactante formada são empregados nas etapas seguintes, onde se emprega o solvente na eluição pelo sistema de “cleanup” para a remoção do surfactante. Enquanto que a ELL utiliza 10,0 mL de amostra e o aumento desse volume,

requer o aumento da quantidade de solvente, para manter uma boa eficiência de extração. Esta dependência pode ser comprovada pela equação:

$$\%E = \frac{Dx100}{D + \frac{V_{FA}}{V_{FO}}}$$

Onde: D é o coeficiente de partição do soluto entre a fase aquosa e a fase orgânica, V_{FA} é o volume de amostra e V_{FO} é o volume de solvente empregado para a extração.

Através desta equação foi estimada a percentagem de extração de Dissulfoton obtida pelo método de ELL, empregando 40,0 ml da amostra e apenas 10 mL de solvente, mesmas condições da EPN, e o resultado foi uma percentagem de extração de apenas 29,4 % muito inferior aos 93,8 % obtidos pela EPN. Para se obter uma percentagem de recuperação de Dissulfoton pelo método de ELL, equivalente à obtida pela EPN, empregando 40,0 mL de amostra, é necessário um volume de 120 mL de solvente, em três extrações consecutivas de 40 mL cada, um valor 12 vezes superior ao empregado na EPN. Este valor também foi estimado pelas equações.

Foram comparados também os parâmetros de linearidade de resposta e de limite de detecção entre os métodos de ELL e EPN, para análise do Dissulfoton, Tabela 20.

Tabela 20: Comparação dos parâmetros de linearidade de resposta, limite de detecção (LD), e limite de quantificação (LQ) entre os métodos de extração ponto nuvem e extração líquido-líquido.

Métodos	Linearidade de resposta (R^2)	LD (mg mL^{-1})	LQ (mg mL^{-1})
ELL	0,995	0,500	2,500
EPN	0,997	0,031	0,156

ELL = extração líquido-líquido e EPN = extração ponto nuvem.

Os coeficientes de determinação (R^2) das técnicas são comparáveis, mostrando boa linearidade de respostas de ambas, porém a faixa de aplicação da EPN é mais ampla, de 0,5 a 100,0 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Os limites de detecção e de quantificação da EPN são muito menores, de 0,031 e 0,156 $\mu\text{g mL}^{-1}$,

respectivamente, mostrando boa detectabilidade da metodologia. Principalmente, porque o método apresenta um alto fator de pré-concentração de aproximadamente 40 vezes.

4. Conclusões

A utilização de quantidades excessivas de solventes orgânicos, pelas técnicas convencionais de extração; como a extração líquido-líquido, líquido-sólido, etc.; além de elevar o custo das análises, causam um impacto ambiental muito grande, devido a geração de lixo orgânico durante o procedimento. Como resultado, metodologias alternativas de extração, que possibilitam a redução ou a eliminação do emprego de solventes orgânicos, se tornou um dos principais interesses dos mais renomados grupos de químicos analistas do mundo.

Neste trabalho procurou-se desenvolver, otimizar e validar uma metodologia de extração e pré-concentração, utilizando as propriedades dos surfactantes não-iônicos, para a extração do Dissulfoton de água e análise dos extratos empregando cromatografia gasosa. Para isto, foi otimizado um método para a remoção do surfactante dos extratos, possibilitando as análises cromatográficas das amostras. Os parâmetros avaliados – faixa de aplicação, linearidade de resposta, limites de detecção e quantificação, precisão e exatidão – demonstraram que a metodologia atende com eficiência a extração de Dissulfoton de água, empregando a cromatografia gasosa como técnica de análise. Os resultados obtidos para os parâmetros avaliados foram comparáveis aos dos métodos convencionais de extração, como a extração líquido-líquido, sendo que o limite de detecção do método de extração ponto nuvem foi muito melhor.

A principal vantagem oferecida pela técnica de extração ponto nuvem, frente às técnicas tradicionais, foi a utilização de um volume significativamente menor de solvente orgânico durante o processo da extração, pois além de reduzir o alto custo das análises, reduz também os impactos causados por estes solventes ao meio ambiente. Quanto a eficiência de extração, a da metodologia de extração ponto nuvem do Dissulfoton de água, acoplada a um processo de “cleanup” em colunas de sílica-gel e Florisil, se mostrou, pelo

menos, comparável à do método de extração líquido-líquido. Além de ser um método simples, de fácil execução e economicamente viável.

Pelos dados obtidos para o Dissulfoton neste trabalho, resultados similares são esperados em trabalhos futuros, empregando a extração ponto nuvem e a cromatografia gasosa, para outras classes de inseticidas, fungicidas, herbicidas, etc.

CONCLUSÕES GERAIS

Neste trabalho foram conduzidos dois experimentos empregando o inseticida sistêmico organofosforado Dissulfoton. No primeiro experimento, avaliou-se a mobilidade do Dissulfoton em um latossolo vermelho-amarelo, através da percolação do inseticida por colunas de 15 cm de altura, divididas em três camadas de 5 cm cada. Para isto, foram otimizadas e adaptadas técnicas de extração líquido-líquido e sólido-líquido, para a determinação do Dissulfoton nas amostras de água percolada e solo, respectivamente. Foi montado um sistema para o estudo da percolação, utilizando 10 séries de colunas contendo 4 colunas cada série, um branco e três repetições, o que permitiu avaliar o comportamento do Dissulfoton no solo, por um período de 90 dias, com simulação de chuvas a cada 10 dias.

Os resultados mostraram que o Dissulfoton possui uma baixa mobilidade, não havendo percolação do composto pelas colunas, ficando retido na camada superficial do solo. É um composto pouco estável e de baixa persistência no solo e sua degradação leva a compostos, como o Dissulfoton sulfona e o seu análogo oxigenado. Esses compostos são bem mais estáveis e de mais alta mobilidade no solo, sendo detectados inclusive na água percolada. Estes dois subprodutos, ao contrário do Dissulfoton, apresentam risco em potencial de contaminação de águas subterrâneas, caso a profundidade do solo não seja alta.

No segundo experimento, foi otimizada e validada uma metodologia para a extração do Dissulfoton de água, empregando surfactantes (extração ponto nuvem) e análises por cromatografia gasosa, com o objetivo de minimizar problemas associados aos métodos convencionais de extração, como ao volume de solventes orgânicos empregados. Foi montado um sistema de “cleanup”, utilizando duas colunas em série contendo sílica-gel e Florisil, para a remoção do surfactante do material extraído, permitindo análises das amostras

por cromatografia gasosa. Na validação do método, os parâmetros avaliados demonstraram que a metodologia de extração ponto nuvem atende com eficiência a extração do Dissulfoton de água, pois os resultados obtidos foram bem melhores, se comparados aos obtidos pelos métodos convencionais. A extração ponto nuvem permitiu também uma redução expressiva do volume de solvente empregado para a extração do Dissulfoton de água, resultando em uma redução no custo das análises e no impacto ambiental, problemas estes associados aos solventes orgânicos, além de ter se mostrado um método simples, e de fácil execução.

Através dos dados obtidos para o Dissulfoton neste trabalho, resultados similares são esperados em trabalhos futuros, empregando a extração ponto nuvem e a cromatografia gasosa, para outras classes de inseticidas, fungicidas, herbicidas, etc.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

As referências bibliográficas foram editadas segundo as normas da ABNT (Associação Brasileira de Normas Técnicas) sobre documentação, datadas de 1989 a 1994.

AL-GHAMDI, A. M.; NASR-EL-DIN, H. A. Effect of oilfield chemicals on the cloud point of nonionic surfactants. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 125, n. 1, p. 5-18, 1997.

ALLMENDINGER, H. A method for determining residues of the fungicides Folicur[®] and Bayfidan[®] in plant material and soil by gas chromatography. **Pflanzenschutz Nachrichten Bayer**, v. 44, n. 62, p. 5-66, 1991.

ANDRADE, R. **Adsorção de produtos de degradação do Dissulfoton por frações de solo associadas a um material orgânico**. 2000. 122 f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – UFV, Viçosa, 2000.

ANDREA, M. M. **Metabólitos tóxicos do Dissulfoton: comportamento em feijoeiro, no solo e em solução nutriente**. 1986. 110 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – ESALQ, Piracicaba, 1986.

ARIENZO, M.; CRISANTO, T.; MARTÍN, M. J. S.; CAMAZANO, M. S. Effect of soil characteristics on adsorption and mobility of (¹⁴C) diazinon. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, n. 8, p. 1803-1808, 1994.

BARCELÓ, D. Environmental protection agency and other methods for the determination of priority pesticides and their transformation products in water. **Journal of Chromatography**, v. 643, n. 1, p. 117-143, 1993.

BERNARDE, M. A. **Corrida contra a fome**. São Paulo: Atlas, 1971. 120 p.

BLUMHORST, M. R. Experimental parameters used to study pesticide degradation in soil. **Weed Technology**, v. 10, n. 1, p. 169-173, 1996.

BRASIL. Ministério da Agricultura. Secretaria de produção e comercialização. Disponível em: <<http://200.252.165.21/spc/cafes.htm>>. Acesso em 08 Jan. 2003.

BRIGGS, G. G. Theoretical and experimental relationships between soil adsorption, octanol-water partition coefficients, water solubilities, bioconcentration factors, and parachor. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 29, n. 5, p. 1050-1058, 1981.

BRIGGS, G. G. Factors affecting the uptake of soil-applied chemicals and other organisms. In: HANCE, R. J. (Ed.). **Soils and crop protection chemicals**. Croydon: British Crop Protection Council, 1984. p. 35-48. (Monogr. 27).

CALDAS, E. D.; SOUZA, L. C. K. R. Avaliação de risco crônico da ingestão de resíduos de pesticidas na dieta brasileira. **Revista da Saúde Pública**, v. 34, n. 5, p. 529-537, 2000.

CARLOS, E. A. **Otimização e validação de metodologia para quantificação de trihalometanos em águas**. 2002. 82 f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – UFV, Viçosa, 2002.

CHAPMAN, R. A.; TOLMAN, J. H.; COLE, C. The effect of multiple applications of disulfoton on enhanced microbial degradation in soil and subsequent uptake of insecticidal chemicals by potato plants. **Journal of Environmental Science and Health**, v. B29, n. 3, p. 485-506, 1994.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Introdução a métodos cromatográficos**. 4 ed. Campinas: Editora da UNICAMP, 1990. 279 p.

CORREIA, M.; MATOS, C. D.; ALVES, A. Multi-residue methodology for pesticide screening in wines. **Journal of Chromatography A**, v. 889, p. 59-67, 2000.

CRUCCIANI, D. E.; BAPTISTA, G. C.; CHRISTOFFOLETI, P. J.; MINAMI, K. Comportamento de herbicida em solo de várzea com drenagem subterrânea. **Scientia Agricola**, v. 53, n. 2+3, p. 118-125, 1996.

DEGÁSPARI, N. **Controle do bicho-mineiro do cafeeiro, *Perileucoptera coffeella* (Guerin-Meneville, 1842) (Lepidoptera, Lyonetiidae) com inseticidas sistêmicos granulados aplicados no solo.** 1978. 77 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – ESALQ, Piracicaba, 1978.

DORES, E. F. G. C.; FREIRE, E. M. D. L. Contaminação do ambiente aquático por pesticidas. Estudo de caso: águas usadas para consumo humano em primavera do leste, Mato Grosso – Análise preliminar. **Química Nova**, v. 24, n. 1, p. 27-36, 2001.

DOWLING, C. K.; COSTELLA, R. G.; LEMLEY, A. T. Behavior of the insecticides ethoprophos and carbofuran during soil-water transport. **Pesticide Science**, v. 41, n. 1, p. 27-33, 1994.

EDWARDS, C. A. **Environmental pollution by pesticides.** New York: Plenum Press, 1973. 542 p.

EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. Serviço nacional de levantamento e conservação dos solos. **Manual de métodos de análise de solo.** Rio de Janeiro: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 1979. 205 p.

ETO, M. **Organophosphorus pesticides: organic and biological chemistry.** Cleveland: CRC Press, 1974. 387 p.

FANG, Q.; YEUNG, H. W.; LEUNG, H. W.; HUIE, C. W. Micelle-mediated extraction and preconcentration of ginsenosides from Chinese herbal medicine. **Journal of Chromatography A**, v. 904, p. 47-55, 2000.

FERRER, R.; BELTRÁN, J. L.; GUITERAS, J. Use of cloud point extraction methodology for the determination of PAH priority pollutants in water samples

by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection and wavelength programming. **Analytica Chimica Acta**, v. 330, p. 199-206, 1996.

FRANKEWICH, R. P.; HINZE, W. L. Evaluation and optimization of the factors affecting nonionic surfactant-mediated phase separations. **Analytical Chemistry**, v. 66, n. 7, p. 944-954, 1994.

FRÖSCHL, B.; STANGL, G.; NIESSNER, R. Combination of micellar extraction and GC-ECD for the determination of polychlorinated biphenyls (PCBs) in water. **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, v. 357, p. 743-746, 1997.

GREEN, J. M. A practical guide to analytical method validation. **Analytical Chemistry**, p. 305A-309A, 1996.

GU, T.; GÓMEZ, P. A. G. Clouding of Triton X-114: the effect of added electrolytes on the cloud point of Triton X-114 in the presence of ionic surfactants. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 104, p. 307-312, 1995.

HILLER, G. K.; WANDRUSZKA, R. V. Decontamination of oil-polluted soil by cloud point extraction. **Talanta**, v. 42, n. 1, p. 83-88, 1995.

HILLER, G. K.; CALKINS, N.; WANDRUSZKA, R. V. Changes in polarity and aggregation number upon clouding of a nonionic detergent: effect of ionic surfactants and sodium chloride. **Langmuir**, v. 12, n. 4, p. 916-920, 1996.

HINZE, W. L.; PRAMAURO, E. A critical review of surfactant-mediated phase separations (cloud-point extractions): theory and applications. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 24, n. 2, p. 133-177, 1993.

HUBER, L. **Validation of analytical methods: review and strategy**. Waldbronn: LC/GC International, 1998. 17 p.

IBRAHIM, F. B.; GILBERT, J. M.; EVANS, R. T.; CAVAGNOL, J. C. Decomposition of Di-Syston (O,O-diethyl-S-(2-(ethylthio) ethyl)

phosphorodithioate) on fertilizer by infrared, gas-liquid chromatography, and thin-layer chromatography. **Journal of Agricultural Food and Chemistry**, v. 17, n. 2, p. 300-305, 1969.

IMA – INSTITUTO MINEIRO DE AGROPECUÁRIA. Altera o anexo único da portaria nº 397, de 21 de julho de 2000. Portaria nº 401, de 24 de agosto de 2000. Belo Horizonte, MG, 24 ago. 2000. Disponível em: <<http://www.ima.mg.gov.br>>. Acesso em 23 jan. 2003.

JOHNSON, A. C.; HARIA, A. H.; BHARDWAJ, C. L.; WILLIAMS, R. J.; WALKER, A. Preferential flow pathways and their capacity to transport isoproturon in a structured clay soil. **Pesticide Science**, v. 48, n. 3, p. 225-237, 1996.

LACORTE, S.; BARCELÓ, D. Determination of organophosphorus pesticides and their transformation products in river waters by automated on-line solid-phase extraction followed by thermospray liquid chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 712, n. 1, p. 103-112, 1995.

LANÇAS, F. M. **Cromatografia gasosa**. São Carlos: ACTA, 1993. 254 p.

LEITE, F. **Validação em análise química**. 3 ed. Campinas: Átomo, 1998. 224 p.

LOPES, A. L. **Mobilidade do Dissulfoton, de seus produtos de degradação e do triadimenol em latossolo vermelho-amarelo**. 2000. 85 f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – UFV, Viçosa, 2000.

MARTÍNEZ, R. C.; GONZALO, E. R.; JIMÉNEZ, M. G. G.; PINTO, C. G.; PAVÓN, J. L. P.; MÉNDEZ, J. H. Determination of the fungicides Folpet, Captan and Captafol by cloud-point preconcentration and high-performance liquid chromatography with electrochemical detection. **Journal of Chromatography A**, v. 754, p. 85-96, 1996.

MARTÍNEZ, R. C.; GONZALO, E. R.; CORDERO, B. M.; PAVÓN, J. L. P.; PINTO, C. G.; LAESPADA, E. F. Surfactant cloud point extraction and

preconcentration of organic compounds prior to chromatography and capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, v. 902, p. 251-265, 2000.

MATERNA, K.; SZYMANOWSKY, J. Separation of phenols from aqueous micellar solutions by cloud point extraction. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 255, p. 195-201, 2002.

MATRANGOLO, P. F. R. **Avaliação da percolação do triadimenol em solos por cromatografia gasosa e cromatografia líquida de alta eficiência**. 1999. 65 f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – UFV, Viçosa, 1999.

MERINO, F.; RUBIO, S.; BENDITO, D. P. Acid-induced cloud point extraction and preconcentration of polycyclic aromatic hydrocarbons from environmental solid samples. **Journal of Chromatography A**, v. 962, p. 1-8, 2002.

MINAS GERAIS. Secretaria do Estado de Agricultura Pecuária e Abastecimento. Sistema de Informações do Agronegócio de Minas Gerais. Disponível em: <<http://www.agridata.mg.gov.br>>. Acesso em 16 jan. 2003.

MÓNDRAGON, M. A. R. **Resposta do cafeeiro e da mancha-de-olho-pardo à aplicação de fungicidas mais inseticidas via solo e à adubação orgânica**. 1998. 65 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – UFV, Viçosa, 1998.

MOREIRA, L. F. **Diagnóstico dos problemas ecotoxicológicos causados pelo uso de inseticidas (metamidofós) na região agrícola de Viçosa-MG**. 1995. 95 f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – UFV, Viçosa, 1995.

MUSUMECI, M. R. Defensivos agrícolas e sua interação com a microbiota do solo. In: TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. **Microbiologia do Solo**. Campinas: Sociedade Brasileira do Solo, 1992, p. 341-360.

OLIVEIRA, A. M. **Resíduos de triadimenol e Dissulfoton no solo e em folhas e frutos do cafeeiro após aplicação de uma formulação granulada**. 1999. 113 f. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – UFV, Viçosa, 1999.

PESTICIDE DOCUMENTS. Chemical Safety Information from Intergovernmental Organizations. Disponível em: <<http://www.inchem.org/pages/pds.html>>. Acesso em 12 dez. 2002.

PIFFER, R. **Movimento e degradação de aldicarbe e sulfona de aldicarbe em dois diferentes solos**. 1989. 99 f. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – ESAL, Lavras, 1989.

PINTO, C. G.; PAVÓN, J. L. P.; CORDERO, B. M. Cloud point preconcentration and high-performance liquid chromatographic determination of polycyclic aromatic hydrocarbons with fluorescence detection. **Analytical Chemistry**, v. 66, n. 6, p. 874-881, 1994.

PINTO, C. G.; PAVÓN, J. L. P.; CORDERO, B. M. Cloud point preconcentration and high-performance liquid chromatographic determination of organophosphorous pesticides with dual electrochemical detection. **Analytical Chemistry**, v. 67, p. 2606-2612, 1995.

QUINA, F. H.; ALONSO, E. O.; FARAH, J. P. S. Incorporation of nonionic solutes into aqueous micelles: a linear solvation free energy relationship analysis. **Journal of Physical Chemistry**, v. 99, p. 11708-11714, 1995.

QUINA, F. H.; HINZE, W. L. Surfactant-mediated cloud point extractions: an environmentally benign alternative separation approach. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 38, p. 4150-4168, 1999.

REDONDO, M. J.; RUIZ, M. J.; BOLUDA, R.; FONT, G. Optimization of a solid-phase extraction technique for the extraction of pesticides from soil samples. **Journal of Chromatography A**, v. 719, n. 1, p. 69-76, 1996.

REVIA, R. L.; MAKHARADZE, G. A. Cloud-point preconcentration of fulvic and humic acids. **Talanta**, v. 48, p. 409-413, 1999.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em métodos de separação. **No prelo**.

RIGITANO, R. L. O.; SOUZA, J. C. Ocorrência de resíduos do inseticida Dissulfoton em folhas de cafeeiro após a sua aplicação no solo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 29, n. 6, p. 839-846, 1994.

RIGITANO, R. L. O. **Lixiviação de agrotóxicos em solos**. Lavras: ESAL, 1996. 14 p. (Notas de aula).

RUEGG, E. F. **O impacto dos agrotóxicos sobre o ambiente, a saúde e a sociedade**. 2 ed. São Paulo: Cone, 1991. 96 p.

SAITOH, T.; MATSUDO, T.; MATSUBARA, C. Micelle-mediated extraction for concentrating hydrophobic organic compounds. **Journal of Chromatography A**, v. 879, p. 121-128, 2000.

SANDBAU, C. D.; SJÖDIN, A.; DAVIS, M. D.; BARR, J. R.; MAGGIO, V. L.; WATERMAN, A. L.; PRESTON, K. E.; PREAU JR., J. L.; BARR, D. B.; NEEDHAM, L. L.; PATTERSON JR., D. G. Comprehensive solid-phase extraction method for persistent organic pollutants. Validation and application to the analysis of persistent chlorinated pesticides. **Analytical Chemistry**, v. 75, p. 71-77, 2003.

SÃO PAULO. Secretaria de Agricultura e Abastecimento. Comissão Técnica Permanente de Café da S.A.A. **Controle do bicho-mineiro do cafeeiro**. Campinas: CATI, 1985. 3 p. (Informativo Técnico, 4).

SCHENCK, F. J.; DONOGHUE, D. J. Determination of organochlorine and organophosphorus pesticide residues in eggs using a solid phase extraction cleanup. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 6412-6415, 2000.

SCORZA JR, R. P.; RIGITANO, R. L. O.; LIMA, L. A.; GOUVÊA, A. V. Avaliação de dois simuladores para a predição da lixiviação de sulfona de aldicarbe em um latossolo vermelho-amarelo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 35, n. 2, p. 241-250, 2000.

SCOTT, M. J.; JONES, M. N. The biodegradation of surfactants in the environment. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1508, p. 235-251, 2000.

SERONERO, L. C.; LAESPADA, M. E. F.; PAVÓN, J. L. P.; CORDERO, B. M. Cloud point preconcentration of rather polar compounds: application to the high-performance liquid chromatographic determination of priority pollutant chlorophenols. **Journal of Chromatography A**, v. 897, p. 171-176, 2000.

SICILIA, D.; RUBIO, S.; BENDITO, D. P.; MANIASSO, N.; ZAGATTO, E. A. G. Anionic surfactants in acid media: a new cloud point extraction approach for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental samples. **Analytica Chimica Acta**, V. 392, p. 29-38, 1999.

SILVA, F. C.; CARDEAL, Z. L.; CARVALHO, C. R. Determinação de pesticidas organofosforados em água usando microextração em fase sólida e CGAR-EM. **Química Nova**, v. 22, n. 2, p. 197-200, 1999.

SILVA, J. J. O.; ALVES, S. R.; MEYER, A.; PEREZ, F.; SARCINELLI, P. N.; MATTOS, R. C. O. C.; MOREIRA, J. C. Influência de fatores socioeconômicos na contaminação por agrotóxicos, Brasil. **Revista da Saúde Pública**, v. 35, n. 2, p. 130-135, 2001.

SINGH, A. K.; GUPTA, D. S.; HAMEED, S. F. Translocation and dissipation of disulfoton in *mung* bean, *Vigna radiate* var. *aureus* Hübn. **Journal of Entomological Residue**, v. 7, n. 2, p. 127-132, 1983.

SIRIMANNE, S. R.; BARR, J. R.; PATTERSON JR, D. G.; MA, L. Quantification of polycyclic aromatic hydrocarbons and polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins in human serum by combined micelle-mediated extraction (cloud-point extraction) and HPLC. **Analytical Chemistry**, v. 68, n. 9, p. 1556-1560, 1996.

SPECHT, W. Gas-chromatographic method for determining residues of the fungicides Fuberidazol, Fluotrimazole and Triadmefon in plant and soil. **Pflanzenschutz Nachrichten Bayer**, v. 30, n. 1, p. 55-71, 1977.

SZETO, S. Y.; BROWN, M. J. Gas-liquid chromatographic methods for the determination of disulfoton, phorate, oxydemeton-methyl, and their toxic metabolites in asparagus. **Journal of Agricultural Food and Chemistry**, v. 30, n. 6, p. 1082-1086, 1982.

SZETO, S. Y.; YEE, J.; BROWN, M. J.; OLOFFS, P. C. Simplified method for determining acephate and metamidophos residues in several substrates. **Journal of Chromatography**, v. 240, p. 526-531, 1982.

SZETO, S. Y.; VERNON, R. S.; BROWN, M. J. Degradation of disulfoton in soil and its translocation in asparagus. **Journal of Agricultural Food and Chemistry**, v. 31, n. 2, p. 217-220, 1983.

TANI, H.; KAMIDATE, T.; WATANABE, H. Micelle-mediated extraction. **Journal of Chromatography A**, v. 780, p. 229-241, 1997.

TAKASE, I.; TSUDA, H.; YOSHIMOTO, Y. The fate of Di-Syston[®] active ingredient in soil. **Pflanzenschutz Nachrichten Bayer**, v. 25, n. 1, p. 43-63, 1972.

TOERNE, K.; JACKSON, R.; WANDRUSZKA, R. V. POE chain length selectivity in the clouding of a Triton surfactant. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 257, p. 412-414, 2003.

TSAO, C. H.; CLARK, W. E. Absorption and translocation of Di-Syston by cotton plants. **Journal of Economic Entomology**, v. 54, n. 6, p. 1228-1229, 1961.

TURK, J. **Introduction to environmental studies**, 3 ed. Washington: Saunders College Publishing, 1989. 329 p.

UFLA – UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS. Núcleo de estudos em cafeicultura da UFLA. Disponível em: <<http://www.nucleoestudo.ufla.br/necaf>>. Acesso em 12 Jan. 2003.

VINK, J. P. M.; GOTTESBÜREN, B.; DIEKKRÜGER, B.; VAN DER ZEE, S. E. A. T. M. Simulation and model comparison of unsaturated movement of pesticides from a large clay lysimeter. **Ecological Modeling**, v. 105, n. 1, p. 113-127, 1997.

WATANABE, H.; TANAKA, H. A nonionic surfactant as a new solvent for liquid-liquid extraction of zinc (II) with 1-(2-pyridylazo)-2-naphthol. **Talanta**, v. 25, p. 585, p. 1978.

WANJALA, F. M. E. Di-Syston (disulfoton) granules against leafminers, leucoptera meyricki ghesq. applied at different periods a rainy season. **Kenya Coffee**, v. 41, n. 485, p. 277-280, 1976.

WINTON, K.; WEBER, J. B. A review of field lysimeter studies to describe the environmental fate of pesticides. **Weed Technology**, v. 10, n. 1, p. 202-209, 1996.

YAO, Z. W.; JIANG, G. B.; LIU, J. M.; CHENG, W. Application of solid-phase microextraction for the determination of organophosphorous pesticides in aqueous samples by gas chromatography with flame photometric detector. **Talanta**, v. 55, p. 807-814, 2001.