



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DO MAR
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MARINHAS TROPICAIS

DANIELLE MONTEIRO DE LIMA

METODOLOGIA PARA QUANTIFICAÇÃO E
AVALIAÇÃO DA PARTIÇÃO DE
AGROTÓXICOS NO ESTUÁRIO DO RIO
JAGUARIBE-CE

FORTALEZA

2011

DANIELLE MONTEIRO DE LIMA

**METODOLOGIA PARA QUANTIFICAÇÃO E
AVALIAÇÃO DA PARTIÇÃO DE
AGROTÓXICOS NO ESTUÁRIO DO RIO
JAGUARIBE-CE**

Dissertação submetida à Coordenação do
Programa de Pós-Graduação em Ciências
Marinhas Tropicais do Instituto de Ciências do
Mar, como requisito parcial para obtenção do
grau de Mestre, outorgado pela Universidade
Federal do Ceará.

Orientador: Prof. Dr. Rivelino Martins
Cavalcante

FORTALEZA

2011

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Rui Simões de Menezes

-
- L697m Lima, Danielle Monteiro de
Metodologia para quantificação e avaliação da partição de agrotóxicos no estuário do Rio Jaguaribe-Ce / Danielle Monteiro de Lima. – 2011.
98 f. : il. color., enc. ; 30 cm.
- Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Instituto de Ciências do Mar, Programa de Pós-Graduação em Ciências Marinhas Tropicais, Fortaleza, 2011.
Área de Concentração: Utilização e Manejo de Ecossistemas Marinhos e Estuarinos
Orientação: Prof. Dr. Rivelino Martins Cavalcante.
1. Metodologia – extração líquido-líquido 2. Poluição. 3. Agrotóxicos – partição. I.
Título.

CDD 551.466

DANIELLE MONTEIRO DE LIMA

**METODOLOGIA PARA QUANTIFICAÇÃO E
AVALIAÇÃO DA PARTIÇÃO DE
AGROTÓXICOS NO ESTUÁRIO DO RIO
JAGUARIBE-CE**

Dissertação submetida à coordenação de Curso de Pós-Graduação em Ciências Marinhas Tropicais do Instituto de Ciências do Mar como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Marinhas Tropicais, outorgado pela Universidade Federal do Ceará.

Aprovada em ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Rivelino Martins Cavalcante (Orientador)
Universidade Federal do Ceará

Prof^a. Dr^a. Sandra Tédde Santaella
Universidade Federal do Ceará

Prof^a. Dr^a. Gisele Simone Lopes
Universidade Federal do Ceará

À minha mãe Elita, por sempre me incentivar a nunca parar nos desafios.

AGRADECIMENTOS

A Deus, autor da vida, por todas as graças concedidas nesse tempo de profundo autoconhecimento e superação de limites. Por demonstrar Seus cuidados de Pai por mim nos pequenos detalhes para a conclusão desse trabalho. E a sempre virgem Maria, a Mãe do Céu, por interceder por mim em todos os momentos.

Aos meus pais, Rogério e Elita, e as minhas irmãs Eliza, Rafaelle e Gabrielle, por acreditarem na minha capacidade, pelo apoio e incentivo constante nessa etapa de dor e alegria. E aos meus queridos sobrinhos, Breno, Gabriel e Raphael, por tornarem os momentos difíceis mais animados.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Rivelino Martins Cavalcante, pela atenção, cumplicidade, incentivo e colaboração para o desenvolvimento desse trabalho. Por acreditar na minha capacidade e instigá-la sempre. Meus sinceros agradecimentos.

A Prof^a Dr^a Rozane Marins e ao Prof. Dr. Luiz Drude pela oportunidade de trabalho no grupo do Laboratório de Biogeoquímica Costeira.

Ao Prof. Dr. Marcos Antônio Araújo da Silva pelas análises na técnica Raman, e pela atenção prestada para o bom êxito desse trabalho.

Ao Prof. Dr. Eduardo Henrique Silva de Sousa do Laboratório de Bioinorgânica da UFC pelas análises de infravermelho e termogravimétrico.

Ao Prof. Dr. Ronaldo Ferreira Nascimento por conceder o Laboratório de Análises de Traços (LAT) para a realização das análises de agrotóxicos.

Ao Dr. Rommel B. Viana por toda a ajuda concedida nas análises de CHN realizadas no Centro de Análises Químicas da Universidade de São Paulo

Aos meus amigos do Laboratório de Biogeoquímica Costeira – LBC: Talita Soares, Andréa Carvalho, Louize Viveiro, Regina Célia, Breno Costa, Edvar Aguiar, Tiago Peres, Isabelle Caracas, Moisés Bezerra, Naiane Mascena, Rafaela Carneiro, Júnior, Roseline, Ingra, Janaína e Karen pelos momentos de descontração e de ajuda, tornando o ambiente de trabalho agradável apesar de todos os desafios.

Aos meus caros colegas do Laboratório de Avaliação de Contaminantes Orgânicos – LACOR: André Henrique, Márcia Andrade, Wersângela Duaví, Gabrielle Fernandes, por compartilharem comigo o labor nas etapas de campo e de laboratório. Sem vocês tudo seria mais difícil.

Aos meus amigos da graduação de Oceanografia, Cecília e Diógenes, que me ajudaram de várias formas, sempre me incentivando, sempre na cumplicidade.

Aos meus amigos de todas às horas: Luana Nepomuceno, Rafael Feitosa, Marco Dias, Carol Soares, Dário Gurgel, Carla Teixeira, Hintz Dagoberto, Tarcísio Costa, Kilma Oliveira, Luciana Maria, Rebeca Rocha, Henrique Júnior, Marcela Yara, Laura Jéssica, Rodolfo Frota e Suérllel Câmara, por nunca desistirem de mim apesar de todos os obstáculos e distâncias nesse período, pelas ótimas convivências e conversas descontraídas nos momentos oportunos.

Ao Lucas Amaral, por toda a cumplicidade, apoio constante, amizade e carinho que fizeram grande diferença para o término desse trabalho e também o fazem na minha vida.

Aos INCT, FUNCAP e CNPq, pelo fomento a pesquisa e bolsa concedida.

“...Nós nos gloriamos também nas tribulações, sabendo que a tribulação produz a perseverança, a perseverança a virtude comprovada, a virtude comprovada a esperança.

E a esperança não decepciona...”

(Romanos 5, 3-5)

RESUMO

As condições hidroquímicas, bem como as propriedades físico-químicas dos agrotóxicos, associadas à dinâmica dos agrotóxicos, e a adsorção tem um impacto sobre sua toxicidade e biodisponibilidade, bem como destino no ambiente. O presente trabalho visou aprimorar um método analítico simples e admissível para determinação dos agrotóxicos picloram, atrazina, metil parathion, clorpirifós e os isômeros de cipermetrina, contribuindo para um melhor entendimento do comportamento desses agrotóxicos na partição entre a fração dissolvida e particulada, bem como os parâmetros que influenciam na partição. As técnicas cromatográficas utilizadas, tais como Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa (CG-EM) e a Cromatografia Gasosa com Detector de Ionização de Chama (CG-DIC) demonstraram satisfatórios os resultados apresentados nas figuras de méritos analíticas. O limite de detecção variou de 0,07 a 0,63 $\mu\text{g L}^{-1}$ utilizando o CG-EM e de 11,38 a 116,00 $\mu\text{g L}^{-1}$ utilizando o CG-DIC e ambos os métodos cromatográficos apresentaram boa precisão e bons coeficientes de correlação. O método de Extração Líquido Líquido seletiva (ELL-s) que utilizou 30 mL da mistura extratora hexano/diclorometano/acetato de etila 1:1:1, v/v foi eficiente para a extração dos agrotóxicos estudados. Os resultados de recuperação foram melhores nas amostras sintéticas (água de Milli-Q) com concentração de 50 $\mu\text{g L}^{-1}$ que nas amostras ambientais (água do estuário do rio Pacoti), no qual apresentou menor eficiência de recuperação, sendo essa diminuição influenciada pelo efeito matriz, que se manifesta pela presença de interferentes extraídos nas amostras ambientais. A avaliação da partição dos agrotóxicos metil paration, atrazina e clorpirifós entre a fração dissolvida e particulada mostrou que nos ambientes fluviais e estuarinos essas partições são diferenciadas e influenciadas pelas condições hidroquímicas e dependentes das propriedades físico-química dos agrotóxicos investigados.

Palavra chaves: Protocolo Analítico; Efeito Matriz; Extração Líquido Líquido seletiva.

ABSTRACT

Hydrochemical conditions, as well as the physical and chemical properties of pesticides, are closely linked to the dynamics of pesticides, adsorption and have an impact on their toxicity and bioavailability, and fate in the environment. The present work aims to improve a simple and plausible analytical method for determination of pesticides picloram, atrazine, methyl parathion, chlorpyrifos and cypermethrin, contributing to a better understanding of these pesticides behavior in the partition between the dissolved and particulate fraction, as well as the governing parameters. The chromatographic techniques used, such as gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) and Gas Chromatography with Flame Ionization Detector (GC-FID) showed satisfactory results presented in the analytical figures of merit. The limit of detection ranged from 0.07 to 0.63 $\mu\text{g/L}$ using GC-MS and from 11.38 to 116.00 $\mu\text{g/L}$ using GC-FID, and chromatographic methods showed precision and satisfactory coefficients of correlation. The method of selective Liquid Liquid Extraction (ELL-s), which, using 30 mL of extracting mixture hexane/dichloromethane/ethyl acetate (1:1:1, v/v), was efficient for the extraction of pesticides studied. The recovery results were better in the synthetic samples (Milli-Q water) with concentration of 50 mg.L^{-1} than in environmental samples (water from the estuary of river Pacoti), which showed a lower recovery efficiency, this decrease being influenced by matrix effect, manifested by the presence of interfering extracts from environmental sample. The evaluation of the partition of pesticides parathion, chlorpyrifos and atrazine between dissolved and particulate fractions showed that fluvial and estuarine environments in these partitions are differentiated and influenced by hydrochemical conditions and dependent on physico-chemical pesticides investigated.

Keywords: Analytical Protocol; Matrix Effect; selective Liquid Liquid Extraction.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Esquema das etapas envolvidas na análise de contaminantes orgânicos em matrizes ambientais | 23 |
| Figura 2. Esquema da amostragem direta e por <i>headspace</i> da MEGS..... | 26 |
| Figura 3. Etapas envolvidas no procedimento da MEDLL | 27 |
| Figura 4. Cromatograma de separação dos agrotóxicos utilizando CG-EM..... | 36 |
| Figura 5. Cromatograma de separação dos agrotóxicos utilizando CG-DIC | 37 |
| Figura 6. Esquema do programa de temperatura de separação dos agrotóxicos no CG-EM | 38 |
| Figura 7 Esquema do programa de temperatura de separação dos agrotóxicos no CG-DIC | 38 |
| Figura 8. Cromatograma do branco da coluna CG-EM..... | 41 |
| Figura 9. Cromatograma do branco da coluna CG-DIC..... | 41 |
| Figura 10. Gráfico da eficiência de recuperação (ER) na quantidade de solvente utilizado para extração dos agrotóxicos estudados..... | 47 |
| Figura 11. Fluxograma do método de extração líquido-líquido seletiva..... | 48 |
| Figura 12. Análise combinatória de componente principal..... | 50 |
| Figura 13. Gráfico com os percentuais de recuperação dos agrotóxicos sob o efeito matriz das amostras analisadas | 54 |
| Figura 14. Gráficos representativos do teste estatístico ANOVA dos agrotóxicos picloram, atrazina e metil parathion, respectivamente, nas diferentes matrizes..... | 57 |
| Figura 15. Gráficos representativos do teste estatístico ANOVA dos agrotóxicos picloram, atrazina e metil parathion, respectivamente, na matriz ambiental em diferentes concentrações..... | 58 |
| Figura 16. Principais fenômenos envolvidos no comportamento dos agrotóxicos no meio ambiente. | 63 |
| Figura 17. Modelo conceitual da partição dos agrotóxicos em sistema aquáticos..... | 67 |
| Figura 18. Pontos de coleta de água do Rio Jaguaribe | 70 |
| Figura 19. a) Sistema reacional de aço-inox sob o agitador magnético (frontal); b) Com a barra magnética, vista da face superior do sistema reacional | 71 |
| Figura 20. Separação das frações: a) kit de filtração de separação da fração dissolvida da particulada e b) amostra isenta do MPS, seguindo procedimento de extração em duplicata. | 72 |
| Figura 21. Parâmetros analisados da sonda multiparamétrica HORIBA nas diferentes águas coletadas para o estudo de partição. | 75 |
| Figura 22. Variabilidade do MPS em relação às regiões de amostragem. | 76 |
| Figura 23. Eficiência de recuperação em nível de sorção dos agrotóxicos estudados na salinidade 0 | 77 |
| Figura 24. Eficiência de recuperação em nível de sorção dos agrotóxicos estudados na salinidade 15 | 79 |
| Figura 25. Eficiência de recuperação em nível de sorção dos agrotóxicos estudados na salinidade 30 | 81 |
| Figura 26. Espectro Raman do MPS do estuário na presença e na ausência de agrotóxicos (S= sem agrotóxicos; AD= agrotóxicos adsorvido ao material)..... | 83 |
| Figura 27. Estrutura Molecular dos agrotóxicos estudados na partição: metil parathion, atrazina e picloram, respectivamente..... | 84 |
| Figura 28. Espectro Raman dos diferentes ambientes estudados dopados com agrotóxicos | 84 |

Figura 29. Aumento do conteúdo elementar no MPS 85

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1. Métodos aplicados no CG..... | 24 |
| Tabela 2. Detectores e técnicas utilizadas na análise cromatográfica | 28 |
| Tabela 3. Tempo de retenção dos agrotóxicos | 36 |
| Tabela 4. Coeficientes de correlações utilizados na curva de calibração dos agrotóxicos | 39 |
| Tabela 5. Dados da estimativa da fidelidade (precisão) da área do pico dos agrotóxicos | 40 |
| Tabela 6. Limite de detecção e limite de quantificação de todos os agrotóxicos estudado | 42 |
| Tabela 7. Figuras de méritos analíticos do método cromatográfico..... | 43 |
| Tabela 8. Propriedades físico-químicas dos agrotóxicos estudados..... | 44 |
| Tabela 9. Propriedades dos solventes estudados para mistura extratora | 45 |
| Tabela 10. Solubilidade dos agrotóxicos em solventes orgânicos | 46 |
| Tabela 11. Recuperação dos agrotóxicos no controle metodológico com a utilização de padrões surrogates nas diferentes amostras de água..... | 50 |
| Tabela 12. Fatores de relação dos agrotóxicos que obtiveram correlação significativa com os padrões surrogates..... | 51 |
| Tabela 13. Coeficientes de correlação de Pearson das variáveis analisadas (agrotóxicos e os padrões surrogates) | 52 |
| Tabela 14. Comparação entre a adsorção física e química..... | 64 |
| Tabela 15. Dados da determinação qualitativa de agrotóxicos no estuário do rio Jaguaribe..... | 82 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|----------------|---|
| ACP | Análise de componente principal |
| CG | Cromatografia Gasosa |
| COHs | Compostos Orgânicos Hidrofóbicos |
| CV | Coefficiente de variação |
| DCE | Detector por captura de elétrons |
| DCM | Diclorometano |
| DFC | Detector Fotométrico de Chama |
| DFI | Detector Fotoionização |
| DIC | Detector por ionização de chama |
| DNF | Detector Nitrogênio Fósforo |
| ELL | Extração Líquido-Líquido |
| ELL- PBT | Extração Líquido-Líquido com Purificação a Baixa Temperatura |
| ELL-FLEFS | Extração líquido-líquido e posterior Fase de Limpeza normal Extração em Fase Sólida |
| EM | Espectrometria de Massa |
| EtOAc | Acetato de etila |
| Hex | Hexano |
| HS | Headspace |
| LOD | Limite de detecção (limit of detection) |
| LOQ | Limite de quantificação (limit of quantification) |
| MAM | Método analítico multiresidual |
| MeCN | Acetonitrila |
| MEDLL | Microextração dispersiva líquido- líquido |
| MEGS | Microextração da Gota Suspensa |
| MeOH | Metanol |
| MOD | Matéria orgânica dissolvida |
| MPS | Material particulado em suspensão |
| PI | Padrão interno |
| OS | Padrão surrogate |
| QA | Qualidade analítica |
| S | Desvio padrão |
| THF | Tetrahidrofurano |
| t _R | Tempo de retenção |
| UV | Ultra violeta |

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| AGRADECIMENTOS | V |
| RESUMO..... | VIII |
| ABSTRACT | IX |
| LISTA DE FIGURAS | X |
| LISTA DE TABELAS..... | XII |
| LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS | XIII |
| CONSIDERAÇÕES INICIAIS | 18 |
| OBJETIVOS | 21 |
| Objetivo geral | 21 |
| Objetivos específicos..... | 21 |
| CAPÍTULO 1 | 22 |
| 1. Determinação de agrotóxicos em matriz aquosa ambiental | 22 |
| 1.1 Introdução | 22 |
| 1.1.1 Extração por partição líquida..... | 23 |
| 1.1.2 Análise cromatográfica..... | 27 |
| 1.2 Materiais e métodos | 31 |
| 1.2.1. Protocolo de limpeza da vidraria | 31 |
| 1.2.2 Reagentes e preparo de soluções | 31 |
| 1.3 Experimento..... | 31 |
| 1.3.1 Desenvolvimento e validação dos procedimentos de análise de agrotóxicos | 32 |
| 1.3.1.1 Otimização da técnica de análise de agrotóxicos por CG-EM e CG-DIC | 32 |
| 1.3.1.2 Condições cromatográficas para determinação de análise de agrotóxicos | 32 |
| 1.3.2 Técnica de extração | 32 |
| 1.3.2.1 Otimização do método de extração | 32 |
| 1.3.2.2 Escolha dos solventes | 33 |
| 1.3.2.3 Quantidade de solvente, a concentração da dopagem dos agrotóxicos e | 33 |
| tempo de agitação | 33 |
| 1.3.2.4 Controle de qualidade analítico | 33 |
| 1.3.2.4.1 Escolha do padrão surrogate (PS)..... | 34 |
| 1.3.2.4.2 Fator de Relação (FR) | 34 |

| | |
|---|-----------|
| 1.3.2.4.3 Concentração corrigida (Cc)..... | 35 |
| 1.3.2.5 Efeito matriz | 35 |
| 1.4 Resultados e discussão..... | 36 |
| 1.4.1 Validação do método de análise de agrotóxicos por CG-EM e CG-DIC..... | 36 |
| 1.4.1.1 Separação cromatográfica | 36 |
| 1.4.1.2 Linearidade | 38 |
| 1.4.1.3 Precisão - fidelidade | 39 |
| 1.4.1.4 Seletividade | 40 |
| 1.4.1.5 Limite de detecção (LOD) e Limite de quantificação (LOQ) | 42 |
| 1.4.2 Otimização da técnica de extração | 44 |
| 1.4.2.1 Escolha do solvente | 45 |
| 1.4.2.2 Quantidade de solvente e tempo de agitação..... | 46 |
| 1.4.2.3 Extração Líquido Líquido seletiva (ELL-s)validada..... | 47 |
| 1.4.2.4 Controle de qualidade metodológica | 48 |
| 1.4.2.4.1 Escolha do padrão <i>surrogate</i> (PS)..... | 49 |
| 1.4.2.5 Efeito matriz | 53 |
| 1.5 Considerações finais | 59 |
| CAPÍTULO 2 | 60 |
| 2. Estudo da partição..... | 60 |
| 2.1 Introdução | 60 |
| 2.1.1 Contaminação por agrotóxicos | 60 |
| 2.1.2 Processo de distribuição dos agrotóxicos entre os componentes do meio ambiente | 62 |
| 2.1.3 Relação dos agrotóxicos com geosorvente em ambiente aquático..... | 65 |
| 2.1.4 Fatores que influenciam no transporte e destino dos agrotóxicos em ambientes aquáticos..... | 67 |
| 2.2 Materiais e métodos | 69 |
| 2.2.1 Materiais e reagentes | 69 |
| 2.2.2 Experimento | 69 |
| 2.2.2.1 Estudo do efeito do pH e salinidade na partição dos agrotóxicos | 69 |
| 2.2.2.2 Estudo da partição | 70 |
| 2.2.2.3 Avaliação do MPS | 73 |
| 2.2.2.3.1 Determinação por Espectrometria Raman..... | 73 |
| 2.2.2.3.2 Determinação por Análise elementar (CHN) | 73 |
| 2.2.2.3.3 Determinação de agrotóxicos em sedimento e água do rio Jaguaribe . | 73 |
| 2.3 Resultados e discussão..... | 74 |

| | |
|---|-----------|
| 2.3.1 Efeito dos parâmetros hidroquímicos na partição dos agrotóxicos | 74 |
| 2.3.2 Quantificação do material particulado em suspensão | 75 |
| 2.3.3 Avaliação da cinética de equilíbrio da sorção | 77 |
| 2.3.4 Determinação dos agrotóxicos no estuário do rio Jaguaribe | 81 |
| 2.3.4.1 Avaliação do MPS por Espectrometria Raman | 82 |
| 2.3.4.2 Análise elementar (CHN) | 84 |
| 2.4 Considerações finais | 85 |
| CONCLUSÕES..... | 87 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 88 |

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

O aumento da população mundial e a demanda crescente de alimentos têm justificado o uso de grandes quantidades de agrotóxicos nas áreas agrícolas para compensar problemas do processo produtivo (SANCHES *et al.*, 2003; LARA E BATISTA, 1992). A venda de agrotóxicos no Brasil vem crescendo, tornando o país um dos maiores consumidores de agrotóxicos no mundo (VEIGA, 2007), sendo que esse “mérito” tem aumentado muito além do crescimento do uso das áreas agrícolas nos últimos trinta anos (SPADOTTO *et al.*, 1996). Segundo o Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola – SINDAG, o produtor brasileiro despendeu cerca de R\$ 6,6 bilhões com defensivos agrícolas em 2010, o correspondente a 8% a mais que no ano de 2009.

A implantação de perímetros irrigados no vale do Jaguaribe no estado do Ceará mobilizou muitas empresas do setor do agronegócio a se instalarem nas principais cidades dessa região. Com isso, o modelo de produção agrícola adotado é baseado na utilização de agrotóxicos para compensar problemas do processo produtivo (LARA E BATISTA, 1992; AMARAL, 2007; VEIGA, 2007). Nesse contexto, os agrotóxicos foram introduzidos na agricultura brasileira para controlar pragas, doenças e ervas daninhas que prejudicam a produtividade desse setor, buscando o aumento da eficiência econômica do progresso produtivo rural (LARA E BATISTA, 1992).

A utilização desses agrotóxicos, que por um lado visam gerar benefícios, por outro, é responsável pela contaminação do solo, água e alimentos (GANG, 2006), representando grande ameaça ao meio ambiente, pois a natureza orgânica dessas moléculas pode sofrer degradação, e o seu destino e transporte são ainda desconhecidos (MATOS E SILVA, 1999). Garcia *et al.* (2005) comentam que apesar da expansão agrícola está acontecendo, poucos estudos da dinâmica dos agrotóxicos nos ecossistemas brasileiros são conhecidos, e se intensifica mais ainda, principalmente quando se trata de uma região com déficit hídrico como a do Nordeste.

Os agrotóxicos, que são moléculas sintetizadas, afetam determinadas reações bioquímicas de insetos, microrganismos, animais e plantas a qual se quer controlar ou eliminar (SPADOTTO *et al.*, 2004), para obter maior produtividade no setor agrícola. Porém, sabe-se que maior produtividade não está diretamente relacionada com qualidade. A utilização desses agrotóxicos causa danos à saúde humana e ao meio ambiente por estes poderem ser agentes mutagênicos, teratogênicos, carcinogênicos, e afetar a reprodução de mamíferos. Na atividade rural cerca de 12 milhões de trabalhadores seriam expostos diariamente aos agrotóxicos (VEIGA, 2007).

Outro problema é que devido ao grande número de formulações, formados por substâncias únicas ou misturas, esses agrotóxicos são umas bombas químicas que foram desenvolvidas para potencializar uma ação biocida, ou seja, são desenvolvidos para matar, exterminar e combater as pragas agrícolas (LARA E BATISTA, 1992). Contudo os efeitos adversos dos agrotóxicos à saúde dependem de diversos fatores, tais como, características químicas do composto, da dosagem absorvida ou ingerida, do tempo de exposição e também das condições gerais de saúde da pessoa contaminada (SANCHES *et al.*, 2003; VEIGA, 2007).

No meio ambiente, o controle de pragas na agricultura pelo uso de agrotóxicos deve ser moderado e com cautela, pois o contrário pode causar contaminação e desertificação do solo. O uso desordenado de agrotóxicos pode causar impactos em recursos naturais irreversíveis, promovendo à ocorrência de desequilíbrios biológicos e ecológicos, entre eles a contaminação de lençóis freáticos e aquíferos (JARDIM, ANDRADE E QUEIROZ, 2009).

O processo químico e físico de adsorção são atualmente os responsáveis pelo destino e transporte de poluentes nos corpos hídricos e, conseqüentemente, para as zonas estuarinas e oceanos adjacentes (CHI E AMY, 2004; LIU E LEE, 2007; CHEN, WONG, TAM, 2009). Muitos contaminantes orgânicos, neste caso, alguns agrotóxicos, apresentam baixa solubilidade em água e alta afinidade por matéria ou fase orgânica, classificando-os como contaminantes orgânicos hidrofóbicos (COHs), caracterizados principalmente por altos valores de constantes octanol-água (K_{ow}) (CHI E AMY, 2004).

A adsorção é um processo importante que controla a distribuição, transporte e destino de compostos químicos no ambiente aquático (YOU, JIA E PAN, 2010). As

condições hidrogeoquímicas (composição química da água), bem como as propriedades físico-químicas dos agrotóxicos, estão intimamente ligadas à dinâmica dos agrotóxicos, e a adsorção tem um impacto sobre sua toxicidade e biodisponibilidade (Alexander, 1995).

Para um estudo de contaminação por agrotóxico é relevante a sua identificação e sua quantificação no ambiente. Segundo Lanças (2004), a cromatografia representa a mais relevante técnica para análise de substâncias químicas, e se tratando de matrizes complexas Paschoal *et al.*(2008) destaca a cromatografia gasosa pela sua capacidade de análise quantitativa e qualitativa.

Um método apropriado para análise de resíduos de agrotóxicos precisa apresentar sensibilidade, seletividade, exatidão, precisão e ser de baixo custo, que permita ser aplicável para uma ampla quantidade de agrotóxicos em diferentes matrizes e capazes de fornecer informações estruturais necessárias e corretas sobre o analito de interesse (MICHEL E BUSZWENSKI, 2004).

Para isso, a validação do método cromatográfico e a otimização do método de extração são necessários para garantir a credibilidade dos procedimentos selecionados, podendo gerar resultados confiáveis e apropriados.

A técnica de Extração Líquido-Líquido seletiva (ELL-s) foi adaptada no Laboratório de Análise de Contaminantes Orgânicos com o intuito de otimizar a extração dos agrotóxicos estudados analisando as suas propriedades físico-químicas assim como também dos solventes utilizados.

O presente trabalho visou desenvolver um método analítico simples e plausível para determinação dos agrotóxicos picloram, atrazina, metil parathion, clorpirifós cipermetrina, e contribuir para melhor entendimento do comportamento desses agrotóxicos na partição entre a fração dissolvida e particulada, bem como os parâmetros governantes nas águas do rio Jaguaribe do estado do Ceará.

OBJETIVOS

Objetivo geral

O objetivo geral desse trabalho foi desenvolver um protocolo analítico visando à aplicação no estudo de avaliação da cinética de equilíbrio de agrotóxicos no rio Jaguaribe no estado do Ceará.

Objetivos específicos

- Desenvolver protocolo analítico de determinação de agrotóxicos em matrizes aquosas ambientais;
- Avaliar a partição de agrotóxicos, bem como seus parâmetros governantes;
- Estimar a sorção de agrotóxicos pelo material particulado suspenso;
- Avaliar a influência da variação hidroquímica na partição dos agrotóxicos.

CAPÍTULO 1

1. Determinação de agrotóxicos em matriz aquosa ambiental

1.1 Introdução

Com o intuito de analisar teores de substâncias orgânicas consideradas poluentes em diferentes matrizes ambientais, que na grande maioria se encontram em concentrações traços, iniciou-se uma competição em produzir equipamentos com maior sensibilidade, e conseqüentemente uma competição por procedimentos de extração mais eficientes (CHEN *et al.*, 2008). A análise clássica de compostos orgânicos foi durante muito tempo realizada envolvendo várias e laboriosas etapas, um inconveniente quando concentrações traço ou ultra-traço estão envolvidas em matrizes ambientais. Contudo, nas últimas décadas um grande empenho vem sendo realizado para reduzir o número de etapas entre a amostragem e a quantificação do analito de interesse, com a finalidade de aumentar a qualidade analítica das técnicas de determinação e procedimentos de extração (AQUINO NETO E NUNES, 2003; SMITH, 2003; LANÇAS, 2004; PAWLISZYN, 2003; CHEN *et al.*, 2008).

O estudo dos níveis dos contaminantes orgânicos, especialmente, em agrotóxicos no meio ambiente, no geral, envolve protocolos com três a quatro etapas principais (Figura 1) tais como: coleta e pré-tratamento da amostra, preparo de amostra, análise cromatográfica e controle de qualidade do processo. Este por sua vez, acaba recebendo menor atenção em muitos trabalhos acadêmicos que tratam da quantificação de analito de interesse, qualidade de material, estudo de adsorção, estudo toxicológico, estudo de biodegradação, entre outros, chegando até ser desprezado. Os maiores cuidados são dirigidos para a etapa de preparo de amostra e detecção cromatográfica, devido ao maior número de semi-etapas, trabalho laboratorial exaustivo, utilização de várias vidrarias, entre outros fatores (SMITH, 2003; LANÇAS, 2004).

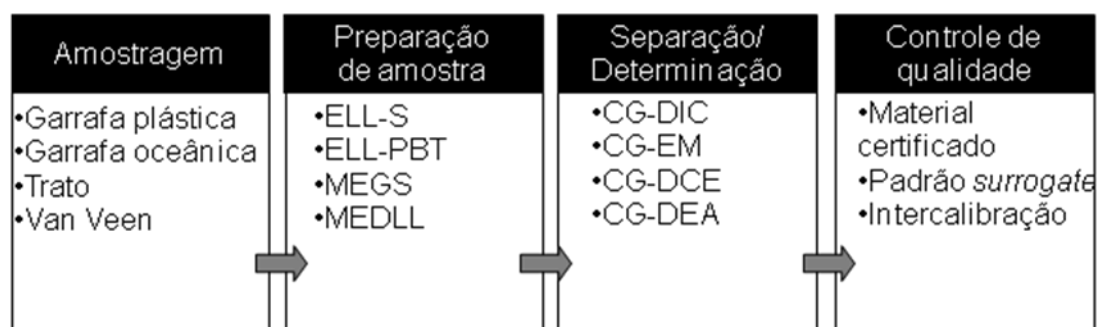


Figura 1. Esquema das etapas envolvidas na análise de contaminantes orgânicos em matrizes ambientais

O principal ponto na etapa do preparo de amostra envolvido na análise de compostos orgânicos oriundos de matrizes líquidas é a extração (AQUINO NETO E NUNES, 2003; SMITH, 2003; PAWLISZYN, 2003; CAVALCANTE *et al.*, 2007). Existem diversas técnicas de extrações, que podem ser utilizadas em conjunto com outras técnicas ou de forma separadas, sendo fundamentada na extração por partição líquida ou por fase sólida, a fim de minimizar os custos e os resíduos gerados (PINHO *et al.*, 2010).

1.1.1 Extração por partição líquida

A técnica de Extração Líquido Líquido (ELL) talvez seja a maneira mais antiga de se extrair analitos de interesse de uma matriz (LANÇAS, 2004; NETO, 2004). O princípio do método baseia-se na lei descrita por Berthelot em 1872, que diz “em um sistema composto de duas fases líquidas imiscíveis, ao qual se adiciona um substrato, a razão entre as concentrações do soluto nas duas fases é uma constante”. Este princípio termodinâmico é comum para todas as técnicas de extrações envolvendo um líquido como fase de extração (PAWLISZYN, 2003), segundo a equação 1 citada por Neto (2004):

$$\frac{C_{i,A}}{C_{i,B}} = K_{i,A/B} \quad (1)$$

Onde:

$C_{i,A}$ = concentração do composto i na fase A

$C_{i,B}$ = concentração do composto i na fase B

$K_{i,A/B}$ = Constante de partição (repartição ou distribuição) do componente i nas fases A e B.

De forma aplicada, na ELL se utiliza um solvente de extração imiscível na matriz líquida, permitindo uma partição do analito de interesse entre o solvente da amostra e a fase de extração, sendo a eficiência de extração aumentada quanto maior for o coeficiente de partição (K) entre as duas fases.

Apesar do desenvolvimento de novas técnicas, a ELL ainda é muito utilizada no preparo de amostra, principalmente para matrizes líquidas (APHA, 1998; USEPA, 2008). A principal desvantagem é requerer uma grande quantidade de solventes de alta pureza, promovendo assim grande quantidade de resíduo laboratorial. Entretanto a ELL continua sendo a mais empregada por ser considerada uma técnica simples, sem exigir instrumentação sofisticada, e de fácil execução, apesar da morosidade (VIEIRA; NEVES; QUEIROZ, 2007). Um aprimoramento da ELL é a Extração Líquido-Líquido seletiva (ELL-s) a qual utiliza solventes em função das propriedades físico-químicas dos analitos de interesse, aumentando a eficiência de extração do método.

Os contaminantes orgânicos, principalmente a maioria dos agrotóxicos, apresentam boas condições no que se refere ao coeficiente de partição (K) por serem altamente hidrofóbicos. Desta forma, diversos métodos para análise de agrotóxicos em matrizes complexas, envolvem o preparo de amostra através da extração por partição líquida (Tabela 1).

Tabela 1. Métodos aplicados no CG

| Analito | Matriz | Técnica | Quantidade de solvente de extração | Detector | LOD | Referências |
|--------------------------------|--------------|---|---|-----------|----------------------------------|-----------------------------|
| 4 piretróides | água | ELL-PBT | 8 mL (6,5 mL MeCN + 1,5 mL de EtOAc) | DCE | 1,1 - 3,2 $\mu\text{g.L}^{-1}$ | Vieira <i>et al.</i> , 2007 |
| organofosforados e piretróides | água | ELL-FLEFS | 50 mL DCM | DCE e DNF | 0,72 - 1,69 ng.L^{-1} | Wang <i>et al.</i> , 2009 |
| organofosforados e piretróides | água | MEGS | 1 μL tolueno | DIC | 0,3 - 3,0 $\mu\text{g.L}^{-1}$ | Pinheiro e Andrade, 2009 |
| organoclorados | água | MEDLL | 10 μL tetracloroetileno; disperso em 1mL acetona | EM | 1 -25 ng.L^{-1} | Cortada et al., 2009 |
| piretróides | água | MEDLL | 10 μL clorobenzeno/disperso em 1mL de acetona | DCE | 0,04 - 0,10 $\mu\text{g.L}^{-1}$ | Xiao-Huan et al., 2009 |
| cipermetrina deltametrina | leite | ELL-PBT | 8mL MeCN | DCE | 0,25 $\mu\text{g.L}^{-1}$ | Goulart et al., 2008 |
| 95 agrotóxicos | óleo de soja | ELL seguido de congelamento, centrifugação e dispersiva EFS | vários volumes foram estudados | EM | - | Nguyen et al., 2010 |
| 105 agrotóxicos | frutas | QuEChERS | 10 mL MeCN | EM | 0,4 - 48,2 $\mu\text{g.Kg}^{-1}$ | Lesueur et al., 2007 |

Um exemplo da expansão dessa técnica é a Microextração em Gota Suspensa (MEGS) no qual se desenvolveu com a miniaturização da técnica tradicional de extração. Esta foi desenvolvida no intuito de minimizar principalmente o uso de grande quantidade de solvente. Desta forma a técnica utilizando uma microgota de solvente orgânico, denominada de microextração em gota suspensa (SDME, *single drop microextraction*), também chamada de microextração líquido-líquido (LLME, *liquid-liquid microextraction*), vem despontado como uma nova alternativa no preparo de amostra (LIU E DASGUPTA, 1996; JEANNOT E CANTWELL, 1996). A MEGS é uma técnica simples, rápida e de baixo custo para o preparo de amostra. O modo de operação pode ocorrer de duas formas, direta ou por *headspace* (HS-MEGS) (Figura 2). Devido a HS- MEGS minimizar a influência dos efeitos promovidos pela matriz, o mesmo é mais utilizado frente à operação direta (WU *et al.*, 2008). Desta forma HS-MEGS está sendo usada na análise de compostos orgânicos voláteis e semi-voláteis em concentrações traço (XIAO *et al.*, 2006; YE, ZHOU E WANG, 2006).

Embora a MEGS ainda esteja em desenvolvimento e, conseqüentemente, pouca explorada, a mesma pode ser muito eficiente, principalmente para analitos com elevado coeficiente de partição como a maioria dos agrotóxicos. Como os compostos são transferidos por difusão de um volume pequeno da amostra (1 a 5 mL) para um microextrato (1 a 5 μ L) (PSILLAKIS E KALOGERAKIS, 2002) baixas concentrações dos analitos de interesse podem ser quantificados com esta técnica.

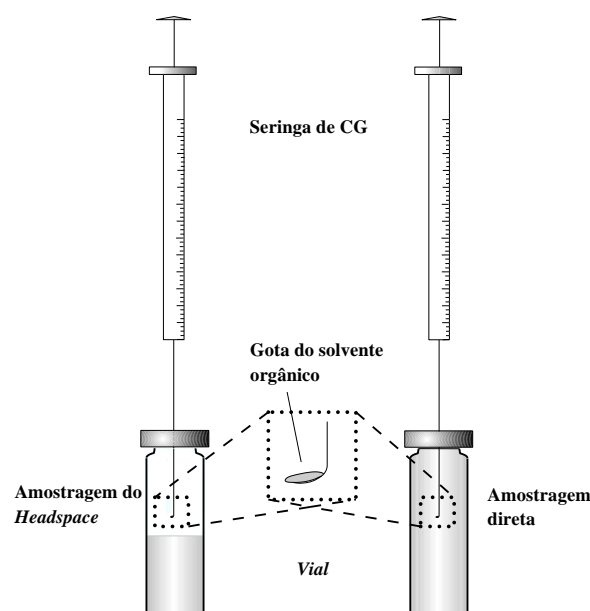


Figura 2. Esquema da amostragem direta e por *headspace* da MEGS (baseado em PSILLAKIS E KALOGERAKIS, 2002).

No caso da Microextração Dispersiva Líquido-Líquido (MEDLL) a técnica consiste basicamente em um sistema ternário de solventes, no qual os solventes de extração e dispersor são rapidamente introduzidos na amostra aquosa para formar uma solução turva (HERRERA *et al.*, 2010). Nessa etapa, o solvente de extração é disperso na amostra aquosa como gotas muito finas e os analitos são enriquecidos nele. Devido à grande área de superfície entre o solvente de extração e a amostra aquosa, o estado de equilíbrio é alcançado rapidamente e a extração é independente do tempo. Esta é a vantagem mais importante deste método (REZAAE; YAMINI; FARAJI, 2010). E em seguida a solução turva é centrifugada e a extração por solventes é geralmente sedimentado no fundo do tubo, quando esse possui densidade superior a da água, e coletado por uma seringa para posterior análise cromatográfica. As etapas da extração do MEDLL estão ilustradas na Figura 3.

Para uma boa eficiência, alguns fatores são estudados para promover o êxito da técnica, tais como: solvente de extração adequado, solvente dispersor adequado, volume do solvente de extração e do dispersor. Seleção de um solvente de extração apropriado é o principal parâmetro para o processo de MEDLL.

Assim como a técnica MEGS, a MEDLL é uma ELL miniaturizados que utiliza microlitros de solventes na extração. As vantagens do técnica MEDLL são:

simplicidade de operação, rapidez, baixo custo, alta recuperação, alto fator de enriquecimento, e benignidade ambiental (pequeno volume de solvente utilizado), com perspectivas de ampla aplicação na análise de traços (XIAO-HUAN *et al.*, 2008).

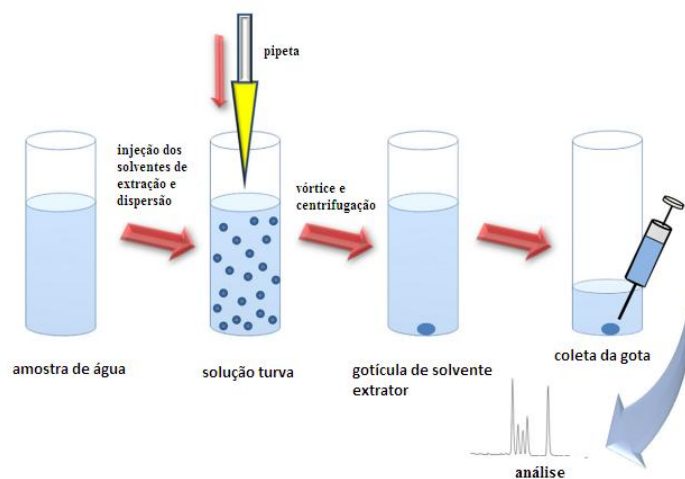


Figura 3. Etapas envolvidas no procedimento da MEDLL (adaptado de HERRERA *et al.*, 2010)

A Extração Líquido Líquido com Purificação em Baixa Temperatura (ELL-PBT) baseia-se no método empregado por Mcculley e Mckinley (1964) para análise de organoclorados em óleo, com principal foco na redução da etapa de purificação. Semelhante técnica em amostras sólidas é denominada extração sólido-líquida com partição em baixa temperatura (ESL-PBT).

A técnica consiste na partição dos analitos entre a matriz sólida e a fase orgânica miscível a água em temperatura ambiente. Pelo decréscimo da temperatura a -20°C , a fase líquida é solidificada, prendendo a matriz sólida, e a fração orgânica é o sobrenadante líquido contendo os analitos de interesse (PINHO *et al.*, 2010). A possibilidade de obter extratos puros, prontos para serem analisados por cromatografia gasosa torna-se uma vantagem dessa técnica, que não passar pela etapa de “clean up”.

1.1.2 Análise cromatográfica

A cromatografia representa a mais relevante técnica analítica para a análise de substâncias químicas (LANÇAS, 2004a). A cromatografia gasosa é uma técnica de separação de misturas por interação diferencial dos componentes de interesse entre uma

fase estacionária e uma fase móvel (LANÇAS, 2004a). A interação dos componentes da mistura com ambas as fases é influenciado por diferentes forças intermoleculares, incluindo iônica, apolar, e específicos efeitos de afinidade e solubilidade (COLLINS *et al.*, 1993).

No que se refere às determinações de contaminantes em matrizes complexas, a cromatografia gasosa destaca-se no contexto analítico pela reconhecida capacidade de possibilitar análises qualitativas e quantitativas (PASCHOAL *et al.*, 2008). Para situações rotineiras, nas quais a cromatografia gasosa é bastante aplicada, geralmente torna-se necessário uma etapa pré-cromatográfica no método analítico, com o intuito de eliminar impurezas ou possíveis interferentes que poderão comprometer a análise cromatográfica (LANÇAS, 2004a). A alta eficiência de separação da cromatografia gasosa, aliada a outras técnicas, que são fundamentais para a determinação e quantificação dos analitos de interesse, coloca o sistema cromatográfico como uma das principais ferramentas na análise de agrotóxicos (Tabela 2).

Tabela 2. Detectores e técnicas utilizadas na análise cromatográfica

| Detector | Função | LOD (ng.L⁻¹) | Seletividade |
|------------------------------|--|--------------------------------|--|
| Captura de Elétrons (DCE) | Funciona detectando a supressão da corrente elétrica causada pela absorção de elétrons. Alta sensibilidade e utilidade para análise de uma grande quantidade de compostos com atividade tóxica e biológica. | 4-150 | Haletos, nitratos, nitrilas, peróxidos, anidridos, organometálicos |
| Espectrometria de Massa (EM) | No processo de espectrometria de massas a amostra é fragmentada/ionizada em um padrão próprio da espécie química que forma. | 10-1500 | Todos os compostos que possam ser fragmentados |
| Ionização de Chama (DIC) | Baseia-se na geração de um sinal elétrico a partir da combustão da amostra na chama. Não é uma queima que gere dióxido de carbono e água, mas uma ionização propiciada pela alta temperatura da chama de hidrogênio. | 100-1500 | Maioria dos compostos orgânicos |
| Nitrogênio-Fósforo (DNF) | Essencialmente um DIC modificado. | 5-100 | Específico para amostras que contêm nitrogênio e fósforo |

Para assegurar a qualidade dos resultados analíticos que empregam técnicas cromatográficas, os métodos de análise devem ser validados a fim de garantir a confiabilidade do procedimento definido, ou seja, um novo método analítico para gerar informações confiáveis e legíveis sobre a amostra, sofrer uma avaliação denominada de

validação. Segundo Ribani *et al.*(2004), “a validação de um método é um processo contínuo que começa no planejamento da estratégia analítica e continua ao longo de todo o seu desenvolvimento e transferência”. Para Lanças (2004a), a validação de um sistema de análise de substâncias químicas consiste em assegurar que o sistema funcione nas condições para as quais foram asseguradas, determinadas, validadas. É reconhecer que o sistema em si tem limitações, mas ao minimizar essas limitações o sistema apresente o comportamento esperado dentro dos limites definidos no processo de validação.

A validação do desempenho do método analítico é utilizada para verificar se o método fornece resultados admissíveis, ou seja, consideráveis para a técnica utilizada. Os parâmetros geralmente utilizados, que fazem parte da maioria dos processos de validação são: especificidade e seletividade, faixa de trabalho e faixa linear de trabalho, linearidade, sensibilidade, limite de detecção, limite de quantificação, exatidão e tendência (*bias*), precisão, robustez, incerteza de medição (INMETRO, 2003).

As propriedades físico-químicas dos agrotóxicos, tais como, grupo químico, solubilidade em água, pressão de vapor, tempo de meia-vida, entre outros, podem ser utilizadas como critério na validação metodológica, pois elas fornecem informações importantes no comportamento durante as etapas de pré-concentração, evaporação dos solventes e estabilidade na água (SABIN *et al.*, 2009). As diferenças das propriedades químicas entre os compostos e as diferentes de matrizes, tornam o desenvolvimento metodológico necessário para minimizar as adversidades encontradas e, a ausência deste torna o procedimento mais laborioso, demandando mais tempo, com grande custo de material, e gerando quantidades consideráveis de resíduos tóxicos (PRESTES *et al.*, 2009).

Numa determinação cromatográfica é necessário investigar as propriedades físico-químicas dos analitos para alcançar alta sensibilidade e seletividade nos resultados. Para tanto, a preparação da amostra é um passo fundamental para o desenvolvimento de um bom método analítico (SABIN *et al.*, 2009). O objetivo de uma otimização metodológico é aperfeiçoar um método de extração que ofereça alta eficiência de recuperação, facilidade, rapidez e satisfatória precisão e exatidão, além de baixo custo para quantificar ou qualificar esses compostos gerando resultados

confiáveis. Assim, preparo de amostras, separação cromatográfica, identificação e quantificação dos compostos de interesse, são as etapas do desenvolvimento metodológico que envolve, no geral, uma análise global.

As matrizes ambientais, especialmente a matriz aquosa, apresentam grande diversidade na estrutura, a qual está em função da soma de processos geológicos, biogeoquímicos e hidrológicos que são únicos para cada região. Consequentemente, efeitos matrizes são comuns em análise de compostos orgânicos, principalmente quando se usa metodologias padrões não validadas, as quais foram desenvolvidas para matrizes ambientais específicas (CAVALCANTE *et al.*, 2007; CAVALCANTE *et al.*, 2008; CAVALCANTE *et al.*, 2009). Por isso, desenvolvimento metodológico validado e otimizado para determinação de contaminantes de matrizes ambientais da própria região é o mais indicado, principalmente para investigar a dinâmica do contaminante no ambiente.

O objetivo desse capítulo foi aperfeiçoar e validar um método para determinação dos agrotóxicos (picloram, atrazina, clorpirifós, metil paration, cipermetrina e seus respectivos isômeros) de modo simples, rápido e aplicável em matrizes aquosas ambientais utilizando a técnica de Extração Líquido Líquido seletiva (ELL-s) e a análise de cromatografia gasosa com os detectores de espectrometria de massa (CG-EM) e de ionização em chama (CG-DIC).

1.2 Materiais e métodos

1.2.1. Protocolo de limpeza da vidraria

A vidraria utilizada foi previamente limpa com imersão em solução aquosa de detergente Extran Alcalino MA-01 (Merck) a 2% v/v por um período de 6 horas, e enxaguada com água corrente. Após a retirada total do detergente, a última enxaguada foi com água destilada, e logo em seguida rinsada com acetona PA. Depois da lavagem, a secagem foi realizada em estufa a 100°C (exceto as vidrarias volumétricas). Antes da utilização, a vidraria era rinsada com a mistura dos solventes utilizados na extração validada.

1.2.2 Reagentes e preparo de soluções

Todos os solventes utilizados no trabalho apresentavam grau de pureza entre 95,0% e 99,9%, e estes foram obtidos da TEDIA (HPLC/Spectro) e Vetec (UV/HPLC). As soluções empregadas neste trabalho foram preparadas pela solubilização de padrões de atrazina (50% m/m), picloram (95% m/m), metil paration (60% m/v), clorpirifós (98,12% m/m) e cipermetrina (91,82% m/v) em uma mistura de solvente de acetato de etila (EtOAc), acetonitrila (MeCN) e metanol (MeOH) na fração 2:1:1, respectivamente. Foi preparada uma solução de agrotóxicos estoque de 1000 mg.L⁻¹ e armazenada a baixa temperatura. Uma solução estoque de concentração 100 mg.L⁻¹ do agrotóxico azobenzeno (99,9% m/m), utilizado como padrão interno, foi preparada pela solubilização em acetonitrila. Os padrões surrogates utilizados foram: benzofenona (BF), decafluorobenzofenona (DFBF) e metil esteárico (ME) solubilizado em hexano (Hex) com concentração de 100 ng µL⁻¹.

1.3 Experimento

O experimento foi realizado em duas etapas. A primeira consistiu em otimizar o equipamento analítico (método cromatográfico gasoso - CG-EM e CG-DIC), através das principais figuras de méritos: seletividade, linearidade, precisão, exatidão, robustez, limite de detecção e quantificação. E a segunda foi validar e desenvolver um protocolo para o método de extração, utilizando amostras sintéticas e ambientais dopadas com padrões analíticos dos agrotóxicos, selecionados para o estudo conforme procedimentos sugeridos pelo INMETRO (2003).

1.3.1 Desenvolvimento e validação dos procedimentos de análise de agrotóxicos

1.3.1.1 Otimização da técnica de análise de agrotóxicos por CG-EM e CG-DIC

Para essa etapa foram utilizados um cromatógrafo gasoso CG-EM Focus-Polares-G com amostrador AS3000 e coluna cromatográfica DB-5 (Thermo TR – 5 ms SQC – 30m x 0,25mm ID x 0,25 μ m), e um cromatógrafo gasoso, modelo CG17-Shimadzu, interfaciado com detector de ionização de chama (DIC), acoplado com uma coluna DB-5 J&W (30m x 0,25mm d.i. x 0,25 μ m de filme). Ambas as técnicas foram utilizadas para comparar a eficiência do equipamento para os agrotóxicos utilizados, e assim obter resultados mais confiáveis e admissíveis. As técnicas cromatográficas foram validadas pelas figuras de méritos: Separação cromatográfica, linearidade, precisão (repetibilidade), seletividade, limite de detecção (LOD) e quantificação (LOQ), conforme procedimentos sugeridos pelo INMETRO (2003).

A partir de uma curva de calibração dos agrotóxicos estudados (picloram, atrazina, metil-paration, clorpirifós, cipermetrina 1, cipermetrina 2 e cipermetrina 3), que foi feita com várias injeções de concentrações crescentes (0,5 a 50,0 mg.L⁻¹), os tempos de retenção foram conhecidos, bem como foi verificada a capacidade de separação pela coluna e detecção dos equipamentos. A IUPAC (1989) recomenda que os níveis de concentração da curva analítica devem ser igualmente espaçados entre si, estando sobre a faixa de concentração de interesse, podendo abranger a faixa de 0 a 150% do valor esperado.

1.3.1.2 Condições cromatográficas para determinação de análise de agrotóxicos

As amostras foram injetadas no CG-DIC no modo *split* utilizando hidrogênio como gás de arraste, e no CG-EM no modo *splitless* com o fluxo de gás de arraste hélio, ambos a um fluxo de 1,0 mL. min⁻¹. As temperaturas dos injetores e dos detectores foram padronizadas para as técnicas utilizadas em 280°C e 300°C, respectivamente.

1.3.2 Técnica de extração

1.3.2.1 Otimização do método de extração

O método utilizado para extrair os agrotóxicos foi a ELL-s, que é baseado em um procedimento de extração no qual os solventes são selecionados a partir das propriedades físico-químicas dos solventes e do analito de interesse, garantindo que a

extração ocorra de forma seletiva. A otimização do método de extração ocorreu pela avaliação dos critérios: escolha dos solventes de extração (mistura extratora), quantidade de solvente de extração, tempo de agitação, escolha do padrão interno e do padrão *surrogate* e avaliação de efeito matriz.

1.3.2.2 Escolha dos solventes

Os solventes contidos na mistura extratora foram escolhidos a partir da solubilidade dos agrotóxicos. Apesar das características adversas entre estes, a mistura extratora foi escolhida de forma a assumir uma polaridade intermediária a fim de extrair a maior quantidade de agrotóxicos em uma única extração. A mistura extratora usada foi homogênea, porém em contato com a amostra aquosa possuía caráter heterogêneo (imiscível), ou seja, o sistema de extração foi bifásico.

1.3.2.3 Quantidade de solvente, a concentração da dopagem dos agrotóxicos e tempo de agitação

Para avaliar o efeito do volume da mistura extratora, foram realizados testes com 10 mL e 30 mL da mistura dos solventes escolhidos a fim de obter alta eficiência de recuperação dos agrotóxicos, com baixo custo e pouca geração de resíduo orgânico. A concentração da dopagem dos agrotóxicos nas amostras foi avaliada em três concentrações, $1 \mu\text{g.L}^{-1}$, $10 \mu\text{g.L}^{-1}$ e $50 \mu\text{g.L}^{-1}$. E o tempo de agitação que promovesse a melhor extração no contato da mistura extratora com a amostra dopada foi avaliado no tempo de 15min e 30 min.

1.3.2.4 Controle de qualidade analítico

Uma forma de controlar o desempenho do método, e também como auxílio da quantificação dos analitos é a utilização de padronização interna. Nesse trabalho foram utilizados padrão interno (PI) e padrão surrogate (PS). Ambos os padrões devem apresentar características similares as dos compostos estudados, assim como tempo de retenção próximo ao dos analitos de interesse, sem reagir com os mesmos ou com outro componente da matriz, sem fazer parte da amostra, e não co-eluir, e sim ficar separado de todas as outras substâncias presentes na amostra, quando forem para análise cromatográfica. (RIBANI *et al.*, 2004; SANTOS, 2009).

A recuperação é uma medida da eficiência da análise que envolve várias etapas. Assim, para avaliar a recuperação dos agrotóxicos nas amostras em diferentes matrizes, a utilização da resposta obtida da recuperação dos padrões surrogates, que participaram de todo o processo de extração, é correlacionada a partir da relação que cada analito de interesse tinha com um, ou mais de um, padrão surrogate. Um controle de qualidade rígido com a utilização de padronização interna, como o padrão surrogate, assegura a coerência dos resultados obtidos e, descarta-os que não apresentam correlação significativa entre os agrotóxicos e os padrões surrogates.

1.3.2.4.1 Escolha do padrão surrogate (PS)

Para a escolha dos PS, que foram empregados para assegurar a eficiência da extração, análise de componente principal (ACP) que é uma técnica de redução do número total de variáveis, foi realizada a fim de se observar com qual dos PS selecionados os agrotóxicos utilizados melhor se correlacionavam. Teste do coeficiente de correlação de Pearson também foi realizado. No final, esses testes estatísticos foram comparados com intuito de avaliar se as correlações entre os agrotóxicos e os PS são as mesmas para ambos os testes, corroboraram assim, para admissão dos resultados encontrados.

1.3.2.4.2 Fator de Relação (FR)

Para avaliar a relação que todos os PS selecionados teriam com os agrotóxicos estudados foi observado, a partir dos resultados, se a recuperação desses compostos seria direta, 1:1, ou parcial. A ausência desse estudo poderia estimar uma correlação errônea, uma superestimação ou subestimação dos resultados, evidenciando a necessidade de conhecer a recuperação dos agrotóxicos com relação à recuperação dos PS. Esse teste foi realizado com base na média de várias injeções de amostras de matrizes ambientais de salinidade 0 e salinidade 31, com o intuito de avaliar se o efeito matriz alteraria a proporção na extração dos padrões *surrogates* analisado questão. A ACP foi teste base para avaliar com que padrões *surrogates*, os agrotóxicos tinham correlação positiva.

1.3.2.4.3 Concentração corrigida (Cc)

Para obter resultados com um grau de confiabilidade significativo, as concentrações dos agrotóxicos foram corrigidas com a utilização do uso da eficiência de extração do PS escolhido, e do fator de relação estabelecido. Assim, o cálculo da concentração corrigida foi estimado considerando a concentração do analito encontrada, a recuperação do PS que ele se correlaciona e o fator de relação da recuperação entre o analito de interesse e o PS (equação 2). A falta desse fator de relação agregado a obtenção da concentração corrigida pode reproduzir em resultados errôneos, por não reconhecer se a relação é proporcional ou parcial entre os compostos.

$$C_c = \left(\frac{100 - C_e}{\%R_{PS}} \right) \times \frac{1}{FR} \quad (2)$$

Onde:

C_c = concentração corrigida do analito de interesse;

C_e = concentração encontrada do agrotóxico analisado;

$\% R_{PS}$ = recuperação do padrão *surrogate* na amostra;

F_R = fator de relação entre as recuperações do analito e do PS.

1.3.2.5 Efeito matriz

O efeito da resposta cromatográfica acentuada e induzida pela matriz ou efeito matriz foi um fator avaliado já que pode afetar acentuadamente as concentrações da amostra (HAJSLOVÁ, 1998). O efeito matriz foi avaliado a partir dos resultados das recuperações das amostras dopadas em matriz sintética (água de Milli-Q) e matriz ambiental (água do estuário do Rio Pacoti), utilizando o método de extração e cromatográfico validados. O efeito matriz (EM) foi avaliado utilizando a equação 3.

$$EM = \left(\frac{\text{Concentração após análise}}{\text{Concentração adicionada}} \right) \times 100 \quad (3)$$

Para avaliar o efeito matriz nas diferentes amostras foi realizado o teste estatístico ANOVA a fim de comparar as médias para verificar a existência de diferença significativa entre e dentre as recuperações das amostras avaliadas.

1.4 Resultados e discussão

1.4.1 Validação do método de análise de agrotóxicos por CG-EM e CG-DIC

1.4.1.1 Separação cromatográfica

A coluna cromatográfica é considerada o coração do sistema cromatográfico, pois nela ocorre a separação dos analitos de interesse (LANÇAS, 2004a). O programa de temperatura deve ser eficiente na separação e resolução dos compostos de interesse, em um tempo curto. Os agrotóxicos estudados (Picloram, Atrazina, Metil-paration, Clorpirifós, Cipermetrina 1, Cipermetrina 2 e Cipermetrina 3) foram separados em 30 minutos pelo CG-EM (Figura 4), e em 22 minutos pelo CG-DIC (Figura 5), e os respectivos tempos de eluições podem ser vistos Tabela 3.

Tabela 3. Tempo de retenção dos agrotóxicos

| Agrotóxicos | CG-EM | CG-DIC |
|----------------|--------------|--------------|
| | t_R (min.) | t_R (min.) |
| Picloram | 13,66 | 12,73 |
| Atrazina | 15,29 | 14,01 |
| Metil paration | 16,33 | 14,91 |
| Clorpirifós | 16,96 | 15,42 |
| Cipermetrina 1 | 21,6 | 19,72 |
| Cipermetrina 2 | 21,72 | 19,77 |
| Cipermetrina 3 | 21,84 | 19,87 |

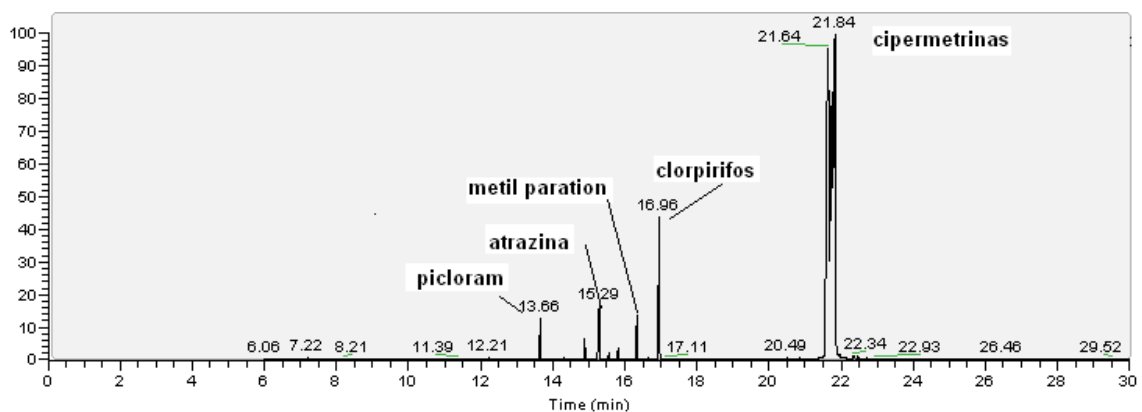


Figura 4. Cromatograma de separação dos agrotóxicos utilizando CG-EM.

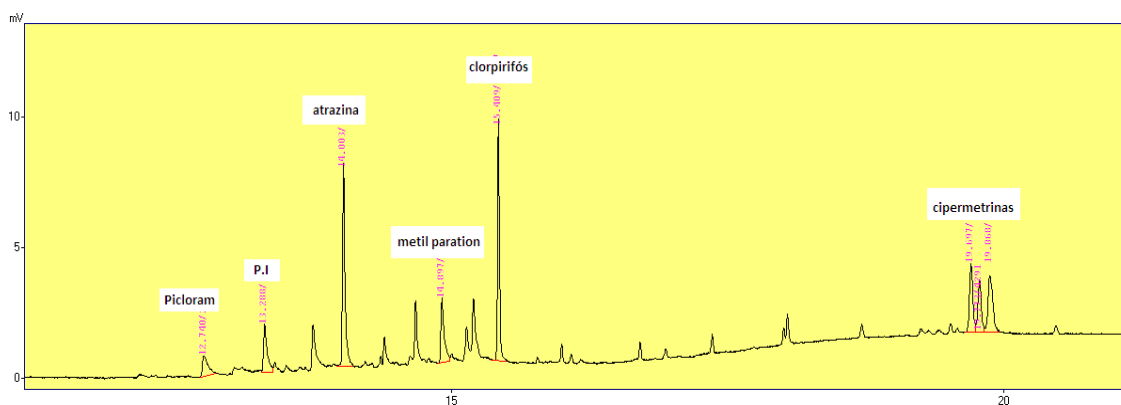


Figura 5. Cromatograma de separação dos agrotóxicos utilizando CG-DIC

A diferença no tempo de percolação, para separar os agrotóxicos, nos cromatógrafos deve-se ao fato que as análises foram feitas inicialmente no CG-EM, e a partir do conhecimento dos tempos de retenções de cada composto, o tempo de percolação no CG-DIC foi reduzido para minimizar custo, pois o tempo de percolação de 22 minutos foi o suficiente para separar os compostos e a identificá-los com clareza. Porém os tempos de percolações foram maiores que em relação a outros trabalhos, pois na validação do método de extração foram feitas análises em matrizes ambientais, que são consideradas complexas, e para evitar a co-eluição dos compostos estudados com outras substâncias contidas na amostra esse tempo de percolação foi expandido.

É importante salientar que o agrotóxicos cipermetrina 1, cipermetrina 2 e cipermetrina 3, que são isômeros, não apresentaram separação total (co-eluíram), em virtude da proximidade nos valores de pressão de vapor e índice de polaridade dos mesmos. Contudo, foram quantificados separadamente. As condições do programa de temperatura que separou os agrotóxicos em menor tempo estão apresentadas nas Figuras 6 e 7.

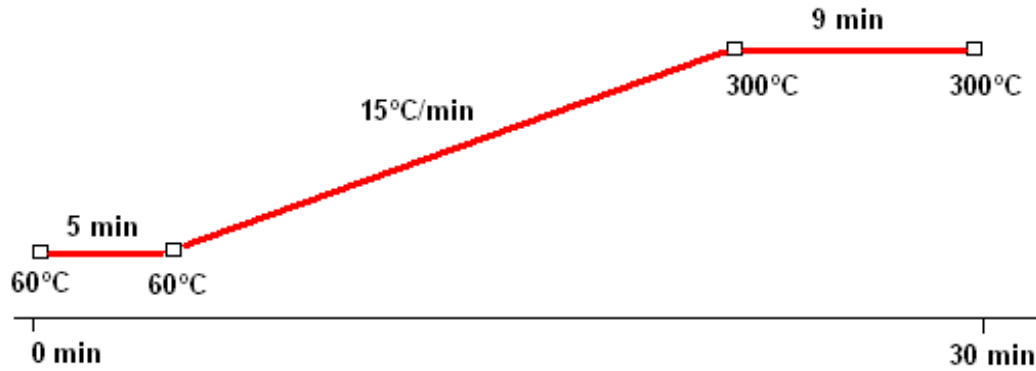


Figura 6. Esquema do programa de temperatura de separação dos agrotóxicos no CG-EM

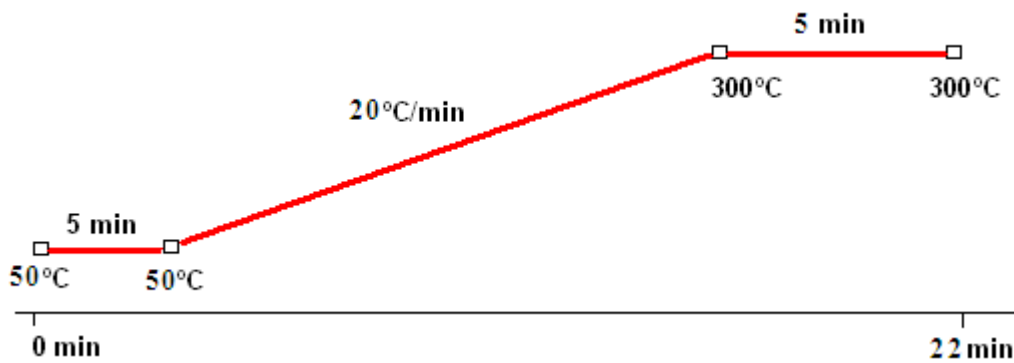


Figura 7 Esquema do programa de temperatura de separação dos agrotóxicos no CG-DIC

A identificação dos agrotóxicos separados no CG-EM foi certificada utilizando as bibliotecas do NIST e MAINLIB instaladas no *software* do equipamento. A identificação no CG-DIC foi confirmada pela observação do tempo de retenção após a injeção de cada padrão dos agrotóxicos, e comparado com os tempos de retenção, por ordem de eluição, do CG-EM. Desta forma, os compostos foram identificados e os respectivos tempos de retenção pré-estabelecidos.

1.4.1.2 Linearidade

A linearidade é a resposta obtida em função da concentração do analito, e deve ser estudada em um intervalo de concentração apropriado. Geralmente é determinada por intermédio de gráficos de calibração (curva de calibração) os quais são produzidos com 5 a 6 pontos. Foram construídas curvas de calibração com os pontos 0,5; 1,0; 5,0;

10,0; 20,0; 30,0 e 50,0 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ cujos respectivos coeficientes de correlações (R) para ambas as técnicas utilizadas estão apresentados na Tabela 4. Como pode ser verificado os coeficientes de correlação variaram de 0,9908 a 0,9972, no CG-EM e 0,9889 a 0,9982 no CG-DIC, mostrando que as técnicas cromatográficas propostas apresentaram ótima linearidade em uma ampla faixa de concentração. Valores de R acima de 0,98 são considerados satisfatórios (SILVA; ZINI; CARAMÃO, 2011). Assim, o método cromatográfico desenvolvido, para ambas as técnicas utilizadas, apresentou qualidade satisfatória para o desenvolvimento do trabalho de análise de agrotóxicos em amostras sintéticas e ambientais.

Tabela 4. Coeficientes de correlações utilizados na curva de calibração dos agrotóxicos

| Agrotóxicos | CG - EM | CG - DIC |
|----------------|---------|----------|
| | R | R |
| Picloram | 0,9954 | 0,9889 |
| Atrazina | 0,9974 | 0,9982 |
| Metil paration | 0,9913 | 0,9924 |
| Clorpirifós | 0,9944 | 0,9969 |
| Cipermetrina 1 | 0,9932 | 0,9957 |
| Cipermetrina 2 | 0,9972 | 0,9967 |
| Cipermetrina 3 | 0,9908 | 0,9950 |

1.4.1.3 Precisão - fidelidade

Segundo Lanças (2004a), a precisão (fidelidade) expressa o grau de dispersão entre uma série de medidas obtidas a partir de ensaios múltiplos para uma mesma amostra, podendo ser estabelecida através da repetibilidade e fidelidade intermediária, ou seja, nas mesmas condições operacionais e mudando um ou mais fatores, respectivamente.

A precisão pode ser determinada em condições de repetibilidade ou em condições de reprodutibilidade, e esta pode ser estimada por meio do desvio padrão (S) ou o do coeficiente de variação (CV). O CV foi utilizado para se medir a precisão das técnicas a partir da equação 4.

$$Cv = 100 \cdot \frac{S}{\bar{X}} \quad (4)$$

Para análise cromatográfica é relevante conhecer a repetibilidade de, no mínimo, dois parâmetros, tais como, tempo de retenção (t_R) e área ou altura do pico. A repetibilidade do tempo de retenção é usada, na maioria das análises cromatográficas, para confirmar a identificação do composto, considerada assim como uma análise qualitativa. A repetibilidade da área ou altura do pico é relevante por ser um parâmetro utilizado na quantificação dos compostos de interesse (análise quantitativa) (LANÇAS, 2004a). A fidelidade das técnicas cromatográficas avaliadas foi conhecida a partir de sete injeções de uma solução padrão dos agrotóxicos estudados ($50 \mu\text{g.mL}^{-1}$).

Para a estimativa da fidelidade do método analítico, o cálculo do *CV* não ultrapassou 5,258%, para o técnica do CG-EM (Tabela 5), o que pode ser considerado valor satisfatório (AQUINO NETO E NUNES, 2003), reforçando que o método desenvolvido é preciso. Para o CG-DIC esse valor máximo foi de 11,441%.

Tabela 5. Dados da estimativa da fidelidade (precisão) da área do pico dos agrotóxicos

| Agrotóxicos | CG- EM | CG- DIC |
|----------------|--------|---------|
| | CV(%) | CV(%) |
| Picloram | 4,191 | 16,272 |
| Atrazina | 5,258 | 5,838 |
| Metil paration | 3,877 | 11,441 |
| Clorpirifós | 2,938 | 6,902 |
| Cipermetrina 1 | 4,024 | 9,550 |
| Cipermetrina 2 | 3,026 | 9,872 |
| Cipermetrina 3 | 4,053 | 8,633 |

1.4.1.4 Seletividade

A seletividade é um parâmetro de grande importância na análise de amostras complexas e corresponde à capacidade de um método em determinar, com exatidão, o analito de interesse, na presença de interferentes existentes na amostra. (LANÇAS, 2004a). Alguns autores empregam o termo especificidade considerando o mesmo conceito de seletividade. Em geral, uma forma simples de verificar a seletividade de um método cromatográfico é observar a presença de picos na região do tempo de retenção do analito de interesse, injetando amostras em branco (AQUINO NETO E NUNES, 2003), a fim de garantir que o pico de resposta do analito seja proveniente exclusivamente do mesmo e não de outro composto, nesse caso, um interferente. Como pode ser verificado, nos cromatogramas (Figuras 8 e 9), nenhum pico aparece nos

tempos de retenção dos analitos de interesse, ou seja, não ocorreu co-eluição dos compostos de interesse com outros interferentes.

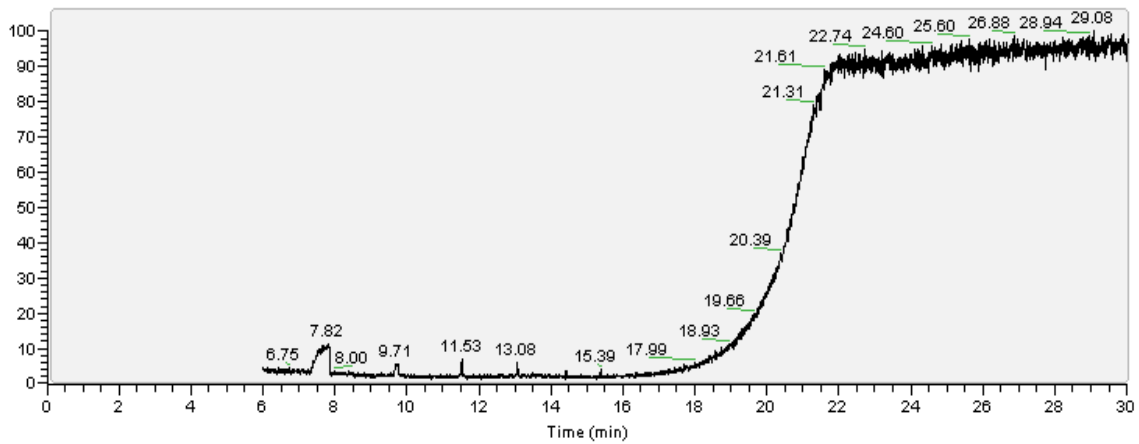


Figura 8. Cromatograma do branco da coluna CG-EM

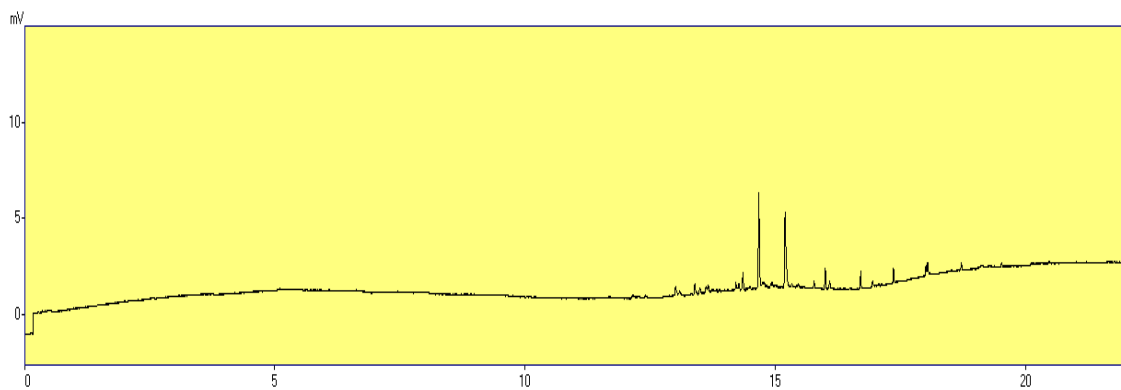


Figura 9. Cromatograma do branco da coluna CG-DIC.

Os picos que aparecem no cromatograma do CG-DIC que foram até quantificados pelo equipamento, com tempos de retenção de 14,65 e 15,17 minutos não interferiram na quantificação dos analitos de interesse apesar destes estarem entre os tempos de retenção dos compostos de estudo. Estes podem ser considerados como picos que foram quantificados por desgaste da coluna (DB-5 J&W) ou são compostos que ficaram retidos na coluna e os métodos cromatográficos utilizados anteriormente não conseguiram extraí-los.

1.4.1.5 Limite de detecção (LOD) e Limite de quantificação (LOQ)

O limite de detecção (LOD) corresponde à menor quantidade de um analito que pode ser detectada. Na prática, o LOD é determinado como a menor concentração do analito que pode ser diferenciada com segurança do ruído do sistema (LANÇAS, 2004a). O limite de quantificação (LOQ) corresponde à menor quantidade de um analito que pode ser quantificada com exatidão e com uma fidelidade determinada aceitável (LANÇAS, 2004a). O LOD e o LOQ foram estimados através dos resultados obtidos na análise do branco da coluna (Tabela 6). Desta forma o LOD variou de 0,07 a 0,63 $\mu\text{g.L}^{-1}$ e o LOQ de 0,22 a 1,91 $\mu\text{g.L}^{-1}$ no CG-EM. No CG-DIC o LOD e o LOQ variaram de 11,38 a 116,00 $\mu\text{g.L}^{-1}$ e de 34,49 a 351,53 $\mu\text{g.L}^{-1}$, respectivamente.

Tabela 6. Limite de detecção e limite de quantificação de todos os agrotóxicos estudado

| Agrotóxicos | CG- EM | | CG-DIC | |
|----------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| | LOD ($\mu\text{g.L}^{-1}$) | LOQ ($\mu\text{g.L}^{-1}$) | LOD ($\mu\text{g.L}^{-1}$) | LOQ ($\mu\text{g.L}^{-1}$) |
| Picloram | 0,40 | 1,21 | 56,70 | 171,81 |
| Atrazina | 0,33 | 1,01 | 45,48 | 137,83 |
| Metil paration | 0,63 | 1,91 | 116,00 | 351,53 |
| Clorpirifós | 0,22 | 0,65 | 11,38 | 34,49 |
| Cipermetrina 1 | 0,11 | 0,32 | 51,84 | 157,08 |
| Cipermetrina 2 | 0,08 | 0,23 | 16,87 | 51,12 |
| Cipermetrina 3 | 0,07 | 0,22 | 58,53 | 177,35 |

O método utilizado foi baseado em parâmetros da curva analítica sugerido pela IUPAC (1989), de acordo com as equações 5 e 6:

$$LOD = 3,3 \times s/S \quad (5)$$

Onde:

s = Estimativa do desvio padrão da resposta.

S = Coeficiente angular da reta.

$$LOQ = 10 \times s/S \quad (6)$$

Onde:

s = Estimativa do desvio padrão da resposta.

S = Coeficiente angular da reta.

Tabela 7. Figuras de méritos analíticos do método cromatográfico

CG-EM

| Agrotóxicos | Lineariedade | | | Repetibilidade ^a | | | |
|----------------|-----------------------|---|--------------------------------|-----------------------------|----------------------|--------------|----------------|
| | Equação de regressão | Faixa de calibração (mg.L ⁻¹) | Coefficiente de correlação (R) | LOD (mg.L ⁻¹) | t _R (min) | área do pico | t _R |
| Picloram | y = 0,5742x - 0,6920 | 0,5 - 50 | 0,9954 | 0,40 | 13,7 | 0,042 | 0,0001 |
| Atrazina | y = 1,1783x - 0,8589 | 0,1 - 50 | 0,9974 | 0,33 | 15,3 | 0,053 | 0,0001 |
| M-paration | y = 0,6773x - 1,0384 | 0,5 - 50 | 0,9913 | 0,63 | 16,3 | 0,039 | 0,0001 |
| Clorpirifós | y = 2,177x - 2,1003 | 0,1 - 50 | 0,9944 | 0,22 | 17,0 | 0,029 | 0,0001 |
| Cipermetrina 1 | y = 14,007x - 17,0540 | 0,1 - 50 | 0,9932 | 0,11 | 21,6 | 0,040 | 0,0002 |
| Cipermetrina 2 | y = 12,999x - 12,3690 | 0,5 - 50 | 0,9972 | 0,08 | 21,8 | 0,030 | 0,0004 |
| Cipermetrina 3 | y = 13,553x - 4,2592 | 0,1 - 50 | 0,9908 | 0,07 | 21,8 | 0,041 | 0,0003 |

^a = CV do tempo de retenção e área do pico (n=10) concentração 10 µg.L⁻¹

CG - DIC

| Agrotóxicos | Lineariedade | | | Repetibilidade ^a | | | |
|----------------|----------------------|---|--------------------------------|-----------------------------|----------------------|--------------|----------------|
| | Equação de regressão | Faixa de calibração (mg.L ⁻¹) | Coefficiente de correlação (R) | LOD (µg.L ⁻¹) | t _R (min) | área do pico | t _R |
| Picloram | y = 0,0926x - 0,2949 | 0,5 - 50,0 | 0,9889 | 56,70 | 12,87 | 0,08 | 0,006 |
| Atrazina | y = 0,2552x + 0,1353 | 0,5 - 50 | 0,9982 | 45,48 | 14,02 | 0,11 | 0,002 |
| M-paration | y = 0,0617x + 0,0487 | 0,5 - 50 | 0,9924 | 116,00 | 14,91 | 0,14 | 0,001 |
| Clorpirifós | y = 0,2088x + 0,2313 | 0,5 - 50 | 0,9969 | 11,38 | 15,42 | 0,18 | 0,002 |
| Cipermetrina 1 | y = 0,0984x - 0,0777 | 0,5 - 50 | 0,9957 | 51,84 | 19,73 | 0,08 | 0,002 |
| Cipermetrina 2 | y = 0,0762x - 0,0661 | 0,5 - 50 | 0,9967 | 16,87 | 19,81 | 0,18 | 0,001 |
| Cipermetrina 3 | y = 0,1114x - 0,0599 | 0,5 - 50 | 0,9950 | 58,53 | 19,91 | 0,16 | 0,001 |

^a = CV do tempo de retenção e área do pico (n=10) concentração de 10 µg. L⁻¹

As figuras de méritos (Tabela 7) apresentam os resultados obtidos através da análise dos brancos de coluna e da curva de calibração de ambas as técnicas cromatográficas utilizadas. O protocolo analítico apresentou figura de mérito satisfatório para todos os analitos de interesse. Observa-se que o CG-EM possui maior sensibilidade em relação ao CG-DIC, por apresentar menor limite de detecção para todos os agrotóxicos estudados. O resultado apresenta que o CG-EM é uma excelente ferramenta para a identificação e confirmação dos resultados em análise de resíduos de agrotóxicos, principalmente por sua alta sensibilidade.

Chen e Wang (1996) sugerem que para compostos halogenados (que neste trabalho são: picloram, atrazina, clorpirifós e cipermetrina), o método que possui a melhor sensibilidade para determinar os resíduos desses compostos é a detecção por captura de elétrons (DCE). O DIC perde em sensibilidade quando comparado aos detectores classificados como seletivos e específicos, como o DCE e a detecção por

fotometria de chama (DFC) e o EM. O DIC é mais utilizado para determinação de compostos não-halogenados, sensível para hidrocarbonetos não aromáticos.

Segundo Nguyen e Lee (2010) as características de cada agrotóxico ajudam a escolher o método de detecção com melhor eficiência cromatográfica. O detector de fósforo e nitrogênio (DNF) analisa com maior sensibilidade, agrotóxicos que contêm nitrogênio e fósforo, e o detector captura de elétron (DCE) para compostos clorados. A espectrometria de massas no modo SIM, monitorando íon selecionado, é preferível devido à ampla faixa de análise dos agrotóxicos.

As principais propriedades físico-químicas dos agrotóxicos em estudo estão na Tabela 8. A partir do conhecimento dessas características pode-se estimar o comportamento de cada um para a escolha do melhor método de detecção.

Tabela 8. Propriedades físico-químicas dos agrotóxicos estudados

| Agrotóxicos | Grupos Químicos | Solubilidade em água (mg L ⁻¹) | Log K _{ow} | PV (mPa) | KH (Pa m ³ mol ⁻¹) | t _{1/2} solo (dias) | t _{1/2} água (dias) |
|-----------------|-------------------|--|---------------------|------------------------|---|------------------------------|------------------------------|
| Picloram | composto piridina | 560 | -1,92 | 8,0 x 10 ⁻⁵ | 3,0 x 10 ⁻⁷ | 196,1 | 80,8 |
| Atrazina | triazina | 33 | 2,5 | 3,8x10 ⁻² | 3 x 10 ⁻⁴ | 50 | 55 |
| Clorpirifós | organofosfato | 1,05 | 4,7 | 1,43 | 0,478 | 36,5 | 5 |
| Metil parathion | organofosfato | 55 | 3 | 0,2 | 8,57 x 10 ⁻³ | 5 | 15 |
| Cipermetrina | piretróide | 0.009 | 5,3 | 0,00023 | 2,00 x10 ⁻² | 17 | 3 |

1.4.2 Otimização da técnica de extração

Com o método cromatográfico validado para ambas as técnicas cromatográficas utilizadas, e apesar da CG-EM ter apresentado melhor eficiência e sensibilidade em relação ao CG-DIC, devido às características do detector já citadas anteriormente, este último foi o utilizado na validação da técnica de extração nesse trabalho. Favorecendo assim, a uma nova percepção na capacidade de análise dos agrotóxicos em um equipamento que apresentou sensibilidade diversificada, contudo não desprezível, para cada agrotóxico de estudo.

1.4.2.1 Escolha do solvente

Geralmente, os métodos de extração em diferentes matrizes, são aplicados para análise de um único agrotóxico ou metabólito (KRISTENSON, BRINKMAN, RAMOS; 2006). Já o método multirresíduo, tem maior aplicabilidade, pois promove a análise de vários agrotóxicos de diferentes classes e grupos de forma simultânea.

A seleção de solventes apropriados para extração é um passo importante para o processo ELL-s. A Tabela 9 mostra as principais propriedades dos solventes estudados. Desses, três foram escolhidos para se obter uma polaridade intermediária, com o intuito de promover uma mistura extratora que proporcionasse a extração dos agrotóxicos em uma única etapa. Os solventes utilizados foram diclorometano (DCM), Hexano (Hex) e acetato de etila (EtOAc), na proporção 1:1:1.

Tabela 9. Propriedades dos solventes estudados para mistura extratora

| Solvente | Polaridade relativa | ϵ | P.F /°C | P.E/ °C | Densidade/ g. cm⁻³ |
|-----------------|----------------------------|------------------------------|----------------|----------------|--|
| EtOAc | 0,228 | 6,00 | -84 | 77 | 0,894 |
| Acetona | 0,355 | 20,7 | -95 | 56 | 0,785 |
| MeOH | 0,762 | 32,6 | -98 | 65 | 0,787 |
| Hex | 0,009 | 1,89 | -95 | 69 | 0,656 |
| MeCN | 0,460 | 37,5 | -44 | 82 | 0,779 |
| DCM | 0,39 | 9,1 | -95 | 39,75 | 1,307 |
| THF | 0,207 | 7,06 | -108,5 | 66 | 0,888 |
| água | 1,000 | 80,10 | 0 | 100 | 1,000 |

Além da polaridade intermediária, a solubilidade dos agrotóxicos nos solventes selecionados foi outro fator determinante. Na escolha, foram considerados os solventes que solubilizassem o maior número de agrotóxicos em estudo. Porém o metanol (MeOH), que apesar de solubilizar maior quantidade de agrotóxicos, em relação ao DCM, não foi selecionado por fazer ligação hidrogênio com a água tornando a extração dos agrotóxicos que são solúveis nele solvente ineficiente (Tabela 10). Vieira, Neves e Queiroz (2007) ao adicionar o MeOH na mistura extratora na ELL-PBT, como modificador de polaridade, observaram que ele não contribuiu para uma boa eficiência de extração, por interagir com a água impedindo portanto, o congelamento da fração orgânica. Esse trabalho corroborando para a escolha do DCM na composição da mistura extratora.

A escolha da mistura extratora é de fundamental importância para o bom desempenho de um método de extração. Contudo, deve se ressaltar que o processo de extração de um dado analito, em uma determinada matriz, não depende exclusivamente da capacidade de solubilidade, ou solvência, da mistura extratora, mas também de todo procedimento de preparo da amostra, da técnica de extração utilizada, das interações dos agrotóxicos e da mistura extratora com a matriz, entre outros fatores (VILA; OLIVEIRA; NOGUEIRA, 2011).

Tabela 10. Solubilidade dos agrotóxicos em solventes orgânicos

| Agrotóxicos | Solubilidade (g.L ⁻¹) | | | | | | | Água |
|----------------|-----------------------------------|---------|--------|--------|------|--------|-----|-------|
| | EtOAc | Acetona | MeOH | Hex | MeCN | DCM | THF | |
| Picloram | - | 23900 | 19100 | - | - | - | - | 560* |
| Atrazina | 24000 | - | - | - | - | 28000 | - | 33 |
| Metil Paration | - | - | - | 15000 | - | 200000 | - | 55 |
| Clorpirifós | 4000000 | - | 290000 | 774000 | - | - | - | 1,05 |
| Cipermetrina | 2000000 | 450000 | 450000 | 142000 | - | - | - | 0,009 |

Fonte: IUPAC FOOTPRINT Pesticides Properties Database

*agrotóxico bastante solúvel em água

1.4.2.2 Quantidade de solvente e tempo de agitação

Com a proporção da mistura extratora dos solventes utilizados estabelecida (1:1:1), o próximo passo foi avaliar a quantidade de solvente necessária para se obter a melhor recuperação dos agrotóxicos na extração. A quantidade que promoveu melhor extração e que, apesar do custo financeiro ter sido maior, foi a quantidade de 30 mL (Figura 10). O volume de 10 mL, que em primeira instância seria o selecionado, por atingir os critérios de menor custo financeiro e menor impacto ambiental na geração de resíduo, não apresentou recuperação satisfatória, pois em matrizes complexas as concentrações de contaminantes orgânicos são baixíssimas, logo utilizando uma pequena quantidade de solvente que obteve menor recuperação nos resultados, dificulta assim, a extração de tais compostos em diferentes matrizes.

O volume de 30 mL utilizado foi dividido em três frações iguais (10mL+10mL+10mL) e colocado cada volume em três momentos diferentes na garrafa âmbar, para aumentar o poder de extração dos agrotóxicos contidos na amostra. Esse passo foi importante na otimização da técnica ELL-s, pois a fragmentação da mistura

extratora, em contato com a amostra, favoreceu a remoção da maior quantidade de agrotóxicos, sendo esse resultado observado na recuperação. O processo se deu em colocar a mistura extratora com a amostra durante 15 min. (tempo de agitação mínimo avaliado) sobre agitação magnética. Após esse tempo a primeira fração orgânica era coletada em um frasco de DBO e novamente a mistura extratora (10mL) era inserida na garrafa de âmbar junto com fração aquosa. Esse procedimento ocorreu no total três vezes.

A fragmentação da mistura extratora aumentou a capacidade de extração dos agrotóxicos da amostra devido ao aumento da superfície de contato com a mesma, promovendo assim maior recuperação. E com um tempo de agitação curto (15 min.) a técnica ELL-s se torna menos morosa que outras técnicas de extração.

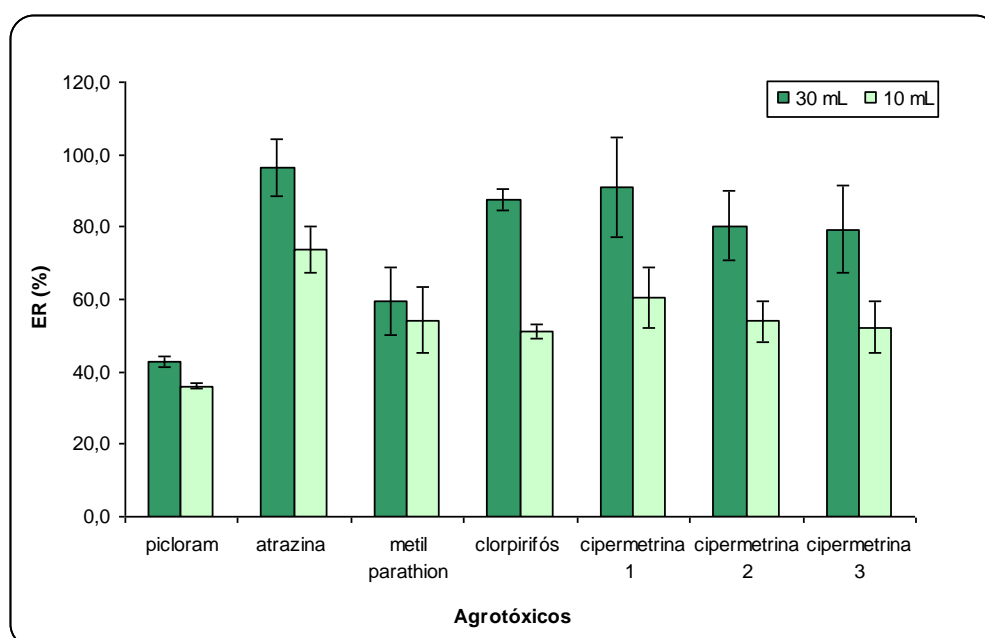


Figura 10. Gráfico da eficiência de recuperação (ER) na quantidade de solvente utilizado para extração dos agrotóxicos estudados.

A escolha da concentração dos agrotóxicos que foi utilizada na validação da técnica ELL-s foi feita a partir dos LOD do método cromatográfico analisado. A concentração que reproduziu maior eficiência na recuperação foi a de $50 \mu\text{g. L}^{-1}$.

1.4.2.3 Extração líquido-líquido seletiva validada

Após a avaliação das melhores condições do método de cromatográfico e de extração o estudo da partição foi realizado segundo o fluxograma da Figura 11.

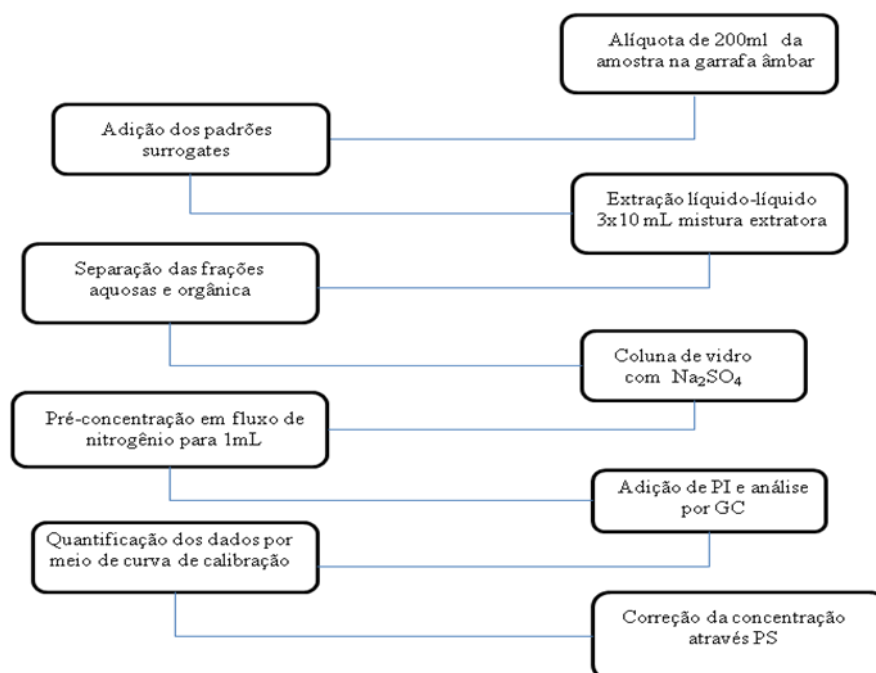


Figura 11. Fluxograma do método de extração líquido-líquido seletiva

1.4.2.4 Controle de qualidade metodológica

O método de padronização interna é extremamente útil, especialmente pelo fato de que independe de pequenas mudanças em variáveis experimentais, como temperatura da coluna e tamanho da amostra. O azobenzeno, o PI, foi adicionado às amostras antes da injeção no CG. Ele foi utilizado para compensar as flutuações de sinal e tempo de retenção ao longo das análises cromatográficas.

O PS foi submetido a todo o processo de tratamento da amostra, ou seja, ele foi adicionado à amostra antes da extração. A recuperação dos padrões surrogates selecionados (DFBF, BF e ME) é uma forma de controle metodológico no qual é possível estimar perdas e ganhos durante o procedimento de análise. Relacionando a quantidade de padrão adicionado no início com a quantidade obtida no término da análise (LANÇAS, 2004a; BERTHOUEX E BROWN, 2002).

A recuperação do PS foi utilizada no cálculo da concentração dos analitos estudados, no qual foram correlacionadas com as razões das recuperações entre os

padrões e o analito. Com isso, a concentração obtida foi corrigida em função da recuperação do padrão surrogate que melhor se correlacionava com o analito correspondente através dos testes estatísticos.

A partir da análise em duas amostras de água com salinidades distintas (0 e 31) pode-se observar o comportamento desses compostos com relação aos padrões surrogates selecionados e continuar com o estudo de partição na fração dissolvida e particulada (ver capítulo 2) com apenas os agrotóxicos que se correlacionam positivamente com o controle metodológico adotado.

1.4.2.4.1 Escolha do padrão *surrogate* (PS)

A técnica de ACP consiste em reescrever as coordenadas de um conjunto de dados em outro sistema de eixos que seja mais conveniente para a análise desses dados. Estas novas coordenadas são o resultado das combinações lineares das variáveis originais e são representadas sobre eixos ortogonais, sendo obtidas em ordem decrescente de variância. A primeira componente principal retém mais informação sobre os dados que a segunda componente principal que não retém informações contabilizadas anteriormente. Em função da ortogonalidade dos eixos, as componentes principais não são correlacionadas. Assim, o número de componentes principais total é igual ao número total de variáveis originais (BERTHOUEX E BROWN, 2002).

A finalidade do fator de análise é determinar o número de fatores comuns e sua carga fatorial. Esse fator de escore que é obtido para o poluente, nesse caso o agrotóxico, dentro do fator gerado pela ACP, é um tipo de coeficiente de correlação. Com esses fatores pode-se considerar se a associação foi significativa ou não. Ou seja, altos valores estão associados com grande significância, e o fator de escore de 0,1, por exemplo, pode ser considerado como o menor nível de significância dentre os fatores.

A ACP foi realizada no programa Statistica 7.0. A figura da ACP mostra as correlações entre os agrotóxicos e os padrões surrogates. A Figura 12 apresentou como resultados que os agrotóxicos clorpirifós e a cipermetrina 1 não apresentaram correlações significativas com os padrões surrogates analisados, tornando assim as suas recuperações imprecisas, sendo descartadas deste no estudo de partição por não proporcionar interação direta com padrões surrogates. Os agrotóxicos cipermetrina 2 e

cipermetrina 3 não foram quantificados nesse teste, sendo portanto descartados do processo.

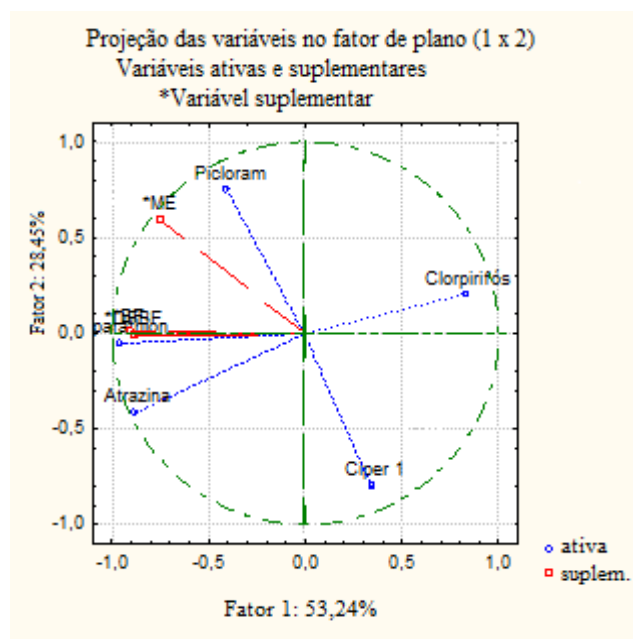


Figura 12. Análise combinatória de componente principal

A partir dos resultados obtidos pela ACP e analisando a recuperação dos agrotóxicos (Tabela 11) e dos padrões surrogates foram gerados os fatores de relação para cada correlação significativa encontrada.

Tabela 11. Recuperação dos agrotóxicos no controle metodológico com a utilização de padrões surrogates nas diferentes amostras de água

| | Agrotóxicos | | | | | Padrões surrogates | | | amostra de água |
|-------------|-------------|----------|-----------------|-------------|----------------|--------------------|------|-------|-----------------|
| | Picloram | Atrazina | Metil parathion | Clorpirifós | Cipermetrina 1 | DFBF | BF | ME | |
| Recuperação | 54,8 | 80,0 | 59,9 | 71,0 | 22,2 | 43,1 | 51,2 | 75,7 | Sal 31 |
| | 36,8 | 90,7 | 56,8 | 65,8 | 22,8 | 56,7 | 44,4 | 69,1 | |
| | 44,3 | 85,0 | 89,0 | 63,5 | 10,4 | 72,4 | 79,3 | 78,6 | |
| | 41,5 | 99,0 | 79,9 | 63,5 | 55,8 | 66,0 | 70,6 | 70,5 | Sal 0 |
| | 67,6 | 96,0 | 86,9 | 64,4 | 10,4 | 81,7 | 80,6 | 102,2 | |
| | 53,9 | 98,0 | 88,9 | 52,6 | 9,0 | 72,7 | 75,1 | 96,3 | |

A análise combinatória foi empregada como uma ferramenta de grande valia para o cálculo do fator de relação que estava diretamente relacionado com a eficiência de recuperação desses compostos com os padrões surrogates em águas com salinidades distintas.

Tabela 12. Fatores de relação dos agrotóxicos que obtiveram correlação significativa com os padrões surrogates.

| Agrotóxicos | Salinidade | | PS |
|-------------|------------|------|----|
| | 0 | 31 | |
| Picloram | 0,61 | 0,61 | ME |
| Atrazina | 1,51 | 1,29 | BF |
| M-parathion | 1,18 | 1,13 | BF |

O padrão surrogate DFBF também teve correlação positiva com os agrotóxicos citados na Tabela 12, como mostra a Figura 12, porém, por possuir relação direta com o padrão BF, e este ter apresentado um desvio padrão menor no valor da recuperação, sua correlação foi omitida nessa tabela. Contudo o fator de relação para todos os agrotóxicos era aproximadamente igual ao do padrão BF.

Outro aspecto que corroborou com os resultados evidenciando a necessidade de um controle metodológico rígido, a partir do uso de padrões surrogates, foi a análise em amostras com salinidades distintas (0 e 31) que teve como finalidade observar o impacto quantitativo de sais de sorção que a estratificação horizontal das massas de água proporciona.

Apesar do efeito matriz, que altera a eficiência de recuperação dos agrotóxicos, através das competições e/ou interações com os compostos contidos no extrato, a proporção entre os compostos se manteve equivalente, ou seja, assim como os agrotóxicos sofrem interferências, os PS também, assegurando a relação entre eles dependente da salinidade.

O coeficiente de correlação de Pearson (ρ), que foi analisado também para comparar com os resultados da ACP, mede o grau de correlação entre duas variáveis de escala métrica. A intensidade da associação linear existente entre as variáveis pode ser quantificada através do coeficiente de correlação linear de Pearson (equação 7):

$$\rho = \frac{C_{X,Y}}{S_X S_Y}, \quad \rho \in Y - 1, 1Y \quad (7)$$

Onde:

C_{XY} – Covariância ou variância conjunta das variáveis X e Y;

S_X – Desvio padrão da variável X;

S_Y - Desvio padrão da variável Y.

A análise de correlação indica a relação entre duas variáveis lineares e os valores encontrados sempre serão entre +1 e -1. O sinal indica a direção, se a correlação é positiva ou negativa. Assim o ρ foi avaliado para observar se as recuperações entre os agrotóxicos e os padrões surrogate selecionados (Tabela 13) seguiam um tendência linear ou não.

Tabela 13. Coeficientes de correlação de Pearson das variáveis analisadas (agrotóxicos e os padrões surrogates)

| Variáveis | ρ |
|------------------------|--------------------------|
| Picloram e ME | 0,74 |
| Atrazina e BF | 0,76 |
| Atrazina e DFBF | 0,75 |
| Metil-parathion e BF | 0,96 |
| Metil-Parathion e DFBF | 0,77 |
| Clorpirifós e DFBF | 0,36 |
| Cipermetrina 1 e ME | 0,40 |

As correlações de Pearson e ACP apresentaram resultados semelhantes, corroborando assim que cada agrotóxico possui um padrão surrogate, ou mais de um, com o qual a recuperação está estatisticamente correlacionada. Assim, para obter a concentração corrigida de cada agrotóxico a sua interação com a recuperação do PS que ele melhor se correlaciona foi considerado. Essas análises estatísticas mostraram também que os agrotóxicos clorpirifós e cipermetrina 1 não proporcionam nenhuma correlação com os PS selecionados, e essa falta de correlação, ou baixa correlação, foi observada na ACP que apresentou os resultados para esses compostos em quadrantes oposto aos quadrantes onde se observa correlação, assim como no caso de Pearson, no qual resultados abaixo de 0,5 são considerados fora dos parâmetros, ou seja, baixa correlação entre o PS e os agrotóxicos.

Esses resultados evidenciam assim, a necessidade de um controle de qualidade severo que assegure a eficiência de recuperação a partir da utilização de padronização interna, neste caso, os padrões surrogates. A apresentação desses dados estatísticos

ratificam que os agrotóxicos clorpirifós, cipermetrina 1, cipermetrina 2 e cipermetrina 3 não possuem uma correlação positiva com os padrões surrogates selecionados, necessitando assim de outros padrões surrogates que se correlacionem com os mesmos para garantir a sua recuperação e as concentrações finais possam ser corrigidas segundo a equação 2.

1.4.2.5 Efeito matriz

Valores de recuperações encontrados dentro da faixa de 70% a 120% são considerados aceitos em muitos trabalhos na literatura porque a quantificação pode ser afetada pelos co-extrativos existentes na matriz. Esses, por sua vez, podem modificar a resolução analítica aumentando desta forma o nível de erros aleatórios ou a introdução de um efeito sistemático sobre os resultados analíticos tanto constantes, ou proporcionais (GONZALEZ *et al.*, 2002).

Efeito matriz é descrito como uma das principais fontes de incerteza nos métodos analíticos multiresiduais (MAMs), no qual estão inclusa aquelas derivadas da contaminação da porta da injeção e na quantidade de componentes da matriz deixados no extrato purificado. Esse efeito é considerado como uma interferência entre os compostos pertencentes à matriz, que foram quantificados, na análise cromatográfica, como os analitos de interesse. Isso porque quando se analisa um extrato obtido por extração apropriada, além dos analitos de interesse outros compostos são extraídos, ou seja, os compostos pertencentes à matriz.

O que acontece, geralmente, é que as curvas de calibração são feitas com solventes puros, os quais favorecem a interação dos analitos de interesse com os sítios ativos (por exemplo, do *liner* do injetor do cromatógrafo), mas quando se analisa os extratos, estes por sua vez interferem na análise cromatográfica por competir pelos sítios ativos com os analitos de interesse. Essa interferência pode ocorrer em diferentes partes do sistema cromatográfico, tais como, o injetor (o *liner* do injetor citado acima), coluna ou detector (CARVALHO, 2009).

Na presença dos componentes da matriz, os analitos de interesse, que foram “descartados” pelo *liner* são introduzidos na coluna cromatográfica, obtendo assim uma resposta maior para o analito de interesse quando comparado com a resposta deste no

solvente puro (HAJSLOVÁ E ZROSTLIKOVA, 2003). Proporcionando uma superestimação dos resultados obtidos.

Segundo a IUPAC (1989): “efeito matriz é o combinado de todos os componentes da amostra diferente do analito sobre a medição da quantidade”. Ou seja, se o componente específico puder ser identificado como causador de um efeito, então este é referido como uma interferência.

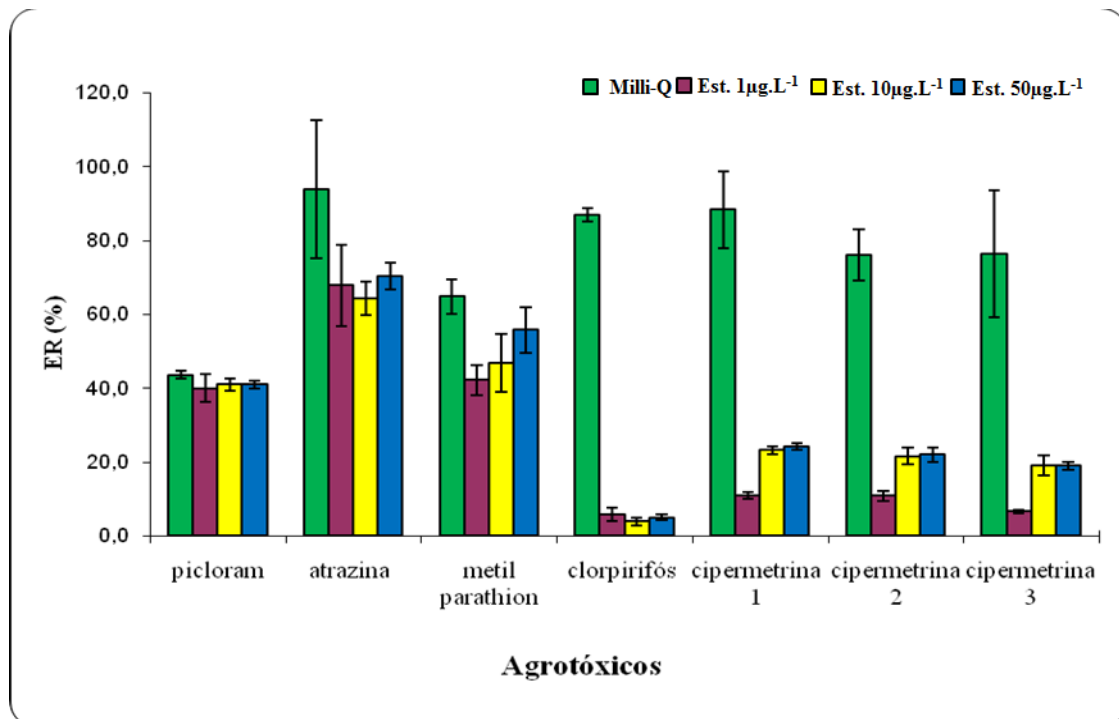


Figura 13. Gráfico com os percentuais de recuperação dos agrotóxicos sob o efeito matriz das amostras analisadas

A Figura 13 apresenta o resultado da eficiência de recuperação dos agrotóxicos estudados nas diferentes matrizes, água de Milli-Q e água de Estuário, sendo nesta última em diferentes concentrações (1 µg.L⁻¹, 10 µg.L⁻¹ e 50 µg.L⁻¹). A concentração inicial dos agrotóxicos na amostra sintética, água de Milli-Q, foi de 50 µg.L⁻¹, semelhante a amostra ambiental (água de Estuário) com 50 µg.L⁻¹. Apesar da Figura 13 apresentar os resultados da eficiência de recuperação dos agrotóxicos clorpirifós e dos isômeros de cipermetrina, esses não são assegurados pelo controle metodológico aplicado nesse trabalho, como visto pelos dados estatísticos, porém a apresentação dos

resultados foi para demonstrar a capacidade do método de extração frente ao efeito matriz.

A água de Milli-Q, que foi considerada como a amostra de referência, ou seja, que não possuía efeito matriz apresentou pra todos os agrotóxicos ER (%) satisfatória, acima de 70%, com exceções do metil parathion que apresentou ER de 64,7% e o picloram de 43,6%. A diminuição na recuperação do picloram e do metil parathion em relação aos outros compostos pode estar relacionada com a alta e moderada solubilidade na água (Tabela 9), respectivamente, tornando assim, a extração desses compostos, em meio aquoso, menos favorável. Ainda com relação ao picloram, observando a Figura 13, este agrotóxico, não sofreu efeito matriz em nenhuma das amostras estudadas, e esta característica pode estar associada com as suas propriedades físico-químicas por apresentar baixo coeficiente de partição octanol-água (K_{ow}) mostrando a sua tendência a ficar associado à água, baixo coeficiente de partição ambiental ar-água (K_H), que juntamente com a pressão de vapor (PV) mostra a tendência do agrotóxico de volatizar ou permanecer na fase aquosa, evidenciando assim, a sua baixa recuperação frente a solventes orgânicos e menor efeito matriz.

A atrazina, que é uma base fraca com características polares, e o metil parathion sofreram leve influência do efeito matriz, diminuindo as ER nas amostras ambientais. Esse efeito pode ter sido promovido por uma pequena competição dos constituintes do extrato da matriz com analitos de interesse, interferindo na análise dos mesmos.

Para os agrotóxicos clorpirifós, cipermetrina e seus isômeros, o efeito matriz foi bastante acentuado, diminuindo de forma brusca a recuperação desses compostos nas amostras ambientais, não ultrapassando 12% na recuperação na amostra do Estuário 1 $\mu\text{g.L}^{-1}$, e 30% nas concentrações maiores no agrotóxico cipermetrina 1, cipermetrina 2, e cipermetrina 3. Para o clorpirifós essa margem não excedeu a 8% de eficiência de recuperação para todas as amostras ambientais. Hajlslová e Zrostliková (2003) verificaram que quanto menor a concentração do analito na amostra, maior será o efeito da matriz.

Pinho (2007) observou na análise de piretróides em extratos de amostra de tomate que a ordem decrescente do efeito matriz corresponde exatamente à ordem de retenção dos compostos no sistema cromatográfico (Tabela 3), ou seja, quanto maior o tempo de retenção do agrotóxico na análise cromatográfica maior será a interferência da

matriz. Nesse contexto, as cipermetrinas (1, 2 e 3) foram largamente afetadas pelo efeito matriz devido à alta massa molar, que impede a volatilização destes no injetor e consequentemente aumenta o tempo de análise (SANCHEZ- BRUNETE, 2005).

O efeito matriz nos resultados pode ser significativo e deve ser determinado cuidadosamente. A correta avaliação do efeito de matriz pode evitar estimativas errôneas dos teores dos agrotóxicos, além de garantir a eficiência da técnica. Ribani *et al.*, (2004) sugerem que uma forma de minimizar esse efeito de matriz seria o uso de curva de calibração preparada em extratos da matriz isenta de agrotóxicos, ou até mesmo com a utilização de substâncias protetoras nos padrões preparados em solvente puro (SANCHEZ-BRUNETE *et al.*, 2005).

A análise estatística ANOVA foi utilizada, para interpretação dos dados experimentais gerados a partir da observação da existência de diferenças significativas entre as amostras analisadas. Essa ferramenta estatística é um critério utilizado, baseado em teorias matemáticas, que favorece ou não a aceitação dos resultados obtidos. O teste foi feito entre as médias das amostras de diferente matriz e dentre as médias das amostras de diferentes concentrações.

Os resultados da ANOVA – análise de variância - obtidos corroboraram com os resultados analisado na Figura 13, demonstrando que entre as matrizes sintética (água de MilliQ) e ambiental (água de estuário) existem diferenças significativas na eficiência de recuperação dos agrotóxicos levando à evidencia que a extração em matriz ambiental lixivia não apenas os compostos de interesse mas também outros que competem ou interagem com os de interesse alterando a sua eficiência de recuperação.

Já entre amostras de diferentes concentrações ($1 \mu\text{g.L}^{-1}$, $10 \mu\text{g.L}^{-1}$ e $50 \mu\text{g.L}^{-1}$) os resultados apresentaram pequenas diferenças significativas, ou seja, a resposta em nível de concentração tendeu a ser proporcional, mas em nível de eficiência de recuperação foi praticamente semelhante. Essa resposta fortalece a eficiência do método de extração, pois apesar da diferença nas concentrações das amostras, a capacidade da mistura extratora foi maior que a dependência da concentração. Ou seja, a mistura extratora foi fortemente seletiva para os compostos de interesse mesmo extraindo outros compostos que também são solúveis nos solventes selecionados na técnica ELL-s.

Como os agrotóxicos foram certificados pelo controle de qualidade metodológico a partir do uso do PS, os dados apresentados nesse trabalho foram apenas dos que obtiveram esse controle de eficiência de recuperação assegurado, tais como: atrazina, picloram e metil parathion entre as diferentes matrizes (Figura 14) e na matriz ambiental (água de estuário) de diferentes concentrações (Figura 15).

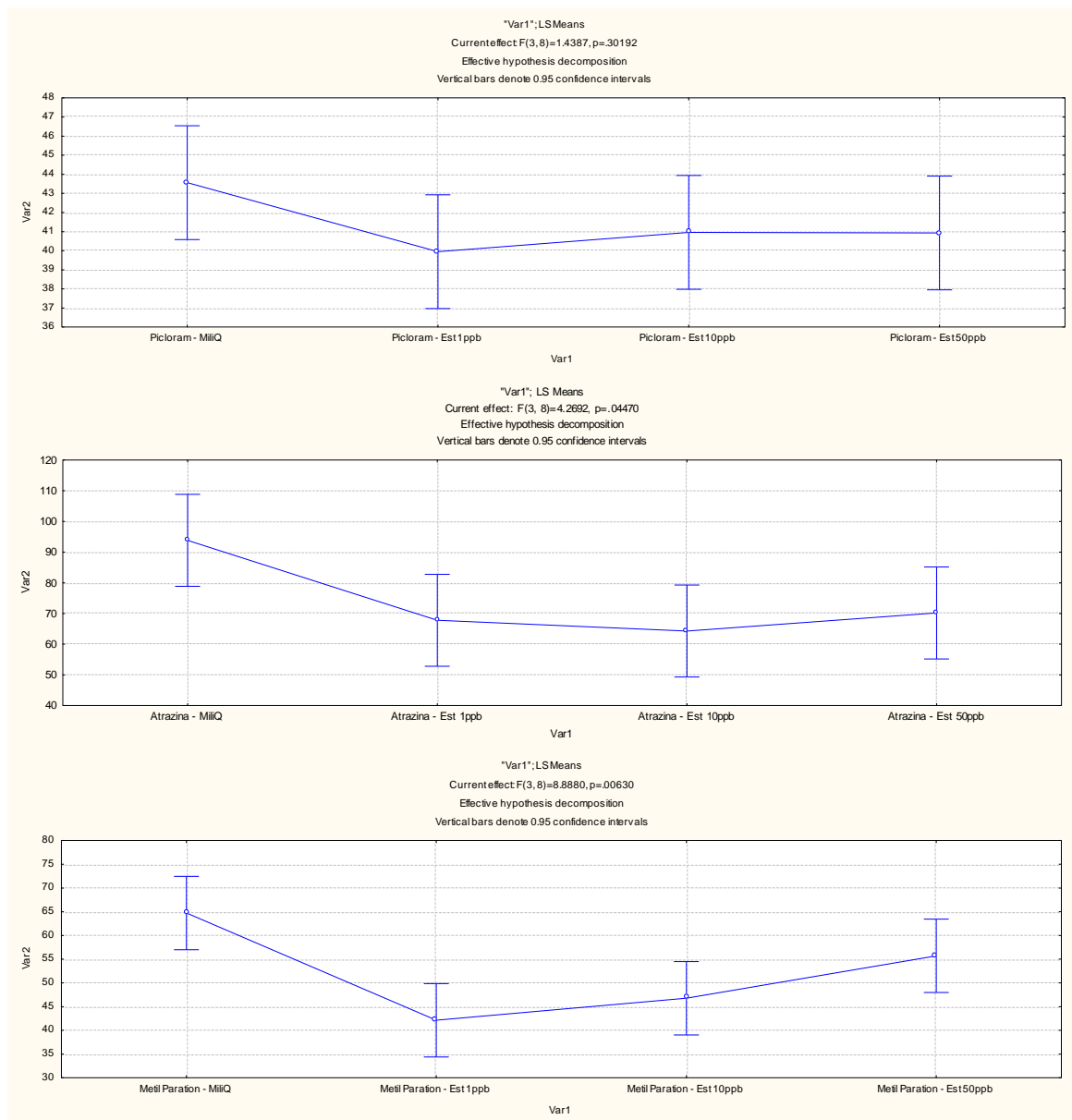


Figura 14. Gráficos representativos do teste estatístico ANOVA dos agrotóxicos picloram, atrazina e metil parathion, respectivamente, nas diferentes matrizes.

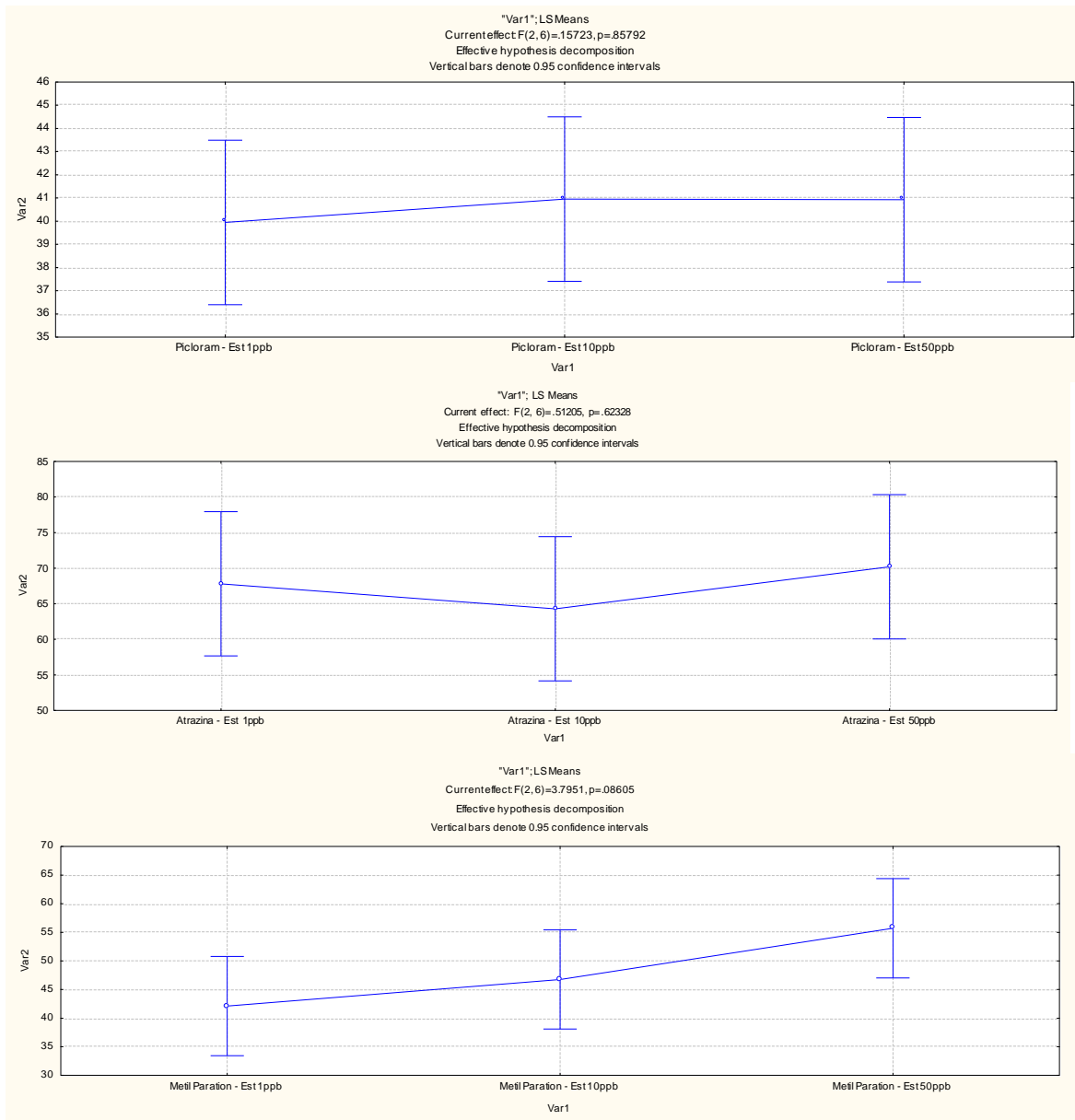


Figura 15. Gráficos representativos do teste estatístico ANOVA dos agrotóxicos picloram, atrazina e metil parathion, respectivamente, na matriz ambiental em diferentes concentrações.

1.5 Considerações finais

O método de ELL-s se mostrou eficiente, preciso, seletivo com pouco tempo de extração e curta manipulação de solventes orgânicos, na determinação dos agrotóxicos estudados em amostras sintética (água de Milli-Q) e ambiental (água de estuário). Entretanto um considerável efeito matriz foi observado e um controle de qualidade analítico rígido foi desenvolvido para assegurar a qualidade dos dados.

Ambas as técnicas cromatográficas testadas apresentaram satisfatória eficiência na quantificação dos agrotóxicos estudados, entretanto a técnica de CG-EM apresentou limite de detecção superior quando comparado com a técnica de CG-DIC. Para as amostras da água do estuário a eficiência de recuperação foi menor, sendo essa diminuição influenciada pelo efeito matriz, que se manifesta pela presença de interferentes presentes na amostra ambiental.

CAPÍTULO 2

2. Estudo da partição

2.1 Introdução

2.1.1 Contaminação por agrotóxicos

A determinação de contaminantes orgânicos, por exemplo, resíduo de agrotóxicos, em matrizes ambientais é relevante devido ao risco que esses compostos apresentam à saúde humana, assim como a sua persistência no meio ambiente e tendência de bioacumulação (PRESTES *et al.*, 2009). A contaminação por agrotóxico ocorre tanto nas áreas adjacentes, como pode atingir até mesmo em lugares difusos (não-pontuais), mais remotos do ponto de aplicação (CABRERA, COSTA E PRIMEL, 2008) devido ao diferente comportamento do agrotóxico nas matrizes ambientais (solo, água, planta e atmosfera), na qual a localização deste pode ser estimada através das propriedades físico-químicas do contaminante.

Muitos contaminantes orgânicos, tais como os agrotóxicos, apresentam baixa solubilidade em água e alta afinidade por matéria ou fase orgânica, e por isso são denominados compostos orgânicos hidrofóbicos (COHs) (CHI E AMY, 2004). O comportamento ambiental e bioquímico dos COHs está ligado diretamente às suas propriedades físico-químicas tais como solubilidade em água, pressão de vapor, constante de Henry (KH), coeficiente de partição octanol-água (Kow) e constante de partição com carbono (Koc). Cada propriedade físico-química contribui particularmente no que se refere ao transporte, distribuição, disponibilidade, bioacumulação e toxicidade dos COHs nos compartimentos ambientais e, conseqüentemente, na biota (SCHWARZENBACH, GSCHWEND E IMBODEN, 1993).

Altas pressões de vapor e constante de Henry estão associadas ao COHs que possuem baixa massa molecular, ou seja, alta volatilidade. Assim, essas propriedades que governam o fluxo superfície-atmosfera, portanto, transporte e distribuição dos contaminantes orgânicos voláteis (COVs) e de alguns contaminantes orgânicos semi-voláteis (COSVs), são também responsáveis, segundo alguns autores, pelo fato de os mesmos serem encontrados em níveis significativos em regiões remotas e distantes de centros urbanos e industriais (FERNANDEZ *et al.*, 2003).

Segundo Schwarzenbach, Gschwend e Imboden (1993), o coeficiente de partição com carbono (K_{oc}) consiste na razão entre a concentração da substância adsorvida ao carbono orgânico e a fase aquosa, indicando a potencialidade do composto para se ligar ao carbono orgânico em solos, sedimentos e material suspenso. Com isso, distintos ecossistemas podem adsorver COHs em diferentes níveis em função do conteúdo de carbono orgânico.

O coeficiente de partição octanol-água (K_{ow}) representa a razão entre as concentrações dos COHs em octanol (solvente apolar) e água, sendo muito útil na avaliação da disponibilidade e bioacumulação dos compostos orgânicos entre a biota e sua respectiva fração aquosa. Por tanto, quanto maior o K_{ow} , mais lipossolúveis serão os COHs, sendo este fator o governante na disponibilidade para os organismos vivos (SCHWARZENBACH, GSCHWEND E IMBODEN, 1993).

As propriedades físico-químicas influenciam fortemente o caráter hidrofóbico desses compostos, sendo este um dos fatores preponderantes na acumulação dos COHs em sedimentos (BAUMARD *et al.*, 1999).

Witt (2002) descreve que a facilidade de adsorção dos COHs pela matéria orgânica presente no material particulado e sedimento, bem como a hidrofobicidade desses compostos, contribui para a absorção por organismos aquáticos tais como crustáceos, moluscos bivalves, organismos bentônicos e pelágicos, os quais se apresentam com um mecanismo de desintoxicação ineficiente (SUNDT E GOKWYR, 1998). E, segundo Pardos *et al.*, (2004), os sedimentos contaminados podem ser considerados mundialmente como o contaminante que mais propicia para a degradação de ecossistema aquático, sendo assim um problema notável a ser contornado para que os recursos hídricos sejam amparados.

Os COHs são de grande interesse ambiental, em virtude da maioria dos seus componentes apresentarem potencial tóxico, mutagênico e carcinogênico. Em áreas rurais, devido à adoção de agrotóxico, o *runoff* torna-se, bem como a mobilidade através do solo para o lençol freático e posterior descarga para os rios, a principal fonte desses contaminantes para os ambientes (ARIAS-ESTÉVEZ *et al.*, 2008).

2.1.2 Processo de distribuição dos agrotóxicos entre os componentes do meio ambiente

A grande mobilidade dos agrotóxicos no meio ambiente deve-se às diversas substâncias químicas empregadas na formulação e, conseqüentemente, no favorecimento pelas propriedades físico-químicas, governantes na dinâmica ambiental dos elementos e substância nos compartimentos ambientais e respectivas interfaces (HANSTUSH, MARIÑO E ISLAM., 2000; HANTUSH *et al.*, 2002). Depois da aplicação dos agrotóxicos vários processos físicos, químicos e físico-químicos e biológicos determinam seu comportamento no meio ambiente (QUEIROZ *et al.*, 2009). Esses processos podem submeter o contaminante orgânico, que foi introduzido no ambiente, em duas principais categorias: aqueles que saem com a estrutura do contaminante inalterada, e aqueles que transformam o contaminante em um ou vários produtos de diferente comportamento e efeito (SCHWARZENBACH, GSCHWEND E IMBODEN, 1993).

Apesar do número extremamente grande de agrotóxicos existentes, o conhecimento de algumas regras sobre a natureza dos elementos e ligações químicas presentes em tais moléculas orgânicas pode permitir conhecer as relações importantes entre a estrutura do agrotóxico e suas propriedades e reatividade. Essas propriedades e reatividades, em grande parte, podem determinar o comportamento dos agrotóxicos no ambiente (SCHWARZENBACH, GSCHWEND E IMBODEN, 1993).

Processos de retenção (adsorção e absorção), de transformação (decomposição e degradação), e de transporte (deriva, volatilização, lixiviação e escoamento superficial), e interações entre estes (Figura 16), são alguns dos processos que podem governar o destino dos agrotóxicos (SPADOTTO, 2002).

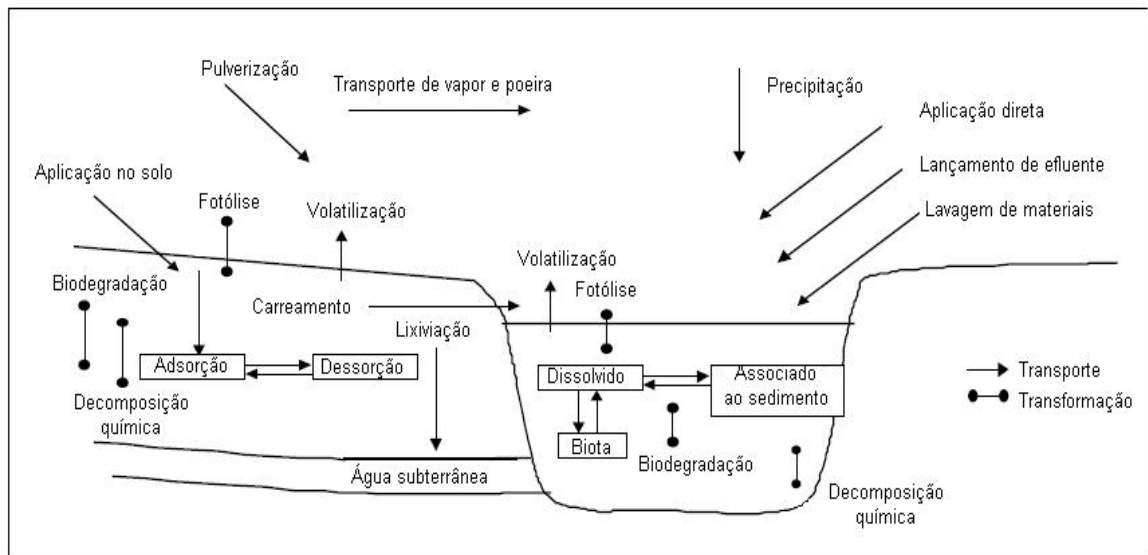


Figura 16. Principais fenômenos envolvidos no comportamento dos agrotóxicos no meio ambiente. (Fonte: Adaptada de Sanches *et al.*, 2003)

O processo em que compostos orgânicos estão associados com as fases (sólidas, líquidas e gasosas) é geralmente conhecido por sorção, ou adsorção – quando está sobre uma superfície bidimensional, ou de absorção – em uma matriz tridimensional. Esses processos de transferência podem ocorrer tanto em moléculas vaporizadas ou em moléculas dissolvidas com a fase sólida adjacente. Sorção é extremamente importante porque pode afetar drasticamente o destino e o impacto dos compostos orgânicos no ambiente (SCHWARZENBACH, GSCHWEND E IMBODEN, 1993).

Existe uma dificuldade muito grande em diferenciar processos de absorção dos processos de adsorção. O processo de absorção é a penetração dos elementos e substâncias químicas dentro da matriz ou do material absorvente, enquanto o processo de adsorção é um fenômeno de superfície, no qual o acúmulo de um determinado elemento ou substância química ocorre na interface entre a superfície sólida e a solução adjacente (COONEY, 1999).

O processo de adsorção depende de vários fatores tais como: natureza do adsorvente, adsorvato e condições do meio. As características do adsorvente incluem área superficial, tamanho do poro, densidade, grupos funcionais presentes na superfície e hidrofobicidade do material. Por outro lado, a natureza do adsorvato, depende da polaridade, tamanho da molécula, solubilidade e acidez ou basicidade. As condições do

meio, principalmente a temperatura, pH e natureza da fração aquosa são governantes no processo de sorção. Outro fator importante é a presença de espécies diferentes do adsorvato, que podem provocar competição por sítios do material adsorvente (COONEY, 1999; MCKAY, 1996).

Por ser um fenômeno de superfície, a adsorção pode ser caracterizada como um processo de mudança de concentração entre o limiar de duas fases sejam eles gasoso e líquido, líquido e sólido, ou entre líquidos imiscíveis (HUANG *et al.*, 2003; MECHLINSKA *et al.*, 2009). Geralmente, o processo de adsorção descreve a fixação de uma substância sobre a superfície de um líquido ou substância sólida, ou ligação a uma substância líquida sobre a superfície de um suporte sólido.

O processo químico (quimiossorção) e físico (fisiossorção) de adsorção são atualmente os responsáveis pelo o transporte e destino de contaminantes orgânicos nos corpos hídricos e, conseqüentemente, para as zonas estuarinas e oceanos adjacentes (YOU, JIA E PAN, 2010; CHI E AMY, 2004; LIU E LEE, 2007; CHEN, WONG E TAM, 2009). Nesses ambientes, dependendo da hidrogeoquímica e das características físico-químicas, bem como das propriedades físico-químicas dos contaminantes orgânicos podem funcionar como verdadeiros acumuladores de poluentes e até mesmo como fonte, no caso de eventos de mudanças, principalmente os estuários (TURNER E RAWLING, 2001; CHI E AMY, 2004). As principais diferenças entre esses dois tipos de adsorção estão apresentadas na Tabela 14.

Tabela 14. Comparação entre a adsorção física e química

| Adsorção Física | Adsorção Química |
|---|--|
| Força de Van der Walls | Ligações químicas |
| Calor de adsorção inferior a 20 KJ.mol ⁻¹ | Calor de adsorção superior a 20 KJ.mol ⁻¹ |
| A quantidade adsorvida depende mais do adsorvato do que do adsorvente | A quantidade adsorvida depende tanto do adsorvato como do adsorvente |
| Especificidade baixa | Especificidade alta |
| Energia de ativação baixa | Energia de ativação pode ser alta |
| Adsorção em multicamadas | Adsorção em monocamadas |
| Fácil dessorção | A dessorção pode ser difícil ou acompanhada de transformações químicas |

O processo da adsorção de poluentes nos compartimentos ambientais é demonstrado através de vários modelos matemáticos, utilizando o equilíbrio de partição entre duas fases (ver equação 1). Quando um contaminante se encontra associado à fase sólida ele pode encontrar-se adsorvido à superfície do sólido, absorvido na estrutura do sólido ou precipitado como uma estrutura molecular tridimensional na superfície do sólido (EPA,1999).

O oposto à adsorção é a dessorção, a qual é usada para recuperar um composto adsorvido, regenerando o adsorvente ao seu estado original. No entanto, a adsorção-dessorção aparenta ser o processo chave em meios nas quais as condições de equilíbrio químico existem (EPA, 1999). O processo de adsorção, que correspondente à remoção de soluto de uma fase líquida para uma fase sólida, depende das características tanto do contaminante como das partículas onde este é adsorvido, bem como das condições ambientais envolventes, principalmente se acontece na coluna de água ou no sedimento depositado. Ou seja, as variáveis ambientais devem ser levadas em consideração, de ambas as formas, separadas e em conjunto, uma vez que o ambiente é dinâmico, e mudanças ocorrem a todo instante (MECHLINSKA *et al.*, 2009).

2.1.3 Relação dos agrotóxicos com geosorvente em ambiente aquático

O solo, sedimento e material suspenso nos ambientes aquáticos apresentam “espaços” na sua estrutura com capacidade de adsorver naturalmente outros elementos e substâncias químicas, os quais recebem a denominação de adsorventes naturais ou geosorventes (MECHLINSKA *et al.*, 2009). Com isso, os geosorventes podem ser intitulados como material de alto teor de carbono elementar, que apresenta estrutura porosa hábil e superfície específica, tornando esses fatores governantes para “seqüestrar” ou “capturar” elementos ou substâncias consideradas contaminantes (MECHLINSKA *et al.*, 2009; LUTHY *et al.*, 1997). Nas últimas décadas, grandes esforços estão sendo realizados para compreender a composição e estrutura dos geosorventes, bem como sua dinâmica e fatores governantes no transporte do continente para o oceano de contaminantes orgânicos (LICK, 2009).

Com o intuito de avaliar o destino, especiação e adsorção dos agrotóxicos, vários estudos são conduzidos entre a interface continente-oceano. Os rios são considerados

rotas importantes para o transporte de contaminantes, procedente de atividades humanas para regiões circunvizinhas, tais como os estuários e para os oceanos adjacentes.

A partição entre fases, importante mecanismo que envolve a relação do agrotóxico com a matéria orgânica natural ou geosorvente, no ambiente aquático, em termo simples, é um processo governado por equilíbrio, que envolve vários processos que resultam na distribuição dos agrotóxicos entre uma fase dissolvida e outra particulada, ou fase aquosa e uma fase não polar, que pode ser composta pelos geosorventes ou por outro material que possuem a capacidade de adsorver. Em sistemas aquáticos, principalmente os que possuem uma hidrogeoquímica dinâmica, tal como o estuário, os agrotóxicos, podem ser localizados na fração aquosa dissolvida (livre), associada à matéria orgânica dissolvida (MOD), assim como adsorvido ao material particulado em suspensão (MPS) e ao sedimento (Figura 17).

A adsorção ao MPS geralmente retarda seu transporte nos sistemas aquáticos (MAGEE, LION E LEMLEY, 1991; LIU E AMY, 1993), sendo identificado como o mecanismo dominante para a subsequente sedimentação de compostos orgânicos nos ambientes estuarinos (MURPHY *et al.*, 1988; SMITH E LEVY, 1990). De outra forma, caso seja favorecido a adsorção pela fração dissolvida, e ligações dos COHs com a MOD (matéria orgânica dissolvida) ou colóides ocorram, os contaminantes certamente atravessam as zonas estuarinas, sendo transportados para o oceano adjacente (ROSTAD, LEENHEER E DANIEL, 1997; SABBAH, REBHUN E GERSTL, 2004). Um estado intermediário de equilíbrio também pode ocorrer, os COHs pode se ligar a MOD ou colóides, os quais podem em seguida se ligar a MPS, e o futuro desse contaminante será incerto, uma vez que dependerá das mudanças físico-químicas e hidrodinâmicas, bem como da hidroquímica do ambiente, e claro dos seus processos consequentes das alterações ambientais.

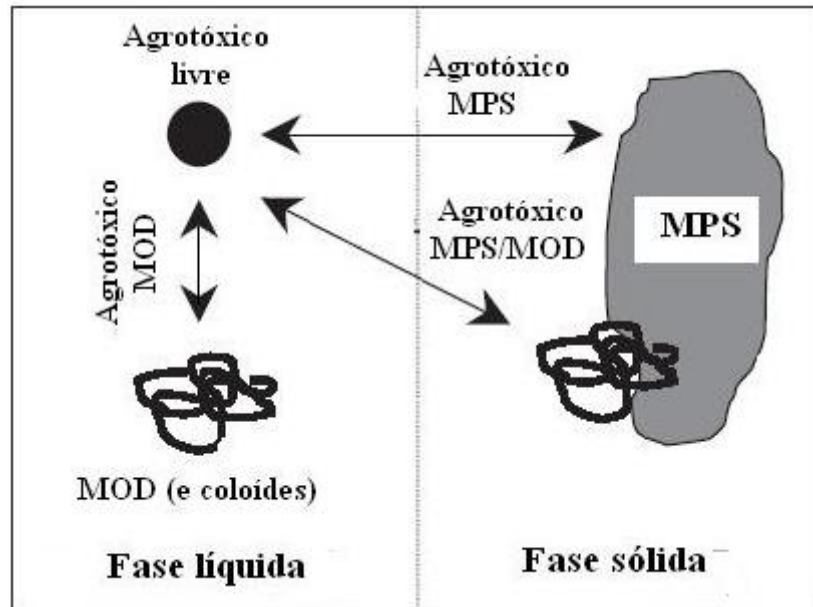


Figura 17. Modelo conceitual da partição dos agrotóxicos em sistema aquáticos. (Fonte: Adaptado de Tremblay *et al.*, 2005; Brunk *et. al.*, 1997)

O comportamento desses contaminantes na região estuarina é relevante, pois além dessa região ser reconhecida pela sua capacidade de depuração e pelo papel singular no desempenho do nível de sustentabilidade ecológica, é também zona de mistura com massas de água caracterizadas por gradientes temporais e espaciais de temperatura, salinidade e concentração de MOD que pode retardar ou favorecer o transporte desses contaminantes para o oceano (FERNANDES, 2001)

Em um ambiente de mistura, como o estuário, o poluente que entra por rota pontual ou difusa, é dirigido pela hidrodinâmica (força motriz no transporte de substâncias químicas) resultante do encontro do rio com o oceano sob a influência das marés, distribuindo-se por duas fases, dissolvida e particulada, dependendo das características dos poluentes como das condições ambientais envolvidas, neste caso, coluna d'água e sedimento (FERNANDES, 2001).

2.1.4 Fatores que influenciam no transporte e destino dos agrotóxicos em ambientes aquáticos

A interação dos agrotóxicos com o geosorvente, especialmente em ambientes aquáticos, implica na redução subsequentemente da taxa de disponibilidade dos mesmos para o ambiente, que afeta significativamente a toxicidade e exposição a organismos

vivos (MECHLINSKA *et al.*, 2009). Isto é bastante surpreendente, pois a compreensão dos fatores que afetam a interceptação dos agrotóxicos dentro dos ambientes aquáticos é o primeiro passo para desenvolver planos abrangentes para o gerenciamento ou remediar esses ambientes.

Contaminantes podem ser carregados com a água do rio e transportados para longas distâncias antes de desaguar para o oceano e largamente eliminados para o sedimento no estuário devido às mudanças drásticas na salinidade (PAN E YOU, 2010).

Em ambientes aquáticos, especialmente em zonas estuarinas, a temperatura, a salinidade, o pH, a variação e a concentração de matéria orgânica são conhecidos por afetar a solubilidade de contaminantes e de algumas frações da matéria orgânica (SCHWARZENBACH, GSCHWEND E IMBODEN, 1993). Logo, qualquer variação destes fatores torna determinante o processo de sorção ou partição dos agrotóxicos nos ambientes aquáticos (TREMBLAY *et al.*, 2005).

Em termos gerais no caminho entre o continente e o oceano, a diminuição da temperatura ocasiona um aumento da adsorção pelo MPS em zonas estuarinas (TREMBLAY *et al.*, 2005). Turner e Rawling (2001) mostraram que a sorção de compostos orgânicos pelo MPS geralmente aumenta com o aumento da salinidade via mecanismo de efeito *salting out*. *Salting out* se refere à redução da solubilidade do soluto neutro na água na presença de íons dissolvidos. E como as moléculas de água tornam-se mais ordenadas e compressíveis na presença dos íons dissolvidos, e o volume da cavidade disponível para acomodar o efeito “salting out” torna as moléculas orgânicas mais insolúveis na medida em que aumenta a salinidade da água. Apesar de poucos estudos, as variações dos principais parâmetros entre as águas dos rios e oceanos adjacentes, nas zonas estuarinas, favorecem em termos gerais a acumulação de COHs no MPS e conseqüentemente a deposição no sedimento de fundo.

O importante a salientar é que além de todas as variáveis existentes em um sistema costeiro, deve-se levar em consideração também a grande possibilidade na variação da composição do MPS, tornando cada estuário um caso a parte, em termos de estudos do transporte e destinos de agrotóxicos (TREMBLAY *et al.*, 2005).

2.2 Materiais e métodos

2.2.1 Materiais e reagentes

Nesse capítulo foram utilizadas as soluções de estoque de 1000 mg.L⁻¹ com agrotóxicos atrazina, picloram, metil parathion, clorpirifós e cipermetrina solubilizados em EtOAc, MeCN e MeOH – 2:1:1, v/v, o padrão interno - azobenzeno, e os padrões surrogates - ME, DFBF e BF, ou seja, as mesmas soluções utilizadas no capítulo da validação metodológica.

Foram utilizados nos procedimentos para o estudo da partição da fração dissolvida e particulada: galões esterilizados, sistema reacional inerte desenvolvido no laboratório, kit de filtração da Millipore, agitadores magnéticos, centrífuga, garrafas âmbar, barras magnéticas, frascos de DBO, funil de decantação, bomba a vácuo, papel de filtro, sulfato de sódio, proveta de 250 mL, coluna de vidro e tubos falcons.

2.2.2 Experimento

Após a validação do método de extração e cromatográfico, e com o controle de qualidade assegurada pelo uso de padrões surrogates e fator de relação determinado, ponderados a partir da eficiência de recuperação dos compostos, o passo posterior foi avaliar a partição dos agrotóxicos pela influência do efeito matriz associado com as mudanças hidroquímicas nas diferentes amostras de água ambiental, com salinidades diferentes. Para isso, amostras de água do rio Jaguaribe foram coletadas em três localidades diferentes apresentados na Figura 18.

2.2.2.1 Estudo do efeito do pH e salinidade na partição dos agrotóxicos

A água do rio, que apresentou salinidade 0, foi coletada no município de Itaiçaba, no lado da montante da passagem molhada, demonstrando a nula influência da entrada de água oceânica nessa região. Para a coleta de água que representasse uma salinidade intermediária, 15, a localidade escolhida foi o estuário do rio Jaguaribe, próximo ao município de Aracati e a água que representasse salinidade 30, o município de Fortim foi selecionado por essa localidade estar próxima à foz do rio. Para todos os pontos de coleta (Figura 18), galões esterilizados com capacidade de 25L foram utilizados, sendo coletados dois galões por local de amostragem, fazendo-se medições

de salinidade *in situ* por um salinômetro, e utilizando a sonda multiparamétrica HORIBA para a determinação dos outros parâmetros (pH, condutividade, turbidez, oxigênio dissolvido, temperatura, e salinidade).

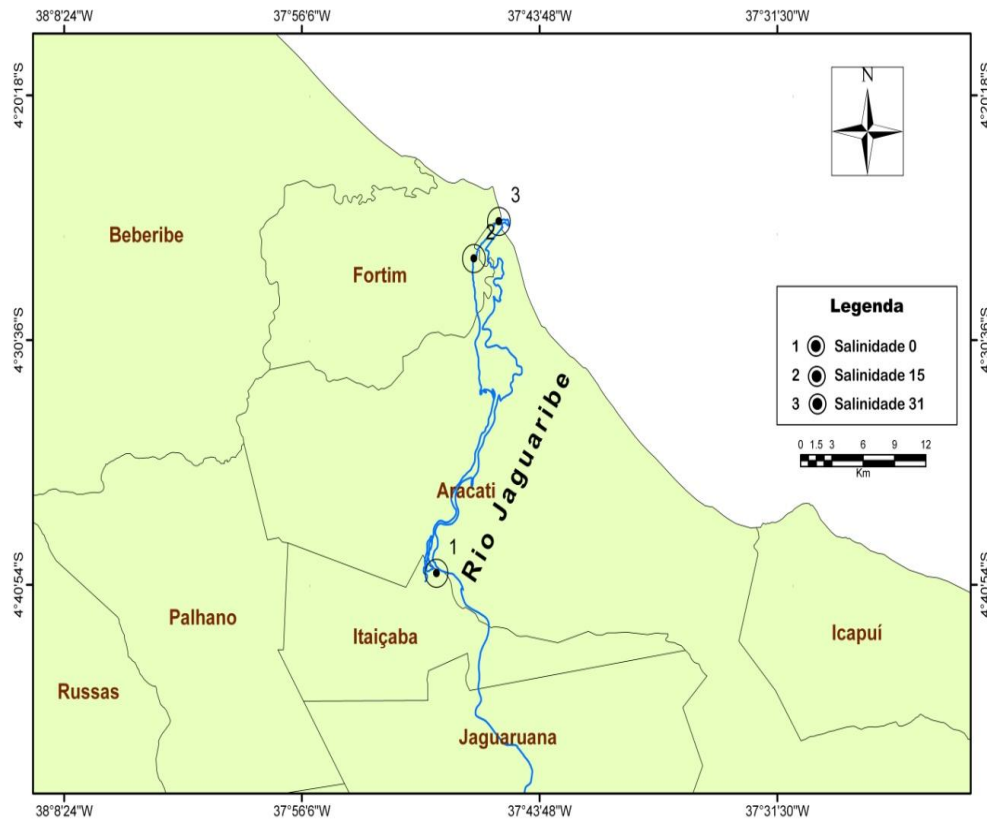


Figura 18. Pontos de coleta de água do Rio Jaguaribe

2.2.2.2 Estudo da partição

Um sistema reacional inerte foi utilizado a fim de avaliar a partição dos agrotóxicos na fração dissolvida e particulada. Esse sistema inerte de aço-inox, que antes da sua utilização foi lavado com detergente Extran Alcalino a 2% v/v, enxaguado com bastante água da torneira, e só depois de retirado todo o sabão lavado com água destilada, foi rinsado com a própria água que foi feito o estudo de partição (água do rio, água do estuário e água oceânica) em momento anterior à sua análise.

O volume retirado dos galões e colocado no sistema reacional foi de 20 L, sendo estes retirados após a homogeneização da água no próprio galão. Para simular o que ocorre num ambiente aquático quando se tem uma contaminação por agrotóxicos, as

águas de diferente salinidade estudadas foram dopadas com $50 \mu\text{g.L}^{-1}$ da solução composta por todos os agrotóxicos citados anteriormente. Mesma solução de estoque utilizada para o desenvolvimento metodológico.

O sistema reacional foi posto sobre o agitador magnético, e para isso, uma barra magnética, inerte aos agrotóxicos, (Figura 19) foi colocada neste para promover a homogeneização das frações contidas na água, assim como para simular o comportamento dos compostos no ambiente, ou seja, sempre numa dinâmica, e não estagnado.



a

b

Figura 19. a) Sistema reacional de aço-inox sob o agitador magnético (frontal); b) Com a barra magnética, vista da face superior do sistema reacional

O estudo de adsorção foi avaliado a partir da retirada de alíquotas de 200 mL, com o auxílio de uma proveta de 250 mL, do sistema reacional em um intervalo de tempo pré-determinado num ciclo de 24 horas, e em cada ponto do intervalo, a coleta foi realizada em duplicata. Esse procedimento foi realizado para cada tipo de água coletada (rio, estuário e oceânica) em dias consecutivos. Todas as amostras foram filtradas, separando a fração particulada (MPS) da fração dissolvida, utilizando filtro de celulose $0,47 \mu\text{m}$ no kit de filtração da Millipore. A fração líquida da amostra, sem o MPS, seguiu o procedimento de extração (Figura 20) que foi otimizado no capítulo anterior desse trabalho.



a b
 Figura 20. Separação das frações: a) kit de filtração de separação da fração dissolvida da particulada e b) amostra isenta do MPS, seguindo procedimento de extração em duplicata.

Para cada tipo de água foram coletados pontos (amostras) de quatro em quatro horas, durante um ciclo de 24 horas. Os pontos foram relacionados com o tempo de agitação no sistema reacional que promovesse a adsorção da seguinte forma: ponto 0 – 0h de agitação, ponto 1 – 4h de agitação, ponto 2 – 8h de agitação, ponto 3 – 12h de agitação, ponto 4 – 16 h de agitação, ponto 5 – 20h de agitação, ponto 6 – 24h de agitação.

Assim para cada ciclo, obtiveram-se sete pontos, cada ponto em duplicata, com um total de 14 amostras. E no final foram analisadas 42 amostras. Nesse trabalho o processo de adsorção foi considerado como um sistema simples, ou seja, classificando o MPS como o único adsorvente em questão e, oriundo apenas das amostras de água, pois o sistema reacional era vedado impedindo a entrada de partículas do ambiente onde o ensaio foi realizado ou a evaporação dos agrotóxicos investigados. Logo o coeficiente de partição K_p (em mL.g^{-1}) foi dado pela equação 8:

$$K_p = \frac{[\text{agrotóxicos}]_{\text{MPS}}}{[\text{agrotóxicos}]_{\text{livre}}} \quad (8)$$

Onde:

$[\text{agrotóxico}]_{\text{livre}}$ = é a concentração do agrotóxico verdadeiramente livre dissolvido na fase aquosa ($\mu\text{g.mL}^{-1}$),

$[\text{agrotóxicos}]_{\text{MPS}}$ = é a concentração de agrotóxico na fase sólida MPS (em $\mu\text{g.g}^{-1}$).

2.2.2.3 Avaliação do MPS

2.2.2.3.1 Determinação por Espectrometria Raman

A caracterização do MPS foi realizada por espalhamento Raman. O "espalhamento" acontece quando fótons (partículas de luz) se chocam com moléculas de uma amostra que pode ser de gás, líquido ou sólido. No laboratório, um espectro Raman é obtido fazendo-se a luz monocromática de um *laser* incidir sobre a amostra de interesse. A luz espalhada é dispersa por uma rede de difração no espectrômetro e suas componentes são recolhidas em um detector que converte a intensidade da luz em sinais elétricos que são interpretados em um computador na forma de um espectro Raman.

Foram utilizadas amostras do MPS de cada tipo de água analisada, com e sem a dopagem de agrotóxicos, para observar a capacidade de adsorção desses pelo material. As amostras (10 µg de cada material) foram analisadas no Laboratório de Espectroscopia Raman do Departamento de Física da Universidade Federal do Ceará.

2.2.2.3.2 Determinação por Análise elementar (CHN)

O analisador CHN é um método baseado na oxidação em alta temperatura dos compostos orgânicos, que converte os elementos em moléculas gasosas. Os produtos obtidos são CO₂, H₂O e N₂. A amostra é oxidada em uma atmosfera de oxigênio puro usando reagentes clássicos e os elementos como os halogênios e enxofre são removidos por reagentes na zona de combustão. Os gases resultantes são homogeneizados, despressurizados e posteriormente separados através de colunas específicas. A detecção é feita em função das condutividades térmicas e convertida, por cálculos estequiométricos, em porcentagens de C, H, e N na amostra.

A análise elementar foi realizada num analisador Perkim Elmer, modelo 2400 série II na Central de Análises Químicas da Universidade de São Paulo.

2.2.2.3.3 Determinação de agrotóxicos em sedimento e água do rio Jaguaribe

Amostras de sedimento (determinação qualitativa) e água estuarina, do rio Jaguaribe, foram avaliadas a fim de verificar a concentração de agrotóxicos no estudo conforme o método validado no capítulo 2 e por CAVALCANTE *et al.*, 2008 (análise de sedimento).

2.3 Resultados e discussão

2.3.1 Efeito dos parâmetros hidroquímicos na partição dos agrotóxicos

Com a utilização da sonda multiparamétrica HORIBA as águas coletadas, nas diferentes localidades, foram analisadas com o intuito de conhecer as suas características hidroquímicas e, os resultados obtidos são apresentados na Figura 21. Os valores dos parâmetros analisados constataam que se trata de ambientes considerados pela literatura de hidroquímica diferentes. A condutividade elétrica e a turbidez da água oceânica, denominada a partir de agora como foz, apresentou o aumento de íons dissolvidos na medida em que se adentra no oceano, assim como a diminuição de material suspenso nessa água.

A coleta dos dados com a sonda foi feita antes da dopagem das águas com os agrotóxicos, para assim, analisarmos o comportamento dos agrotóxicos (atrazina, picloram e metil parathion) frente ao conjunto dos parâmetros analisados e as propriedades físico-químicas desses contaminantes, levando em conta as possíveis interações que poderiam ocorrer entre os mesmos.

A observação dos dados obtidos sugeriu que as variações no oxigênio dissolvido não contribuem tanto para a sorção dos compostos frente às causadas por variações na composição ou na concentração dos geosorventes na água. A turbidez é um parâmetro que indica a quantidade de material particulado suspenso no ambiente aquático, e quando um ambiente apresenta uma alta turbidez, e este MPS e dependendo da constituição química desse material, a quantidade dos agrotóxicos adsorvidos ao MPS tenderá a aumentar consideravelmente. Nas mudanças na salinidade, temperatura e condutividade são, portanto, suspeitas de influenciar a sorção de contaminantes hidrofóbicos para o MPS (TREMBLAY *et al.*, 2005).

As variações na temperatura e na salinidade, segundo Tremblay *et al.* (2005) podem, principalmente, atribuir a mudanças na solubilidade dos contaminantes na água. A solubilidade em água de um composto hidrofóbico é reduzida pelo aumento da força iônica e, este efeito é conhecido como *salting-out*.

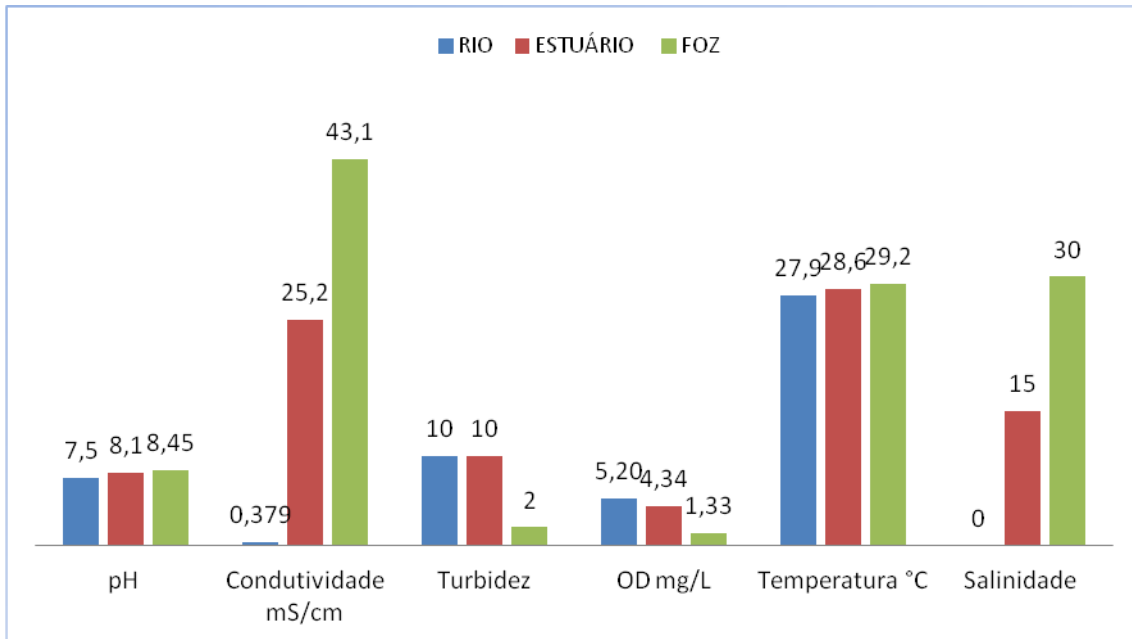


Figura 21. Parâmetros analisados da sonda multiparamétrica HORIBA nas diferentes águas coletadas para o estudo de partição.

Assim, quem poderá contribuir para o aumento da sorção de compostos orgânicos, nesse caso, os agrotóxicos, para o MPS são: o efeito *salting out* promovido pela salinidade, e os íons dissolvidos que aumentam a hidrofobicidade dos compostos devido à solvatação dos íons pela água, mas também a composição ou a concentração de partículas em suspensão no meio aquático, mostrando que os parâmetros analisados foram apenas canais para o conhecimento de possíveis eventos entre o meio aquático de características hidroquímicas diferentes. Logo, eles favorecem na informação, porém não determinam o comportamento final dos agrotóxicos necessitando de outros parâmetros para obter um resultado mais consistente e preciso. A influência destes parâmetros tem sido pouco aplicada na observância em estudos de campo (TREMBLAY *et al.*, 2005).

2.3.2 Quantificação do material particulado em suspensão

As concentrações do MPS apresentaram teores variando de 4,40 a 69,33 mg.L⁻¹ para sólidos suspensos totais (SST), de 1,67 a 13,33 mg.L⁻¹ para sólidos suspensos voláteis (SSV) e de 2,73 a 56,00 mg.L⁻¹ para sólidos suspensos fixos que foram os considerados como o MPS final, que foi utilizado na avaliação da capacidade de sorção. Esses valores foram às médias de cada ponto de amostragem (rio, estuário e foz) que foi

realizado em triplicata. A Figura 22 apresenta a variabilidade do MPS em relação às regiões de amostragem.

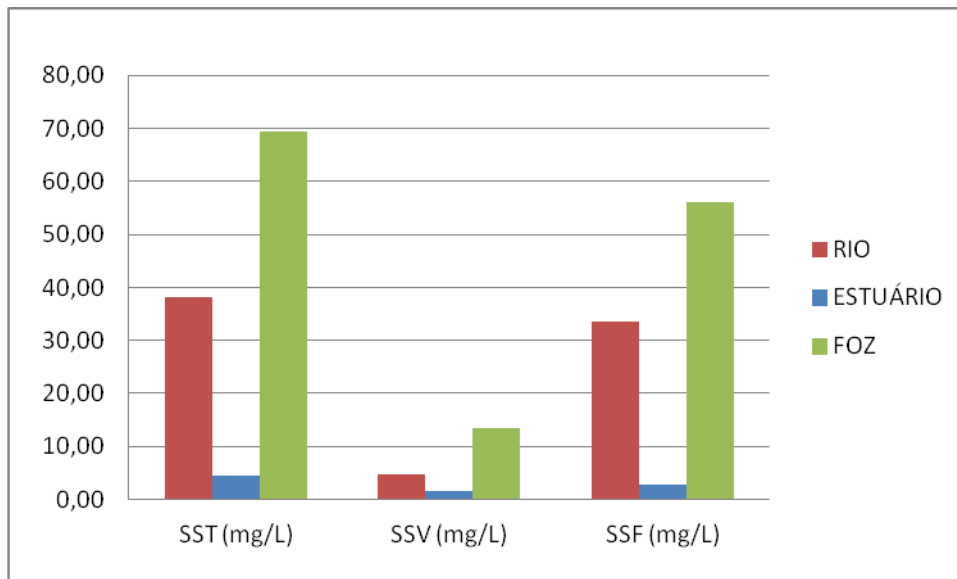


Figura 22. Variabilidade do MPS em relação às regiões de amostragem.

A concentração média do MPS da região do estuário ($2,73 \text{ mg.L}^{-1}$) foi considerada baixa, para uma região denominada como zona de mistura, a qual ocorre o encontro das águas do rio com as águas oceânicas, fazendo como que haja a ressuspensão do material fino depositado no fundo, aumentando assim o teor de MPS nesse sistema. Contudo a sua baixa concentração foi admissível porque naquele ocasião de amostragem (jan/2011) uma alta precipitação pluvial atípica para esses período do ano ocorreu. Fato semelhante, Dias (2005) observou, no qual uma grande variabilidade do MPS estava ligado a sazonalidade climática, comumente observada para o baixo Jaguaribe, onde teores variaram entre 7 a 608 mg.L^{-1} , com média de $115 \pm 183,5 \text{ mg.L}^{-1}$. Os estudos de Eschrique (2008) observaram concentrações de MPS que variaram de 10,9 a $38,4 \text{ mg.L}^{-1}$, em diferentes períodos para o estuário do rio Jaguaribe.

Marins e Dias (2003) observaram que os teores de material em suspensão no canal estuarino do rio Jaguaribe são fortemente alterados em sua hidrodinâmica pelo barramento de suas águas e por isso apresentaram uma elevada variabilidade ($3,7$ a $46,9 \text{ mg.L}^{-1}$) e mencionam que as principais fontes de MPS na região estuarina são as descargas fluviais e a remobilização de partículas previamente depositadas no fundo, que suscitam novas áreas de sedimentação e modificam a hidrogeoquímica do estuário.

O MPS transportado pelos rios para a zona costeira adjacente reflete os processos de erosão dos solos e o controle hidrogeológico das diversas substâncias naturais ou antrópicas emitidas para a bacia de drenagem (MARINS E DIAS, 2007).

As concentrações do MPS variam dependendo de fatores como a influência do suprimento de sedimentos e com a descarga e a velocidade do fluxo, que determinam quanto de sedimento é transportado com o tempo (ALLAN E CASTILLO, 2007).

2.3.3 Avaliação da cinética de equilíbrio da sorção

Cada agrotóxico apresentou comportamento diferente entre si e para cada salinidade estudada. Na salinidade 0 (Figura 23) observou uma pequena sorção com o passar do tempo do agrotóxico picloram, e após as 16 horas iniciais uma expressiva diminuição na eficiência de sorção mantendo, no final, uma recuperação em torno de 7,0 %. A atrazina, o seu comportamento na salinidade 0, a nível de eficiência de recuperação, foi superior ao picloram, porém a sua recuperação final não ultrapassou a margem de 20 %. Já o agrotóxico metil parathion apresentou uma situação atípica das descritas anteriormente. Após ter-se estabelecido um equilíbrio entre as frações dissolvida e particulada, a tendência com o passar do tempo foi de um comportamento de dessorção, ou seja, retorno do contaminante para a fração dissolvida.

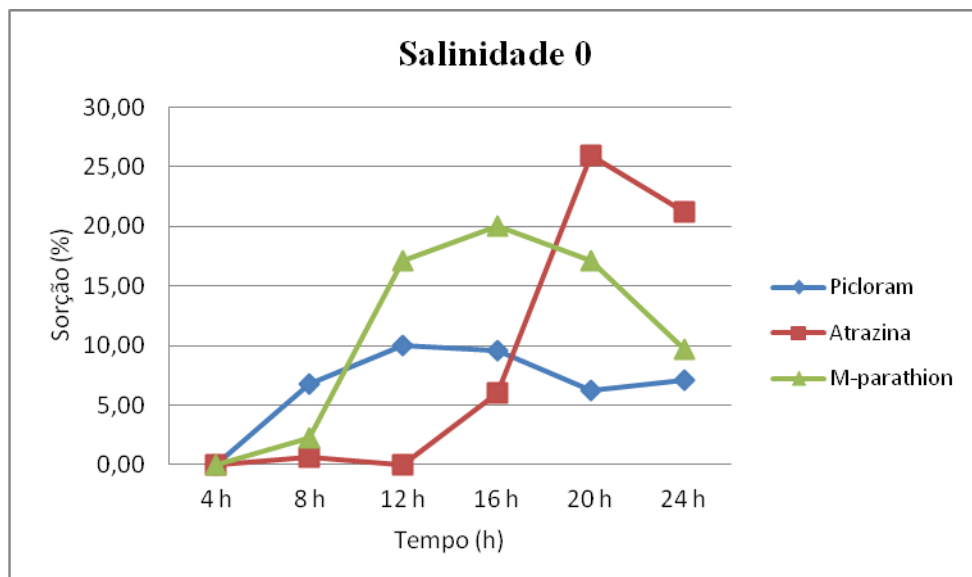


Figura 23. Eficiência de recuperação em nível de sorção dos agrotóxicos estudados na salinidade 0

Para a salinidade 15, correspondente à região estuarina do rio Jaguaribe, as adversidades continuam, mostrando desde já que a salinidade promove um efeito matriz nos agrotóxicos que possuem características físico-químicas diferentes. Nessa salinidade o agrotóxico picloram apresentou um desempenho com uma tendência ao equilíbrio após as 12h de agitação. Sendo que nas primeiras horas uma queda na eficiência de recuperação foi observada (Figura 24), e somente depois o agrotóxico comportou-se com uma disposição ao equilíbrio obtendo como recuperação final após um ciclo de adsorção de 24h de 10,0%.

No caso da atrazina, observou-se uma significativa sorção do composto pelo material particulado em suspensão, evidenciando assim sua “preferência” por este frente a fração dissolvida, na medida em que a salinidade aumenta. Nesta salinidade a eficiência de recuperação ultrapassou os 50,0% com uma recuperação final de 41,67%, um resultado satisfatório, e distinto ao compará-lo ao picloram, demonstrando que ambos agrotóxicos possuem propriedades físico-químicas diferentes levando portanto a comportamentos diferentes.

Para o metil parathion o aumento da salinidade de 0 para 15, o levou a dar um salto na sua capacidade de sorção ainda maior que em relação aos agrotóxicos citados acima. A sua eficiência saltou 9,68% (salinidade 0) para 69,19% (salinidade 15) comprovando assim que, na medida que o agrotóxico adentra em regiões com maior índice de salinidade, sua hidrofobicidade aumenta, favorecendo a sua interação com o MPS que se encontra disponível no meio aquático.

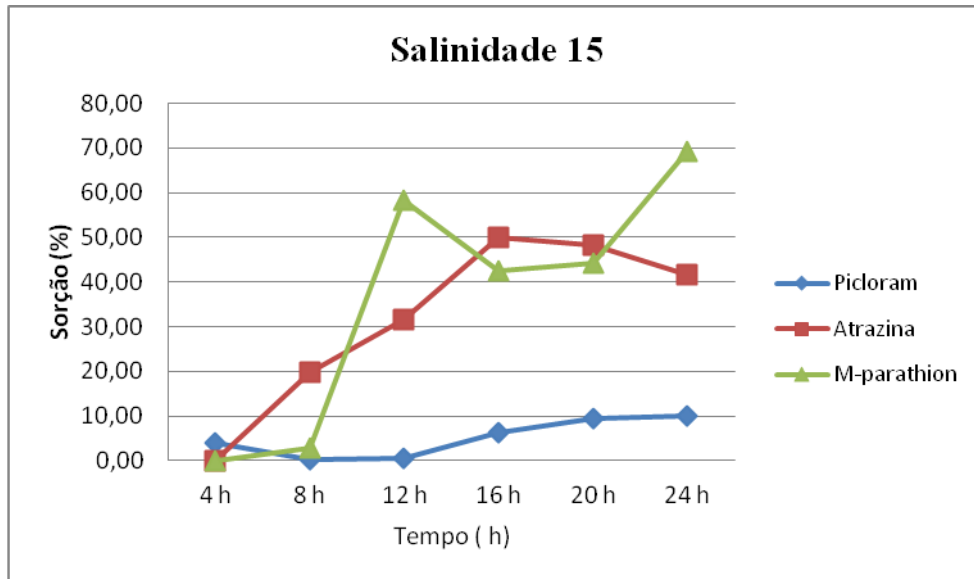


Figura 24. Eficiência de recuperação em nível de sorção dos agrotóxicos estudados na salinidade 15

A sorção pode ser avaliada quantitativamente através de modelos matemáticos, denominados de isothermas de adsorção, os quais fornecem informações a respeito da distribuição do equilíbrio de elementos e substâncias químicas entre as fases. Contudo, para esse trabalho, por se tratar de um experimento ainda pouco explorado na literatura, o meio de se determinar essa partição dos agrotóxicos, nas fases dissolvida e particulada, foi a sorção.

Tais comportamentos em regiões de salinidade intermediária, denominadas de regiões estuarinas, a presença de eletrólitos (sais) nas soluções aquosas modificam a solubilidade e propriedades relacionadas aos agrotóxicos estudados na água, promovendo o efeito conhecido como *salting out*, ou seja, tornam as moléculas orgânicas neutras mais insolúveis na medida em que aumenta a salinidade da água. A variação dos principais parâmetros entre as águas do rio e da foz (oceano adjacente) favorece ao acúmulo de agrotóxicos no MPS e que posteriormente podem ser depositados no sedimento de fundo.

O picloram, na salinidade 30 (Figura 25), não apresentou diferença significativa na eficiência de recuperação, a nível de sorção, em relação às outras salinidades já mencionadas anteriormente. O seu comportamento caracterizou-se de uma substância típica polar, pois mesmo com o aumento da salinidade este apresentou uma pequena

alteração na sua eficiência de recuperação ao final do experimento entre as salinidades, evidenciando que o picloram não sofreu com o efeito matriz, permanecendo na fração dissolvida por lhe proporcionar maior estabilidade. Ou seja, o picloram por apresentar baixa afinidade com o MPS, se comporta como um contaminante que é transportado para longas distâncias até desaguar em oceano aberto.

Na salinidade 30, a atrazina apresentou um desempenho bastante esperado para o seu comportamento demonstrado nas salinidades anteriores analisadas nesse trabalho. Com o aumento da salinidade, aumentou o processo de sorção da atrazina, sugerindo a alta afinidade ao MPS, demonstrando que a sua estrutura molecular sofre com o efeito matriz. A sua recuperação, nessa salinidade, chegou a um máximo de 79,60% de sorção. Esse resultado revela um mecanismo importante no entedimento do caminho de transporte e destino da atrazina durante a interação terra-oceano. Sanches *et al.*, (2003) descreve que a atrazina tem sido associada a diversos problemas ambientais (contaminação do solo e de águas subterrâneas), incluindo plantas que se tornaram tóxicas pela concentração absorvida do tal composto.

O metil parathion, apesar de apresentar uma queda na eficiência de recuperação durante o período de 16h no procedimento de adsorção, demonstrou a melhor recuperação no final do experimento, resultando em 81,80%. Mataqueiro (2002) estudando a toxicidade do metil parathion em amostras de água de composição diferente descreveu que partes das moléculas do metil parathion foram imobilizadas pelos componentes da água de represa, e que esta ocorreu principalmente por reação de adsorção da molécula no material coloidal suspenso da água de represa, como também por retenção/absorção por possíveis organismos vivos presentes nesses ambientes além dos peixes. E um fator que determinou a mudança dessa condição de coloíde para material particulado foi a salinidade.

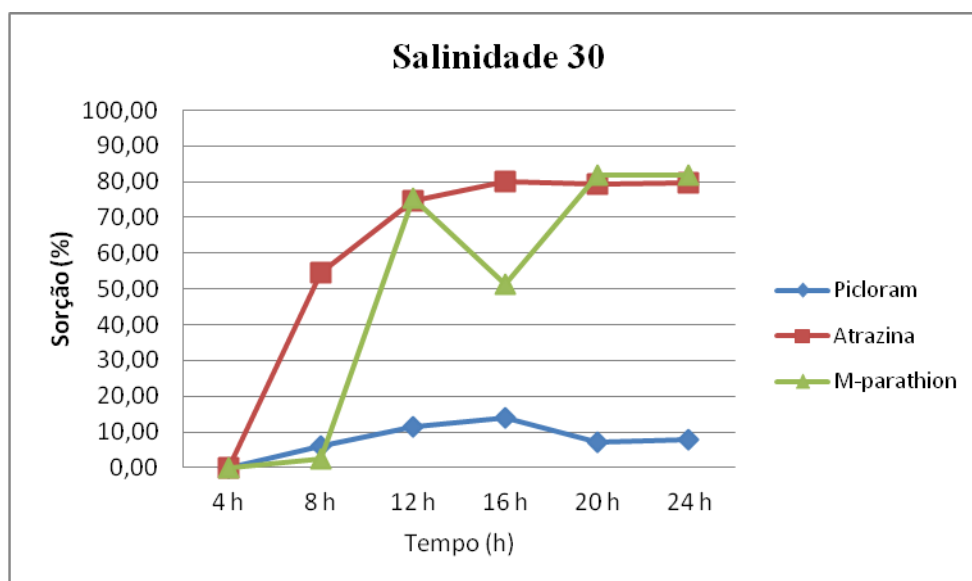


Figura 25. Eficiência de recuperação em nível de sorção dos agrotóxicos estudados na salinidade 30

A partir desses resultados, o comportamento dos agrotóxicos pode ser estimado, em relação a ambiente aquático, considerando a sua partição na fração dissolvida e particulada. A busca para detecção, a nível investigatório, pelo contaminante foi minimizada necessitando de análises complementares como raio x e infravermelho para evidenciar que grupos funcionais sofrem mais nas interações do MPS com os agrotóxicos.

2.3.4 Determinação dos agrotóxicos no estuário do rio Jaguaribe

A distribuição dos níveis de agrotóxicos entre a fração dissolvida e sedimento do estuário do rio Jaguaribe pode ser verificada na Tabela 15. Conforme pode ser verificado não foi observado valores detectáveis de picloram no sedimento, bem como de atrazina e metil-Paration em amostras d'água. Este fato demonstra que a partição do contaminante segue o estudo de partição, e que em um estudo de avaliação ambiental ou monitoramento, o conhecimento das propriedades físico-químicas dos compostos sinalizam a localização dos contaminantes, evidenciando que nem todos os contaminantes de interesse se encontram no sedimento ou na coluna d'água, e sim, no compartimento ambiental que ele possui maior estabilidade.

Tabela 15. Dados da determinação qualitativa de agrotóxicos no estuário do rio Jaguaribe

| Agrotóxicos | Água | Sedimento |
|--------------------|-------------|------------------|
| Picloram | encontrado | < LOD |
| Atrazina | < LOD | encontrado |
| Metil-Paration | < LOD | encontrado |

2.3.4.1 Avaliação do MPS por Espectrometria Raman

As amostras foram analisadas com a técnica de espalhamento Raman, com o intuito de verificar as características morfológicas do MPS antes e a após a adsorção dos agrotóxicos estudados.

De todas as amostras analisadas (MPS), a única que apresentou característica de adsorção ao MPS foi à amostra de estuário (Salinidade 15). E das amostras sem agrotóxicos no MPS a que foi apenas quantificada foi a do estuário. As amostras sem agrotóxicos do rio e foz, não foram feitas as medições por apresentarem apenas ruído nos seus espectros.

De modo geral, o que proporcionou resultados significativos foram as amostras do estuário, no qual o espectro Raman apresentou indício que admitisse a presença de grupos funcionais característicos do agrotóxico metil parathion. Segundo Tanner e Leung (1996), bandas na faixa de 1155 e 1524 são peculiares ao metil parathion (ver Figura 26).

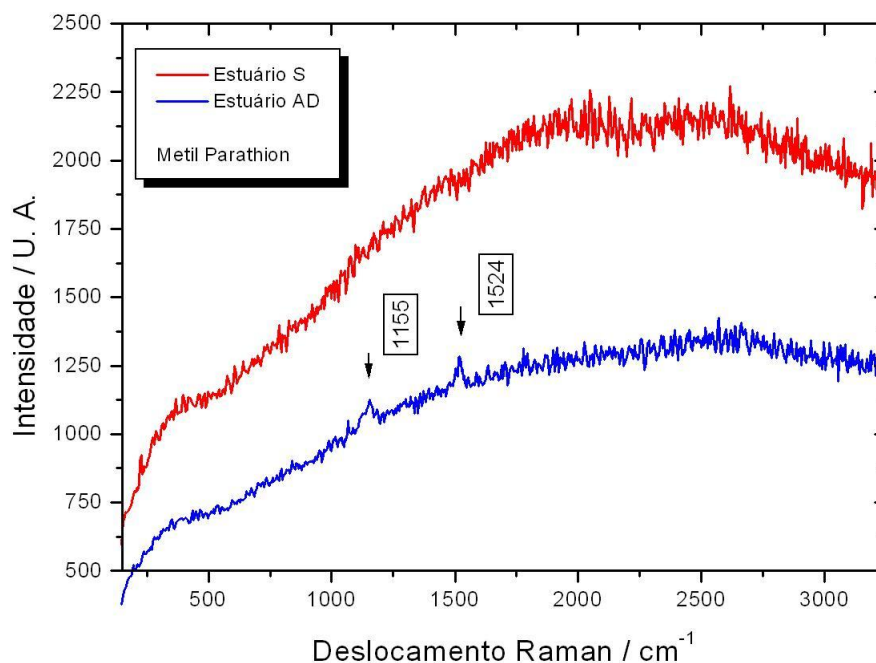


Figura 26. Espectro Raman do MPS do estuário na presença e na ausência de agrotóxicos (S= sem agrotóxicos; AD= agrotóxicos adsorvido ao material)

A presença do agrotóxico metil parathion apenas adsorvido no MPS do estuário, em termos gerais, fortalece a importância do caminho continente-oceano, no qual o aumento da salinidade pode promover aumento da adsorção pelo MPS em zonas estuarinas. A ausência das bandas que caracterizam a adsorção dos outros agrotóxicos (picloram e atrazina) pelo MPS nos espectros Raman não diminui a eficiência da técnica, mas comprova que o picloram, por ser um composto mais polar, em relação aos outros agrotóxicos, a sua tendência foi de permanecer na fração dissolvida e a atrazina apresenta grupos funcionais na sua estrutura que são pouco sensíveis para a técnica Raman (Tanner e Leung, 1996). Assim, o que fortalece o resultado que evidencia a presença do agrotóxico metil parathion adsorvido no MPS foi à banda do grupo funcional P=S (Figura 27) presente na estrutura do agrotóxico observado no espectro na região de 1155 cm^{-1} (Figura 26).

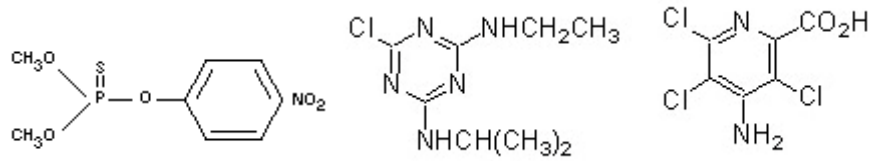


Figura 27. Estrutura Molecular dos agrotóxicos estudados na partição: metil parathion, atrazina e picloram, respectivamente.

A Figura 28 apresenta todos os espectros da técnica Raman das amostras dopadas com agrotóxicos, onde apenas na região estuarina apresentou as bandas características de grupos funcionais do agrotóxico metil parathion, evidenciando um processo de adsorção do composto pelo material particulado em suspensão.

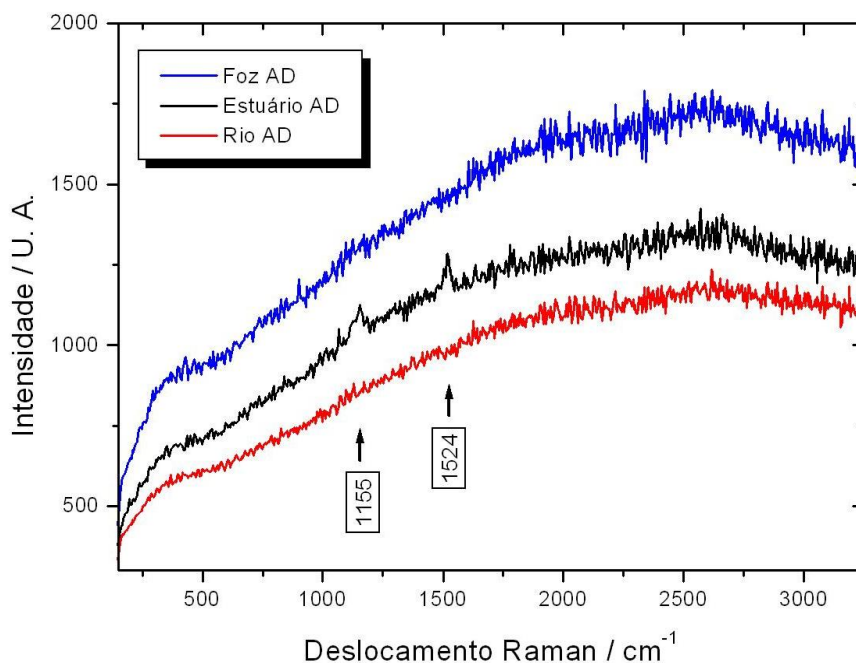


Figura 28. Espectro Raman dos diferentes ambientes estudados dopados com agrotóxicos

2.3.4.2 Análise elemental (CHN)

Na Figura 29 está sumarizado o aumento elemental entre o MPS antes e após o experimento de partição dos agrotóxicos. O MPS após o estudo de partição mostrou modificações na sua composição elemental, sendo isto mais uma evidência da considerável capacidade de sorção do MPS por substâncias orgânicas consideradas

poluentes. Esse fato somente vem a demonstrar a importância do MPS no transporte de contaminantes entre o continente e oceano.

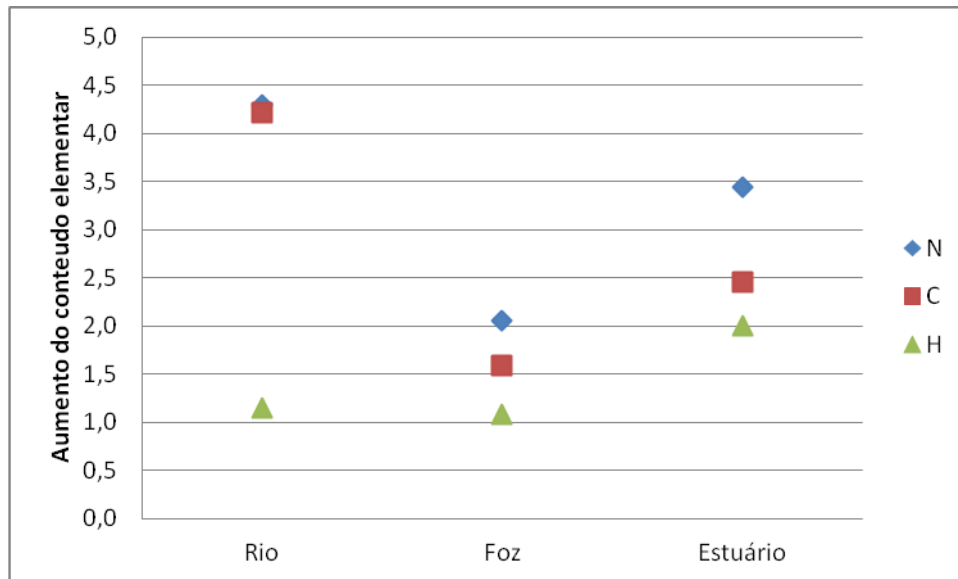


Figura 29. Aumento do conteúdo elementar no MPS

2.4 Considerações finais

A salinidade foi um dos principais parâmetros que influenciou na partição dos agrotóxicos entre a fração dissolvida e particulada, sendo essa evidenciada pelo aumento da hidrobicidade na capacidade de sorção ao MPS, denominando que os agrotóxicos estudados sofreram influência do efeito *salting out*. A diferença na sorção dos agrotóxicos picloram, atrazina e metil parathion corroboram que as propriedades físico-químicas também exercem uma influência sob a partição na fração dissolvida e particulada, devido às interações dos grupos funcionais de cada agrotóxico com o MPS em salinidade distinta.

A eficiência de sorção ao MPS apresentou um comportamento diferenciado para os agrotóxicos estudados. A eficiência de sorção foi maior para o metil paration, seguido pela atrazina e menor para o picloram. As condições das matrizes aquosas estudadas, bem como os parâmetros físico-químicos de cada agrotóxico investigado contribuíram para os diferentes valores de eficiência de sorção.

Através da técnica de Raman e análise de CHN, estima-se que em região estuarina o metil parathion tenderá a permanecer ao MPS, corroborando com o

resultado observado na avaliação da cinética de equilíbrio da sorção dos agrotóxicos investigados. Na determinação qualitativa foi verificado a presença de metil paration e atrazina no sedimento da zona estuarina e o picloram foi detectado apenas na fração aquosa na mesma região.

CONCLUSÕES

O desenvolvimento do protocolo analítico, bem como o controle de qualidade desenvolvido nesse trabalho, apresenta baixo custo e simplicidade de operação, bem como satisfatória precisão e exatidão, atendendo as necessidades de estudos de avaliação da cinética de equilíbrio de sorção com alta qualidade nos dados.

A avaliar da partição dos agrotóxicos metil paration, atrazina e clorpirifós entre a fração dissolvida e particulada mostrou que nos ambientes fluviais e estuarinos essas partições são diferenciadas e influenciadas pelas condições hidroquímicas dependentes das propriedades físico-química dos agrotóxicos investigados.

A avaliação da cinética de equilíbrio mostrou que o MPS da zona estuarina apresenta maior capacidade de sorção aos agrotóxicos investigados quando comparado com os dados do MPS dos ambientes fluviais.

O estudo de partição é importante para o conhecimento do comportamento do contaminante frente aos vários compartimentos em que eles podem ser encontrados, e sabendo do seu compartimento de tendência, um monitoramento ou um remediar, em situações necessárias, se torna mais simples.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLAN, J. D.; CASTILLO, M. M.; **Stream ecology: Structure and Function of Running Waters**. 2ª edition. Springer. 436 p. 2007;

ALPENDURADA, M. F.; **Solid-phase microextraction: a promising technique for sample preparation in environmental analysis**. Journal of Chromatography A, vol. 889, n. 1-2, p. 3-14, 2000;

AMARAL, C. R., **Análise da viabilidade sócio-ambiental da fruticultura irrigada do Baixo Jaguaribe, Ceará**. 2007. (Dissertação de Mestrado) Programa Regional de Pós-graduação em Desenvolvimento e Meio Ambiente- PRODEMA. Universidade Federal do Ceará 2007 (<http://www.teses.ufc.br>);

APHA-American Public Health Association. **Standard Methods for Examination of Water & Wasterwater**. 20ª edition. Washington: Port City Press. 1600 p., 2005;

AQUINO NETO, F. R.; NUNES, D. S. S.; **Cromatografia – princípios básicos e técnicas afins**, 1ª ed., Ed. Interciência: Rio de Janeiro, p. 25-30, 2003.

ARIAS-ESTÉVEZ, M.; LÓPEZ-PERIAGO, E.; MARTÍNEZ-CARBALLO, E.; SIMAL-GÁNDARA, J.; MEJUTO, J-C.; GARCIA-RÍO, L.; **The mobility and degradation of pesticides in soils and the pollution of groundwater resources**. Agriculture, Ecosystems & Environment, vol. 123, n. 4, p. 247-260, 2008;

BAUMARD, P.; BUDZINSKI, H.; GARRIGUES, P.; DIZER, H.; HANSEN, P. D.; **Polycyclic aromatic hydrocarbons in recent sediments and mussels (*Mytilus edulis*) from the Western Baltic Sea: occurrence, bioavailability and seasonal variations**. Marine Environmental Research, vol. 47, n. 1, p. 17-47, 1999;

BERTHOUEX, P. M.; BROWN, L. C.; **Statistic for environmental engineers**, 2º ed. Boca Raton: Lewis Publishers, 2002, 489 f.

BRUNK, B. K.; JIRKA, G. H. ; LION, L. W. ; **Effects of Salinity Changes and the Formation of Dissolved Organic Matter Coatings on the Sorption of Phenanthrene: Implications for Pollutant Trapping in Estuaries** Environmental Science & Technology, vol. 31, n. 1, p. 119-125, 1997 ;

CABRERA, L.; COSTA, F. B.; PRIMEL, E. G., **Estimativa de risco de contaminação das águas por pesticidas na região sul do estado do RS.** Química Nova, vol. 31, n. 8, p. 1982-1986, 2008;

CARVALHO, P. H. V. de, **Desenvolvimento de método para determinação de resíduos de pesticidas em planta medicinal *Cordia salicifolia* utilizando as técnicas de MSPD, GC/MS e HPLC-UV.** 2009. 102 f. Dissertação. (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Sergipe, 2009.

CAVALCANTE, R. M.; FILHO, N. S. M.; VIANA, R. B.; OLIVEIRA, I. R. N.; NASCIMENTO, R. F.; SILVEIRA, E. R.; FREIRE, G. S. S.; **Utilização da extração em fase sólida (SPE) na determinação de hidrocarbonetos policíclicos aromáticos em matrizes aquosas ambientais.** Química Nova. vol. 30, n. 3, p. 560-564, 2007;

CAVALCANTE, R. M.; LIMA, D. M.; CORREIA, L. M.; NASCIMENTO, R. F.; SILVEIRA, E. R.; FREIRE, G. S. S.; **Extraction techniques and clean-up procedure to PAHs determination in sediment from Ceará coast.** Química Nova, vol 31, p.1371-1377, 2008;

CAVALCANTE, R. M.; SOUSA, F. W.; NASCIMENTO, R. F.; SILVEIRA, E. R.; FREIRE, G. S. S.; **The impact of urbanization on tropical mangroves (Fortaleza, Brazil): Evidence from PAH distributions in sediments.** Journal of Environmental Management, vol. 91, n. 2, p. 328-335, 2009;

CHEN, J.L.; WONG, Y.S.; TAM, N.F.Y.; **Static and dynamic sorption of phenanthrene in mangrove sediment slurry.** Journal of Hazardous Materials, vol. 168, n. 2, p. 1422-1429, 2009;

CHEN, Y. ; GUO, Z. ; WANG, X. ; QIU, C. ; **Sample preparation.** Journal of Chromatography A, vol. 1184, p.191–219, 2008;

CHEN, Z. M.; WANG, Y.H.; **Chromatographic methods for the determination of pyrethrin and pyrethroid pesticide residues in crops, foods and environmental samples.** Journal of Chromatography A, vol.754, n. 1, p. 367-395, 1996;

CHI, F.H.; AMY, G.L. **Transport of anthracene and benz(a)anthracene through iron quartz and three aquifer materials in laboratory columns.** Chemosphere, vol. 55, n. 4, p. 515-524, 2004;

COLLINS, C.H.; BRAGA, G.L. e BONATO, P.S. **Introdução a métodos cromatográficos.** 5ª ed. Campinas: Editora da Unicamp, 1993.

CORTADA, C.; VIDAL, L.; PASTOR, R.; SANTIAGO, N.; CANALS, A.; **Determination of organochlorine in water samples by dispersive liquid-liquid microextraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry.** Analytica Chimica Acta, vol. 649, n. 2, p. 218-221, 2009;

COONEY, D. O.; **Adsorption Design for Wastewater Treatment.** Boca Raton, Florida: Editora CRC Press 1999. 190p;

DIAS, F. J. S.; **Avaliação da descarga e geoquímica do material em suspensão no estuário do rio Jaguaribe – CE.** 2005. 107 p. Monografia. Departamento de Geologia. Universidade Federal do Ceará. 2005;

EPA - Environmental Protection Agency. **Understanding Variation in Partition Coefficients, K_d, Values.** vol. 1, 1999, 212 p;

FERNANDES, L. D. F.; **Transporte de poluentes em estuários.** 2001. 54 f. Trabalho Final de curso. (Licenciatura em Engenharia do Ambiente). Universidade Técnica de Lisboa – Instituto Superior Técnico. 2001;

FERNANDEZ, P.; CARRERA, G.; GRIMALT, J. O.; VENTURA, M.; CAMARERO, L.; CATALAN, J.; NICKUS, U.; THIES, H.; PSENNER, R.; **Factors Governing the Atmospheric Deposition of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons to Remote Areas.** Environmental Science & Technology, vol. 37, n. 15, p. 3261-3267, 2003;

GONZALEZ, F. J. E.; TORRES, M. E. H.; LÓPEZ, E. A.; RODRÍGUEZ, L. C.; VIDAL, J. L. M.; **Matrix-effects of vegetable commodities in electron-capture detection applied to pesticide multiresidue analysis.** Journal of Chromatography A, vol. 966, n. 1-2, p. 155-165, 2002;

Hajslová, J.; Zrostliková, J.; **Matrix effects in (ultra)trace analysis of pesticide residues in food and biotic matrices.** Journal of Chromatography A, vol. 1000, n. 1-2, p. 181-197, 2003;

Hantush, M. M.; Govindaraju, R. S.; Mariño, M. A.; Zhang, Z.; **Screening model for volatile pollutants in dual porosity soils.** Journal of Hydrology, vol. 260, n. 1-4, p. 58-74, 2002;

Hantush, M. M.; Mariño, M. A.; Islam, M. R.; **Models for leaching of pesticides in soils and groundwater.** Journal of Hydrology, vol. 227, p. 66-83, 2000;

Herrera, A. V. H.; Ramos, M. A.; Borges, J. H.; Delgado, M. A. R. **Dispersive liquid-liquid microextraction for determination of organic analytes.** Trends in Analytical Chemistry, vol. 29, n. 9, p. 728-751, 2010;

Huang, W.; Peng, P.; Yu, Z.; Fu, J.; **Effects of organic matter heterogeneity on sorption and desorption of organic contaminants by soils and sediments.** Applied Geochemistry, vol.18, n. 7, p. 955-972, 2003;

IARC - INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER **Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans.** Lyon: IARC Library. vol. 97, 2008, 510f.

INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial. **Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos.** DOQ-CGCRE-008 – Revisão 01; p. 35, 2003;

IUPAC-International Union of Pure and Applied Chemistry. **Nomenclature for automated and mechanised analysis (Recommendations 1989).** Pure and Applied Chemistry, vol. 61, n. 9, p. 1657-1664, 1989;

Jardim, I. C. S. F.; Andrade, J. A.; Queiroz, S. C. N.; **Resíduos de agrotóxicos em alimentos: uma preocupação ambiental global – um enfoque às maçãs.** Química Nova, vol. 32, n. 4, p. 996-1012, 2009;

Jeannot, M. A.; Cantwell, F. F.; **Solvent microextraction into a single drop.** Analytical Chemistry, vol. 68, n. 13, p.2236-2240, 1996;

KRISTENSON, M. E.; BRINKMAN, U.T.; RAMOS, L; **Recent advances in matrix solid-phase dispersion.** Trends in Analytical Chemistry, v. 25, n. 2, p. 96-111 2006;

LANÇAS, F. M.; **Extração em Fase Sólida (SPE).** 4ª edição. São Carlos: Rima Editora, v. 1, 2004, 96p;

LANÇAS, F. M.; **Validação de Métodos Cromatográficos de Análise.** 6º edição. São Carlos: Rima Editora, v. 6, 2004a. 62p;

LARA, W. H.; BATISTA, G. C., **Pesticidas.** Química Nova, vol. 15, n. 2, p. 161-165, 1992;

LICK, W. J.; **Sediment and contaminant transport in surface waters.** Boca Raton, Florida: Editora CRC Press, 2009, 398p.

LIU, H. DASGUPTA, P. K.; **Analytical chemistry in a drop.** Trends in Analytical Chemistry, vol. 15, n. 9, p. 468-475, 1996;

LIU, H., AMY, G.; **Modeling Partitioning and Transport Interactions between Natural Organic Matter and Polynuclear Aromatic Hydrocarbons in Groundwater.** Environmental Science & Technology, vol. 27, n. 8, p. 1553-1562, 2003;

LIU, Z; LEE, C. **The role of organic matter in the sorption capacity of marine sediments.** Marine Chemistry, vol.105, n. 3, p. 240-257, 2007;

LUTHY, R. G.; AIKEN, G. R.; BRUSSEAU, M. L.; CUNNINGHAM, S. C.; GSCHWEND, P. M.; PIGNATELLO, J. J.; REINHARD, M.; TRAINA, S. J.; WEBER JR, W. J.; WESTALL, J. C.; **Sequestration of Hydrophobic Organic Contaminants by Geosorbent.** Environmental Science & Technology, vol. 31, n. 12, p. 3341-3347, 1997;

MAGEE, B. R.; LION, L. W.; LEMLEY, A. T.; **Transport of dissolved organic macromolecules and their effect on the transport of phenanthrene in porous media.** Environmental Science & Technology, vol. 25, n. 2, p. 323-331, 1991;

MARINS, R. V.; DIAS, F. J. S.; **Alterações na hidrogeoquímica do estuário do rio Jaguaribe (CE): descarga ou retenção de materiais.** Anais do IX Congresso Brasileiro de Geoquímica, Bélem-PA. p. 480-482, 2003;

MARINS, R. V.; DIAS, F. J. S.; **Avaliação das influências do amostrador sobre a determinação de metais no TSS.** XI Congresso Brasileiro de Geoquímica. Anais Atibaia, Sociedade Brasileira de Geoquímica, CD-ROM, 2007;

MARTHE, D. de B., BITTENCOURT, L. M., QUEIROZ, M. E. L. R., NEVES, A. A. **Desenvolvimento de metodologia para determinação de piretróides em manteiga.** Química Nova, vol. XY, n. 00, p. 1-5, 2010

MATAQUEIRO, M. I.; Toxicidade aguda e subaguda do inseticida methyl parathion no pacu (*Piaractus mesopotamicus* HOLMBERG, 1887). 2002. 47 f. Dissertação (Mestrado em Aqüicultura). Universidade Estadual Paulista. 2002. 47 f.

MCKAY, G. **Use of adsorbents for the removal of pollutants from wastewaters.** Boca Raton, Florida: Editora CRC Press, 1996, 186p;

MECHLINSKA, A.; GDANIEC-PIETRYKA, K.; WOLSKA, L.; NAMIESNIK, J.; **Evolution of models for sorption of PAHs and PCBs on geosorbents.** Trends in Analytical Chemistry, vol. 28, n. 4, p. 466-482, 2009;

MICHEL. M.; BUSZEWSKI, B.; **Optimization of a matrix-solid phase dispersion method for determination analysis of carbendazin residues in plant material.** Journal of Chromatography B, v. 800, n.1-2, p. 309-314, 2004;

MURPHY, P. P.; BATES, T. S.; CURL Jr. H. C.; FEELY, R. A.; BURGER, R.S.; **The transport and fate of particulate hydrocarbons in an urban fjord-like estuary.** Estuarine, Coastal and Shelf Science, vol. 27, n. 5, p. 461-482, 1988;

NETO C. C. **Análise Orgânica Métodos e Procedimentos para Caracterização de Organoquímicos.** Rio de Janeiro: Editora UFRJ, vol. 1, 736 p. 2004;

NGUYEN, T.D.; LEE, M. H.; LEE G.H.; **Rapid determination of 95 pesticides in soybean oil using liquid-liquid extraction followed by centrifugation, freezing and dispersive solid phase extraction as cleanup steps and gas chromatography**

with mass spectrometric detection. *Microchemical Journal*, vol. 95, p.113–119, 2010;

PAN, G.; YOU, C.; **Sediment-water distribution of perfluorooctane sulfonate (PFOS) in Yangtze River Estuary.** *Environmental Pollution*, vol. 158, n. 5, p. 1363-1367, 2010;

PASCHOAL, J. A. R.; RATH, S.; AIROLDI, F. P. S.; REYES, F. G. R.; **Validação de métodos cromatográficos para a determinação de resíduos de medicamentos veterinários em alimentos.** *Química Nova*, vol. 31, n. 5, p. 1190-1198, 2008;

PAWLISZYN, J.; **Sample Preparation: Quo Vadis?.** *Analytical Chemistry*. vol. 75, p.2543-2558, 2003;

PIGNATI, W. A.; MACHADO, J. M. H.; CABRAL, J. F. **Acidente rural ampliado: o caso das “chuvas” de agrotóxicos sobre a cidade de Lucas do Rio Verde – MT.** *Ciência & Saúde Coletiva*, v. 12, 105-114, 2007;

PINHO, G. P.; **Extração de pesticidas em amostras de tomate pelas técnicas: Extração Sólido-Líquido e Purificação em Baixa Temperatura (ESL-PBT) e Dispersão da Matriz em Fase Sólida (DMFS) para análise por cromatografia gasosa.** 2007. 98 f. Dissertação. (Mestrado em Agroquímica). Universidade Federal de Viçosa. 2007;

PINHO, G. P.; NEVES, A. A.; QUEIROZ, M. E. L. R.; SILVÉRIO, F.O.; **Pesticide determination in tomatoes by solid–liquid extraction with purification at low temperature and gas chromatography.** *Food Chemistry*, vol. 121, p. 251-256, 2010;

PRESTES, O. D.; FRIGGI, C. A.; ADAIME, M. B.; ZANELLA, R., **QuEChERS – Um método moderno de preparo de amostra para determinação multirresíduo em alimentos por métodos cromatográficos acoplados à espectrometria de massas.** *Química Nova*, vol. 32, n.6, p. 1620-1634, 2009;

PSILLAKIS, E.; KALOGERAKIS, N.; **Developments in single-drop microextraction.** *Trends in Analytical Chemistry*, vol. 21, n. 1, p. 54-64, 2002;

QUEIROZ, S. C. N.; FERRACINI, V. L.; GOMES, M. A. F.; ROSA, M. A.; **Comportamento do herbicida hexazinone em área de recarga do aquífero Guarani cultivada com cana-de-açúcar.** Química Nova, vol.32, p. 378-381, 2009;

REZAEI, M.; YAMINI, Y.; FARAJI, M.; **Evolution of dispersive liquid-liquid microextraction method.** Journal of Chromatography A, vol. 1217, n. 16, p. 2342-2357, 2010

RIBANI, M., BOTTOLI, C. B. G., COLLINS, C. H., JARDIM, I. C. S. F., MELO, L. F. C., **Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos.** Química Nova, vol. 27, n. 5, p.771-780, 2004;

ROSTAD, C. E.; LEENHEER, J. A.; DANIEL, S. R.; **Organic carbon and nitrogen content associated with colloids and suspended particulates from the Mississippi river and some of its tributaries.** Environmental Science & Technology, vol. 31, n. 11, p. 3218-3225, 1997;

SABBAH, I.; REBHUN, M.; GERSTL, Z.; **An independent prediction of the effect of dissolved organic matter on the transport of polycyclic aromatic hydrocarbons.** Journal of Contaminant Hydrology, vol. 75, n. 1-2, p. 55-70, 2004;

SABIN, G. P.; PRESTES, O. D.; ADAIME, M. B.; ZANELLA, R., **Multiresidue Determination of Pesticides in Drinking Water by Gas Chromatography-Mass Spectrometry after Solid-Phase Extraction.** Journal Brazilian Chemistry Society, vol. 20, n. 5, p. 918-925, 2009;

SANCHES, S. M.; SILVA, C. H. T. P.; CAMPOS, S. X.; VIEIRA, E. M. **Pesticidas e seus respectivos riscos associados à contaminação da água.** Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente, vol.13, p. 53-58, 2003;

SÁNCHEZ-BRUNETE, C.; ALBERO, B.; MARTÍN, G.; TADEO, J. L.; **Determination of Pesticide Residues by GC-MS Using Analyte Protectants to Counteract the Matrix Effect.** Analytical Sciences, vol. 21, n. 11, p. 1291-1296, 2005;

SANTOS, M. D. R.; **Desenvolvimento de método cromatográfico (HPLC-UV) para a determinação de ácidos fenólicos extraídos por ultra-som de forrageiras tropicais.** 2009. 90 f. Dissertação. (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Juiz de Fora, 2009;

SCHWARZENBACH, R. P.; GSCHWEND, P. M.; IMRODEM, D. M.; **Environmental organic chemistry.** New York: A Wiley-Interscience, vol. 1, 1993, 685 p.

SILVA, J. M. da; ZINI, C. A.; CARAMÃO, E. B.; **Aplicação da cromatografia gasosa bidimensional abrangente com microdetector de captura de elétrons para determinação de agrotóxicos em sedimentos.** Química Nova, vol. 34, n. 6, p. 962-967, 2011;

SINDAG – Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola. **Notícias.** Disponível em: http://www.sindag.com.br/noticia.php?News_ID=2114 Acesso: 8 mar 2011.

SMITH, J. N.; LEVY, E. M.; **Geochronology for polycyclic aromatic hydrocarbon contamination in sediments of the Saguenay Fjord.** Environmental Science & Technology, vol. 24, n. 6, p. 874-879, 1990;

SMITH, R. M.; **Before the injection-modern methods of sample preparation for separation techniques.** Journal of Chromatography A, vol.1000, p. 3-27, 2003;

SPADOTTO, C. A.; GOMES, M. A. F.; LUCHINI, L. C.; ANDRÉA, M. M., **Monitoramento do risco ambiental de agrotóxicos: princípios e recomendações.** Embrapa Meio Ambiente. Documentos 42. Jaguariúna. 2004;

SPADOTTO, C. A. **Comportamento e Destino Ambiental de Herbicidas.** Comitê de Meio Ambiente, Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas. 2002. [online] Disponível: <http://www.cnpma.embrapa.br/herbicidas/> [Acessado em 11/02/2011].

STRICKLAND, J. D. H.; PARSONS, T. R.; **A practical handbook of seawater analysis.** Ottawa: Fisheries Research Board of Canada. Bulletin 167, 310 p. 1972;

SUNDT, H.; GOKWYR, A.; **In vivo and in vitro biotransformation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the edible crab, *Cancer pagurus***. *Marine Environmental Research*, vol. 46, n. 1-5, p. 515-519, 1998;

TANNER, P. A.; LEUNG, K-H.; Spectral Interpretation and Qualitative Analysis of Organophosphorus Pesticides Using FT-Raman and FT-Infrared Spectroscopy. *Applied Spectroscopy*, vol. 50, n. 5, p. 1996;

TREMBLAY, L.; KOHL, S. D.; RICE, J. A.; GAGNE, J-P.; **Effects of temperature, salinity, and dissolved humic substances on the sorption of polycyclic aromatic hydrocarbons to estuarine particles**. *Marine Chemistry*, vol. 96, n. 1-2, p. 21-34, 2005;

TURNER, A.; RAWLING, M. C.; **The influence of salting out on the sorption of neutral organic compounds in estuaries**. *Water Research*, vol. 35, n. 18, p. 4379-4389, 2001;

VEIGA, M. M. **Agrotóxicos: Eficiência econômica e injustiça socioambiental**. *Ciência & Saúde Coletiva*, vol. 12, n. 1, p. 145-152, 2007;

VIEIRA, H. P.; NEVES, A. A.; QUEIROZ, M. E. L. R.; **Otimização e validação da técnica de extração líquido-líquido com partição em baixa temperatura (ELL-PBT) para piretróides em água e análise por CG**. *Química Nova*, vol. 30, p. 535- 540, 2007

VILLA, R. D.; OLIVEIRA, A. P.; NOGUEIRA, R. F. P.; **Avaliação dos parâmetros de solubilidade de hildebrand/hansen na seleção de solventes para a extração de pesticidas organoclorados do solo**. *Química Nova*, vol. XY, n. 00, p. 1-6, 2011 (no prelo);

WITT, G.; **Occurrence and transport of polycyclic aromatic hydrocarbons in the water bodies of the Baltic Sea** *Marine Chemistry*, vol. 79, n. 2, p. 49-66, 2002;

WU, Y.; XIA, L.; CHEN, R.; HU, B.; **Headspace single drop microextraction combined with HPLC for the determination of trace polycyclic aromatic hydrocarbons in environmental sample**. *Talanta*, vol. 74, n.4, p.470-477, 2008;

XIAO-HUAN, Z.; CHUN, W.; SHU-TAO, G.; XIN, Z.; ZHI, W.; **Developments of Dispersive Liquid-Liquid Microextraction Technique**. Chinese Journal of Analytical Chemistry, vol. 37, n. 2, p. 161-278, 2008;

XIAO, Q.; YU, C.; XING, J.; HU, B.; **Comparison of headspace and direct single drop microextraction and headspace solid-phase microextraction for the measurement of volatile sulfur compounds in beer and beverage by gas chromatography with flame photometric detection**. Journal of Chromatography A, vol. 1125, n. 1, p. 133-137, 2006;

YE, C-L.; ZHOU, Q-X.; WANG, X-M.; **Headspace liquid-phase microextraction using ionic liquid as extractant for the preconcentration of dichlorodiphenyltrichloroethane and its metabolites at trace levels in water samples**. Analytica Chimica Acta, vol. 572, n. 2, p.165-171, 2006;

YOU, C.; JIA, C.; PAN, G.; **Effect of salinity and sediment characteristics on the sorption and desorption of perfluorooctane sulfonate at sediment-water interface**. Environmental Pollution, vol. 158, n. 5, p. 1343-1347, 2010;