



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**ESTUDO DA ESTABILIDADE A CAMPO DOS
PESTICIDAS CARBOFURANO E QUINCLORAQUE EM
ÁGUA DE LAVOURA DE ARROZ IRRIGADO
EMPREGANDO SPE E HPLC-DAD**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Sandra Cadore Peixoto

Santa Maria - RS, Brasil

2007

**ESTUDO DA ESTABILIDADE A CAMPO DOS
PESTICIDAS CARBOFURANO E QUINCLORAQUE EM
ÁGUA DE LAVOURA DE ARROZ IRRIGADO
EMPREGANDO SPE E HPLC-DAD**

por

Sandra Cadore Peixoto

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em
Química, Área de Concentração em Química Analítica, da
Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito
parcial para obtenção do grau de
MESTRE EM QUÍMICA

Orientador: Prof. Dr. Renato Zanella

Santa Maria – RS, Brasil

2007

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Naturais e Exatas
Programa de Pós-Graduação em Química**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**ESTUDO DA ESTABILIDADE A CAMPO DOS PESTICIDAS
CARBOFURANO E QUINCLORAQUE EM ÁGUA DE LAVOURA
DE ARROZ IRRIGADO EMPREGANDO SPE E HPLC-DAD**

elaborada por

Sandra Cadore Peixoto

como requisito parcial para a obtenção do grau de **Mestre em Química**

Comissão Examinadora

Prof. Dr. Renato Zanella

(Orientador – Presidente)

Prof. Dr. Ednei Gilberto Primel (FURG)

Prof. Dr. Sérgio Machado (UFSM)

Santa Maria, 24 de julho de 2007

Aos meus pais, pelo apoio, pelo amor, pela compreensão, por acreditar em mim, suportando a saudade do dia-a-dia e, principalmente, pela vida. Pai, mãe, obrigado por vocês serem meus pais. Amo vocês.

À Marcelo, pelo amor, pela paciência e por incentivar sempre em tudo que faço. Obrigado do fundo do coração. Te amo.

Eu pedi força...
e Deus me deu dificuldades para me fazer forte.
Eu pedi sabedoria...
e Deus me deu problemas para resolver.
Eu pedi favores...
e Deus me deu oportunidade
Eu não recebi nada do que pedi...
mas eu recebi tudo de que precisava.
Obrigado Deus por todas as bênçãos que me concedeu.

Autor desconhecido.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Renato Zanella, pela oportunidade, pela orientação, pela amizade, e por acreditar na minha capacidade. Que Deus ilumine sempre teus caminhos. Obrigado.

À Prof^a Dr^a. Martha Adaime pela sua dedicação em tudo que faz e por incentivar sempre os trabalhos dos seus alunos.

Ao Prof. Dr. Ednei Primel pela participação na defesa da dissertação.

Ao Prof. Dr. Sérgio Luís de Oliveira Machado por proporcionar os estudos no campus da UFSM. Obrigado pela sua disponibilidade.

À UFSM pelo ensino de qualidade.

Aos professores da UFSM, que souberam ensinar e educar durante minha vida acadêmica.

À coordenação de Pós-Graduação em Química pelo seu trabalho.

À secretária do LARP, Márcia Botega, pela sua disponibilidade em resolver todos os probleminhas.

A todos os colegas do LARP pela convivência.

Às colegas Juliana e a Michele V. pela disposição sempre em me ajudar e pela preocupação com os trabalhos realizados no LARP.

À toda minha família que acreditou no meu trabalho e na minha capacidade.

À minha família Retore que me ensinou o valor de uma verdadeira amizade.

Aos meus irmãos, Diego e Jerry, que sempre me apoiaram e me ajudaram, sabendo os momentos certos de dizer: calma mana.

À minha amiga Jana, pela amizade, pelo incentivo e por ter sido sempre incansável em me ajudar. Obrigado.

À FATEC pelo apoio financeiro.

Agradeço à Deus por me dar a vida.

Obrigado

Aos que me dão lugar no bonde
e que conheço não sei de onde,

aos que me dizem terno adeus
sem que lhes saiba os nomes seus,

aos que me chamam de deputado
quando nem mesmo sou jurado,

aos que, de bons, se babam: mestre!
inda se escrevo o que não preste,

aos que me julgam primo-irmão
do rei da fava ou do Hindustão,

aos que me pensam milionário
se pego aumento de salário

— e aos que me negam cumprimento
sem o mais mínimo argumento,

aos que não sabem que eu existo,
até mesmo quando os assisto.

aos que me trancam sua cara
de carinho alérgica e avara,

aos que me tacham de ultrabeócia
a pretensão de vir da Escócia,

aos que vomitam (sic) meus poemas
nos mais simples vendo problemas,

aos que, sabendo-me mais pobre,
me negariam pano ou cobre

— eu agradeço humildemente
gesto assim vário e divergente,

graças ao qual, em dois minutos,
tal como o fumo dos charutos,

já subo aos céus, já volvo ao chão,
pois tudo e nada são.

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Química
Universidade Federal de Santa Maria

ESTUDO DA ESTABILIDADE A CAMPO DOS PESTICIDAS CARBOFURANO E QUINCLORAQUE EM ÁGUA DE LAVOURA DE ARROZ IRRIGADO EMPREGANDO SPE E HPLC-DAD

AUTORA: SANDRA CADORE PEIXOTO

ORIENTADOR: PROF. DR. RENATO ZANELLA

Data e Local da defesa: Santa Maria, 24 de julho de 2007

O uso de pesticidas no controle de pragas, doenças e ervas daninhas que prejudicam culturas de interesse agrônômico visa o aumento da produção. A degradação dos compostos aplicados ou sua conversão em outros produtos, não significa necessariamente perda da atividade biológica, e muitas vezes, essa conversão pode resultar em produtos ainda mais tóxicos e ativos. O estudo da persistência dos pesticidas nas lavouras é de grande importância para avaliar os riscos de contaminação ambiental.

Neste trabalho desenvolveu-se e validou-se um método analítico, utilizando SPE e HPLC-DAD, para a determinação residual do inseticida carbofurano e do herbicida quincloraque em água de lavoura de arroz irrigado. O método consiste na pré-concentração das amostras de água em cartuchos de SPE contendo 500 mg de C18 seguida da eluição com metanol. Os extratos foram analisados por HPLC-DAD com coluna Gemini C18 e detecção em 220 nm para o carbofurano e 270 nm para o quincloraque.

Na validação do método avaliou-se LOD, LOQ, linearidade, precisão (repetitividade e precisão intermediária) e exatidão, avaliada pela recuperação. Os valores de LOQ para o método foram $2 \mu\text{g L}^{-1}$ para o carbofurano e $0,6 \mu\text{g L}^{-1}$ para o quincloraque. As curvas analíticas apresentaram linearidade entre $0,5$ e $10,0 \text{ mg L}^{-1}$ para o carbofurano e $0,05$ e $10,0 \text{ mg L}^{-1}$ para o quincloraque, com valores de coeficiente de determinação maiores que 0,995.

O método apresentou boa precisão, com valores de RSD inferiores a 17,1%, e boa exatidão, com recuperações entre 82 e 112%. A detecção por arranjo de diodos permitiu a confirmação e a quantificação de forma adequada dos pesticidas em estudo.

Após validado, o método foi aplicado para analisar amostras de água de lavoura de arroz irrigado de um experimento realizado no Campus da UFSM, onde foram aplicados separadamente os pesticidas carbofurano e quincloraque, nas safras 2006/2007.

O herbicida quincloraque apresentou maior persistência, com tempo de meia-vida de aproximadamente 12 dias, e foram encontrados resíduos até o 42º dia após aplicação. O inseticida carbofurano foi bem menos persistente, observando-se resíduos apenas até 5 dias após aplicação. Para carbofurano não foi possível determinar o tempo de meia-vida e o seu metabólito, 3-hidroxicarbofurano, não foi encontrado nas amostras analisadas.

Palavras-chave: pesticidas; água; HPLC-DAD

ABSTRACT

Master Dissertation
Programa da Pós-Graduação em Química
Universidade Federal de Santa Maria

STUDY OF FIELD PESTICIDE STABILITY OF CARBOFURAN AND QUINCLORAC IN THE WATER OF IRRIGATED RICE CROPS USING SPE AND HPLC-DAD

AUTHOR: SANDRA CADORE PEIXOTO

ADVISOR: PROF. DR. RENATO ZANELLA

Date and Place of the defense: July 24th, 2007, Santa Maria

The use of pesticides to control pests, diseases and weeds in crops of agricultural interest aims at the increase of production. The degradation of applied compounds or their conversion into other products, does not necessarily mean the loss of biological activity, and many times, this conversion can result in even more toxic and active products. The study of the pesticides' persistence in crops is of great importance in order to evaluate the risks of environmental contamination.

In this study, an analytical method for the residual determination of the insecticide carbofuran and the herbicide quinclorac in the water of irrigated rice farming, using SPE and HPLC-DAD, was developed and validated. The method consists of the pre-concentration of the water samples in SPE cartridges with 500 mg of C18 followed by elution with methanol. The extracts were analyzed by HPLC-DAD with a Gemini C18 column and detection at 220 nm for carbofuran and 270 nm for quinclorac.

In the method validation, LOD, LOQ, linearity, precision (repeatability and intermediate precision) and accuracy (from the recovery) were evaluated. The LOQ values for the method were 2 $\mu\text{g L}^{-1}$ for carbofuran and 0.6 $\mu\text{g L}^{-1}$ for quinclorac. The analytical curves presented linearity between 0.5 and 10.0 mg L^{-1} for carbofuran and 0.05 and 10.0 mg L^{-1} for quinclorac, with coefficient of determination values higher than 0.995.

The method presented good precision, with RSD values lower than 17.1%, and good accuracy, with recoveries between 82 and 112%. The detection by diode array allowed an adequate confirmation and quantification of the pesticides in study.

After validation, the method was applied to analyze samples of water from irrigated rice crops from an experiment carried out at the Campus of the UFSM, where the pesticides, carbofuran and quinclorac, were applied, separately, in the 2006/2007 harvests.

The herbicide quinclorac presented greater persistence, with a half life time of approximately 12 days, and residues were found up to 42 days after the application. The insecticide carbofuran was well less persistent, observing residues only up to 5 days after application. For carbofuran, it was not possible to determine the half life time and its metabolite, 3-hydroxycarbofuran, was not found in the samples analyzed.

Keywords: pesticides; water; HPLC-DAD

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1.	Lavoura de arroz irrigado	6
FIGURA 2.	Diagrama esquemático das vias de poluição ambiental por pesticidas (BEYRUTH, 2003)	19
FIGURA 3.	Fórmula estrutural do carbofurano	30
FIGURA 4.	Degradação e metabolismo do carbofurano (adaptado de BARBOSA, 2004)	33
FIGURA 5.	Fórmula estrutural do quincloraque	34
FIGURA 6.	Modelo do cartucho SPE	36
FIGURA 7.	Etapas envolvidas na SPE (1: condicionamento, 2: percolação da amostra, 3: lavagem e 4: eluição)	38
FIGURA 8.	Foto do sistema SPE utilizado na pré-concentração das amostras de água	51
FIGURA 9.	Diagrama demonstrando como foram estabelecidos os valores de LOD e LOQ neste estudo (R: ruído; S: sinal)	55
FIGURA 10.	Cromatograma obtido por HPLC-DAD a 270 nm a partir da solução analítica 5,0 mg L ⁻¹ de carbofurano (t _R : 7,9 min) e quincloraque (t _R : 9,5 min)	62
FIGURA 11.	Espectro de absorção molecular do carbofurano (10,0 mg L ⁻¹) de 200 a 400 nm obtido por HPLC-DAD a partir do seu sinal cromatográfico (t _R = 7,9 min)	64
FIGURA 12.	Espectro de absorção molecular do quincloraque (10,0 mg L ⁻¹) de 200 a 400 nm obtido por HPLC-DAD a partir do seu sinal cromatográfico (t _R = 9,5 min)	64
FIGURA 13.	Espectro de absorção molecular do 3-hidroxicarbofurano obtido por HPLC-DAD a partir de uma solução analítica 10,0 mg L ⁻¹	65

FIGURA 14.	Curva analítica do herbicida quincloraque (HPLC-DAD, 220 nm) obtida pelo programa Statgraphics® Plus 5.1	67
FIGURA 15.	Curva analítica do inseticida carbofurano (HPLC-DAD, 270 nm) obtida pelo programa Statgraphics® Plus 5.1	69
FIGURA 16.	Cromatograma da solução analítica de carbofurano 5,0 mg L ⁻¹ e quincloraque 1,5 mg L ⁻¹ (em azul) e de uma amostra fortificada no nível 3: carbofurano 20,0 µg L ⁻¹ e quincloraque 6,0 µg L ⁻¹ (em vermelho)	73
FIGURA 17.	Perfil de dissipação do pesticida carbofurano, nos canteiros C1, C2 e C3, em amostras de água na safra de 2006/2007 (■C1, ■C2, ●C3 e ▲média dos canteiros)	77
FIGURA 18.	Cromatograma da amostra coletada no 2º dia após a aplicação do pesticida carbofurano (t _R = 7,18 min) em lavoura de arroz irrigado	78
FIGURA 19.	Perfil de dissipação do pesticida quincloraque, nos canteiros C4, C5 e C6, em amostras de água na safra de 2006/2007 (■C4, ■C5, ●C6 e ▲média dos canteiros)	80
FIGURA 20.	Cromatograma da amostra coletada no 2º dia após a aplicação do pesticida quincloraque (t _R = 9,5 min) em lavoura de arroz irrigado.....	81

LISTA DE TABELAS

TABELA 1.	Herbicidas recomendados para a cultura do arroz irrigado no Brasil	12
TABELA 2.	Inseticidas recomendados para o controle das principais pragas do arroz irrigado	14
TABELA 3.	Classificação dos agrotóxicos	25
TABELA 4.	Pesticidas selecionados para este estudo	30
TABELA 5.	Informações dos padrões sólidos	48
TABELA 6.	Condições cromatográficas otimizadas	61
TABELA 7.	Linearidade do método com detecção em 220 nm	66
TABELA 8.	Linearidade do método com detecção em 270 nm	66
TABELA 9.	Valores estatísticos obtidos pela análise da regressão linear para o quincloraque conforme o programa Statgraphics® Plus 5.1	68
TABELA 10.	Valores estatísticos obtidos pela análise da regressão linear do carbofurano conforme o programa Statgraphics® Plus 5.1.....	70
TABELA 11.	Resultados de LOD e LOQ, do instrumento e do método, para os pesticidas estudados	71
TABELA 12.	Resultados do RSD do instrumento	72
TABELA 13.	Resultados das recuperações dos analitos	74
TABELA 14.	Concentrações (em $\mu\text{g L}^{-1}$) de carbofurano em amostras de água de arroz irrigado	76
TABELA 15.	Concentrações (em $\mu\text{g L}^{-1}$) de quincloraque em amostras de água de arroz irrigado	79
TABELA 16.	Tempos de meia-vida do quincloraque	82

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

- 2,4-D - ácido 2,4-diclorofenoxiacético
- a.C. - antes de Cristo
- ACN - acetonitrila
- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- C – canteiro parcial da lavoura de arroz
- C18 - Sílica modificada com hidrocarboneto linear C18
- C8 - Sílica modificada com hidrocarboneto linear C8
- CAS - *Chemical Abstracts Service*
- C-H - Carbono-Hidrogênio
- CONAMA – Conselho Nacional do Meio Ambiente
- d.i. - diâmetro interno
- DAD - Detecção por Arranjo de Diodos, do inglês *Diode Array Detection*
- DDT - Inseticida de nome químico -2,2 bis (p-clorofenil)-1,1,1-tricloroetano
- DL₅₀ - dose letal para 50% das espécies testadas
- ECD - Detecção por Captura de Elétrons, do inglês *Electron-Capture Detection*
- EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
- EPA - Agência de Proteção Ambiental, do inglês *Environmental Protection Agency*
- FE - fase estacionária
- FM - fase móvel
- GC - Cromatografia Gasosa, do inglês *Gas Chromatography*
- GC-MS - Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas
- ha – hectare
- GUS – Índice de Vulnerabilidade de Águas Subterrâneas, do inglês *Groundwater Ubiquity Score*
- HPLC - Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, do inglês *High Performance Liquid Chromatography*
- IDA - Índice Diário Aceitável

INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial

IRGA - Instituto Riograndense do Arroz

IS - Índice de segurança

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

K - constante de velocidade

Koc - Coeficiente de adsorção à matéria orgânica do solo

Kow - Coeficiente de partição octanol-água

LARP - Laboratório de Análise de Resíduos de Pesticidas

LLE - Extração Líquido-líquido, do inglês *Liquid-Liquid Extraction*

LMR - Limite Máximo de Resíduos

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

LOQ - Limite de Quantificação, do inglês *Limit of Quantification*

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

MeOH - metanol

MMA - Ministério do Meio Ambiente

MS - Espectrometria de Massas, do inglês *Mass Spectrometry*

MSPD - Dispersão da Matriz em Fase Sólida, do inglês *Matrix Solid Phase Dispersion*

n.d. - Não detectado

OCPs – Pesticida organoclorados

ODS - Octadecilsilano

pc - peso corporal

pH - Potencial hidrogenoiônico

pka - Constante de ionização ácida

r - Coeficiente de correlação

R - Recuperação

r^2 - Coeficiente de determinação

RP - Fase reversa, do inglês *Reversed Phase*

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

SBSE - Extração Sorptiva em Barras de Agitação, do inglês *Stir Bar Sorptive Extraction*

SE - Extração com solvente, do inglês *Solvent Extraction*

FE - Extração com Fluido Supercritico, do inglês *Supercritical Fluid Extraction*

SINDAG - Sindicato Nacional da Indústria de Defensivos Agrícolas

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

SPME - Microextração em Fase Sólida, do inglês *Solid-Phase Microextraction*

$t_{1/2}$ - tempo de meia-vida

TLC - Cromatografia em Camada Delgada, do inglês *Thin Layer Chromatography*

TOC – análise de Carbono Orgânico Total

t_R - tempo de retenção

UP - Ultra puro

UV - ultravioleta

UV-vis - Ultravioleta e visível

v/v - Volume por volume

λ - comprimento de onda

LISTA DE APÊNDICES

APÊNDICE A. Comparação dos valores estatísticos obtidos por modelos distintos de curvas analíticas, conforme o programa Statgraphics® Plus 5.1	100
APÊNDICE B. Foto da lavoura de arroz no Campus da UFSM	102
APÊNDICE C. Determinação dos tempos de meia-vida do quincloraque e do carbofurano	103

LISTA DE ANEXOS

ANEXO A. Dados referentes às datas de coleta das amostras de água de lavoura de arroz irrigado do Campus da UFSM	105
ANEXO B. Limites máximos de resíduos: ANVISA.....	107
ANEXO C. Limites máximos de resíduos: CONAMA – Águas doces.....	108

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	4
2.1 O arroz irrigado	4
2.1.1 Principais espécies que prejudicam a produção do arroz irrigado.	7
2.1.2 Controle das pragas no arroz irrigado	8
2.1.3 Pesticidas permitidos para o uso em arroz irrigado	9
2.2 Os pesticidas	10
2.2.1 História e legislação dos pesticidas	16
2.2.2 Efeitos e perigos dos pesticidas	18
2.2.3 Tipos de pesticidas	23
2.2.4 Toxicidade e classificação dos pesticidas	24
2.3 Determinação de pesticidas empregando métodos cromatográficos	25
2.4 Pesticidas selecionados para este estudo	29
2.4.1 Carbofurano	30
2.4.2 Quincloraque	34
2.5 Preparo de amostras para a determinação de resíduos de pesticidas em água empregando Extração em Fase Sólida (SPE)	35
2.5.1 Extração em Fase Sólida (SPE)	35
2.5.2 Modos de operação na Extração em Fase Sólida (SPE)	37
2.5.3 Etapas envolvidas na Extração em Fase Sólida (SPE)	37
2.6 Métodos cromatográficos de determinação dos pesticidas selecionados para este estudo	39
2.7 Validação de métodos cromatográficos de análises	40
2.7.1 Curva analítica e linearidade.....	41
2.7.2 Exatidão.....	42
2.7.3 Precisão.....	43

2.7.3.1 Repetitividade	43
2.7.3.2 Reprodutibilidade	44
2.7.4 Limite de Detecção e Limite de Quantificação	44
2.7.5 Sensibilidade	45
2.7.6 Seletividade	45
2.7.7 Recuperação	45
2.7.8 Robustez	46
3 MATERIAIS E MÉTODOS	47
3.1 Instrumentação	47
3.2 Reagentes, solventes e materiais utilizados	47
3.3 Preparo dos padrões analíticos utilizados	48
3.4 Otimização do sistema HPLC-DAD	49
3.4.1 Preparo e escolha da fase móvel	49
3.4.2 Escolha da vazão da fase móvel	50
3.4.3 Escolha do comprimento de onda de máxima absorção	50
3.5 Otimização do sistema SPE	50
3.5.1 Escolha do formato do cartucho	51
3.5.2 Escolha do adsorvente	52
3.5.3 Escolha do solvente de condicionamento do cartucho	52
3.5.4 Escolha do solvente de eluição dos analitos de interesse	52
3.6 Validação do método para amostras aquosas	53
3.6.1 Curva analítica e linearidade	53
3.6.2 Limite de detecção e limite de quantificação	54
3.6.3 Precisão	55
3.6.4 Recuperação	56
3.7 Aplicação do método desenvolvido em água de lavoura de arroz irrigado	57
3.7.1 Determinação dos pesticidas por SPE e HPLC-DAD.....	58
3.7.2 Estudo da estabilidade dos pesticidas em lavouras de arroz irrigado	58
3.7.3 Determinação do tempo de meia-vida	59
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	61

4.1 Condições cromatográficas otimizadas para a determinação dos pesticidas em estudo por HPLC-DAD	61
4.2 Validação do método analítico	63
4.2.1 Espectros de absorção molecular	63
4.2.2 Curva analítica e linearidade do método analítico	65
4.2.3 Limite de detecção e limite de quantificação	71
4.2.4 Precisão	71
4.2.5 Recuperação	72
4.3 Aplicação do método	74
4.3.1 Coleta das amostras	75
4.3.2 Recebimento das amostras	75
4.4 Estabilidade dos pesticidas em amostras de água de lavoura de arroz irrigado	75
4.4.1 Determinação dos tempos de meia-vida dos pesticidas selecionados neste estudo	82
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	83
TRATAMENTO DOS RESÍDUOS GERADOS	86
SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	87
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	88
APÊNDICES.....	100
ANEXOS.....	105

1 INTRODUÇÃO

A cultura do arroz irrigado destaca-se nos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina pelo seu valor econômico e social, pois estima-se que 1,1 milhões de hectares são cultivados anualmente nesses estados.

Para a grande maioria da população da América Latina, o arroz irrigado constitui-se no principal alimento, sendo responsável por 18% das calorias e 12% das proteínas da dieta básica da população brasileira. Esta cultura caracteriza-se também pelo uso intenso de agrotóxicos, especialmente herbicidas e inseticidas, que associados ao manejo inadequado da água de irrigação, pode resultar em carreamento destes produtos para fora das lavouras, contaminando águas dos riachos, rios ou lagoas.

A água é fundamental para o planeta. Nela, surgiram as primeiras formas de vida, e a partir dessas, originaram-se as formas terrestres, as quais somente conseguiram sobreviver na medida em que puderam desenvolver mecanismos fisiológicos que lhes permitiram retirar água do meio e retê-la em seus próprios organismos. A evolução dos seres vivos sempre foi dependente da água.

Existe uma falsa idéia de que os recursos hídricos são infinitos. Realmente há muita água no planeta, mas menos de 3% da água do mundo é doce, da qual mais de 99% apresenta-se congelada nas regiões polares ou em rios e lagos subterrâneos, o que dificulta sua utilização pelo homem.

A água é o constituinte mais característico da terra, ingrediente essencial da vida. É talvez o recurso mais importante que a terra fornece à humanidade. Embora se observe pelos países do mundo inteiro tanta negligência e tanta falta de visão em relação a este recurso, é de se esperar que os seres humanos tenham pela água grande respeito, que procurem manter seus reservatórios naturais e conservar sua pureza. De fato, o futuro da espécie humana e de outras espécies pode ficar comprometido a menos que haja uma melhora significativa na administração dos recursos hídricos terrestres.

A qualidade da água potável e a não-contaminação dos alimentos só pode ser assegurada através de programas de monitoramento ambiental, que minimizam o risco de poluição.

Com a crescente redução na disponibilidade de água potável para as atividades humanas, o monitoramento de agrotóxicos no solo e na água constitui um indicador importante para garantir que eles estejam sendo utilizados de forma adequada e que não interfiram na qualidade das fontes naturais de águas.

O uso de pesticidas, que são substâncias ou misturas que tem como objetivo impedir, destruir, repelir ou mitigar qualquer praga na agricultura, está muito difundido, pois são considerados essenciais para conseguir melhores condições de cultivo e melhor produtividade.

Em arroz, os inseticidas e os herbicidas são normalmente aplicados, pelo menos, em uma fase do desenvolvimento das plantas. O inseticida carbofurano é muito utilizado na cultura de arroz irrigado para controlar as pragas e o herbicida quincloraque para controlar as plantas daninhas que prejudicam a produção do arroz.

A preocupação com a contaminação de ambientes aquáticos aumenta, principalmente, quando a água é utilizada para o consumo humano. A Comunidade Européia estabeleceu em $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ a concentração máxima admissível de qualquer pesticida em águas destinadas ao consumo humano e em $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ para o total de resíduos, sem deixar claro se deve-se, ou não, considerar também produtos de transformação (CERDEIRA *et al.*, 2002).

O monitoramento dos pesticidas em água necessita de métodos para a determinação e quantificação dos pesticidas na amostra. A Cromatografia Gasosa (GC, do inglês *Gas Chromatography*) ou a Cromatografia Líquida (LC, do inglês *Liquid Chromatography*), são métodos de separação dos constituintes de uma matriz, cuja aplicação permite a análise qualitativa e quantitativa de uma amostra.

Considerando a importância da água no mundo, bem como a sua escassez, e a alta produtividade do arroz irrigado, este trabalho teve como objetivos: (i) desenvolver e validar um método para a determinação de

carbofurano e quincloraque em amostras de água de lavoura de arroz, utilizando SPE e HPLC-DAD; (ii) monitorar a estabilidade do inseticida carbofurano e do herbicida quincloraque em água de lavoura de arroz irrigado de um experimento a campo, realizado na área experimental do Campus da Universidade Federal de Santa Maria, na safra de 2006/2007 (iii) avaliar o tempo de persistência na água dos pesticidas selecionados neste estudo.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 O arroz irrigado

O arroz é uma planta da família das gramíneas que alimenta mais da metade da população humana do mundo (EMBRAPA, 2007). É uma gramínea anual classificada no grupo de plantas C-3 adaptada a ambiente aquático. Esta adaptação é devida à presença de aerênquima no colmo e nas raízes da planta, que possibilita a passagem de oxigênio do ar para a camada da rizosfera (IRGA, 2007).

Para a expansão de seu potencial produtivo, a cultura requer temperatura ao redor de 24 a 30 °C e radiação solar elevada, uma vez que a disponibilidade hídrica não é um fator limitante, devido ao fato da cultura ser produzida em condições de solo inundado.

O Brasil está entre os dez principais produtores mundiais de arroz, com cerca de 11 milhões de toneladas para um consumo de 11,7 milhões de toneladas base casca. Essa produção é oriunda de dois sistemas de cultivo: irrigado e de sequeiro (EMBRAPA, 2005).

A produção deste cereal no Brasil é originária, principalmente, das lavouras irrigadas do Rio Grande do Sul (RS) e Santa Catarina (SC) que, em conjunto, respondem por quase 60% da produção nacional, sendo que somente o RS contribui com cerca de 50%. A orizicultura gaúcha contribui com 2,3% do produto interno bruto do Estado e 40% da produção de grãos (IRGA, 2007).

Para poder ser cultivado com sucesso, o arroz necessita de água em abundância e desenvolve-se bem mesmo em terrenos muito inclinados. É a terceira maior cultura cerealífera do mundo, apenas ultrapassado pelo milho e trigo.

Cerca de 150 milhões de hectares de arroz são cultivados anualmente no mundo, produzindo 590 milhões de toneladas, sendo que mais de 75% desta produção é oriunda do sistema de cultivo irrigado (EMBRAPA, 2005).

O arroz é um dos mais importantes grãos em termos de valor econômico. É alimento básico para cerca de 2,4 bilhões de pessoas e, segundo estimativas, até 2050, haverá uma demanda para atender ao dobro desta população (BARBOSA, 2004).

O arroz está presente à mesa de dois terços da população mundial, constituindo-se no alimento mais cultivado e consumido em vários países. O seu cultivo é tão antigo quanto à própria civilização.

O arroz é um dos componentes básicos na alimentação da maioria da população brasileira e é um dos alimentos com melhor balanceamento nutricional, fornecendo 20% da energia e 15% da proteína per capita necessária ao homem e, sendo uma cultura extremamente versátil que se adapta a diferentes condições de solo e clima, é considerado a espécie que apresenta maior potencial para o combate à fome no mundo (EMBRAPA, 2005).

A América Latina ocupa o segundo lugar em produção e o terceiro em consumo. Assim como na Ásia, o arroz é um produto importante na economia de muitos dos países latino-americanos pelo fato de ser item básico na dieta da população, como nos casos do Brasil, Colômbia e Peru, ou por ser um produto importante no comércio internacional, como no de Uruguai, Argentina e Guiana, como exportadores, e de Brasil, México e Cuba, entre outros, como importadores.

As várzeas subtropicais estão presentes nos estados do Rio Grande do Sul (RS), Santa Catarina (SC) e Paraná (PR). No RS são encontrados cerca de 5,4 milhões de hectares de várzeas e em SC aproximadamente 684 mil hectares. No PR, estima-se que existe cerca de 400 mil hectares, o que totaliza uma área de cerca de 6,5 milhões de hectares de várzeas na Região Sul do Brasil. Nessas várzeas, anualmente, são cultivados com arroz irrigado cerca de 1,1 milhões de hectares, cuja produção supre mais de 50% da demanda nacional (EMBRAPA, 2005).

O cultivo do arroz irrigado, por submersão do solo, necessita em torno de 2000 L (2 m³) de água para produzir 1 kg de grãos com casca, estando entre as culturas mais exigentes em termos de recursos hídricos (IRGA, 2007). Apesar desta alta exigência, a manutenção de uma lâmina de água

(Figura 1) sobre a superfície do solo traz uma série de vantagens para as plantas do arroz.



Figura 1. Foto parcial da lavoura de arroz irrigado, mostrando a submersão do solo em lâmina de água

A água necessária para a cultura do arroz irrigado deve ser captada das fontes (rios, lagoas, barragens) de suprimento e conduzida até as fontes consumidoras (lavouras). Estes procedimentos assumem um papel importante, tanto para a garantia da produtividade, por meio de um correto manejo da água, quanto para a composição dos custos de produção (IRGA, 2007).

A diferença de nível entre as duas fontes, em algumas condições especiais, permite a distribuição da água por gravidade. Todavia, a situação mais comum caracteriza-se por ser o nível da água inferior à cota da localização da lavoura. Neste caso, a água a ser distribuída deve antes ser elevada por meio mecânico (bombeamento).

2.1.1 Principais espécies que prejudicam a produção do arroz irrigado

Para alcançar os melhores rendimentos de grãos de arroz, as lavouras devem crescer livres de pragas ou plantas daninhas. Esta interferência é um dos principais fatores que limitam a produtividade e a rentabilidade da cultura do arroz. As plantas daninhas são um dos principais fatores limitantes da produtividade do arroz. Além dos efeitos diretos, através da competição por nutrientes, água e luz, elas prejudicam a qualidade do produto e servem como hospedeiras de pragas e doenças.

Dentre as espécies daninhas, o arroz vermelho merece um destaque especial, por estar disseminado em quase toda a área cultivada com arroz irrigado no Rio Grande do Sul. As plantas daninhas além de reduzir significativamente o rendimento da lavoura de arroz irrigado e aumentar o custo de produção diretamente, são responsáveis pelo aumento da umidade dos grãos na colheita e pela redução no rendimento classificatório dos grãos, bem como são hospedeiras de doenças e pragas (EMBRAPA, 2006).

No momento do estabelecimento da lavoura é onde há maior competição com a cultura por parte das plantas daninhas, que se aproveitam do fertilizante e da luz assim como do CO₂; por isto é necessário um bom controle de ervas daninhas para se ter sucesso no empreendimento.

Entre as pragas que reduzem a economicidade da cultura do arroz irrigado na região subtropical do Brasil destacam-se espécies de insetos, moluscos e pássaros, que causam perdas de produtividade de 10 a 35%.

Associados à ocorrência de pragas ainda existem os riscos de impacto ambiental, decorrentes do crescente uso irracional de inseticidas químicos aplicados para controle. O sistema de implantação da cultura é um dos fatores que mais influenciam nos níveis de danos. As principais diferenças são detectadas entre lavouras implantadas em solo seco com posterior inundação (plantio direto e convencional) e lavouras de arroz pré-germinado, havendo tendência dessas últimas serem as mais prejudicadas. As espécies de insetos mais prejudiciais ao arroz irrigado são: *Spodoptera frugiperda* (lagarta-da-folha), *Oryzophagus oryzae* (gorgulho-aquático), *Tibraca limbativentris* (percevejo-do-colmo) e *Oebalus poecilus* (percevejo-

do-grão). *Pomacea canaliculata* e *Argelaius ruficapilus* são, respectivamente, as espécies de molusco e pássaro mais daninhos à cultura.

2.1.2 Controle das pragas no arroz irrigado

Para alcançar altos rendimentos, é fundamental que o produtor maneje as formas de evitar as pragas do arroz irrigado. As recomendações técnicas para o controle de pragas na cultura do arroz irrigado no Rio Grande do Sul, visam o emprego de medidas integradas capazes de reduzir os danos à cultura.

Os principais métodos de controle das pragas do arroz irrigado são (EMBRAPA, 2005):

a) Método cultural de controle de pragas:

O uso de métodos alternativos de controle necessita ser intensificado, visando especialmente à redução do custo de produção e a preservação ambiental. Os métodos culturais recomendados para o controle de algumas pragas estão descritos a seguir:

- Uso de sementes certificadas, selecionadas para uma adequada produção;
- Rotação de culturas, intercalando o tipo de produção em diferentes períodos;
- Sucessão e integração com pecuária;
- Sistema de plantio, como por exemplo, a semeadura direta e convencional.

b) Método de controle manual:

No caso de baixa infestação, podem-se retirar manualmente as plantas daninhas, prejudiciais à produção de arroz.

c) Método de controle químico:

Devido as suas características próprias, a cultura do arroz irrigado forma um agroecossistema peculiar, sensível à interferência de fatores negativos como o uso indiscriminado de inseticidas.

O uso de herbicidas na cultura de arroz irrigado no Brasil teve seu início na década de 1940 com o descobrimento dos herbicidas organo-sintéticos do grupo do 2,4-D vindo após, os inibidores de fotossíntese. O uso de herbicidas deve ter sempre o acompanhamento de um técnico (IRGA, 2005).

No Rio Grande do Sul, o plantio de arroz irrigado inicia no período em que as temperaturas se elevam, ou seja, no mês de outubro, a fim de facilitar a germinação do grão. A aplicação de pesticidas na cultura do arroz procede da seguinte maneira:

- **Pré-emergente:** Aplicado logo após a semeadura do arroz até o início da emergência das plântulas. É fundamental ter umidade de solo no momento ou após a aplicação do pesticida, com o início da irrigação ou ocorrência de chuva.

- **Pós-emergente:** Aplicado após o surgimento das plantas daninhas. Pode-se classificar como pós-emergência inicial, quando as plantas apresentarem de 2 a 4 folhas e, pós-emergência tardia, quando as mesmas estiverem com 4 a 8 folhas, no geral com o surgimento de perfilhos, necessitando doses de herbicidas maiores.

2.1.3 Pesticidas permitidos para o uso em arroz irrigado

Apesar de existir no mercado um grande número de compostos para controle de plantas daninhas, insetos, fungos e outros organismos que prejudicam a produção de lavouras de arroz, existe uma demanda crescente de novos produtos para controlar esses organismos, que cada vez são mais resistentes.

Na Região Sul do Brasil, a cultura do arroz irrigado é atacada por várias pragas, cujo dano pode prejudicar a produtividade e a qualidade dos grãos colhidos.

O uso de pesticidas é ainda a principal maneira utilizada no campo para a prevenção e o controle de pragas. Estes compostos, porém, são potencialmente tóxicos ao homem, e a presença de seus resíduos nos alimentos pode significar risco para a saúde do consumidor.

Na Tabela 1, estão relacionados os herbicidas recomendados para a cultura do arroz irrigado, levando-se em consideração os produtos disponíveis no mercado e a suscetibilidade das diferentes espécies daninhas aos diversos ingredientes ativos.

Os inseticidas para o controle dos principais insetos prejudiciais ao arroz irrigado, registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), estão listados na Tabela 2.

2.2 Os pesticidas

Literalmente, o termo praguicida tem o significado de produto com a capacidade de destruir pragas. A denominação pesticida, muito difundida entre os povos de língua portuguesa e usual naqueles de língua inglesa, tem o significado literal de algo com poder de destruir pestes. O termo defensivo tem o significado de algo que serve para defender ou resistir ao ataque de um inimigo qualquer. Um outro termo também em uso é agrotóxico, que tem o sentido geral de incluir todos os compostos químicos usados na agricultura (FAO, 2005).

A Agência Nacional de Proteção Ambiental (EPA) dos Estados Unidos possui aproximadamente 900 produtos registrados como pesticidas. Desses, em torno de 200 são produzidos em larga escala. Os 900 ingredientes ativos incluem cerca de 250 herbicidas, 220 inseticidas, 175 fungicidas e nematicidas e 45 rodenticidas (composto utilizado para matar roedores como ratos), sendo os 210 restantes utilizados como desinfetantes ou para fins diversos. Apesar de esses números variarem um pouco, uma vez que novos

produtos são sempre registrados e outros retirados do mercado, observa-se nitidamente que os herbicidas, inseticidas, fungicidas e nematicidas constituem a grande maioria dos compostos (EPA, 2007).

Os pesticidas ou praguicidas, são todas as substâncias ou misturas que tem como objetivos impedir, destruir, repelir ou mitigar qualquer praga.

Tabela 1. Herbicidas recomendados para a cultura do arroz irrigado no Brasil

Nome Comum	Nº CAS	Grupo Químico	IDA (mg kg⁻¹ pc)	Classe Toxicológica*
2,4-D	94-75-7	ácido ariloxialcanóico	1	I
Azinsulfurom	120162-55-2	sulfoniluréia	0,1	III
Bentazona	25057-89-0	benzotiadiazinona	0,1	III
Bispiribaque-sódico	125401-92-5	ácido pirimidiniloxibenzóico	0,01	III
Carfentrazona-etílica	128639-02-1	triazolona	0,03	IV
Cialofope-butílico	122008-85-9	ácido ariloxifenoxipropiônico	0,003	III
Ciclossulfamurom	136849-15-5	sulfoniluréia	0,03	III
Clomazona	81777-89-1	isoxazolidinona	0,04	III
Dibrometo de diquate	85-00-7	bipiridílio	0,002	II
Dicloreto de paraquate	1910-42-5	bipiridílio	0,004	I
Etoxissulfurom	126801-58-9	sulfoniluréia	0,04	III
Glifosato	1071-83-6	glicina substituída	0,042	IV
Imazapique	104098-48-8	imidazolinona	0,5	II
Imazetapir	81335-77-5	imidazolinona	0,25	III
Metsulfurom-metílico	74223-64-6	sulfoniluréia	0,01	III

Molinato	2212-67-1	tiocarbamato	0,02	II
Oxadiazona	19666-30-9	oxadiazolona	0,005	III
Oxifluorfem	42874-03-3	éter difenílico	0,003	III
Pendimetalina	40487-42-1	dinitroanilina	0,1	III
Penoxsulam	219714-96-2	sulfonanilida triazolopirimidina	0,05	III
Picloram	1918-02-1	ácido piridinocarboxílico	0,07	III
Pirazossulfurom-etílico	93697-74-6	sulfoniluréia	0,006	III
Propanil	709-98-8	anilida	0,005	III
Quincloraque	84087-01-4	ácido quinolinocarboxílico	0,38	III
Sulfosato	81591-81-3	glicina substituída	0,03	III
Tiobencarbe	28249-77-6	tiocarbamato	0,01	III
Triclopir-butotílico	64700-56-7	ácido piridiniloxialcanóico	0,05	III
Trifluralina	1582-09-8	dinitroanilina	0,02	III

Fonte: AGROFIT, 2007

IDA = Ingestão Diária Aceitável

pc = peso corporal

* Classe toxicológica de acordo com a Tabela 3

Tabela 2. Inseticidas recomendados para o controle das principais pragas do arroz irrigado

Nome Comum	Nº CAS	Grupo Químico	IDA (mg kg⁻¹ pc)	Classe Toxicológica
Benfuracarbe	82560-54-1	metilcarbamato de benzofuranila	0,007	II
Beta-ciflutrina	68359-37-5	piretróide	0,02	II
Beta-cipermetrina	65731-84-2	piretróide	0,01	III
Bifentrina	82657-04-3	piretróide	0,02	II
Carbofurano	1563-66-2	metilcarbamato de benzofuranila	0,002	I
Carbosulfano	55285-14-8	metilcarbamato de benzofuranila	0,01	II
Ciflutrina	68359-37-5	piretróide	0,02	II
Cipermetrina	52315-07-8	piretróide	0,05	II
Deltametrina	52918-63-5	piretróide	0,01	III
Diflubenzurom	35367-38-5	benzoiluréia	0,02	IV
Esfenvalerato	66230-04-4	piretróide	0,02	II
Etiprole	181587-01-9	fenilpirazol	0,005	III
Fipronil	120068-37-3	pirazol	0,0002	II
Fosfeto de alumínio	20859-73-8	inorgânico precursor de fosfina	0,01	I
Fosfeto de Magnésio	12057-74-8	inorgânico precursor de fosfina	0,04	I

Fosfina	7803-51-2	inorgânico	0,01	I
Furatiocarbe	65907-30-4	metilcarbamato de benzofuranila	0,1	II
Imidacloprido	138261-41-3	neonicotinóide	0,05	III
Lambda-cialotrina	91465-08-6	piretróide	0,05	III
Malationa	121-75-5	organofosforado	0,3	III
Parationa-metílica	298-00-0	organofosforado	0,003	I
Permetrina	52645-53-1	piretróide	0,05	III
Pirimifós-metílico	29232-93-7	organofosforado	0,03	III
Terra diatomácea	14808-60-7	inorgânico	0,003	III
Tiametoxam	153719-23-4	neonicotinóide	0,02	III
Tiodicarbe	59669-26-0	metilcarbamato de oxima	0,03	II
Triclorfom	52-68-6	organofosforado	0,01	II
Zeta-cipermetrina	52315-07-8	piretróide	0,005	II

Fonte: AGROFIT, 2007

IDA = Ingestão Diária Aceitável

pc = peso corporal

* Classe toxicológica de acordo com a Tabela 3

Um pesticida pode ser uma substância química ou um agente biológico que é lançado de encontro com as pragas que estiverem destruindo uma plantação, disseminando doenças, incomodando pessoas, etc. É utilizado no combate de diversas formas de seres vivos, tais como: insetos, ervas daninhas, moluscos, pássaros, mamíferos, peixes, nematelmintos e micróbios.

Não são necessariamente venenos, porém quase sempre são tóxicos.

Segundo SANCHES (2003), os pesticidas podem ser classificados conforme a praga que eles combatem:

Acaricidas: para o controle de ácaros.

Bactericidas: para o controle de bactérias.

Fungicidas: para o controle de fungos.

Herbicidas: para o controle de plantas daninhas.

Inseticidas: para o controle de insetos.

Nematicidas: para o controle de nematóides.

Rodenticidas: para o controle de ratos e outros tipos de roedores.

Vermífugos: para o controle de vermes.

E também podem ser classificados em:

Orgânicos sintéticos: Carbamatos (nitrogenados), clorados, fosforados e clorofosforados.

Inorgânicos: À base de arsênio, tálio, bário, nitrogênio, fósforo, cádmio, ferro, selênio, chumbo, cobre, mercúrio e zinco.

Botânicos: À base de nicotina, piretrina, sabadina e rotenona.

2.2.1 História e legislação dos pesticidas

Os seres humanos têm usado pesticidas para impedir danos às suas colheitas desde aproximadamente 500 a.C.. O primeiro pesticida conhecido foi o enxofre. Por volta do século XV, começaram a ser utilizados elementos químicos tóxicos como o arsênio e o mercúrio no combate a pragas em colheitas. No século XVII, o sulfato de nicotina foi extraído das folhas de tabaco para ser usado como pesticida. Já no século XIX, viu-se a introdução

de dois novos pesticidas: um derivado do *Chrysanthemum Cinerariaefolium* da família asteraceae, e o rotenone que é derivado de raízes de legumes tropicais (EMBRAPA, 2005).

Em 1939, Paul Müller descobriu que o DDT era um inseticida muito eficaz. Transformou-se rapidamente no pesticida mais usado no mundo. Entretanto, na década de 60, descobriu-se que o DDT provocava danos à saúde de diversas espécies de aves, prejudicando sua reprodução e oferecendo grandes riscos para biodiversidade. Rachel Carson escreveu o livro *best-seller Silent spring* que criticava e alertava para o uso deste pesticida.

Atualmente, o DDT é proibido em pelo menos 86 países (KAUSHIK, 2007). No entanto, ele continua sendo usado em algumas nações no combate à malária e outras doenças tropicais, matando mosquitos e outros insetos transmissores.

O uso de pesticidas dobrou desde a década de 1950, e cerca de 2,5 milhões de toneladas de pesticidas industriais são usados agora todos os anos.

Na maior parte dos países, a venda ou uso de um pesticida deve ser aprovada por uma agência do governo. Diversos estudos devem ser feitos para indicar se o material é eficaz no combate as pragas.

Alguns pesticidas são considerados demasiadamente perigosos para serem vendidos ao público geral. Somente pessoas ou organizações que passaram por avaliações prévias podem comprar e supervisionar a aplicação destes tipos de pesticida (TOMLIN, 2004).

A preocupação com a contaminação de ambientes aquáticos aumenta, principalmente, quando a água é usada para o consumo humano. A Comunidade Européia estabeleceu em $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ a concentração máxima admissível de qualquer pesticida em águas destinadas para o consumo humano e em $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ para o total de resíduos, sem deixar claro se deve-se, ou não, considerar também os produtos de transformação.

A Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA) e a Organização Mundial da Saúde estabelecem níveis máximos para pesticidas

individuais em água destinada ao consumo humano, baseados em estudos toxicológicos e epidemiológicos.

No Brasil, a Resolução nº 357 / CONAMA, de 17/03/2005, estabelece limites máximos de contaminantes em água dependendo do seu destino; sendo que, dentre estes, estão alguns pesticidas organoclorados, organofosforados e carbamatos. A Portaria nº 518 / ANVISA, de 25/03/2004, do Ministério da Saúde (Padrão de Potabilidade da Água Destinada ao Abastecimento da População Humana), estabelece limites de pesticidas em águas destinadas ao consumo humano.

2.2.2 Efeitos e perigos dos pesticidas

O uso de agrotóxicos para minimizar com as pragas da agricultura deve ser moderado e feito com alguns cuidados, senão, pode causar a contaminação e desertificação do solo. O uso intenso de agrotóxicos pode levar à degradação dos recursos naturais, em alguns casos de forma irreversível, levando a desequilíbrios biológicos e ecológicos, entre eles a contaminação dos lençóis freáticos e do próprio solo (EMBRAPA, 2007).

Os pesticidas podem apresentar perigo para os consumidores. Eles oferecem ameaças também durante a manufatura, o transporte, durante e/ou depois de seu uso.

O uso de pesticidas na agricultura, para o controle de pragas, também pode oferecer riscos para as pessoas. Através do processo de seleção natural, as pragas podem se tornar muito resistentes à ação do pesticida.

Os sistemas de produção intensivos elevam a necessidade de uso de agroquímicos, os quais aumentam as concentrações residuais dos agrotóxicos, ou de seus metabólitos que, por sua vez, podem comprometer a qualidade de águas superficiais e subterrâneas. A deriva de agrotóxicos ocorrida durante o processo de aplicação dos produtos, diminui a eficiência da aplicação, além de comprometer a qualidade da flora e da fauna nativas, assim como da água local e de outras regiões, sem falar da própria saúde do trabalhador rural e de comunidades vizinhas. Se um produto fica mais tempo

no solo (alta adsorção) é maior sua possibilidade de degradar-se sem se espalhar para outros ambientes através da lixiviação ou percolação das substâncias, reduzindo o risco de contaminação (ALDER *et al.*, 2006).

Além da degradação biológica, os pesticidas podem ser parcialmente degradados através de processos químicos ou fotoquímicos, sendo chamados de processos abióticos de degradação como oxidação, redução, hidrólise e fotólise.

A Figura 2 mostra as várias formas de entrada dos agrotóxicos nos compartimentos solo, água, bem como as vias de degradação e deslocamento destes entre os diferentes ambientes.

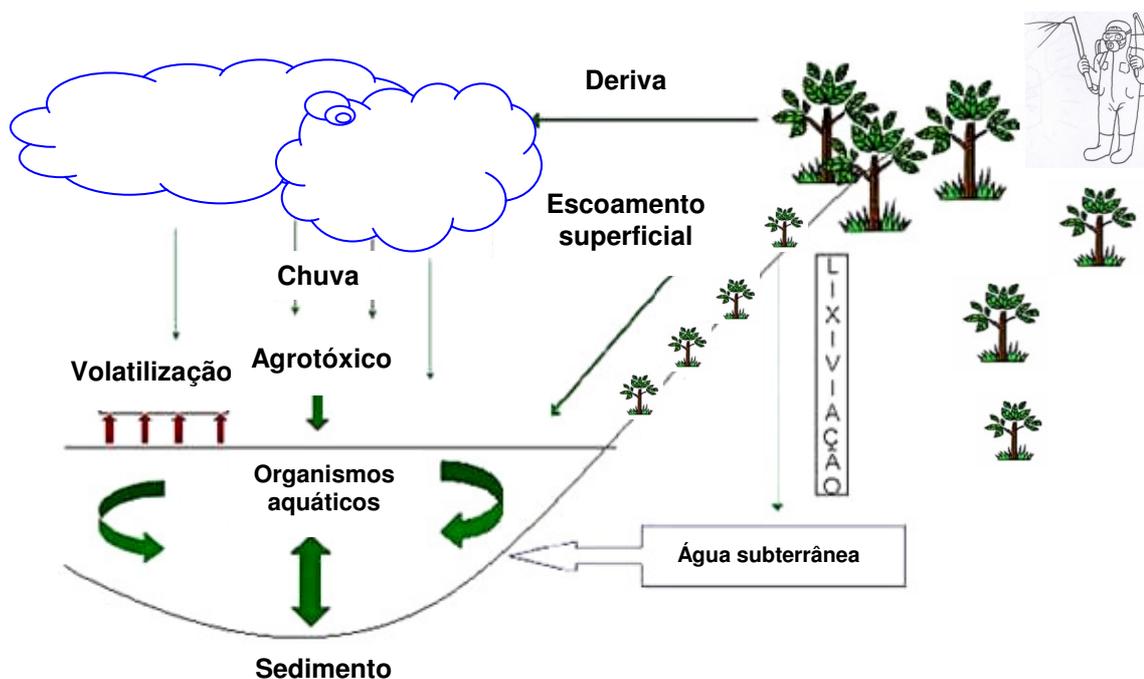


Figura 2. Diagrama esquemático das vias de poluição ambiental por pesticidas (BEYRUTH, 2003)

Assim, a água que chega aos nossos rios é produto do ciclo hidrológico. A energia solar aquece a água, faz com que esta evapore, seja

transportada pelo vento, condensada e precipitada. No solo, a ação da gravidade leva esta água para os pontos mais baixos do terreno, até chegar aos rios e oceanos, sendo que, parte dessa água atinge os lençóis subterrâneos por infiltração. No ciclo hidrológico, o processo de evaporação e precipitação age como um gigantesco destilador. A partir da condensação inicia-se o processo de contaminação com a dissolução de gases nas gotas da chuva, e no solo a água dissolve uma série de substâncias presente (GÁNDARA *et al.*, 2003).

Desse modo, os pesticidas com maior ou menor rapidez podem ser transportados dentro do próprio solo ou para fora deste ecossistema.

FERRACINI *et al.* (2001) apontam a facilidade de uso dos modelos matemáticos apresentados como índices ou como intervalos matemáticos, tais como o índice de GUS, os critérios da EPA e o Método de GOSS. Os parâmetros de entrada desses modelos são: Koc (em mL g⁻¹), t_{1/2} solo (em dias), solubilidade em água (em mg L⁻¹) e Constante de Henry (em Pa m³ mol⁻¹).

(a) Critérios da EPA

Em resumo, os critérios de “*screening*” sugeridos pela EPA na análise preliminar de riscos de contaminação de águas subterrâneas por pesticidas são os seguintes:

- Solubilidade em água > 30 mg L⁻¹. A solubilidade em água afeta o equilíbrio da partição pelo controle das concentrações no meio difuso ar/água, como também afeta as velocidades de processos de transferências como a evaporação do agrotóxico que está presente no solo ou na água para o ar, ou a adsorção do produto que está presente na água. Assim, ela é um indicativo da facilidade do princípio ativo em lixiviar.
- Constante de adsorção à matéria orgânica do solo < 300-500. O Koc é fator preditivo da biodisponibilidade do agrotóxico, uma vez que os produtos hidrofóbicos (insolúveis em água) podem ligar-se reversivelmente ao conjunto de carbono orgânico. O valor de Koc mede a tendência que um composto químico tem de sofrer partição entre a fase sólida e a solução do solo no sistema solo-água. Assim, como Koc mede a quantidade de carbono

orgânico adsorvido ao solo, é útil para estimar: a extensão em que um soluto orgânico sofrerá partição no solo quando a água movimentar-se através do perfil do solo; o grau em que os compostos químicos adsorverão na superfície do solo; a partição durante o escoamento superficial do solo; a partição em sedimentos aquosos.

- Constante da Lei de Henry $< 10^{-2} \text{ Pa m}^3 \text{ mol}^{-1}$
- Meia-vida no solo $> 2 - 3$ semanas
- Meia-vida na água > 25 semanas. O $t_{1/2}$ é útil para a comparação da persistência relativa de diferentes agrotóxicos no meio ambiente. Assim, são importantes para o entendimento do potencial de impacto no solo ou na água.

(b) “Ground water ubiquity score” – GUS

O índice de GUS (índice de vulnerabilidade de águas subterrâneas) é calculado através dos valores de meia-vida do composto no solo e do coeficiente de adsorção à matéria orgânica do solo, não levando em consideração outras propriedades como solubilidade em água. As faixas de classificação dos compostos de acordo com sua tendência à lixiviação são:

GUS $< 1,8$: não sofre lixiviação

$1,8 < \text{GUS} < 2,8$: faixa de transição

GUS $> 2,8$: provável lixiviação

(c) Método de Goss

Os critérios propostos para a avaliação do potencial de contaminação de águas superficiais são:

- Alto potencial de transporte associado ao sedimento: meia-vida no solo ≥ 40 dias e $K_{oc} = 1000$ ou meia-vida no solo ≥ 40 dias e $K_{oc} \geq 500$ e solubilidade em água $\leq 0,5 \text{ mg L}^{-1}$.
- Baixo potencial de transporte associado ao sedimento: meia-vida no solo < 1 dia ou meia-vida no solo ≤ 40 dias, $K_{oc} \leq 500$ e solubilidade em água $\geq 0,5 \text{ mg L}^{-1}$ ou meia-vida no solo ≤ 2 dias e $K_{oc} < 500$ ou meia-vida no solo ≤ 4 dias e $K_{oc} \leq 900$ e solubilidade em água $\geq 0,5 \text{ mg L}^{-1}$ ou meia-vida no solo ≤ 40 dias e $K_{oc} \leq 900$ e solubilidade em água $\geq 2 \text{ mg L}^{-1}$.

- Alto potencial de transporte dissolvido em água: meia-vida no solo: meia-vida no solo > 35 dias, $K_{oc} < 1.000.000$ e solubilidade em água $\geq 1 \text{ mg L}^{-1}$ ou $K_{oc} \leq 700$ e solubilidade em água entre 10 e 100 mg L^{-1} .
- Baixo potencial de transporte dissolvido em água: $K_{oc} \geq 1.000.000$ ou meia-vida no solo ≤ 1 dia e $K_{oc} \leq 100$ ou meia-vida no solo < 35 dias e solubilidade em água $< 0,5 \text{ mg L}^{-1}$.

As substâncias que não se enquadram em nenhum dos critérios acima são consideradas como tendo potencial médio para poluírem águas superficiais.

A volatilidade, que é a facilidade com que se evapora, também interfere no comportamento do pesticida no ambiente. Quanto mais volátil o produto mais rapidamente ele atinge o compartimento atmosférico e dependendo de sua persistência o produto pode se mover a longas distâncias.

Considerando que a quantidade de tempo que um pesticida fica no ambiente é o tempo de meia-vida do produto ($t_{1/2}$), o tempo no qual determinado princípio ativo atinge 50% de sua concentração original é útil para a comparação da persistência relativa de diferentes agrotóxicos no ambiente. Assim, é importante para o entendimento do potencial de impacto no solo e na água.

Os agrotóxicos possuem diferentes estruturas e atividades biológicas, que os tornam bastante diferenciados quanto a seus efeitos de ordem fitossanitária. Estes, aliás, são os principais motivos pelos quais são amplamente utilizados na agricultura. Devido ao fato de serem potencialmente tóxicos aos organismos, o destino destes produtos no ambiente deve ser investigado (QUEIROZ *et al.*, 2005).

Programas de monitoramento ambiental, realizados por meio de estudos de campo bem planejados, são considerados por diversos autores como o melhor método de avaliação e de minimização da poluição da água subterrânea (COHEN *et al.*, 1995; ALBANIS *et al.*, 1998; AZEVEDO *et al.*, 2000; FILIZOLA *et al.*, 2002). Esses estudos podem ser realizados analisando-se diretamente a água e/ou o solo, uma vez que o potencial de contaminação da água subterrânea por pesticidas depende da sua

mobilidade no solo. Devido ao grande número de princípios ativos utilizados na agricultura, as análises exigem métodos multirresíduos eficientes e capazes de detectar limites máximos de resíduos (LMR) estabelecidos pela legislação e concentrações consideradas de alerta para a saúde humana (SABIK, JEANNOT & RONDEAU, 2000). Além disso, quando se trabalha com água subterrânea ocorrem outras limitações na interpretação dos resultados de monitoramento como fator de diluição e repetibilidade na coleta das amostras no mesmo ponto.

2.2.3 Tipos de pesticidas

Os pesticidas podem ser classificados como (ANVISA, 2005):

Fungicida (de acordo com a etimologia: fungi, fungos, e cida matar): é um pesticida que destrói ou inibe a ação dos fungos que geralmente atacam as plantas. A utilização de fungicidas sintéticos é muito comum na agricultura convencional, todavia, representa um sério risco ao homem e ao meio-ambiente, por se tratar de um produto muito tóxico e perigoso. No caso da agricultura alternativa, mais conhecida como agricultura orgânica, o controle dos fungos é realizado com produtos naturais e com técnicas alternativas de manejo.

Herbicida (de acordo com a etimologia: herbi, erva, e cida matar): é um produto químico utilizado na agricultura para o controle de ervas classificadas como daninhas. Os herbicidas constituem um tipo de pesticida. As vantagens da utilização deste produto é a rapidez de ação, custo reduzido, mínimo efeito residual e não revolvimento do solo. Os problemas decorrentes da utilização de herbicidas são a contaminação ambiental e o surgimento de ervas resistentes.

Todos os herbicidas são tóxicos para os seres humanos em alguma medida. Existem também herbicidas naturais.

Inseticida (de acordo com a etimologia: inseti, insetos, e cida matar): é um tipo de pesticida usado para exterminar insetos, destruindo ovos e larvas principalmente. Os inseticidas têm usos: domésticos, na agricultura e na indústria.

2.2.4 Toxicidade e classificação dos pesticidas

Em grau variável, todo o composto com atividade de praguicida é potencialmente tóxico ao homem e aos organismos vivos relacionados com o seu ecossistema (SANCHES *et al.*, 2003).

É recomendado utilizar herbicidas devidamente registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) e cadastrados na Secretaria de Agricultura dos estados que adotem o procedimento de uso para a espécie de planta daninha que se deseja controlar. O número do registro consta no rótulo do produto.

Uma medida freqüentemente utilizada para avaliar a toxicidade aguda de pesticidas e outras substâncias químicas é a Dose Letal 50% (DL₅₀). A DL₅₀ representa a quantidade (dose única) da substância necessária para matar 50% dos animais testados nas condições experimentais utilizadas. Nestes testes, emprega-se grande número de animais, uma vez que mesmos indivíduos de uma mesma espécie podem exibir diferentes respostas a determinado composto. Assim, alguns indivíduos podem ser altamente resistentes ao composto testado, enquanto outros podem morrer mesmo quando em contato com quantidades mínimas do produto (SANCHES *et al.*, 2003).

A toxicidade aguda dos pesticidas, medida pela DL₅₀, varia muito conforme o tipo de composto. Os inseticidas organofosforados e os carbamatos são, em geral, muito tóxicos.

Conforme a legislação, os pesticidas estão agrupados em quatro classes toxicológicas, em razão do perigo que eles podem apresentar para os seres humanos, levando em consideração os valores de doses letais dos

produtos. De acordo com a Tabela 3, a identificação dos rótulos desses produtos é feita por meio de faixas coloridas.

Tabela 3. Classificação dos agrotóxicos

Classe	DL₅₀	Classificação	Cor da faixa no rótulo da embalagem
I	0-50	Extremamente tóxico	Vermelho vivo
II	50-500	Altamente tóxico	Amarelo intenso
III	500-5000	Medianamente tóxico	Azul intenso
IV	>5000	Pouco tóxico	Verde intenso

Fonte: ANVISA, 2005

Segundo a Portaria n° 007 de 13 de janeiro de 1981, do Ministério da Agricultura, os produtos fitossanitários têm venda livre nas formulações classificadas nas classes toxicológicas III, pouco tóxicos, e IV, praticamente não tóxicos, e obrigatoriedade de venda controlada as formulações das classes I, altamente tóxicos, e II, medianamente tóxicos, e aquelas com características altamente poluentes que não tenham sido classificadas nas classes I e II.

É obrigatório devolver as embalagens vazias (após a tríplice lavagem das embalagens de produtos líquidos), no prazo de um ano após a compra do produto, ao posto de recebimento indicado na nota fiscal de compra, conforme legislação do MAPA (Lei 9.974 de 06/06/2000 e Decreto 4.074, de 04/01/2002).

2.3 Determinação de pesticidas empregando métodos cromatográficos

A utilização dos pesticidas em escala mundial possibilita sua detecção em vários compartimentos ambientais. Como consequência, muitos deles

podem ser encontrados em baixas concentrações necessitando que métodos analíticos, com alta sensibilidade e confiabilidade, sejam desenvolvidas para aplicação nas mais diversas matrizes.

A cromatografia é preliminarmente uma ferramenta analítica para a separação de misturas, combinada com análises qualitativas e quantitativas das substâncias separadas. É uma poderosa e muito usada técnica de separação dos componentes de uma amostra. Os componentes das amostras são distribuídos entre duas fases, uma das quais permanece estacionária, enquanto a outra elui entre os interstícios ou sobre a superfície da fase estacionária. O movimento da fase móvel resulta numa migração diferencial dos componentes da amostra. O mecanismo envolvido nesta migração diferencial vai depender do tipo da fase móvel e estacionária utilizado.

A fase móvel utilizada em HPLC deve possuir alto grau de pureza ou ser de fácil purificação, dissolver a amostra sem decompor seus componentes, não decompor ou dissolver a fase estacionária, ter baixa viscosidade e ponto de ebulição, ser compatível com o detector utilizado, ter miscibilidade completa em misturas e estar livre de oxigênio ou outros gases dissolvidos, sendo filtradas e desgaseificadas antes do uso (COLLINS, 2006).

A cromatografia quando utiliza fases estacionárias apolares tem inúmeras aplicações, tendo resolvido vários problemas, cujas soluções até então eram consideradas muito difíceis. Algumas classes de compostos facilmente separadas pela técnica de fase reversa são alcalóides, álcoois, antibióticos, compostos aromáticos, barbitúricos, pesticidas e vitaminas. Compostos fracamente iônicos (ácidos e bases) também podem ser separados usando-se esta técnica, se a dissociação for suprimida pelo uso de ácido, base ou solução-tampão, adicionado na fase móvel na escala de pH 2-8 (COLLINS, 2006).

Para prevenir problemas de contaminação da água por agrotóxicos, os países da Comunidade Européia adotam como concentração máxima admissível $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ por composto na água potável, sem no entanto, ultrapassar $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ ao considerar a soma de todos os compostos,

incluindo produtos de transformação tóxicos (EEC DRINKING WATER DIRECTIVE, 1980; CERDEIRA *et al.*, 2002). Para águas de superfície, o limite máximo permitido é da ordem de 1 a 3 $\mu\text{g L}^{-1}$ (SLOBODNÍK *et al.*, 1997).

CAPELÓ *et al.* (2007) apresentaram uma revisão dos métodos cromatográficos básicos para a determinação de pesticidas, assim como a estabilidade dos pesticidas, o tratamento das amostras por SE, SFE, SPE, MSPD, SPME e SBSE e as separações cromatográficas. Destacou que o pH, os solventes de extração e as curvas de calibração são muito importantes para a identificação e quantificação dos pesticidas.

MOREIRA *et al.* (2004) estudaram o monitoramento dos resíduos do inseticida carbofurano e seu metabólito 3-hidroxicarbofurano em amostras de água de tabuleiros de arroz irrigado, nas várzeas sistematizadas da cultura, na desembocadura e no Rio Paraíba do Sul. O inseticida e seu metabólito foram extraídos em cartuchos de octadecilsilano e analisados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com detecção por fluorescência. O nível máximo de resíduos de carbofurano encontrado foi de 20,0 $\mu\text{g L}^{-1}$. Até 49 dias após a aplicação do inseticida foram observados resíduos na faixa de 1,0 $\mu\text{g L}^{-1}$. O 3-hidroxicarbofurano não foi detectado em nenhuma das amostras analisadas. A persistência do carbofurano foi curta na água de tabuleiros.

LI *et al.* (2004) elaboraram uma revisão da persistência do carbofurano em água e areia do mar. As amostras foram coletadas em *Laysan Island* onde uma pequena área foi contaminada pelo inseticida carbofurano. A persistência do carbofurano foi investigada em um forno a 30 °C e em água destilada, e as amostras foram expostas a uma fonte de luz artificial com 300 nm e à luz do sol direta. Os estudos em laboratório mostraram que o tempo de meia-vida do carbofurano é de aproximadamente 40 dias.

BEKLOVÁ *et al.* (2003) avaliaram a toxicidade do carbofurano em organismos aquáticos e terrestres, considerando que o carbofurano é um pesticida do grupo carbamato e comumente usado como um inseticida na agricultura. Este estudo foi avaliado pelo efeito do produto comercial

Furadan 350 F contendo carbofurano na concentração de 360 g L^{-1} em organismos de diferentes ambientes aquáticos e terrestres.

GÁNDARA *et al.* (2002) estudaram a comparação da SPE e da SPME para o composto carbofurano em amostras de água analisados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência com Detecção por Arranjo de Diodos (HPLC-DAD). Ambos os métodos de extração podem ser aplicados em amostras reais e fornecem resultados adequados.

VIDAL *et al.* (1997) elaboraram uma revisão comparando a resolução dos cromatogramas e dos espectros de absorção obtidos pelo HPLC-DAD. Através do uso do HPLC-DAD a quantidade de dados das misturas de analitos é maior, pois os dados avaliados não são somente tempo de retenção e absorbância, mas também o comprimento de onda em cada região. Em geral os cromatogramas mostram o comprimento de onda de máxima absorção para maximizar a sensibilidade, porém os extratos podem ter maiores informações quando se aplica os espectrogramas de cada analito obtidos por HPLC-DAD.

NAVALÓN *et al.* (2001) desenvolveram um método de determinação de quantidades do inseticida fipronil utilizando SPME e Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (GC-MS). O método foi aplicado para checar a existência eventual de fipronil em amostras limites de água e solo em Granada, na Espanha, bem como em amostras de urina humana.

MURUGESAN *et al.* (2007) investigaram a degradação fotocatalítica do carbofurano em solução aquosa usando Degussa P-25 TiO_2 e ZnO como fotocatalise. O processo de degradação foi monitorado usando análise TOC (análise de carbono orgânico total), HPLC, GC-MS e Espectrofotômetro Ultravioleta e visível (UV-vis).

JIMÉNEZ *et al.* (2007) compararam estudos de procedimentos de preparo de amostras para determinar fipronil em pólen por GC-MS GC-ECD. O Detector por Captura de Elétrons é suficientemente sensível para determinar fipronil em concentrações a nível traço, mas recomenda-se o detector Espectrômetro de Massa para a identificação da presença de fipronil em amostras de pólen.

QUEIROZ *et al.* (2005) desenvolveram métodos de determinação dos herbicidas hexanione e tebutiuron em amostras de água. A extração foi realizada com diclorometano e a análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência acoplada à Detecção no Ultravioleta (HPLC-UV). Este método foi eficiente para a determinação dos herbicidas em amostras de água.

TOPUZ *et al.* (2005) avaliaram o método de determinação simultâneo de quatro (04) pesticidas (folpet, clorotalonil, quinometionate, tetradifone) e um (01) herbicida (trifluralina) em sucos de frutas. O método envolve a pré-concentração de 25 g de amostras de suco de frutas em cartuchos de extração em fase sólida C18. Os pesticidas foram separados e quantificados por HPLC com fase reversa e Detector de Arranjo de Diodos (DAD) a 220 nm e 260 nm. Os limites de detecção dos pesticidas investigados estavam entre 0,5 e 1,0 $\mu\text{g kg}^{-1}$ e as curvas de calibração mostraram uma linearidade maior que 0,9988. Este estudo validou o método para pastas de frutas de maçãs e pêssegos.

HUSSAIN *et al.* (2006), avaliaram a influência da temperatura, umidade e atividade microbiológica na degradação e persistência dos pesticidas carbosulfan, carbofurano, cialotrin, endosulfan e monocrotofós, com a ajuda da incubação em laboratório e estudos em solo arenoso.

RODRIGUES-CUESTA *et al.* (2005), desenvolveram e validaram um método de determinação de pesticidas em águas superficiais através de curvas de resolução multivariadas e utilizando as informações geradas pelo HPLC-DAD. Quatro dos pesticidas (vinclozolin, clorfenvinfós, tebuconazole e paration-etílico) das amostras analisadas mostraram sobreposição dos espectros, sendo difícil de quantificar. Os parâmetros das figuras de mérito (seletividade, precisão e limite de detecção) foram utilizados para a validação.

2.4 Pesticidas selecionados para este estudo

Dentre os principais pesticidas empregados na agricultura brasileira, foram escolhidos os pesticidas carbofurano e quincloraque, devido ao seu

grande emprego na cultura do arroz irrigado da região central do Rio Grande do Sul, segundo pesquisas realizadas nas casas agrícolas da região.

Os pesticidas selecionados para este estudo e recomendados para uso em arroz irrigado estão listados na Tabela 4.

Tabela 4. Pesticidas selecionados para este estudo

Ingrediente ativo	Grupo químico	IDA pc (mg kg ⁻¹)	LMR (mg kg ⁻¹)	IS (dia)
Carbofurano	metilcarbamato de benzofuranila	0,002	0,2	30
Quincloraque	ácido quinolinocarboxílico	0,38	0,05	90

Fonte: TOMLIN, 2000; GARP, 1999; USEPA, 2005

pc = peso corporal; IDA = Ingestão diária aceitável; LMR = Limite máximo de resíduos; IS = Intervalo de segurança

2.4.1 Carbofurano

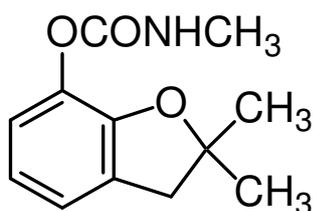


Figura 3. Fórmula estrutural do carbofurano

Nome comum: carbofurano

Grupo químico: carbamato

Nome químico (IUPAC): 2,3-dihidro-2,2-dimetilbenzofuran-7-metilcarbamato

Classe: inseticida, nematicida

Fórmula molecular: $C_{12}H_{15}NO_3$

Número no CAS: 1563-66

Massa molar: 221,3 g mol⁻¹

Classe toxicológica: I

$K_{OW} \log P = 1,52$ (20 °C)

Pressão de vapor: 0,072 mPa (20 °C)

$K_H: 4,557 \times 10^{-5}$ Pa m³ mol⁻¹

Solubilidade em água: 320 mg L⁻¹ (20 °C), 351 mg L⁻¹ (25 °C)

Intervalo de segurança: 30 dias

Nomes comerciais: Candor (Pesticides India), Curater (Bayer CropScience), Diafuran (Hokko), Furan (Agrochem), Reider (Agricultura nacional), Yaltox (Bayer CropScience).

O carbofurano é um sólido cristalino branco (ponto de fusão entre 153 e 154 °C), pouco solúvel em água. É um inseticida e nematicida, do grupo dos carbamatos, que apresenta curta persistência no ambiente e pequeno deslocamento para regiões adjacentes, sendo efetivo por contato, ingestão e por ação sistêmica. As formulações de carbofurano são aplicadas no mundo inteiro na agricultura e em 1995, mais que 20 (vinte) milhões de reais de carbofurano foram aplicados nos Estados Unidos. O uso do carbofurano tem sido assunto intensivo, não somente por ter duas possibilidades de uso, mas também por ter uma toxicidade oral muito alta.

O DL₅₀ para o carbofurano é de 11 mg kg⁻¹ de peso corporal em ratos. O paration, que é um pesticida organofosforado extremamente tóxico, tem um DL₅₀ de 8 mg kg⁻¹ (KATSUMATA *et al.*, 2005).

O carbofurano é um composto relativamente solúvel em água e é de fácil degradação no meio ambiente através da hidroxilação do anel benzofuranil, com formação do 3-hidroxicarbofurano (MOREIRA, 2004).

O limite máximo de resíduos (LMR) do carbofurano em arroz é 0,20 mg kg⁻¹ e o intervalo de segurança (IS) para o carbofurano é de 30 dias (AGROFIT, 2007).

O comportamento ambiental de um pesticida pode ser estimado pelas suas características físico-químicas e pelos seus metabólitos ou produtos de degradação formados. O principal metabólito do carbofurano é um produto

da oxidação, o 3-hidroxicarbofurano que também pode sofrer outras transformações e ser eliminado por exsudação ou sofrer conjugações. Este, por sua vez, se oxida a 3-cetocarbofurano o qual por hidrólise produz o 3-ceto-7-fenol. Os metabólitos 3-hidroxicarbofurano e o 3-cetocarbofurano têm curta persistência no solo, são formados lentamente e apresentam baixa toxicidade aguda para insetos (Figura 4).

No ambiente, a biodegradação do carbofurano é dependente da temperatura, da umidade, do pH do solo, da biomassa disponível, assim como da atividade degradativa da mesma. Aplicações periódicas de carbofurano, no mesmo solo, aumentam a atividade degradativa do composto, o que é devido ao maior crescimento de microorganismos capazes de utilizá-los como fonte de carbono e nitrogênio (ALMEIDA *et al.*, 2001).

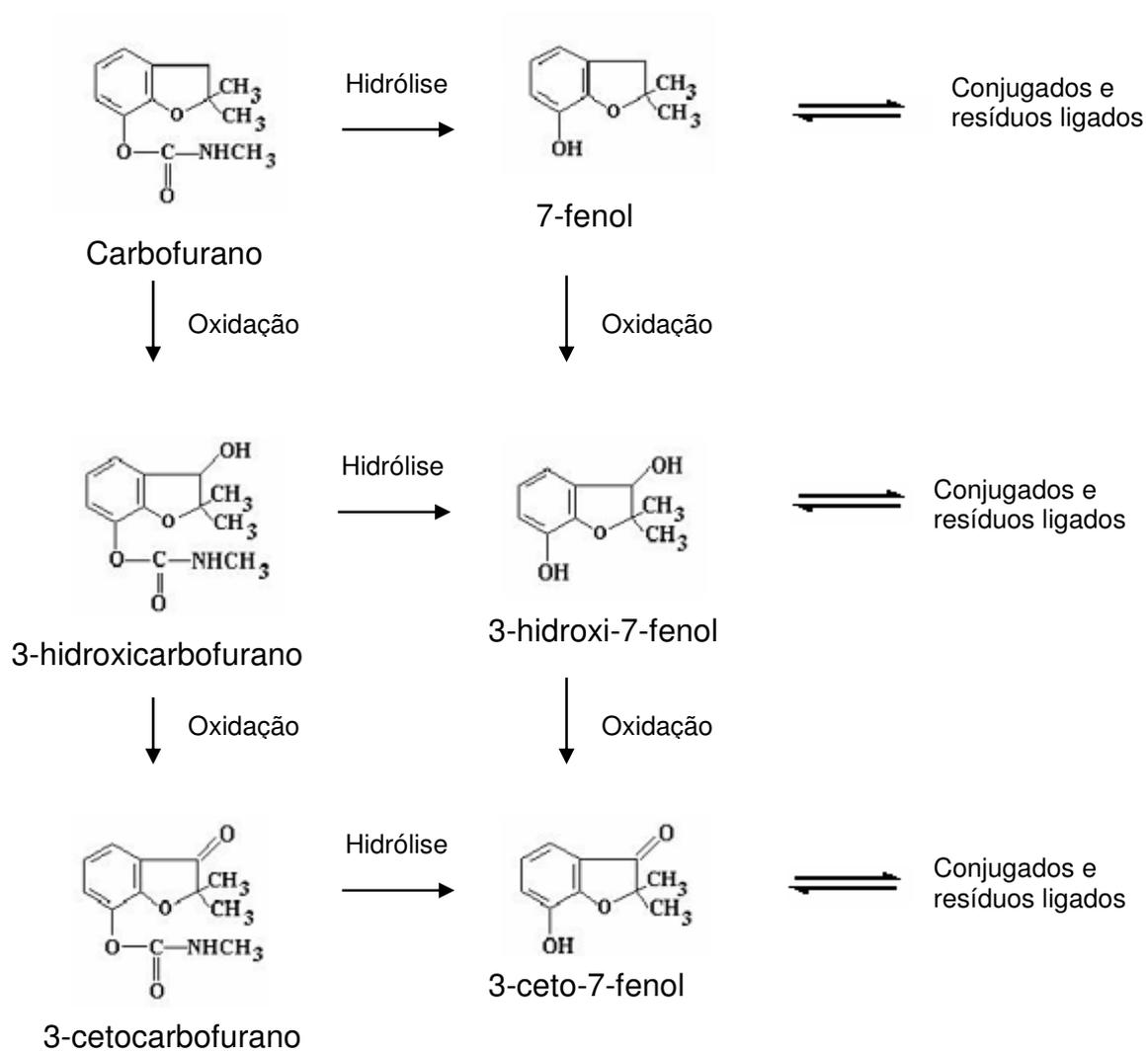


Figura 4. Degradação e metabolismo do carbofurano (adaptado de BARBOSA, 2004)

2.4.2 Quincloraque

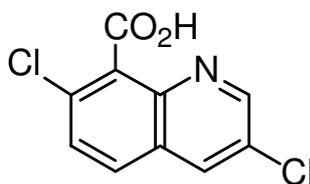


Figura 5. Fórmula estrutural do quincloraque

Nome comum: quincloraque

Grupo químico: quinolinas

Nome químico (IUPAC): 3,7-dicloroquinoline-8-ácido carbóxiquinoline

Classe: herbicida

Fórmula molecular: $C_{10}H_5Cl_2NO_2$

Número no CAS: 84087-01-4

Massa molar: $242,1 \text{ g mol}^{-1}$

Classe toxicológica: classe III

Kow: 0,07 a pH = 7

DL₅₀ oral - ratos: $> 2610 \text{ mg kg}^{-1}$

Solubilidade em água: $0,062 \text{ mg L}^{-1}$ (pH = 7, 20 °C)

Densidade: $0,5 \text{ g cm}^{-3}$

pKa: 4,34 a 20 °C

Koc: 36 cm g^{-1}

log Kow: -1,15 (pH = 7,0)

Pressão de vapor: $< 0,01 \text{ mPa}$ (20 °C)

K_H: $< 3,72 \times 10^{-2} \text{ Pa m}^3 \text{ mol}^{-1}$

Intervalo de segurança: 90 dias

Nomes comerciais: Drive (BASF), Accord (BASF), Faz-Nox (Crystal), Propacet (+propanil) (Crystal), Facet (BASF)

O quincloraque é compatível com outros herbicidas usados na cultura do arroz, como propanil, thiobencarbe e bentazona. É registrado, no Brasil, para a cultura do arroz, para o controle de plantas daninhas em pós-emergência.

2.5 Preparo de amostras para a determinação de resíduos de pesticidas em água empregando Extração em Fase Sólida (SPE)

Uma questão fundamental para assegurar a qualidade das águas que consumimos é o controle da sua qualidade, no que diz respeito aos resíduos de agrotóxicos. Como se trata de quantidades muito pequenas de contaminantes são necessárias técnicas muito sensíveis para detectar e quantificar tais produtos (EMBRAPA, 2005).

Com a intensificação do uso da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, aumentou a necessidade de melhorias nas técnicas de pré-concentração e extração dos pesticidas de interesse, visando alcançar os limites de detecção exigidos pela legislação.

Durante a implementação de métodos cromatográficos, estão associados diversas etapas prévias para preparação das amostras. Estas etapas contemplam fundamentalmente a extração e/ou enriquecimento dos analitos da matriz, mas também limpeza e/ou fracionamento, e em certos casos derivatização.

Em meados da década de 1970, foi introduzida uma técnica muito eficiente para concentração de analitos em amostras aquosas, a qual foi denominada Extração em Fase Sólida (SPE). A SPE é uma técnica de extração e pré-concentração mais freqüentemente usada para a extração e enriquecimento de pesticidas presentes em amostras aquosas (LANÇAS, 2004).

2.5.1 Extração em Fase Sólida (SPE)

A preparação da amostra é a essência de todo método analítico. Grande parte do tempo de uma análise é gasto no preparo da amostra. A necessidade de técnicas de preparo de amostras que sejam mais simples, mais rápidas e mais confiáveis, continua crescendo com o aumento da procura por limites de detecção cada vez mais baixos em matrizes complexas.

Na análise de contaminantes orgânicos tanto em amostras ambientais como em alimentos, há presença de substâncias que podem interferir na determinação de algumas classes de contaminantes. Outro fator importante é que o analito designado poderia estar presente em concentrações ao nível de traços, fazendo com que a determinação quantitativa, assim como a confirmação da identificação, se tornaria mais difícil. Também é comum que o analito de interesse não esteja presente na matriz em uma forma química apropriada para a sua determinação utilizando a técnica analítica desejada, requerendo a conversão a uma forma química possível de ser detectada.

Para superar esses problemas, deve ser aplicado um método de extração eficiente para isolar o analito de interesse da matriz, concentrar e modificar para uma forma química ideal para a análise adicional (HYOTYLAINEN, 2007).

A Extração em Fase Sólida é uma ferramenta muito empregada para a extração e/ou pré-concentração de matrizes complexas.

Emprega adsorventes recheados em cartuchos de polipropileno contendo cerca de 50 a 500 mg de adsorvente, com 46-60 μm de tamanho de partículas, fixado no tubo através de dois filtros (Figura 6). Na SPE a solução contendo o analito de interesse é colocada no topo de um cartucho e aspirada com pequeno vácuo, percolando no cartucho. Depois de drenada toda a fase líquida, o analito retido no cartucho é eluído com um pequeno volume de solvente, que é injetado no cromatógrafo (LANÇAS, 2004).

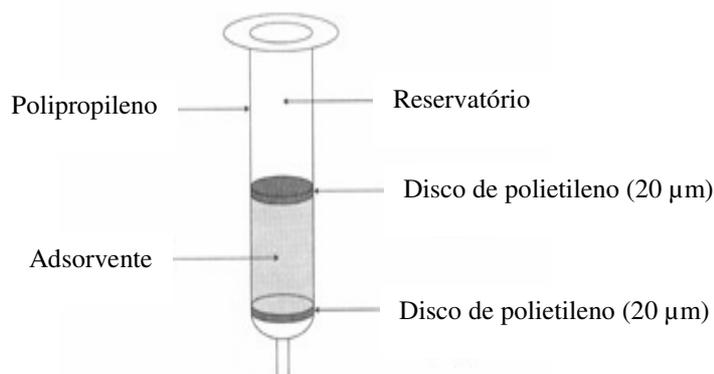


Figura 6. Modelo do cartucho SPE

A SPE apresenta aceitação como uma ferramenta poderosa na extração e enriquecimento de traços de pesticidas em soluções muito diluídas como a de água de superfície, para obter concentração suficiente do analito para detecção (CAPELÓ *et al.*, 2007).

2.5.2 Modos de operação na Extração em Fase Sólida (SPE)

Dentre os principais modos de operação em SPE, destacam-se:

- **Concentração dos analitos de interesse:** os compostos de interesse estão em concentrações muito baixas para permitir uma concentração exata e precisa. A concentração em SPE permite o enriquecimento de analitos sem a concentração de interferências. Um grande volume de amostra é passado pelo cartucho a fim de concentrar os analitos de interesse na fase estacionária contida no cartucho.

- **Isolamento do analito de interesse (*clean up*):** um grande volume de amostra é percolado pelo cartucho e os analitos de interesse são isolados dos interferentes da matriz.

2.5.3 Etapas envolvidas na Extração em Fase Sólida (SPE)

As principais etapas envolvidas na Extração em Fase Sólida podem sofrer algumas variações, dependendo do modo de operação (LANÇAS, 2004).

- **Condicionamento do cartucho:** esta etapa destina-se a ativar o material que está dentro do cartucho. A escolha do solvente depende da fase estacionária do cartucho.

- **Percolação da amostra:** a adição da amostra no cartucho geralmente é feita por meio de vácuo, de maneira lenta, com vazão inferior a $2,0 \text{ mL min}^{-1}$. A substância a ser analisada concentra-se no adsorvente e os componentes interferentes escoarão através do cartucho de extração para o resíduo.

- **Remoção dos interferentes:** é uma etapa de lavagem com solvente, a fim de eliminar os interferentes com um solvente que não possua força suficiente para eliminar os analitos de interesse retidos no cartucho.

- **Eluição dos analitos de interesse:** A eluição dos analitos de interesse é realizada por meio de uma pequena quantidade de solvente (HYOTYLAINEN, 2007). Este solvente deve eluir os analitos e fazer com que as impurezas retidas na fase estacionária permaneçam no cartucho.

A Figura 7 ilustra as etapas envolvidas na SPE.

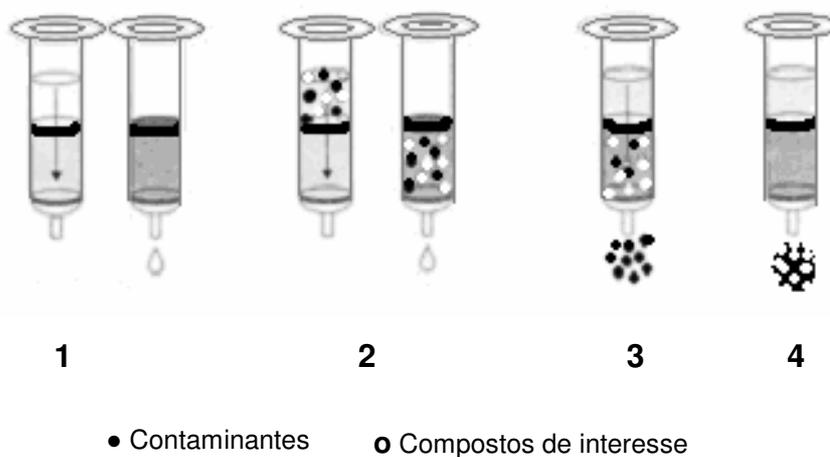


Figura 7. Etapas envolvidas na SPE (1: condicionamento, 2: percolação da amostra, 3: lavagem e 4: eluição)

A SPE tem crescente popularidade devido ao uso de uma variedade de adsorventes sólidos como resinas poliméricas, polímeros como C8 e C18 e grupos amino ou ciano ligados ao suporte de sílica ou do carbono grafitizado ou alumina (ANDREU *et al.*, 2004).

O adsorvente mais comumente utilizado para determinação de resíduos de pesticidas na extração em fase sólida, é do grupo octadecil, denominado C18, ligado à sílica. A pré-concentração dos analitos se dá pelo mecanismo de retenção denominado partição, devido às interações apolares entre as ligações C-H do grupo C18 e C-H do analito.

Na extração em fase sólida empregando fase reversa, a fase móvel apresentará maior polaridade do que a fase sólida e reterá os analitos menos polares presentes em solventes polares. Posteriormente, esses analitos retidos na fase sólida serão eluídos com um solvente pouco polar. Uma vez que o aumento do tamanho da cadeia carbônica aumenta o caráter apolar da fase, em muitos casos o uso de fases do tipo octadecil poderá acarretar retenção dos analitos apolares maior que a desejada (LANÇAS, 2004).

2.6 Métodos cromatográficos de determinação dos pesticidas selecionados para este estudo

Para executar o monitoramento e avaliação de resíduos de pesticidas em amostras ambientais, como, por exemplo, água, é necessário definir métodos de preparo e análise das amostras, adequadas para os baixos níveis de resíduos impostos pela legislação.

Os limites para alto padrão de pureza da água potável, exigidos pelas agências regulamentadoras, requerem o desenvolvimento de métodos analíticos de sensibilidade, exatidão e precisão elevados, que permitam uma determinação quantitativa de pesticidas compatíveis com os níveis de exigência (RIBANI *et al.*, 2004).

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC) é uma técnica aplicada na análise de rotina em muitas áreas, como por exemplo: farmacêutica, biológica, ambiental e análise de alimentos. Na maioria dos casos é muito eficiente para a determinação dos compostos de interesse. A aplicação de diferentes tipos de detectores, como o Arranjo de Diodos (DAD) ou Espectrômetro de Massa (MS) auxilia na identificação e quantificação dos compostos (POPPI *et al.*, 2007).

PRIMEL (2003) desenvolveu e validou uma metodologia analítica para a determinação dos herbicidas quincloraque, clomazone, bentazone, 2,4-D e propanil em águas de superfície empregando SPE e HPLC-UV. O método foi aplicado para análises de água de irrigação da lavoura de arroz, que

continha resíduos dos pesticidas, em região central do estado do Rio Grande do Sul. Os limites de detecção e de quantificação obtidos permitiram analisar amostras de água com concentrações de até $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ de quincloraque e bentazone e de até $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ de 2,4-D, clomazone e propanil.

HIDALGO *et al.* (1997) utilizaram HPLC-UV e com coluna C18, para determinar pesticidas em amostras de água de superfície. Os limites de detecção (LOD) entre $0,02$ e $0,05 \mu\text{g L}^{-1}$ foram obtidos após pré-concentração SPE.

BARCELÓ *et al.* (1998) desenvolveram um método baseado em SPE-HPLC-DAD para determinar pesticidas em amostras aquosas contendo várias amostras de substâncias húmicas, onde foi avaliada a influência dessas substâncias na recuperação dos pesticidas tanto em meio ácido como em meio neutro. O método foi aplicado às amostras de água de rios, e o limite de detecção obtido para a amostra contendo $10,0 \text{ mg L}^{-1}$ de ácido húmico foi entre $0,05$ e $0,3 \mu\text{g L}^{-1}$.

ZANELLA *et al.* (2003) desenvolveram e validaram um método analítico baseado em SPE e HPLC-UV para determinar herbicidas em diferentes matrizes aquosas.

2.7 Validação de métodos cromatográficos de análises

Após definidas as condições cromatográficas da análise, torna-se necessário validar o método analítico, que envolve o processo de avaliação estimando sua eficiência no laboratório. Este processo é denominado de validação.

RIBANI *et al.* (2004) apresentou uma revisão sobre validação de um método analítico contendo as características principais de um bom desempenho do processo de validação, como por exemplo: especificidade, exatidão, precisão, limite de detecção, limite de quantificação, linearidade e robustez. Considerou que a validação é um processo dinâmico e constante que começa nas fases de seleção, desenvolvimento e otimização do método e na qualificação dos instrumentos, materiais e pessoal, e continua na fase

de experimentos e transferência do método. Um processo de validação bem definido e documentado fornece evidência objetiva de que o sistema e o método são adequados ao uso pretendido.

Validação é o ato ou efeito de validar, dar validade, tornar válido, legítimo ou legal. Visa diminuir ou controlar os fatores que levam à imprecisão ou inexatidão de um dado gerado. Os instrumentos e métodos analíticos devem ser validados antes do uso de rotina, após manutenção e em intervalos de tempos regulares (LANÇAS, 2004).

A validação de um método analítico define a eficiência, credibilidade, precisão e exatidão do método analítico, e é parte exigida em um método analítico, pois demonstra que o método é adequado ao uso pretendido. A validação também é parte integrante de qualquer documentação submetida às agências governamentais de regulamentação da Comunidade Européia, Japão, EUA e outros países, quando se pretende obter o registro de métodos usados para a quantificação de produtos.

É essencial para definir se os métodos desenvolvidos estão completamente adequados aos objetivos a que se destinam, a fim de se obter resultados confiáveis que possam ser satisfatoriamente interpretados. Dessa forma, possibilita o conhecimento das limitações e da confiabilidade nas medidas realizadas na análise.

2.7.1 Curva analítica e linearidade

A curva analítica pode ser construída preparando-se as soluções analíticas padrões dos pesticidas, em solvente ou extrato da matriz. A curva preparada com solvente relaciona o sinal do instrumento com a quantidade do analito, sem considerar as interferências da matriz.

Para a maioria das técnicas analíticas cromatográficas, uma relação linear (de primeira ordem) é observada entre a resposta do detector (y) e as várias concentrações (x) preparadas do padrão analítico do composto de interesse no estudo.

A curva analítica deve apresentar os dados estatísticos de intersecção, da equação de regressão linear, o coeficiente de correlação (r) ou de determinação (r^2). É necessário o uso de um número suficiente de soluções analíticas para definir adequadamente a relação entre a concentração e a resposta. A equação da reta pode ser descrita pela regressão linear conforme a Equação (2):

$$y = ax + b \quad (2)$$

em que:

y = variável dependente

x = variável independente

a = é a inclinação do gráfico em relação aos eixos, coeficiente angular

b = é a intersecção com o eixo y , coeficiente linear.

A linearidade refere-se à capacidade do método de gerar resultados linearmente proporcionais à concentração do analito, enquadrados na faixa analítica específica. Este parâmetro pode ser demonstrado pelo coeficiente de determinação (r^2) do gráfico analítico.

2.7.2 Exatidão

A exatidão expressa a concordância entre o valor encontrado e o valor aceito como verdadeiro ou aceito como referência (LANÇAS, 2004).

Geralmente a exatidão é determinada pelo uso de uma amostra certificada, cuja concentração do analito de interesse é conhecida, constituindo um ponto muito importante na validação.

Conforme a ANVISA, na Portaria n° 724 de maio de 2003, a exatidão do método deve ser determinada após o estabelecimento da linearidade, limite de detecção e da especificidade do mesmo, sendo verificada através de, no mínimo, 9 (nove) determinações contemplando o limite de detecção

do método, ou seja, 3 (três) concentrações com 3 (três) réplicas cada. Os ensaios devem ser realizados num mesmo dia e em dias diferentes.

A exatidão pode ser calculada pela Equação (1):

$$\text{Exatidão (\%)} = \frac{\text{valor real} - \text{valor obtido}}{\text{valor real}} \times 100 \quad (1)$$

2.7.3 Precisão

A precisão é a expressão da concordância entre vários resultados analíticos obtidos para uma mesma amostra (LANÇAS, 2004).

A precisão pode ser determinada através da repetitividade, precisão intermediária e reprodutibilidade, e avalia a proximidade entre várias medidas efetuadas na mesma amostra. A precisão do método analítico fornece informações da semelhança dos resultados obtidos, ou seja, mede a capacidade de repetir, reproduzir, o método analítico.

Em cromatografia a precisão pode ser determinada por meio da injeção de padrões analíticos certificados.

2.7.3.1 Repetitividade

A repetitividade expressa a fidelidade obtida nas mesmas condições operacionais (mesmo analista, mesmo equipamento, etc) aplicadas em um curto intervalo de tempo (LANÇAS, 2004).

Os fatores mais importantes para identificar a repetitividade de um método analítico são: tempo de retenção e a área ou altura do pico do composto. O tempo de retenção de cada composto confirma a identidade do composto e a área ou altura são parâmetros necessários pra a quantificação do analito de interesse.

No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), no uso de sua atribuição que lhe confere a Portaria nº 724 de maio de 2003, sugere que a repetitividade seja verificada através de um mínimo de 9 (nove) determinações cobrindo o limite especificado do método (ex: três níveis, nas concentrações baixa, média e alta e três repetições cada um dos níveis), ou a partir de um mínimo de seis determinações a uma concentração similar ao valor esperado (RIBANI *et al.*, 2004).

2.7.3.2 Reprodutibilidade

A reprodutibilidade designa a fidelidade entre laboratórios, geralmente obtida em análises colaborativas (LANÇAS, 2004).

A reprodutibilidade tem como principal função identificar se o método pode ser transferido para outro laboratório.

2.7.4 Limite de Detecção e Limite de Quantificação

O limite de detecção (LOD) corresponde à menor concentração de um analito que pode ser detectada sob condições experimentais estabelecidas, porém, não é necessariamente quantificada como um valor exato (LANÇAS, 2004). O limite de detecção, na prática, é determinado pela menor concentração de analito que pode ser detectada, diferenciando do ruído do sistema e pode ser determinado pela concentração do analito que gera um sinal 3 vezes maior que o sinal do ruído.

O limite de quantificação (LOQ) é definido como a menor concentração de um analito que pode ser quantificada na amostra, com exatidão e com precisão aceitáveis (BRITO, 2003). O limite de quantificação pode ser também definido em relação ao ruído, sendo 10 vezes maior o sinal ruído.

De acordo com os métodos estatísticos utilizados para análise de resíduos de pesticidas, o LOQ corresponde ao menor nível de fortificação

estudado. A recuperação pode variar entre 70 e 120%, com coeficiente de variação de até 20% (RIBANI *et al.*, 2004).

2.7.5 Sensibilidade

A sensibilidade de um método analítico indica sua capacidade de discriminar, com uma fidelidade estabelecida, concentrações próximas de um analito (LANÇAS, 2004).

A sensibilidade pode ser determinada pela inclinação da curva de calibração. No caso de uma reta, quanto maior for o ângulo de inclinação da reta, mais sensível será o método. Em métodos sensíveis, uma pequena diferença de concentração do analito causa grande variação no valor do sinal analítico medido.

2.7.6 Seletividade

A seletividade corresponde à capacidade de um método em determinar o analito de maneira inequívoca na presença de outras substâncias susceptíveis de interferirem na determinação analítica (LANÇAS, 2004).

A seletividade é um parâmetro de grande importância na análise de amostras complexas. No caso de multirresíduos, devem-se analisar várias alíquotas diferentes da mesma matriz de forma a determinar os componentes da matriz.

2.7.7 Recuperação

O ensaio de recuperação constitui o método mais utilizado para a validação de métodos cromatográficos.

Recuperação é a medida da eficiência do processo de isolamento do analito de interesse da matriz na qual se encontra presente (LANÇAS, 2004).

A recuperação está relacionada com a exatidão, pois é dependente da concentração, refletindo a quantidade de determinado analito recuperado no processo, por isso deve ser avaliada na faixa de concentração esperada para a amostra.

O estudo da recuperação consiste na fortificação da amostra, ou seja, adição de uma solução analítica com diferentes concentrações do analito de interesse, seguida pela determinação da concentração do analito adicionado.

A recuperação (R) é determinada pela relação expressa na Equação (3):

$$R (\%) = \frac{\text{massa obtida}}{\text{massa real}} \times 100 \quad (3)$$

O processo de fortificação tenta simular condições reais, não interferindo significativamente nas interações que ocorrem na própria amostra (RIBANI *et al.*, 2004).

2.7.8 Robustez

A robustez é uma medida da capacidade de um método de não sofrer alterações em decorrência de pequenas variações, deliberadamente introduzidas nos parâmetros do método (LANÇAS, 2004).

Para um procedimento completo de validação, a robustez deve ser incluída durante a fase de desenvolvimento e depende do tipo de processo em estudo, porque mede a confiabilidade do método analítico, assim como a capacidade de permanecer inalterado sob pequenas variações nos parâmetros do método.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Instrumentação

Cromatógrafo a Líquido Varian (Palo Alto, CA, USA), composto por bomba modelo 9010 com sistema de eluição gradiente, Detector por Arranjo de Diodos (DAD) Pro Star 335, sistema de aquisição de dados Star Workstation 6.0, coluna analítica Gemini 5 μ C18 (250 \times 4,6 mm de d.i.; 4 μ m) e pré-coluna do mesmo material (4 \times 3 mm), ambas contendo sílica modificada com octadecilsilano, (Phenomenex, Torrance, CA, USA);

Bomba à vácuo Tecnal TE-058 (Piracicaba, SP, Brasil);

Sistema de manifold SPE Varian (Palo Alto, CA, USA) para a pré-concentração simultânea de 20 amostras;

pHmetro modelo pH 500 Series Cole Parmer equipado com eletrodo de vidro combinado (Vernon Hills, Illinois, EUA);

Ultra-som Bandelin Sonorex RK 510 (Morfelden-Walldorf, Alemanha);

Balança analítica de precisão modelo AG 245 (Mettler Toledo, Greifensee, Suíça);

Micropipetadores automáticos com capacidade variável (Brand, Alemanha e Eppendorf, Canadá);

Sistema de purificação de água Milli-Q Direct UV3 (Millipore, Bedford, MA, USA).

3.2 Reagentes, solventes e materiais utilizados

Água purificada em sistema Milli-Q (resistividade de 18,2 M Ω cm);

Metanol grau HPLC (Mallinckrodt, NJ, USA);

Acetona grau HPLC (Mallinckrodt, NJ, USA);

Acetonitrila grau HPLC (Mallinckrodt, NJ, USA);

Hexano grau HPLC (Mallinckrodt, NJ, USA);

Ácido fosfórico p.a. 85% (Merck, Brasil);

Água destilada e água deionizada;
 Extran neutro e Extran alcalino (Merck, Brasil);
 Cartuchos para SPE Strata C18 500 mg / 3,0 mL;
 Álcool etílico hidratado 92,8 °GL

3.3 Preparo dos padrões analíticos utilizados

Preparou-se, individualmente, 10,0 mL da solução estoque 1000,0 mg L⁻¹ de cada pesticida, em metanol grau HPLC (quincloraque, carbofurano e 3-hidroxicarbofurano) partindo da dissolução do padrão sólido de referência, armazenado em frasco âmbar e estocado à -18 °C. Efetuou-se a correção das pesagens, considerando a pureza dos padrões, conforme recomendado na literatura (GARP, 1999).

As informações dos padrões analíticos utilizados estão listadas na Tabela 5.

Tabela 5. Informações dos padrões sólidos

Princípio ativo	Pureza (%)	Fornecedor	Lote	Validade
Carbofurano	99,5	Dr. Ehrenstorfer	20312	03/2008
Quincloraque	97,6	Dr. Ehrenstorfer	30321	03/2009
3-hidroxicarbofurano	97,5	Dr. Ehrenstorfer	1030	12/2006

A partir das soluções estoques prepararam-se soluções analíticas de concentrações 100,0 mg L⁻¹, em metanol, de cada princípio ativo. Posteriormente prepararam-se as soluções analíticas utilizadas para as análises cromatográficas.

A partir da solução analítica de 100,0 e de 10,0 mg L⁻¹, prepararam-se as diluições de cada composto nas concentrações de 1,0; 2,5; 5,0; 7,5, 10,0 mg L⁻¹ e 0,05; 0,1; 0,25; 0,5 mg L⁻¹, respectivamente. Estas soluções foram

empregadas para a obtenção da curva analítica. Todas as soluções analíticas foram preparadas em metanol grau HPLC.

3.4 Otimização do sistema HPLC-DAD

A solubilidade do carbofurano e do quincloraque em sistemas polares de fase orgânica-aquosa definiu a utilização do método cromatográfico de fase reversa, desenvolvido por HPLC, no qual analitos de característica pouco polares são analisados.

Para a otimização das condições cromatográficas foram injetadas, individualmente, as soluções analíticas dos pesticidas selecionados para este estudo, observando-se o tempo de retenção e o espectro de absorção molecular de cada composto fornecido pelo detector DAD. Algumas variáveis experimentais foram avaliadas, como por exemplo: composição e vazão da fase móvel e comprimento de onda de máxima adsorção de cada pesticida.

3.4.1 Preparo e escolha da fase móvel

Devido às características polares da maioria dos pesticidas, é necessária a acidificação da fase móvel e da amostra, a fim de garantir uma maior interação dos pesticidas com a fase estacionária. Em HPLC de fase reversa, quanto mais hidrofóbico o analito, mais ele é retido. Quando o analito se torna ionizado, fica menos hidrofóbico, e sua retenção diminui (KURZ, 2007).

A fase móvel foi preparada medindo-se quantidades de volumes de metanol grau HPLC e de água Milli-Q, acidificada com solução aquosa de ácido fosfórico (1:1, v/v) e desaerada em banho de ultra-som durante 15 minutos, à temperatura ambiente.

Para a análise por HPLC-DAD dos pesticidas carbofurano e quincloraque testou-se a fase móvel metanol / água (65:35; v/v), acidificada

a pH 3,0. Para a análise da mistura dos pesticidas, testou-se também a fase móvel metanol / água (50:50; v/v) e a fase móvel acetonitrila / água (40:60; v/v), ambas acidificadas a pH 3,0.

Dessa forma o pH da fase móvel foi ajustada a pH 3,0 com solução aquosa de ácido fosfórico (1:1, v/v) para garantir uma adsorção reprodutível dos analitos na fase sólida e uma menor retenção dos compostos interferentes na mesma, permitindo assim que os sítios ativos da C18 retessem com maior seletividade os analitos.

3.4.2 Escolha da vazão da fase móvel

A bomba deve proporcionar ao sistema vazão contínua com alta reprodutibilidade, possibilitando a eluição de fase móvel a uma vazão adequada. A escolha da vazão da fase móvel foi baseada na separação cromatográfica das soluções padrões, testando-se as vazões de 0,5 e 0,8 mL min⁻¹.

3.4.3 Escolha do comprimento de onda de máxima absorção

Para a escolha do comprimento de onda de máxima absorção de cada pesticida, injetou-se no HPLC-DAD a solução padrão individual contendo 10,0 mg L⁻¹ de cada pesticida e a partir do espectro de absorção molecular entre 200 e 400 nm determinou-se o comprimento de onda de máxima absorção dos pesticidas.

3.5 Otimização do sistema SPE

No sistema comercial utiliza-se um dispositivo manifold, que é um sistema formado por uma caixa de vácuo (Figura 8), com espaço simultâneo para 20 cartuchos SPE. Este sistema é muito conveniente para análise de

rotina, já que várias amostras são extraídas ao mesmo tempo. As amostras, colocadas em balões volumétricos, são transferidas para os cartuchos SPE através de tubulações de politetrafluoretileno (PTFE). A transferência ocorre por sucção em função do vácuo, controlado para cada cartucho através das torneiras e válvulas, que é aplicado no sistema. Adotou-se uma vazão da ordem de $5,0 \text{ mL min}^{-1}$ para a pré-concentração das amostras.

Para a etapa de otimização do sistema SPE utilizou-se amostras de água Milli-Q.



Figura 8. Foto do sistema SPE utilizado na pré-concentração das amostras de água

3.5.1 Escolha do formato do cartucho

A instrumentação básica empregada em extração em fase sólida é extremamente simples, podendo ser sofisticada dependendo do problema a ser resolvido e do grau de automação desejado.

A forma manual emprega cartuchos a serem eluídos individualmente sob vácuo. A escolha do cartucho está baseada no tamanho e formato de cada tipo de cartucho, que influencia na vazão durante a etapa de pré-

concentração. O formato mais popular em SPE é o cartucho com o corpo de polipropileno, no qual o material de empacotamento fica retido entre dois discos de polietileno (LANÇAS, 2004).

3.5.2 Escolha do adsorvente

Para a escolha do adsorvente que recheia o cartucho, necessitamos considerar as informações do analito de interesse e a natureza da matriz, bem como as suas capacidades de interação.

Nos cartuchos SPE, o material adsorvente utilizado foi Strata C18 contendo 500 mg do adsorvente (tamanho médio das partículas de 55 μm e tamanho médio dos poros 70 Å) em tubos de 3 mL, adquiridos pela firma Phenomenex.

3.5.3 Escolha do solvente de condicionamento do cartucho

O condicionamento dos cartuchos tem a função de ativar o material adsorvente existente dentro do cartucho. O solvente a ser utilizado dependerá do material contido no cartucho. Um dos fatores mais importantes nesta etapa, para obter boa reprodutibilidade na extração, é não deixar que todo o solvente seja eliminado. Dependendo do material utilizado como fase móvel, a secagem do cartucho pode criar vários problemas, dentre os quais a formação de caminhos preferenciais, comprometendo a separação.

3.5.4 Escolha do solvente de eluição dos analitos de interesse

O solvente de eluição deve eluir de forma eficiente os analitos de interesse e permitir que os interferentes contidos na amostra permaneçam retidos no cartucho. O ideal é eluir os analitos de interesse em um pequeno

volume de eluente, de forma que os analitos estejam em uma concentração adequada para ser injetada no cromatógrafo.

A escolha do solvente de eluição depende da polaridade relativa do solvente e da sua capacidade em remover os analitos da fase sólida adsorvente. Para adsorventes menos polares como o C18 e C8, o solvente de eluição precisa ter características bem polares, como por exemplo, o metanol, a acetonitrila e o acetato de etila.

3.6 Validação do método para amostras aquosas

Definidas as melhores condições de separação para os pesticidas estudados, a composição da fase móvel e o comprimento de onda, o passo seguinte foi a validação do método analítico.

O processo de validação tem o objetivo de explicitar a repetitividade e a precisão intermediária de um método, pela interpretação dos parâmetros que definem a exatidão e a precisão do mesmo quando executado sob condições controladas (RIBANI *et al.*, 2004).

Para a etapa de validação do método, utilizou-se amostras de água potável, coletadas em uma torneira de uma região supostamente livre da contaminação por pesticidas, no Campus da UFSM. Foram realizadas extrações utilizando-se essas amostras para avaliar a presença de interferentes, analisando-se por HPLC-DAD.

Os parâmetros utilizados para a validação serão descritos a seguir.

3.6.1 Curva analítica e linearidade

A linearidade corresponde à capacidade do método em fornecer resultados diretamente proporcionais à concentração da substância dentro de uma determinada variação. Está normalmente relacionada com a variação da inclinação da linha de regressão e é determinada através da curva analítica do princípio ativo (VIEIRA & LIGHITIG, 2004).

A região de linearidade é uma faixa de concentração dentro da qual a resposta do sistema de quantificação é uma função linear da concentração. Como forma geral, não se devem quantificar amostras cuja concentração do analito esteja abaixo dos limites de detecção e quantificação que foram determinados experimentalmente durante o estudo do método.

Recomenda-se utilizar, no mínimo, 5 (cinco) concentrações diferentes para a construção da curva analítica. Quando houver linearidade, os resultados devem ser analisados por métodos estatísticos apropriados, como por exemplo, o cálculo da regressão linear pelo método dos mínimos quadrados. (ANVISA, Portaria n° 724 de março de 2002).

As curvas analíticas foram obtidas colocando-se os valores das concentrações das soluções no eixo das abscissas (x) e os valores das áreas no eixo das ordenadas (y), com o auxílio do programa Statgraphics® Plus 5.1, o qual forneceu o coeficiente de determinação (r^2), o coeficiente angular (a) e o coeficiente linear (b) da curva analítica.

O Statgraphics® Plus 5.1 é um programa designado a ajudar na interpretação dos resultados de procedimentos estatísticos. Indica qual dos resultados obtidos poderá prejudicar os dados do método. Utiliza todos os valores de área e concentração obtidos para a construção da curva analítica, diminuindo assim a probabilidade de erros comparado com o software Microsoft® Excel 98, o qual utiliza as médias de todos os valores de áreas obtidos.

Dessa forma, a linearidade do método foi avaliada pela análise de soluções analíticas na faixa de 0,5 a 10,0 mg L⁻¹ para o carbofurano e 0,05 a 10,0 mg L⁻¹ para o quincloraque.

3.6.2 Limite de detecção e limite de quantificação

O limite de detecção é definido como a concentração do analito, que resulta um sinal três vezes maior que o ruído da linha base, nas proximidades do sinal do analito ($LOD = 3S/R$).

O limite de quantificação é a concentração do analito que resulta um sinal dez vezes maior que o ruído da linha base (LOQ = 10S/R). A Figura 9 representa a forma de estabelecimento dos valores de LOD e LOQ para este estudo. Para a medida do sinal foi utilizada a altura do pico, contabilizada a partir da média da oscilação do ruído.

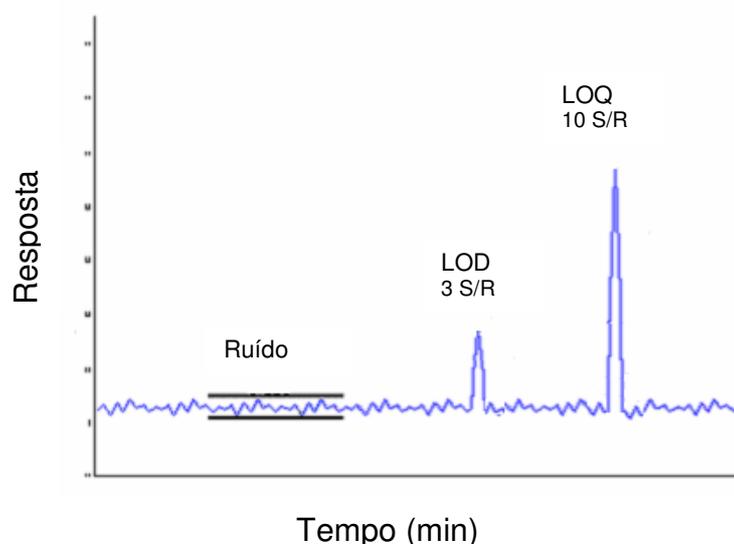


Figura 9. Diagrama demonstrando como foram estabelecidos os valores de LOD e LOQ neste estudo (R: ruído; S: sinal)

3.6.3 Precisão

A precisão do instrumento (repetitividade ou desvio padrão relativo) foi estudada efetuando-se 6 (seis) injeções de cada concentração das soluções analíticas do carbofurano (0,5; 1,0; 2,5; 5,0; 7,5 e 10,0 mg L⁻¹) e do quincloraque (0,05; 0,1; 0,25; 0,5; 1,0; 2,5; 5,0; 7,5 e 10,0 mg L⁻¹), no sistema HPLC-DAD. A precisão do método analítico foi avaliada através da extração e análise no HPLC-DAD das amostras fortificadas conforme item 3.6.4. Cada um dos 3 (três) níveis de fortificação foi extraído 6 (seis) vezes e cada um dos extratos foi injetado 3 (três) vezes.

A precisão intermediária indica o grau de concordância dos resultados de testes obtidos para avaliar a precisão sobre uma mesma amostra ou padrões, utilizando o mesmo método, o mesmo laboratório ou laboratórios diferentes, no mesmo dia ou em dias diferentes, analistas iguais ou diferentes.

Na escolha de uma destas condições a variar, para avaliar a precisão intermediária, utilizaram-se dias diferentes para injeção dos padrões de carbofurano e quincloraque, assim como injeção das amostras fortificadas.

A precisão normalmente é expressa através do desvio padrão relativo (RSD) em um número significativo de amostras (RIBANI *et al.*, 2004).

O valor numérico usado para avaliar a precisão, RSD, pode ser calculado através da Equação (4) (GARP, 1999).

$$\text{RSD (\%)} = \frac{s}{X_m} \times 100 \quad (4)$$

onde:

s = estimativa de desvio padrão absoluto

$$s = \left\{ \sum (x_i - x_m)^2 / N - 1 \right\}^{1/2}$$

x_i = valores individuais

x_m = média das medidas em replicatas

N = número de medidas

3.6.4 Recuperação

Em teste de recuperação faz-se a adição do componente de interesse à matriz, seguida da execução do método que está sendo avaliado.

A exatidão do método foi avaliada através da fortificação de 6 (seis) amostras branco em 3 (três) níveis diferentes, totalizando 18 análises de recuperação para os princípios ativos. A recuperação dos pesticidas foi avaliada nos níveis de 1, 2 e 10 vezes o LOQ do método.

Nos ensaios de recuperação, fortificaram-se amostras de água potável, coletada em uma torneira, livre da contaminação de pesticidas, com uma quantidade conhecida da mistura da solução analítica dos pesticidas em estudo. A adição da solução padrão em cada nível de fortificação, foi realizada em um volume de 1,5 L e retirou-se alíquotas de 250 mL para pré-concentrar por SPE.

Os valores de massa obtidos após a SPE e análise por HPLC-DAD foram denominados de “massa obtida”, e a “massa real” foi aquele valor adicionado na fortificação, conforme descrito no item 2.7.7.

3.7 Aplicação do método desenvolvido em água de lavoura de arroz irrigado

Os métodos desenvolvidos neste estudo foram aplicados na avaliação da estabilidade dos pesticidas carbofurano e quincloraque, em água de lavoura de arroz irrigado de um experimento de campo localizado no Campus da Universidade Federal de Santa Maria. O estudo foi realizado nos anos agrícolas 2006/2007.

Foram estabelecidas unidades experimentais de 73,7 m² (9,7 x 7,6 m), com 3 (três) repetições para cada pesticida, nas quais se aplicaram, com um pulverizador Costal propelido com CO₂ e vazão de 150 L ha⁻¹, os princípios ativos no estágio de início do perfilhamento do arroz sob lâmina de água de 10 cm de altura. Utilizou-se o sistema convencional de plantio, com semeadura no dia 24/10/2006. A umidade do solo é fundamental neste sistema de preparo, já que quando em excesso, as operações realizadas poderão causar danos à estrutura do solo e, em condições de solo muito seco, o número de operações aumentará. A temperatura ambiente no dia da semeadura estava 23 °C e a umidade do ar 79%.

Seguindo as Boas Práticas Agrícolas (RODRIGUES & ALMEIDA, 1998), que são práticas para reduzir o risco do agrotóxico ser transportado pela água e atingir o lençol freático, foram aplicadas as doses recomendadas de pesticidas para a cultura de arroz irrigado. Empregaram-

se os seguintes produtos comerciais com as respectivas dosagens dos princípios ativos: Diafuran[®] 0,4 kg de carbofurano ha⁻¹, Facet[®] PM 0,375 kg de quincloraque ha⁻¹, conforme descrito no item 3.7.1.

A aplicação dos pesticidas foi efetuada no dia 28/11/2006.

As coletas das amostras de água foram realizadas na superfície da camada de água para evitar a amostragem excessiva do material sólido presente no fundo da lâmina de água.

3.7.1 Determinação dos pesticidas por SPE e HPLC-DAD

As amostras coletadas foram pré-concentradas por SPE. Inicialmente o sistema é condicionado passando-se 3 mL de metanol; 3 mL de água de Milli-Q e 3 mL de água de Milli-Q pH 3,0. A solução (250 mL de água com pH ajustado em 3,0 utilizando uma solução aquosa de ácido fosfórico (1:1, v/v), previamente filtrada em sistema de filtração com membranas de nylon de 47 mm de diâmetro e porosidade de 0,45 µm) contendo os analitos de interesse é percolada através do adsorvente à uma vazão de 5,0 mL min⁻¹, sob vácuo de 20 mmHg. Após pré-concentração passou-se 3,0 mL de água de Milli-Q (vácuo por 2 min) para minimizar substâncias interferentes solúveis na mesma. Esta etapa melhora a extração mais homogênea e diminuindo as interferências no sistema HPLC-DAD. Fez-se vácuo por mais 10 min. Na seqüência, fez-se a eluição do analito retido no adsorvente C18 utilizando-se 1,0 mL de metanol puro e, após isto, aplicou-se vácuo por 10 min. Recolheu-se a solução eluída para analisar por HPLC-DAD nas condições cromatográficas otimizadas, conforme descrito na Tabela 6.

3.7.2 Estudo da estabilidade dos pesticidas em lavouras de arroz irrigado

O método validado foi aplicado à análise de amostras de água de lavoura de arroz, coletadas do experimento conduzido na várzea

experimental localizado no Campus da Universidade Federal de Santa Maria.

A área experimental estudada foi dividida em 6 (seis) canteiros (C). Nos canteiros C1, C2 e C3 aplicou-se o inseticida carbofurano na concentração $400 \mu\text{g L}^{-1}$ (3 réplicas) e nos canteiros C4, C5 e C6 aplicou-se o herbicida quincloraque na concentração $375 \mu\text{g L}^{-1}$ (3 réplicas). As amostragens foram feitas no 1º, 2º, 3º, 5º, 7º, 10º, 14º, 21º, 28º, 35º, 42º, 49º, 56º, 63º, 70º dias após a aplicação dos pesticidas. As datas de coletas foram escolhidas com base em estudos anteriores de degradação realizados com outros compostos, sendo que nos primeiros dias foram mais freqüentes e, após, a cada 7 (sete) dias.

3.7.3 Determinação do tempo de meia-vida

A longevidade de um pesticida no ambiente é geralmente expressa em termos de meia-vida ($t_{1/2}$) do composto, que é o tempo necessário para que a metade da concentração do pesticida desapareça independente de sua concentração inicial. Quanto maior o valor de $t_{1/2}$ maior será o potencial de contaminação de água subterrânea, afinal, maior será o tempo necessário para degradação do pesticida no solo. Então, se fizermos um gráfico de $\ln C$ em função de t (tempo) obteremos uma reta cujo coeficiente angular (constante de velocidade) é $-k$, que é determinado pela natureza dos reagentes e pela temperatura, e é um valor numérico característico de cada reação (BARCELÓ & HENNION, 1997).

O conhecimento da meia-vida dos pesticidas é importante para prever seu impacto potencial no ambiente. Se um produto é muito tóxico, mas tem curta meia-vida ele tem baixo potencial de causar impacto no ambiente porque sua degradação será rápida.

Para calcular o tempo de meia-vida na água de lavoura de arroz irrigado de cada composto em estudo, utilizou-se a Equação (5); onde k é a

inclinação da reta (BARCELÓ & HENNION, 1997) e a cinética da reação é de 1ª ordem.

$$t_{1/2} = (\ln 2) / k \quad (5)$$

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Condições cromatográficas otimizadas para a determinação dos pesticidas em estudo por HPLC-DAD

Para a otimização das condições cromatográficas utilizadas na separação dos pesticidas selecionados neste estudo, foram preparadas soluções analíticas contendo os princípios ativos dos pesticidas em estudo, a fim de injetar no HPLC-DAD e observar o tempo de retenção e o espectro de absorção molecular de cada composto. A Tabela 6 mostra as condições cromatográficas otimizadas utilizadas na quantificação dos pesticidas carbofurano e quincloraque.

Tabela 6. Condições cromatográficas otimizadas

Coluna analítica	Gemini 5 μ C18 (250 x 4 mm, 5 μ m, Phenomenex)
Fase móvel	Metanol / água (65:35, v/v) ajustado a pH 3,0 com H ₃ PO ₄ (1:1, v/v)
Vazão da fase móvel	0,8 mL min ⁻¹
Alça de injeção	20 μ L
Detector	DAD
Comprimento de onda	220 e 270 nm

Para separação dos analitos de interesse nesse estudo, optou-se pela fase móvel metanol / água (65:35, v/v), acidificada até pH 3,0 com solução aquosa de ácido fosfórico (1:1, v/v), na vazão 0,8 mL min⁻¹, pois forneceu melhor separação dos analitos e menos interferência na vazão escolhida.

Conforme revisão bibliográfica, o metanol é um solvente com características polares, muito utilizado na extração e separação dos

pesticidas e, o ácido fosfórico utilizado para o ajuste do pH, não interfere na detecção analítica.

Considerando os espectros de absorção molecular, pode-se determinar o máximo de absorção para cada composto com menor interferência da matriz. O máximo de absorção molecular do carbofurano ocorre no comprimento de onda 270 nm e do quincloraque, 220 nm.

Nestas condições, o perfil de um cromatograma de separação dos compostos em estudo pode ser observado na Figura 10, obtido com a injeção de 20 μL de uma solução contendo 5,0 mg L^{-1} de carbofurano e quincloraque.

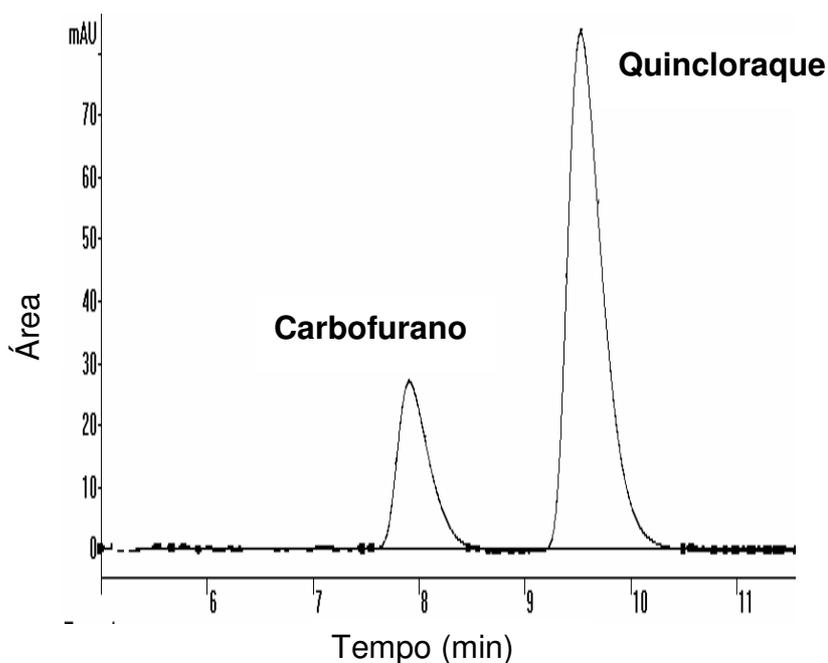


Figura 10. Cromatograma obtido por HPLC-DAD, nas condições cromatográficas otimizadas a 270 nm, a partir da solução analítica 5,0 mg L^{-1} de carbofurano (t_R : 7,9 min) e quincloraque (t_R : 9,5 min)

Os picos e os respectivos princípios ativos foram identificados de duas maneiras: primeiro injetando, separadamente, cada princípio ativo no sistema HPLC-DAD sob mesmas condições cromatográficas e observando o tempo de retenção e o espectro de absorção molecular de cada composto, e segundo, fazendo uma adição de padrão em uma mistura dos dois compostos e observando o aumento de sinal do respectivo pesticida.

4.2 Validação do método analítico

Para que as informações contidas nos dados analíticos possam ser bem interpretadas é necessário garantir que as mesmas sejam exatas, específicas, reprodutíveis e de qualidade, comprovando a confiabilidade. Um processo experimental não confiável gera problemas tanto econômicos como de credibilidade.

Dessa forma, depois de definidas as melhores condições de separação para os pesticidas estudados, a composição da fase móvel e o comprimento de onda, o passo seguinte foi a validação do método para análise dos pesticidas, segundo os parâmetros que serão descritos a seguir.

4.2.1 Espectros de absorção molecular

Nas condições cromatográficas otimizadas, o perfil dos espectros de absorção molecular dos pesticidas carbofurano e quincloraque, injetados individualmente no sistema HPLC-DAD na concentração $10,0 \text{ mg L}^{-1}$, pode ser observado nas Figuras 11 e 12.

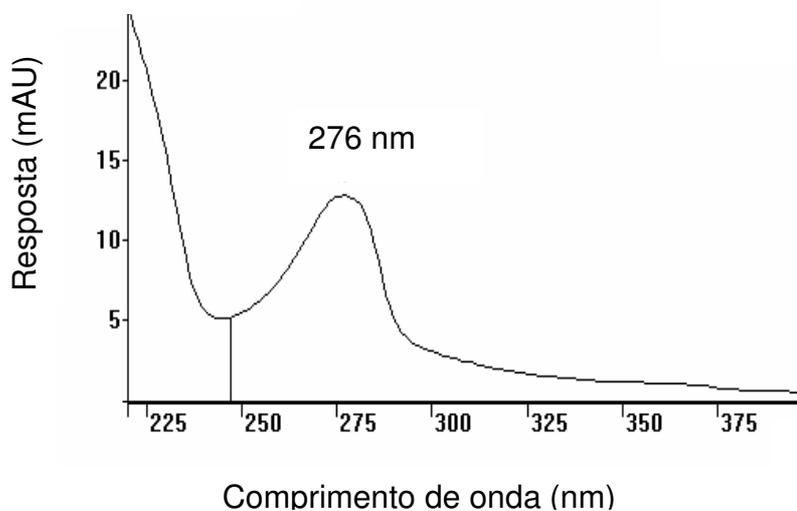


Figura 11. Espectro de absorção molecular do carbofurano ($10,0 \text{ mg L}^{-1}$) de 200 a 400 nm obtido por HPLC-DAD a partir do seu sinal cromatográfico ($t_R = 7,9 \text{ min}$)

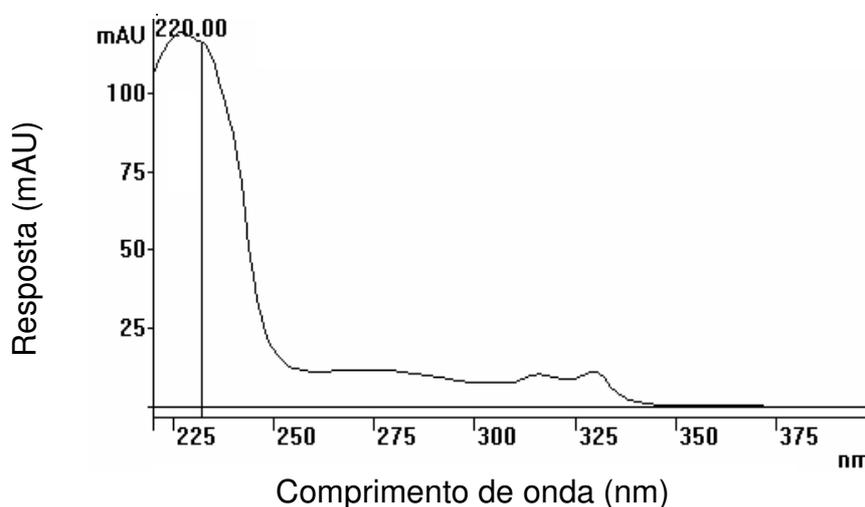


Figura 12. Espectro de absorção molecular do quincloraque ($10,0 \text{ mg L}^{-1}$) de 200 a 400 nm obtido por HPLC-DAD a partir do seu sinal cromatográfico ($t_R = 9,5 \text{ min}$)

Conforme os cromatogramas e os espectros de absorção molecular de cada pesticida, optou-se pela quantificação nos comprimentos de onda 270 e 220 nm, para o carbofurano e quincloraque, respectivamente.

O perfil do espectro de absorção molecular do metabólito do inseticida carbofurano, o 3-hidroxicarbofurano, pode ser observado na Figura 13.

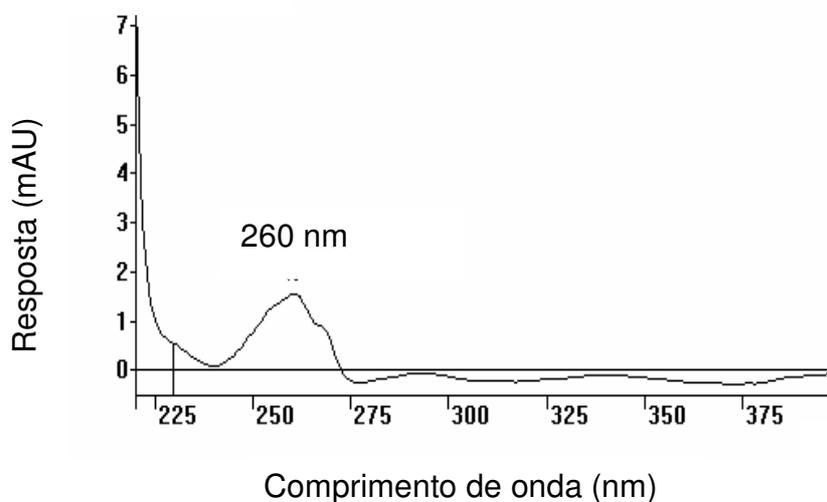


Figura 13. Espectro de absorção do 3-hidroxicarbofurano obtido por HPLC-DAD a partir de uma solução analítica $10,0 \text{ mg L}^{-1}$

4.2.2 Curva analítica e linearidade do método analítico

Para a análise da mistura das soluções padrões dos pesticidas, utilizando a fase móvel metanol / água (65:35, v/v), acidificada a pH 3,0, em uma vazão $0,8 \text{ mL min}^{-1}$, os compostos carbofurano e quincloraque se separam.

A linearidade do método está demonstrada nas Tabelas 7 e 8, nos comprimentos de onda de 220 e 270 nm, respectivamente, para os compostos selecionados neste estudo.

Tabela 7. Linearidade do método com detecção em 220 nm

Pesticida	Faixa linear (mg L⁻¹)	Equação da reta	r²
Carbofurano	0,5 - 10,0	$y = 44,396x - 31,608$	0,9319
Quincloraque	0,15 - 10,0	$y = 200,45x + 52,56$	0,9928

Tabela 8. Linearidade do método com detecção em 270 nm

Pesticida	Faixa linear (mg L⁻¹)	Equação da reta	r²
Carbofurano	0,5 - 10,0	$y = 17,196x + 5,09925$	0,9975
Quincloraque	0,15 - 10,0	$y = 3,5148x - 1,8488$	0,9001

Conforme Tabelas 7 e 8 observa-se que o carbofurano no comprimento de onda 270 nm e o quincloraque em 220 nm possuem $r^2 > 0,99$.

Definiu-se as condições cromatográficas otimizadas para determinar os pesticidas selecionados neste estudo. Após, para a construção da curva analítica injetou-se cada uma das soluções analíticas em ordem crescente de concentração (0,05; 0,1; 0,25; 0,5; 1,0; 2,5; 5,0; 7,5 e 10,0 mg L⁻¹).

Através dos dados obtidos para a construção da curva analítica, apresentados nas Figuras 14 e 15, analisou-se as equações das retas para as curvas analíticas. Pode-se concluir que o modelo de regressão linear é bastante adequado para as determinações analíticas em estudo, já que os coeficientes de determinação (r^2) foram maiores que 0,99. Este modelo explica 99% da variação total em torno da média.

A Figura 14 ilustra um modelo de gráfico da curva analítica do herbicida quincloraque obtido através do programa Statgraphics® Plus 5.1, utilizando todos os valores de áreas referentes às concentrações das soluções analíticas injetadas no HPLC-DAD. A linha central do gráfico

delimita a linha de tendência. A partir da análise das linhas externas, determina-se a faixa linear de trabalho.

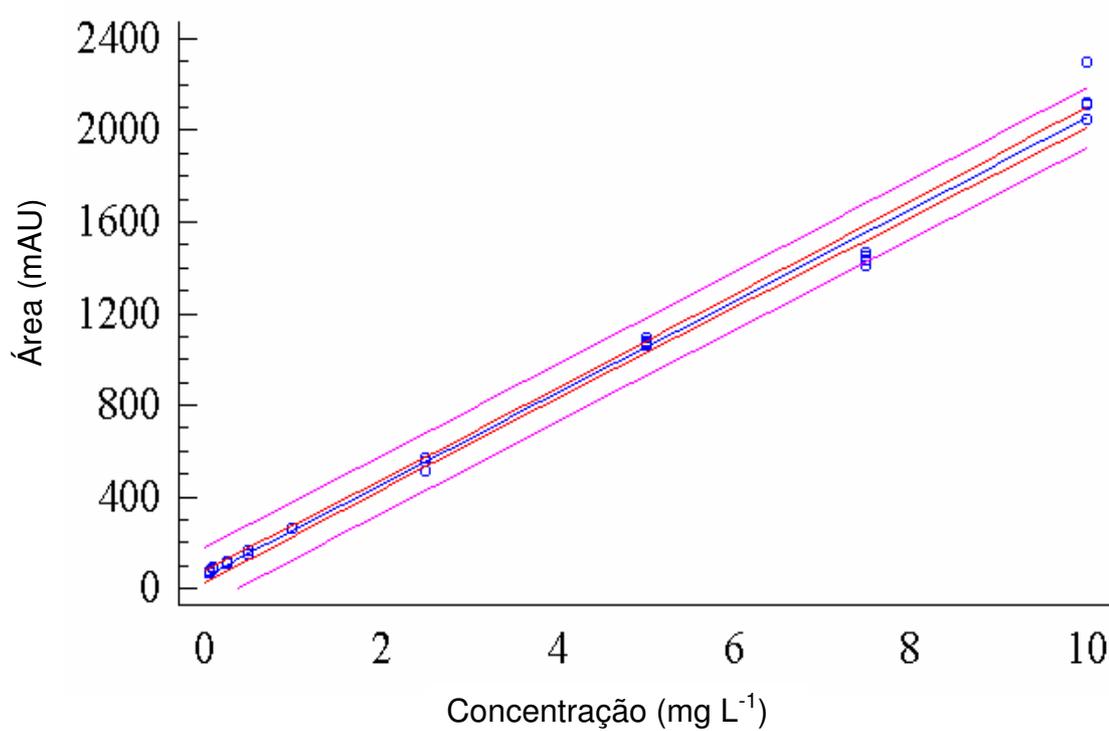


Figura 14. Curva analítica do herbicida quincloraque (HPLC-DAD, 220 nm) obtida pelo programa Statgraphics® Plus 5.1

A Tabela 9 mostra os valores estatísticos obtidos através do programa Statgraphics® Plus 5.1 pelo modelo de regressão linear, para o composto quincloraque.

Tabela 9. Valores estatísticos obtidos pela análise da regressão linear para o quincloraque (a 220 nm) conforme o programa Statgraphics® Plus 5.1

Análise da regressão linear, modelo linear $y = ax + b$
Variável dependente: área
Variável independente: concentração
Coeficiente de correlação: 0,9964
Coeficiente de determinação: 0,9928
Equação da reta: área = 52,56 + 200,45 x concentração
Nível de confiança: 99%
Erro padrão: 60,8396

O coeficiente de correlação mede o grau da correlação entre as variáveis dependentes e independentes. Este coeficiente assume valores entre -1 e 1 (correlação perfeita). É uma medida da proporção da variabilidade em uma variável que é explicativa pela variabilidade da outra. O valor de r^2 precisa estar o mais próximo de 1 para ter-se uma relação linear das variáveis.

Para o quincloraque existe uma relação estatística significativa entre área e concentração para um nível de confiança de 99%. O coeficiente de determinação (r^2) indica que o modelo de regressão linear explica 99,283% da variabilidade da área. O coeficiente de correlação (r) é igual a 0,9964, indicando uma relação relativamente forte entre as variáveis. O erro padrão mostra o desvio típico dos valores que é de 60,8396.

A Figura 15 ilustra o modelo de gráfico do inseticida carbofurano obtido através do programa Statgraphics® Plus 5.1, utilizando todos os

valores de áreas referentes às concentrações das soluções analíticas injetadas no HPLC-DAD.

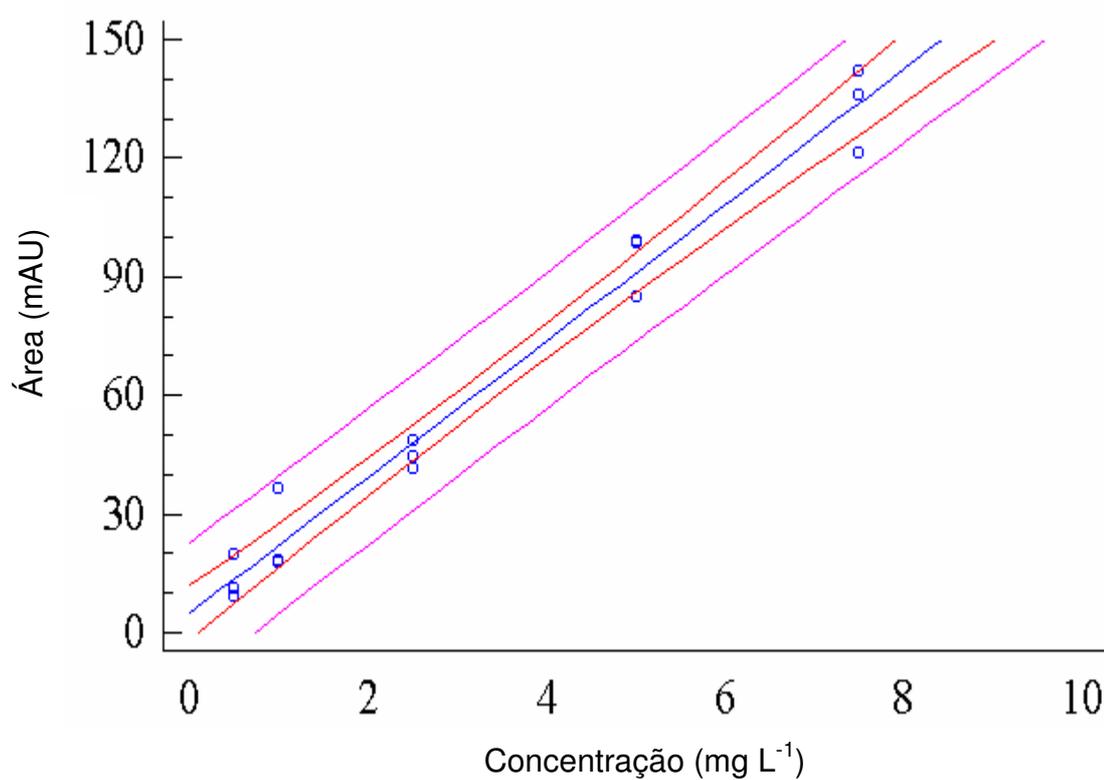


Figura 15. Curva analítica do inseticida carbofurano (HPLC-DAD, 270 nm) obtida pelo programa Statgraphics® Plus 5.1

A Tabela 10 mostra os valores estatísticos obtidos através do programa Statgraphics® Plus 5.1 utilizando o modelo de regressão linear, para o composto carbofurano.

Tabela 10. Valores estatísticos obtidos pela análise da regressão linear do carbofurano (a 270 nm) conforme o programa Statgraphics® Plus 5.1

Análise da regressão linear, modelo linear $y = ax + b$
Variável dependente: área
Variável independente: concentração
Coeficiente de correlação: 0,987742
Coeficiente de determinação: 0,9975
Equação da reta: área = 5,09925 + 17,196 x concentração
Nível de confiança: 99%
Erro padrão: 7,64559

A equação da reta mostra os resultados do ajuste ao modelo linear para descrever a relação entre área e concentração. Existe uma relação estatística significativa entre área e concentração para um nível de confiança de 99%.

O valor do coeficiente de determinação (r^2) indica que o modelo explica 97,56% da variabilidade em área. O valor do coeficiente de correlação (r) é igual a 0,9877 indicando uma relação relativamente forte entre as variáveis. O erro padrão mostra o desvio típico dos resíduos que é de 7,64559.

Conforme a comparação dos modelos típicos de curva analítica do inseticida carbofurano e do herbicida quincloraque, utilizando o programa Statgraphics® Plus 5.1, a melhor linearidade obtida foi com o modelo de regressão linear. A regressão linear é uma função para estimar um valor esperado de uma variável y , dados os valores de algumas variáveis x .

Os resultados obtidos pelo programa Statgraphics® Plus 5.1 foram confirmados pelo software Microsoft® Excel 98.

4.2.3 Limite de detecção e limite de quantificação

Na Tabela 11 estão listados os valores de limite de detecção e limite de quantificação do instrumento e do método para os pesticidas selecionados neste estudo. Para o pesticida carbofurano o LOQ do método foi de 2,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ e para o pesticida quincloraque foi de 0,6 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Tabela 11. Resultados de LOD e LOQ, do instrumento e do método, para os pesticidas estudados

Pesticida	Instrumento		Método	
	LOD	LOQ	LOD	LOQ
	mg L^{-1}	mg L^{-1}	$\mu\text{g L}^{-1}$	$\mu\text{g L}^{-1}$
Carbofurano	0,3	0,5	1,2	2
Quincloraque	0,05	0,15	0,2	0,6

4.2.4 Precisão

RIBANI *et al.* (2004), recomenda $\text{RSD} \leq 20\%$ para ser aceitável na precisão de métodos cromatográficos.

A precisão do método proposto foi verificada em termos de repetitividade, considerando os resultados dos ensaios de fortificações que estão listados na Tabela 13.

Os resultados para a precisão do instrumento obtidos através das soluções padrões estão demonstrados na Tabela 12.

Tabela 12. Resultados do RSD do instrumento

Pesticida	Precisão intermediária			
	Repetitividade (RSD%)		(RSD%)	
	Faixa de variação	média	Faixa de variação	média
Carbofurano	5,4 - 10,8	7,7	4,3 - 10,8	7,2
Quincloraque	0,0 - 27,5	10,5	2,4 - 47,5	14,5

Para o teste de precisão intermediária do instrumento empregou-se dias diferentes na análise.

Conforme dados apresentados na Tabela 12, a repetitividade e a precisão intermediária do instrumento estão dentro dos limites de valores aceitáveis, considerando os valores de desvio padrão (RSD) que conforme literatura consultada para o desenvolvimento deste estudo, precisa ter valores $\leq 20\%$ (RIBANI *et al.*, 2004).

4.2.5 Recuperação

De acordo com a literatura para a validação de métodos cromatográficos, as recuperações precisam estar entre 70 e 120% (BRITO *et al.*, 2003). Todos os valores obtidos nos ensaios de fortificação apresentaram valores dentro deste intervalo (Tabela 13), comprovando a confiabilidade do método.

A Figura 16 ilustra cromatogramas obtido por HPLC-DAD, em 270 nm, no nível 3 (três) de fortificação da amostra de água.

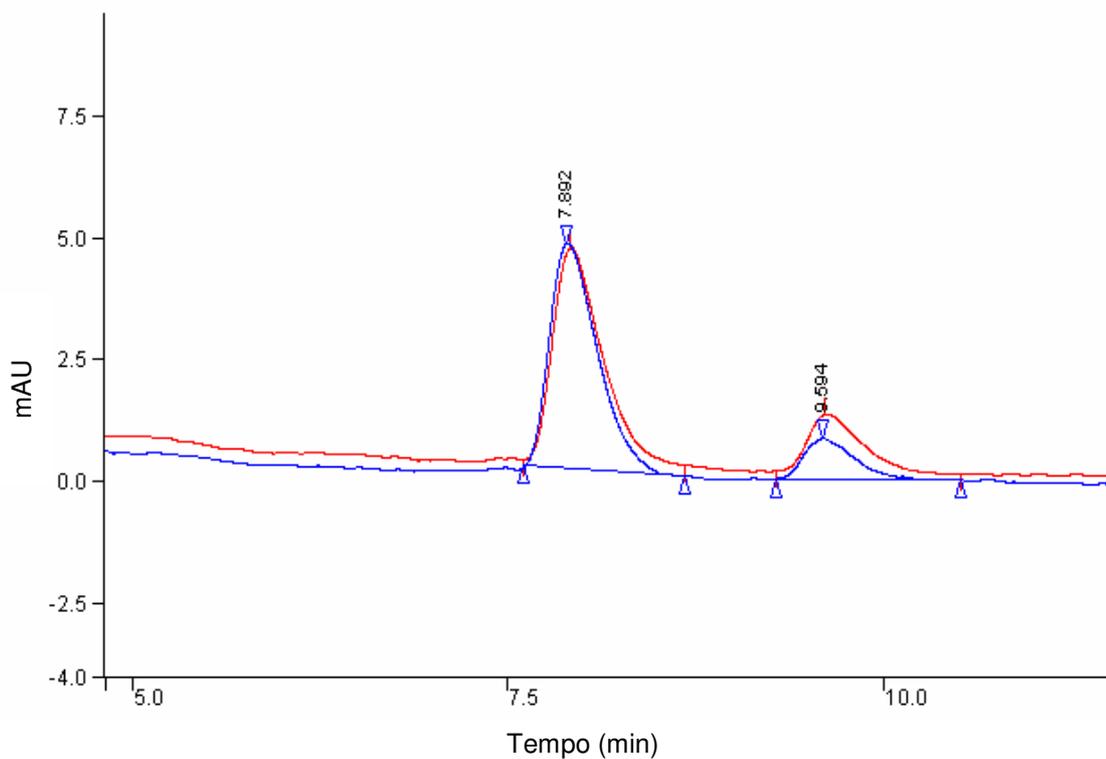


Figura 16. Cromatograma da solução analítica de carbofurano $5,0 \text{ mg L}^{-1}$ e quincloraque $1,5 \text{ mg L}^{-1}$ (em azul) e de uma amostra fortificada no nível 3: carbofurano $20,0 \mu\text{g L}^{-1}$ e quincloraque $6,0 \mu\text{g L}^{-1}$ (em vermelho)

A Tabela 13 apresenta os valores de recuperação e RSD obtidos para as fortificações das amostras branco, nos níveis 1, 2 e 3, para os pesticidas estudados.

Tabela 13. Resultados das recuperações dos analitos

Pesticida	Nível de fortificação $\mu\text{g L}^{-1}$	Repetitividade		Precisão Intermediária	
		Recuperação	RSD	Recuperação	RSD
		%	%	%	%
Carbofurano	2,0	111,2	13,3	104,1	12,1
	4,0	102,5	2,8	97,2	14,2
	20	119,3	4,2	104,8	15,3
Quincloraque	0,6	99,3	10,2	109,9	14,8
	1,2	104,2	6,6	111	11,3
	6,0	82,6	17,1	87,9	16,5

n = 6

4.3 Aplicação do método

O método desenvolvido foi aplicado à análise de água de lavoura de arroz irrigado do experimento conduzido na várzea experimental do Campus da Universidade Federal de Santa Maria.

A principal dificuldade de análise de amostras de água é a presença de substâncias orgânicas, principalmente, substâncias húmicas e fúlvicas (PRIMEL, 2003). Nos cromatogramas de amostras de água analisadas, contendo carbofurano, foi observado um sinal de grande intensidade e com tempo de retenção pequeno, mas este sinal não interfere na análise qualitativa e quantitativa do inseticida estudado, pois não interfere na integração do sinal do analito.

4.3.1 Coleta das amostras

As amostras de água de lavoura de arroz foram coletadas em frascos de vidro âmbar, com capacidade de 1 (um) litro, nos 1º; 2º; 3º; 5º; 7º; 10º; 14º; 21º; 28º, 35º, 42º, 49º, 56º, 77º e 84º dias após a aplicação dos pesticidas. Para que não houvesse contaminação, os frascos foram lavados previamente com solução aquosa de Extran® alcalino 5% (v/v), enxaguando com água corrente, água deionizada e álcool etílico comum, antes de serem usados na coleta das amostras.

4.3.2 Recebimento das amostras

As amostras coletadas na área experimental do Campus da UFSM foram entregues no Laboratório de Análise de Resíduos de Pesticidas (LARP) da UFSM, logo após a coleta.

4.4 Estabilidade dos pesticidas em amostras de água de lavoura de arroz irrigado

MOREIRA *et al.* 2004, avaliaram a distribuição de carbofurano em água de irrigação, provenientes de áreas de cultivo de arroz até a sua descarga no Rio Paraíba do Sul, assim como a qualidade da água fornecida para abastecimento em Taubaté. As amostras foram analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência acoplada a um detector por fluorescência. Na área de estudo monitorada seria esperada uma concentração de carbofurano na água do tabuleiro de no máximo $100 \mu\text{g L}^{-1}$, já que a lâmina de água usada nos tabuleiros foi de aproximadamente 15 cm e a área do tabuleiro foi de 700 m^2 . Esta concentração seria encontrada na condição de distribuição homogênea do produto comercial no tabuleiro e sem considerar as perdas por processos de transporte, adsorção ao solo, adsorção pela planta, volatilização e degradação.

No 5º dia após a aplicação do inseticida foram detectados níveis de resíduos da ordem de 10 a 20 mg L⁻¹ de carbofurano na água em todos os pontos amostrados. Na coleta realizada 49 dias após a aplicação do inseticida não foi detectado resíduo de carbofurano ou de seu metabólito na amostra, indicando que a dissipação do carbofurano nas águas ocorre entre 49 e 71 dias após a aplicação do inseticida (MOREIRA *et al.*, 2004).

Na área experimental monitorada neste estudo a concentração esperada de carbofurano seria de 400 µg L⁻¹ do inseticida por canteiro. No 1º dia após a aplicação do inseticida não foram detectados resíduos do inseticida carbofurano e nem do seu principal metabólito, o 3-hidroxicarbofurano. No 2º dia após a aplicação do inseticida foram encontrados resíduos na ordem de 20 a 50 µg L⁻¹ por canteiro, e a partir do 7º dia após a aplicação do carbofurano, não se encontra resíduos do carbofurano e nem do seu principal metabólito.

Os resultados das concentrações de carbofurano no canteiro 1 (C1), canteiro 2 (C2), canteiro 3 (C3), e do quincloraque no canteiro 4 (C4), canteiro 5 (C5) e canteiro 6 (C6) nas amostras coletadas estão apresentados nas Tabelas 14 e 15, respectivamente.

Tabela 14. Concentrações (em µg L⁻¹) de carbofurano em amostras de água de arroz irrigado

	C1	C2	C3	C média
	Concentração (µg L ⁻¹)			
Dias após aplicação	400 *	400 *	400 *	400 *
1	nd	nd	nd	nd
2	49,27	18,84	15,68	27,93
3	52,06	48,39	34,52	44,99
5	2,98	0,79	1,03	1,6
7	nd	nd	nd	nd
10	nd	nd	nd	nd
14	nd	nd	nd	nd

* Valor teórico inicial (em µg L⁻¹) considerando uma lâmina de água de 10 cm de altura

C1 = canteiro 1; C2 = canteiro 2; C3 = canteiro 3

nd = não detectado

Sabe-se que a concentração de pesticidas na água e no solo muda rapidamente durante as primeiras 24 horas após a aplicação do produto, devido à solubilização dos grânulos no sistema aquosos (MOREIRA *et al.*, 2004).

Com isso, considerando as interações do carbofurano com a matéria orgânica contida no sedimento e na água, no primeiro dia após a aplicação do pesticida, o composto não é detectado. A partir do segundo dia após a aplicação, pode-se monitorar a estabilidade do carbofurano na água de superfície (Figura 17).

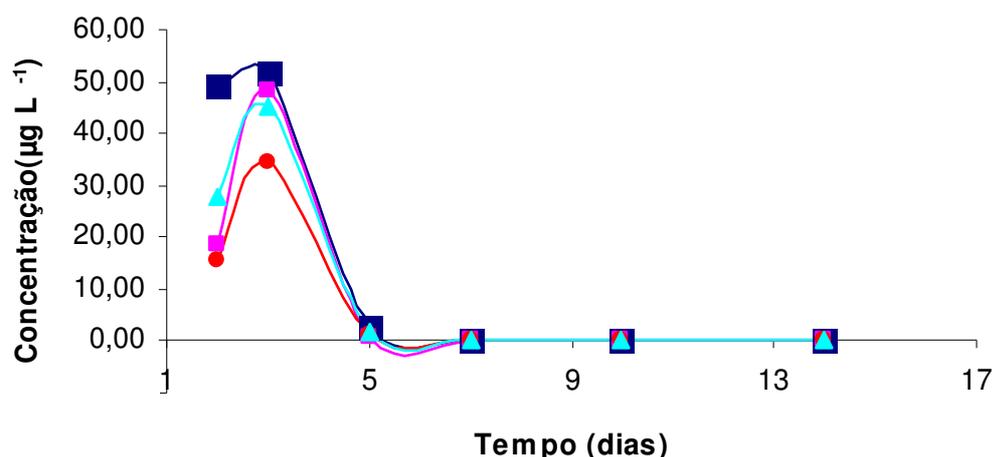


Figura 17. Perfil de dissipação do pesticida carbofurano, nos cantoneiros C1, C2 e C3, em amostras de água na safra de 2006/2007 (■C1, ▣C2, ●C3 e ▲média dos cantoneiros)

Na área experimental monitorada não foi observada a presença do metabólito 3-hidroxicarbofurano, do inseticida carbofurano, nos pontos amostrados da lavoura de arroz irrigado.

Conforme a Figura 17, no 2º dia de aplicação do inseticida, tem-se a detecção do carbofurano, e a partir do 7º dia, não se encontra resíduo de carbofurano.

A Figura 18 ilustra um cromatograma da amostra coletada no 2º dia após a aplicação do pesticida carbofurano na área experimental do experimento monitorado.

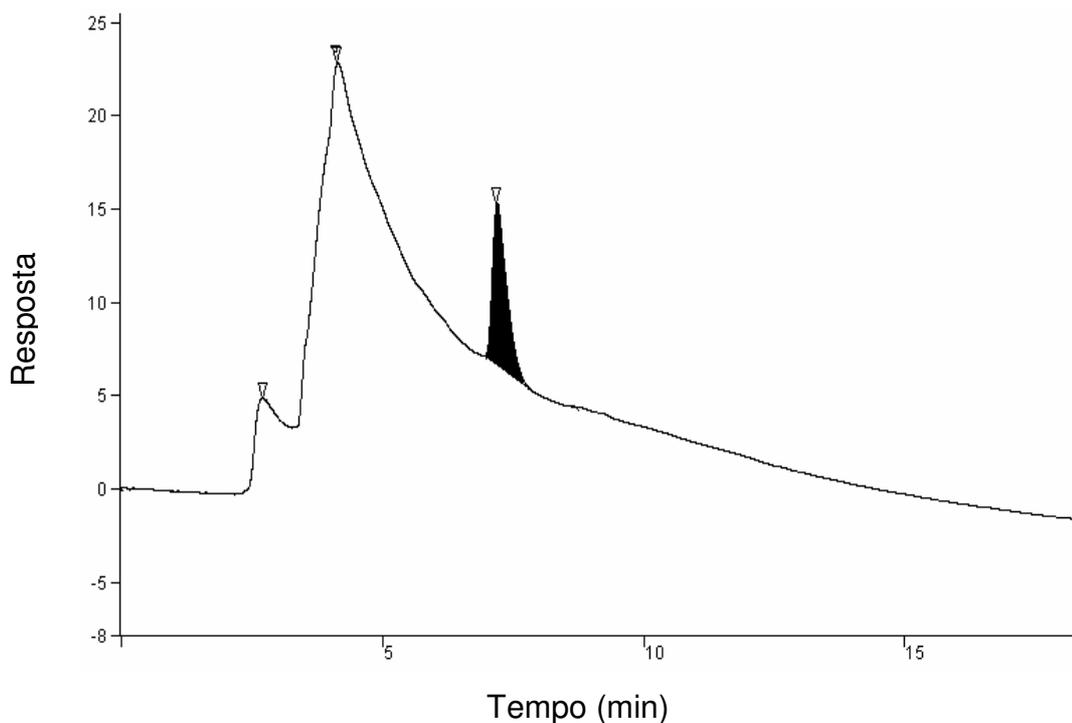


Figura 18. Cromatograma da amostra coletada no 2º dia após a aplicação do pesticida carbofurano ($t_R = 7,18$ min) em lavoura de arroz irrigado

Na área experimental monitorada seria esperada uma concentração de $375 \mu\text{g L}^{-1}$ do herbicida quincloraque por canteiro. No 1º dia após a aplicação do herbicida foram encontrados resíduos na ordem de 200 a $330 \mu\text{g L}^{-1}$ e no 42º dia após a aplicação do quincloraque na ordem de 30 a $50 \mu\text{g L}^{-1}$. Após o 42º dia, não se encontra resíduos do herbicida quincloraque na água da área monitorada.

As concentrações do herbicida quincloraque em água da lavoura de arroz irrigado coletadas em diferentes dias após a aplicação estão demonstradas na Tabela 15.

Tabela 15. Concentrações (em $\mu\text{g L}^{-1}$) de quincloraque em amostras de água de arroz irrigado

Dias após aplicação	C4	C5	C6	C média
	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)			
	375 *	375 *	375 *	375 *
1	332,35	236,59	188,11	252,35
2	457,99	396,51	508	454,16
3	426,46	410,1	434,14	423,57
5	344,6	252,77	259,88	285,75
7	173,88	103,89	136,57	138,12
10	116,91	66,74	104,6	96,08
14	55,16	63,58	27,14	48,63
21	44,28	37,54	nd	40,91
28	75,34	46,12	49,32	56,93
35	62,98	31,81	31,5	42,1
42	28,74	53,16	42,75	41,55
49	nd	nd	nd	nd
56	nd	nd	nd	nd
77	nd	nd	nd	nd
84	nd	nd	nd	nd

* Valor teórico inicial (em $\mu\text{g L}^{-1}$) considerando uma lâmina de água de 10 cm de altura
 C4 = canteiro 4; C5 = canteiro 5; C6 = canteiro 6
 nd = não detectado

O perfil da dissipação do herbicida quincloraque na safra 2006/2007, em amostra de água de lavoura de arroz irrigado do experimento estudado, está ilustrado na Figura 19.

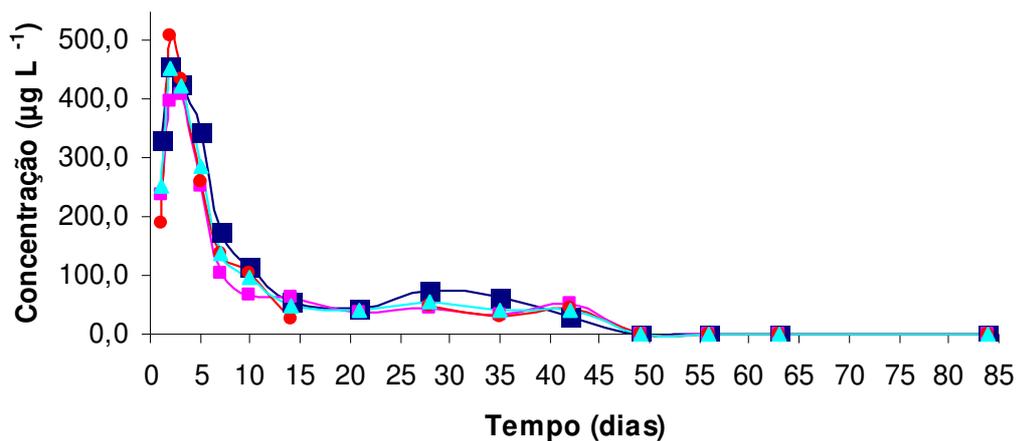


Figura 19. Perfil de dissipação do pesticida quincloraque, nos canteiros C4, C5 e C6, em amostras de água na safra de 2006/2007 (■C4, ■C5, ●C6 e ▲média dos canteiros)

As coletas das amostras de água foram realizadas em períodos pré-estabelecidos e a suplementação da água foi feita após as coletas, justificando o aumento da concentração das amostras coletadas no dia seguinte à coleta.

A Figura 20 ilustra um cromatograma da amostra coletada no 2º dia após a aplicação do pesticida quincloraque na área experimental do experimento monitorado.

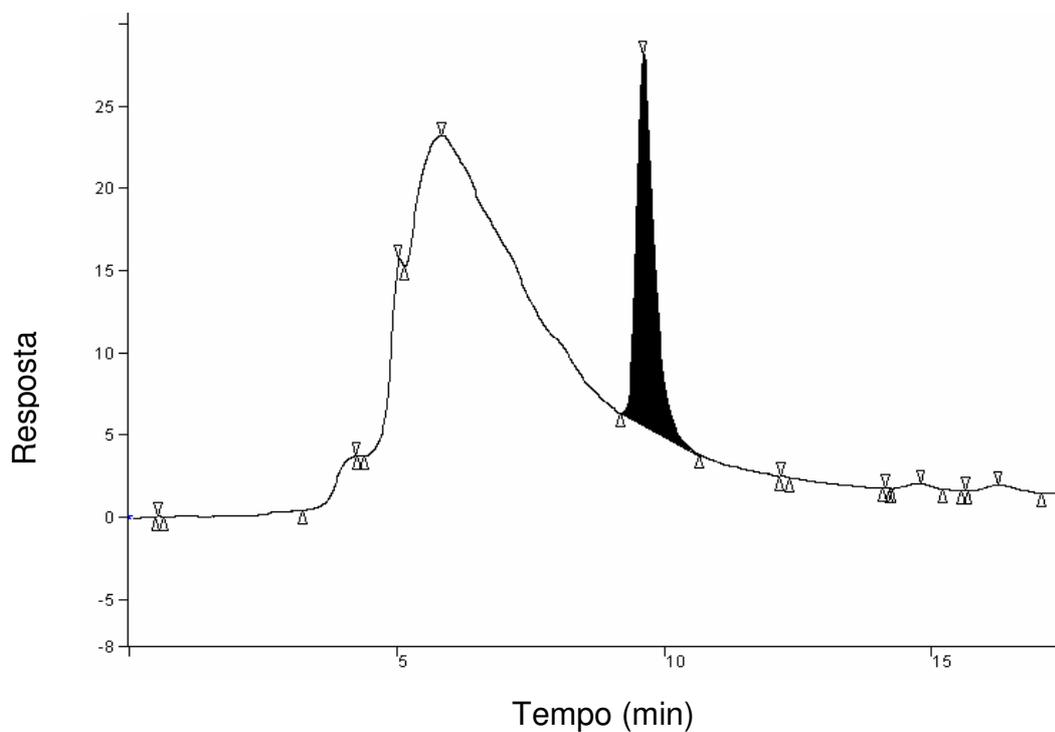


Figura 20. Cromatograma da amostra coletada no 2º dia após a aplicação do pesticida quincloraque ($t_R = 9,5$ min) em lavoura de arroz irrigado

4.4.1 Determinação dos tempos de meia-vida dos pesticidas selecionados neste estudo

O tempo de meia-vida do carbofurano em água a 22 °C é altamente dependente do pH podendo ser de 1 ano a pH 4,0 até 31 horas a pH 9,0. Em pH 7,0 a meia-vida é em torno de 121 dias (TOMLIN, 2000). O pH é, portanto, um parâmetro importante a ser considerado quando se avalia a permanência de resíduos de carbofurano em águas superficiais (MOREIRA *et al.*, 2004).

A Tabela 16 apresenta os resultados obtidos para o tempo de meia-vida ($t_{1/2}$) do herbicida quincloraque neste estudo.

Tabela 16. Tempos de meia-vida do quincloraque

Pesticida	$t_{1/2}$ (dia)			
	C4	C5	C6	Média
Quincloraque	11,43	12,81	12,48	12,24

Conforme Tabela 16, o tempo de meia-vida do quincloraque foi de aproximadamente 12 dias.

A alta radiação solar favorece a degradação dos pesticidas por fotólise, o que pode reduzir a meia-vida dos princípios ativos no solo em relação aos dados encontrados na literatura. Portanto, em um experimento a campo, o carbofurano se dissipa muito rápido. Com isso, para determinar com segurança o tempo de meia-vida deste inseticida, precisa-se coletar maior número de amostras por dia, principalmente nos primeiros dias após a aplicação (MOREIRA *et al.*, 2004).

O principal metabólito do carbofurano, o 3-hidroxicarbofurano, não estava presente nas amostras analisadas.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A necessidade de fornecer alimentos à população torna indispensável o controle de doenças, pragas e plantas invasoras. O uso de pesticidas, que se destaca como a principal forma de controle dos invasores que prejudicam a produção, aumenta os níveis de resíduos dos mesmos ou de seus metabólitos, podendo comprometer a qualidade das águas de superfície e subterrâneas.

Muitos contaminantes orgânicos estão presentes na água em baixas concentrações, com isso, tem crescido o interesse em desenvolver técnicas de preparo de amostra que possibilitem pré-concentrar os analitos presentes na matriz para adequação ao sistema de detecção.

A necessidade de se extrair analitos mais polares tornou a extração em fase sólida (SPE) um dos principais métodos para análise de compostos orgânicos em água, com boas recuperações, extração rápida, baixo consumo de reagentes e boa seletividade. Neste estudo, a SPE com cartucho contendo 500 mg do adsorvente C18 e a eluição dos analitos com metanol mostrou-se adequado.

As condições cromatográficas otimizadas, com fase móvel metanol:água (65:35, v/v) acidificada a pH 3,0 com solução aquosa de ácido fosfórico (1:1, v/v), a uma vazão de 0,8 mL min⁻¹, coluna Gemini 5 µ C18 (250 x 4,6 mm) e pré-coluna com o mesmo recheio da coluna, comprimento de onda 270 e 220 nm (carbofurano e quincloraque, respectivamente), permitiram a separação, identificação e quantificação satisfatória dos compostos em estudo.

O detector por arranjo de diodos (DAD) permitiu monitorar simultaneamente diferentes comprimentos de onda, fornecendo o espectro de absorção molecular de cada pesticida, tornando mais adequada a identificação dos picos detectados.

A validação do método desenvolvido apresentou bons resultados de linearidade, com coeficientes de determinação maiores que 0,995 para ambos os compostos estudados.

Os estudos de recuperação realizados no presente trabalho foram feitos a fim de se avaliar a confiabilidade do método. De acordo com a literatura para a validação de métodos cromatográficos, as recuperações precisam estar entre 70 e 120%. Todos os valores obtidos nos ensaios de fortificação apresentaram valores entre 82 e 112%, comprovando a confiabilidade do método desenvolvido.

Os valores de precisão obtidos ficaram entre 7,2 e 14,5%, encontrando-se dentro dos limites aceitáveis (RSD < 20%).

Os valores de limite de quantificação de 2 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 0,6 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente, para o carbofurano e quincloraque, permitem que sejam determinados resíduos de pesticidas em águas de superfície, as quais apresentam elevado conteúdo de compostos.

Depois de validado, o método foi aplicado em amostras de água de lavoura de arroz irrigado originárias de experimentos com aplicação controlada de pesticidas conduzido no Campus da Universidade Federal de Santa Maria, mostrando-se bastante eficiente.

Analisando os resultados obtidos para as amostras de água de lavoura de arroz irrigado, na safra em estudo, o carbofurano degrada-se facilmente, porém não foi detectado na forma do seu principal metabólito, o 3-hidroxicarbofurano. No 1º dia de coleta, ou seja, dentro das primeiras 24 h após a aplicação do inseticida, o carbofurano apresentou baixa disponibilidade, não sendo detectado nas amostras. No 2º, 3º e 5º dia após a aplicação do inseticida, o carbofurano foi detectado nas amostras analisadas, e a partir do 5º dia após a aplicação não se encontrou mais resíduos do carbofurano, indicando que sua estabilidade em água é muito baixa.

Como o experimento em estudo foi conduzido a campo, os fatores naturais, como por exemplo, luminosidade, calor, vento, além dos compostos orgânicos presentes na água e no solo, aumentam a possibilidade de dissipação dos pesticidas. A dissipação do carbofurano foi muito rápida e não foi possível calcular com segurança o tempo de meia-vida deste pesticida na água. Para esta avaliação seria necessário coletar maior

número de amostras por dia, principalmente nos primeiros dias após a aplicação.

O herbicida quincloraque foi encontrado até 42 dias após a aplicação. Após 42 dias da aplicação do quincloraque, não se encontra mais resíduo deste pesticida nas amostras de água analisadas. Considerando estes resultados obtidos pode-se determinar o tempo de meia-vida do quincloraque na água de lavoura de arroz irrigado em 12 dias.

Através dos estudos de dissipação do carbofurano e do quincloraque, pode-se determinar o período, após a aplicação destes pesticidas, que é necessário a retenção da água de irrigação na lavoura antes de liberar para o meio ambiente.

TRATAMENTO DE RESÍDUOS GERADOS

Os solventes utilizados no desenvolvimento deste estudo foram recolhidos, colocados em recipientes, rotulados e encaminhados para o almoxarifado responsável pelo tratamento final dos resíduos gerados no Departamento de Química da UFSM.

O adsorvente contido nos cartuchos SPE foi descartado como resíduo sólido, rotulado e encaminhado para o almoxarifado. Os cartuchos e seus respectivos filtros foram guardados para serem utilizados em estudos posteriores do grupo.

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Determinação dos metabólitos do carbofurano em amostras de água de lavoura de arroz irrigado;
- Estudo a campo e no laboratório da estabilidade do inseticida carbofurano e do herbicida quincloraque em amostras de água de lavoura de arroz irrigado.
- Estudo da dissipação do carbofurano em água de arroz, com coletas das amostras em três períodos por dia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. ANVISA. Brasília. Disponível em <http://www.anvisa.gov.br/AGROSIA/asp/frm_pesquisa_ingrediente.asp>. Acesso em 10 de abril de 2007.

ALBANIS *et al.* Monitoring of pesticides residues and their metabolites in surface and underground waters of Imathia (N. Greece) by means of solid-phase extraction disks and gas chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 823, p. 59-71, 1998.

ALDER, L. *et al.* Emerging contaminants in wastewaters monitoring tools and treatment technologies. **Mass Spectrometry Reviews**, v. 25, p. 838-865, 2006.

ALMEIDA, R. G.; REYES, F. G. R; RATH, S. *Drosophila Melanogaster Meiger*. Sensibilidade ao carbofuran e biomonitoramento de seus resíduos em repolho. **Química Nova**, v. 24, p. 768-772, 2001.

ALPERTUNGA, B.; ÖZHAN, G.; TOPUZ, S. Simultaneous determination of various pesticides in fruit juices by HPLC-DAD. **Food Control**, v. 16, p. 87-92, 2005.

ANDREU, V.; PICÓ, Y. Determination of pesticides and their degradation products in soil: critical review and comparison of methods. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 23, p. 772-789, 2004.

ARMAS, E. *et al.* Uso de agrotóxico em cana-de-açúcar na bacia do Rio Corumbataí e o risco de poluição hídrica. **Química Nova**, v. 28, p. 975-982, 2005.

AZEVEDO *et al.* Monitoring of priority pesticides and other pollutants in river water from Portugal by Gas Chromatography-mass spectrometry and liquid chromatography-atmospheric pressure chemical ionization mass-spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 79, p. 13-26, 2000.

BACIGALUPO, M. A; LONGHI, R.; MRONI, G. Determination of carbofuran in water by homogeneous immunoassays using selectively conjugate mastoparan and terbium/dipicolinic acid fluorescent complex. **Talanta**, v. 69, p. 1106-1111, 2006.

BALINOVA, A. *et al.* Ion-pairing mechanism in the solid-phase extraction and reversed-phase high-performance liquid chromatography determination of acidic herbicides in water. **Journal of Chromatography A**, v. 728, p. 319-324, 1996.

BARBOSA, L. C. A. **Os pesticidas, o homem e o meio ambiente**. Viçosa: UFV, 2004, p. 15-34.

BARCELÓ, D.; HENNION, M. C. **Trace determination of pesticides and their degradation products in water**. 3. ed. The Netherland: Elsevier, 1997. 542 p.

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

BARROS, C. B. Validação de métodos analíticos, **Biológico**, São Paulo, v. 64, p. 175-177, 2002.

BERTRAND, N.; BARCELÓ, D., Photodegradation of the Carbamate pesticides Aldicarb, Carbaryl and Carbofuran in water. **Analytica Chimica Acta**, v. 254, p. 235-244, 1991.

BEYRUTH, Z.; TOMITA, R. Y. **Toxicologia de agrotóxicos em ambiente aquático**. Instituto Biológico, São Paulo, 2003. Disponível em: <<http://www.geocities.com/~esabio/tomita.htm>>. Acesso em 23 nov. 2006.

BLANCO, H. G. Destino, comportamento e resíduos de herbicidas no solo. **O Biológico**, São Paulo, v. 45, p. 11-12, 1979.

BRITO, N. M. *et al.* Avaliação da exatidão e da precisão de métodos de análise de resíduos de pesticidas mediante ensaios de recuperação. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 12, p. 155-168, 2002.

BRITO, N. M. *et al.* Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 13, p. 129-146, 2003.

CAPELÓ, J. L. *et al.* Chromatographic-based methods for pesticides determination in honey: An overview. **Talanta**, v. 71, p. 503-514, 2007.

CERDERIA, A. L. *et al.* Metodologia analítica de resíduos do herbicida 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético) em amostras de água em área de cultivo de cana-de-açúcar. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 12, p. 99-110, 2002.

CETESB – Gestão Ambiental do Aquífero Guarani. Disponível em <<http://www.ambiental.sp.gov.br/aquifero/txtguarani.htm>> Acesso em 10 de maio de 2007.

COHEN *et al.* Offsite transport of pesticides in water mathematical models of pesticides leaching and runoff. **International Union of Pure and Applied Chemistry**. v. 67, p. 2109-2148, 1995.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Fundamentos de Cromatografia**. Campinas: Editora Unicamp, 2006, 453 p.

CONAB (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO). Quarto levantamento de avaliação da safra 2006/2007. 2007. Disponível em <<http://www.conab.gov.br>> Acesso em 20 de abril de 2007.

CONAMA (CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE). Legislação Ambiental. Disponível em <<http://www.nma.gov.br>>. Acesso em 06 de maio de 2007.

CORCIA, A. D. *et al.* Development of a multiresidue method for analysing herbicides and fungicides in bovine milk based on solid-phase extraction and liquid chromatographic-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1102, p. 1-10, 2006.

COUTINHO, C. F. B. *et al.* Pesticidas: mecanismos de ação, degradação e toxicidade. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 15, p. 65-72, 2005.

DING, L. *et al.* The determination of organochlorine pesticides based on dynamic microwave-assisted extraction coupled with on-line solid-phase extraction of high-performance liquid chromatography. **Analytica Chimica Acta**, v. 589, p. 239-246, 2007.

EEC Drinking Water Directive (80/778/EEC), EEC No. L229/11-29, European Union, Brussels, 1980.

EMBRAPA. Cultivo de arroz irrigado no Brasil. **Embrapa Clima Temperado**, 2003. Disponível em <<http://www.cpact.embrap.br>> Acesso em 12 de janeiro de 2007.

EUROPE COMMISSION. **Quality control procedures for pesticides residues analysis**. 3^a ed., Documento N^o SANCO/10476/2003, 5 de fevereiro de 2004, Bruxelas, Bélgica. Disponível em <http://europe.eu.int/comm/food/plant/protection/resources/qualcontrl_en.pdf> Acesso em 15 de maio de 2007.

FAO (Food and Agriculture Organisation of the United Nations), 2005a. Disponível em <<http://faostat.fao.org/faostat/collections>>. Acesso em 20 de janeiro de 2007.

FERRACINI, V. L. *et al.* Análise de risco de contaminação das águas subterrâneas e superficiais da região de Petrolina (PE) e Juazeiro (BA). **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 11, p. 1-16, 2001.

FILIZOLA, H. F. *et al.* Monitoramento e avaliação do risco de contaminação por pesticidas em água superficial e subterrânea na região de Guairá. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, p. 659-667, 2002.

FONT *et al.* Solid-phase extraction in multiresidue pesticides analysis of water. **Journal of Chromatography A**, v. 642, p. 135, 1993.

FONTANALS, N.; MARCÉ, R. M.; BORRULL, F. New hydrophilic material for solid-phase. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 24, p. 394-406, 2005.

GÁNDARA, S.; CANCHO-GRANDE, B.; LÓPEZ-BLANCO, M.C. Comparison of solid-phase extraction for carbofuran in water analyzed by high-performance liquid chromatography-photodiode-array detection. **Journal of Chromatography A**, v. 963, p. 117-123, 2002.

GÁNDARA, S.; CANCHO-GRANDE, B.; RIAL OTERO, R. Multiresidue method for fourteen fungicides in white grapes by liquid-liquid and solid-phase extraction followed by liquid chromatography-diode-array detection. **Journal of Chromatography A**, v. 992, p. 121-131, 2003.

GÁNDARA, S. *et al.* The mobility and degradation of pesticides in soil and the pollution of groundwater resources. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Review, 2007.

GARP. ASSOCIAÇÃO GRUPO DE ANALISTAS DE RESÍDUOS DE PESTICIDAS. **Manual de Resíduos de Pesticidas em Alimentos**. 1999.

GUZZELA, L.; POZZONI, F.; GIULIANO, G. Herbicide contamination of superficial groundwater in Northern Italy. **Environmental Pollution**, v. 142, p. 344-353, 2006.

HENNION, M. C. Solid-phase extraction: method development, sorbents, and coupling with liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 856, p. 3-54, 1999.

HERNÁNDEZ, F.; HIDALGO, C.; SANCHO, J. V. Trace determination of triazines herbicides by means of coupled-column liquid chromatography and large volume injection. **Analytica Chimica Acta**, v. 338, p. 223-229, 1997.

HIDALGO, C.; SANCHO, J. V.; HERNANDEZ, F. Trace determination of triazine herbicides by means of coupled-column liquid chromatography and large volume injection. **Analytica Chimica Acta**, v. 338, p. 223-229, 1997.

HUSSAIN, I.; TARIG, M. I.; AFZAL, S. Degradation and persistence of cotton pesticides in sandy loam soils from Punjab, Pakistan. **Environmental Research**, v. 100, p. 184-196, 2006.

INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL. **DOQ-CGCRE-008**: Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos. Brasília, 2003. 35p.

IRGA (Instituto Riograndense do Arroz). Disponível em <<http://www.irga.rs.gov.br>>. Acesso em 26 de abril de 2007.

JEANNOT, R. *et al.* Application of liquid chromatography with mass spectrometry combined with photodiode array detection and tandem mass spectrometry for monitoring pesticides in surface waters. **Journal of Chromatography A**, v. 879, p. 51-71, 2000.

JIMÉNEZ, J. J. *et al.* Comparative study of sample preparation procedures to determine fipronil in pollen by gas chromatography with mass spectrometric and electron-capture detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1146, p. 8-16, 2007.

KATSUMATA, H. *et al.* Degradation of carbofuran in aqueous solution by Fe(III) aquacomplexes as effective photocatalysts. **Journal of Photochemistry and Photobiology A**, v. 170, p. 239-245, 2005.

KAUSHIK, P; KAUSHIK, G. An assessment of structure and toxicity correlation in organochlorine pesticides. **Journal of Hazardous Material**, v. 143, p. 102-111, 2007.

KURZ, M. H. S. **Estudo de métodos empregando Extração em Fase Sólida e análise por HPLC-DAD e GC-ECD para a determinação de resíduos de pesticidas em águas e da degradação a campo**. 2007. 150p. Tese (Doutorado em Química) – UFSM, Santa Maria, RS.

LAABS, V. *et al.* Leaching and degradation of corn and soybean pesticides in Oxisol of the Brazilian Cerrado. **Chemosphere**, v. 41, p. 1441-1449, 2000.

LAGANÁ, A. *et al.* Occurrence and determination of herbicides and their major transformation products in environmental waters. **Analytica Chimica Acta**, v. 462, p. 187-198, 2002.

LANÇAS, F. M. **Extração em Fase Sólida (SPE)**. São Carlos: RiMa, 2004, 93p.

LANÇAS, F. M. **Validação de Métodos Cromatográficos**. São Carlos: RiMa, 2004, 62p.

LARINI, L. **Toxicologia dos praguicidas**. 1ª ed. São Paulo: Editora Manole Ltda, 1999. 230p.

LEITE, F. **Validação em Análise Química**. Ed. Campinas, Átomo, 1996.

LI X. Q. *et al.* Persistence of carbofuran in marine sand and water. **Chemosphere**, v. 54, p. 1155-1161, 2004.

LOURENCETTI, C. *et al.* Avaliação do potencial de contaminação de águas subterrâneas por pesticidas: comparação entre métodos de previsão de lixiviação. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 15, p. 1-14, 2005.

MALDONADO, M. *et al.* Degradation of pesticides in water using solar advanced oxidation process. **Applied Catalysis B: Environmental**, v. 64, p. 272-281, 2006.

MAPA (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO). Disponível em <<http://www.agricultura.gov.br>>. Acesso em 23 de abril de 2007.

MIYAUCHI, T.; MORI, M.; ITO, K. Application of solid-phase extraction to quantitatively determine cyproconazole and tebuconazole in treated wood using liquid chromatography with UV detection. **Journal of Chromatography A**, v. 1063, p. 137-141, 2005.

MOREIRA, M. R. S.; MUCCI, J. L. N.; ABAKERLY, R. B. Monitoramento dos resíduos de carbofurano em área de produção de arroz irrigado – Taubaté, São Paulo. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 71, p. 221-226, 2004.

MURUGESAN, V.; *et al.* Photocatalytic degradation of carbofuran using semiconductor oxides. **Journal of Hazardous Material**, v. 143, p. 240-245, 2007.

MUSARRAT, J.; BANO, N. Characterization of a novel carbofuran degrading *Pseudomonas* sp. with collateral biocontrol and plant growth promoting potential. **FEMS Microbiology Letters**, v. 231, p. 13-17, 2004.

NAVALÓN, A. *et al.* Determination of fipronil by solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 919, p. 215-221, 2001.

NOGUEIRA, J. M. F. *et al.* Novas perspectivas na preparação de amostras para análise cromatográfica. **Química**, p. 69-77, 2006.

PARREIRA, F. V. *et al.* Avaliação da presença de pesticidas N-metil carbamatos e seus produtos de degradação nas águas da região de Pará de Minas (MG) Brasil, **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 11, p. 77-92, 2001.

POPPI, R. J. *et al.* Determination of pesticides and metabolites in wine by high performance liquid chromatography and second-order calibration methods. **Journal of Chromatography A**, v. 1148, p. 200-210, 2007.

PORTO *et al.* Caracterização da Qualidade da água. In: **Hidrologia Ambiental**. Porto Alegre: ABRH, p. 27-66, 1992.

PRIMEL, E. G *et al.* Poluição das águas por herbicidas utilizados no cultivo de arroz irrigado na região central do estado do Rio Grande do Sul, Brasil: predição teórica e monitoramento. **Química Nova**, v. 28, p. 605-609, 2005.

PRIMEL, E. G. **Aplicação da Extração em Fase Sólida e técnicas cromatográficas para a determinação de herbicidas em águas de superfície e acompanhamento da degradação a campo e no laboratório**. 2003. 170p. Tese (Doutorado em Química) – UFSM, Santa Maria, RS.

PRIMEL, E. G. **Desenvolvimento e Validação de Metodologia Analítica para a Determinação do Herbicida Clomazone em Águas de Superfície utilizando SPE e HPLC-DAD**, 2000. 86p. Dissertação (Mestrado em Química) – UFSM, Santa Maria, RS.

QUEIROZ, S. C. N. *et al.* Métodos para a determinação de hexazinone e tebutiuron em água. **Química Nova**, v. 28, p. 380-382, 2005.

RIBANI, M. *et al.* Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, p. 771-780, 2004.

RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. de. **Guia de Herbicidas**. 4. ed. Londrina: IAPAR, 1998. 648p.

RODRIGUEZ-CUESTA, M. J.*et al.* Development and validation of a method for determining pesticides in groundwater from complex overlapped HPLC signal and multivariate curve resolution. **Chenometrics and Intelligent Laboratory Systems**, v. 77, p. 215-260, 2005.

SABIK, H.; JEANNOT, R.; RONDEAU, B. Multiresidue methods using solid-phase extraction techniques for monitoring priority pesticides, including triazines and degradation products, in ground and surface waters **Journal of Chromatography A**, v. 885, p. 217-236, 2000.

SANCHES, S. M et al. Pesticidas e seus respectivos riscos associados à contaminação da água. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 13, p. 53-58, 2003.

SLOBODNÍK, J. *et al.* Monitoring of organic micropollutants in surface water by automated on-line trace-enrichment liquid and gas chromatographic systems with ultraviolet diode-array and mass spectrometric detection. **Journal of Chromatography A**, v. 768, p. 239-258, 1997.

SPADOTTO, *et al.* Monitoramento do risco ambiental de agrotóxicos: princípios e recomendações. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2004, 29p. (Embrapa Meio Ambiente Documentos, 42).

STYCZEN, M. Development of a tool for estimation of pesticides occurrence in surface water under danish conditions. **International Journal Environment Analytical Chemistry**. v. 82, p. 611-630.

SUZUKI, S. *et al.* Monitoring of 15 Pesticides in Rainwater in Utsunomiya, Eastern Japan, 1999-2000. **Journal Pesticides Science**, v. 28, p. 1-7, 2002.

SZÉKÁCS, A. *et al.* Monitoring water-polluting pesticides in Hungary. **Microchemical Journal**, v. 85, p. 88-97, 2007.

TOMLIN, C. D. S. The pesticide manual. 12 ed. **Farnham: The British Crop Protection Council**, 2000.

TOMLIN, C. D. S. The pesticides manual, **The British Crop Protection Council**, versão eletrônica 3.0, 2004.

TOPUZ, S. *et al.* Simultaneous determination of various pesticides in fruit juices by HPLC-DAD. **Food Control**, v. 16, p. 87-92, 2005.

VIDAL, J. L. M. *et al.* Resolution of overlapping peaks in HPLC with diode array detection by application of partial least squares calibration to cross-sections of spectrochromatograms. **Analytica Chimica Acta**, v. 348, p. 177-185, 1997.

VIEIRA, E., LICHITIG, J. Validação de métodos cromatográficos em análise de resíduos de pesticidas. **Arquivo do Instituto Biológico**, v. 71, p. 303-305, 2004.

VIEIRA, V. L. P. *et al.* Effects of the herbicides clomazone, quinclorac, and metsulfuron methyl on acetylcholinesterase activity in the silver catfish. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 61, p. 398-403, 2005.

VRANA B. *et al.* Passive sampling techniques for monitoring pollutants in water. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 24, p. 845-868, 2005.

YAZGAN, M. S. *et al.* Comparison of two methods for estimation of soil sorption for imidacloprid and carbofuran. **Chemosphere**, v. 60, p. 1325-1331, 2005.

YOUNES, M.; GALAL-GORCHEV, H. Pesticides in Drinking Water – A Case Study. **Food and Chemical Toxicology**, v. 38, p. 87-90, 2000.

ZANELLA, R. *et al.* Development and validation of a high-performance liquid chromatographic procedures for the determination of herbicides in surface and agricultural water. **Journal of Separation Science**, v. 26, p. 935-938, 2003.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Comparação dos valores estatísticos obtidos por modelos distintos de curvas analíticas, conforme o programa Statgraphics® Plus 5.1

Tabela 1. Comparação entre os valores estatísticos obtidos por diferentes modelos de curvas analíticas para o herbicida quincloraque

Comparação de Modelos Típicos		
Modelo	r	r ²
Linear	0,9964	0,9928
Raiz quadrada-Y	0,9866	0,9734
Multiplicativo	0,9776	0,9556
Raiz quadrada-X	0,9684	0,9378
Exponencial	0,9377	0,8793
Inverso duplo	0,8729	0,7620
Logarítmo-X	0,8565	0,7336
Curva-S	-0,7096	0,5035
Inverso-X	-0,5157	0,2659

Tabela 2. Comparação entre os valores estatísticos obtidos por diferentes modelos de curvas analíticas para o inseticida carbofurano

Comparação de Modelos Alternativos		
Modelo	r	r²
Linear	0,9877	0,9756
Raiz quadrada-Y	0,9754	0,9499
Multiplicativo	0,9692	0,9394
Raiz quadrada-X	0,9746	0,9514
Exponencial	0,9316	0,8678
Inverso duplo	0,9136	0,8347
Logarítmo-X	0,9337	0,8717
Curva-S	-0,9047	0,8186
Inverso-X	-0,7902	0,6245

APÊNDICE B – Foto da lavoura de arroz no Campus da UFSM

Figura 1. Lavoura de arroz irrigado no Campus da Universidade Federal de Santa Maria onde foram realizados os experimentos de campo

APÊNDICE C – Determinação dos tempos de meia-vida do quincloraque e do carbofurano

Tabela 1. Determinação dos tempos de meia-vida do carbofurano

		C1	C2	C3	C	In	In	In	
		$\mu\text{g L}^{-1}$	$\mu\text{g L}^{-1}$	$\mu\text{g L}^{-1}$	média	C1	C2	C3	Média
		$\mu\text{g L}^{-1}$	$\mu\text{g L}^{-1}$	$\mu\text{g L}^{-1}$	$\mu\text{g L}^{-1}$				
Teórico ($\mu\text{g L}^{-1}$)		400	400	400	400				
Dias	1 dia	nd	nd	nd					
após a aplicação	2 dias	49,27	18,84	15,68	27,93	3,9	2,94	2,75	4,793
	3 dias	52,06	48,386	34,52	44,99	3,95	3,88	3,54	5,687
	5 dias	2,98	0,79	1,03	1,60	1,09	0,23	0,03	0,443
	7 dias	nd	nd	nd					
	10 dias	nd	nd	nd					
	14 dias	nd	nd	nd					

Tabela 2. Equações obtidas a partir dos dados de degradação no campo, safra 2006/2007 para o carbofurano, para calcular o tempo de meia-vida (em dias), a partir da equação $t_{1/2} = \ln 2 / k$

Canteiro	Equação	r²	ln2	t^{1/2}
C1	$y = -1,0059x + 6,3335$	0,8822	0,693	0,68
C2	$y = -1,1988x + 6,1905$	0,723	0,693	0,57
C3	$y = -1,0303x + 5,5408$	0,7277	0,693	0,67
Média	$y = -1,6175x + 9,0324$	0,7757	0,693	0,64

Tabela 3. Determinação dos tempos de meia-vida do quincloraque

		C			In	In	In	Média	
		C4	C5	C6	C4	C5	C6		
		$\mu\text{g L}^{-1}$	$\mu\text{g L}^{-1}$	$\mu\text{g L}^{-1}$	$\mu\text{g L}^{-1}$				
Teórico ($\mu\text{g L}^{-1}$)		375	375	375	375				
Dias após a aplicação	1 dia	332,35	236,59	188,11	252,35	5,81	5,47	5,24	5,50
	2 dias	457,99	396,51	408,00	420,83	6,13	5,98	6,01	6,04
	3 dias	426,46	410,10	434,14	423,57	6,06	6,02	6,07	6,05
	5 dias	344,60	252,77	259,88	285,75	5,84	5,53	5,56	5,65
	7 dias	173,88	103,89	136,57	138,12	5,16	4,64	4,92	4,91
	10 dias	116,91	66,74	104,60	96,08	4,76	4,20	4,65	4,54
	14 dias	55,16	63,58	27,14	48,63	4,01	4,15	3,30	3,82
	21 dias	44,28	37,54		40,91	3,79	3,63		3,71
	28 dias	75,34	46,12	49,32	56,93	4,32	3,83	3,90	4,02
	35 dias	62,98	31,81	31,50	42,10	4,14	3,46	3,45	3,68
	42 dias	28,74	53,16	42,75	41,55	3,36	3,97	3,76	3,70
	49 dias	nd	nd	nd	nd				
	56 dias	nd	nd	nd	nd				
	77 dias	nd	nd	nd	nd				
84 dias	nd	nd	nd	nd					

Tabela 4. Equações obtidas a partir dos dados de degradação no campo, safra 2006/2007 para o quincloraque, para calcular o tempo de meia-vida (em dias), a partir da equação $t_{1/2} = \ln 2 / k$

Canteiro	Equação	r^2	$\ln 2$	$t_{1/2}$
C4	$y = -0,0606x + 5,7782$	0,7532	0,693	11,43
C5	$y = -0,0541x + 5,4523$	0,6521	0,693	12,81
C6	$y = -0,0555x + 5,5006$	0,6306	0,693	12,48
Média	$y = -0,0573x + 5,567$	0,7041	0,693	12,24

ANEXOS

ANEXO A – Dados referentes às datas de coleta das amostras de água de lavoura de arroz irrigado do Campus da UFSM

Tabela 1. Datas das coletas de água dos experimentos com aplicação do herbicida quincloraque

Coleta da água nas parcelas com herbicida

Dia	Dias após o início da irrigação
29/11/2006	1 ^o
30/11/2006	2 ^o
1/12/2006	3 ^o
3/12/2006	5 ^o
5/12/2006	7 ^o
8/12/2006	10 ^o
12/12/2006	14 ^o
19/12/2006	21 ^o
26/12/2006	28 ^o
2/1/2007	35 ^o
9/1/2007	42 ^o
16/1/2007	49 ^o
23/1/2007	56 ^o
30/1/2007	63 ^o
6/2/2007	70 ^o

Aplicação do herbicida: 28/11/2006 (7h00min)

Tabela 2. Datas das coletas de água dos experimentos com aplicação do inseticida carbofurano

Coleta da água nas parcelas com inseticida

Dia	Dias após o início da irrigação
29/11/2006	1 ^o
30/11/2006	2 ^o
1/12/2006	3 ^o
3/12/2006	5 ^o
5/12/2006	7 ^o
8/12/2006	10 ^o
12/12/2006	14 ^o
19/12/2006	21 ^o
26/12/2006	28 ^o
2/1/2007	35 ^o
9/1/2007	42 ^o
16/1/2007	49 ^o
23/1/2007	56 ^o
30/1/2007	63 ^o
6/2/2007	70 ^o

Aplicação do inseticida: 28/11/2006 (8h00min)

ANEXO B – Limites máximos de resíduos: ANVISA

Pesticida	LMR ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Alacloro	20
Aldrin e Dieldrin	0,03
Atrazina	2
Bentazona	300
2,4 -D	30
DDT	2
Endossulfan	20
Endrin	0,6
Glifosato	500
Hexaclorobenzeno	1
Lindano	2
Metacloro	10
Molinato	6
Pentaclorofenol	9
Permetrina	20
Propanil	20
Simazina	2
Trifluralina	20

ANEXO C – Limites máximos de resíduos: CONAMA – Águas doces

Pesticidas	Classe 1* e 2**	Classe 3***
	LMR ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LMR ($\mu\text{g L}^{-1}$)
Alacloro	20	
Aldrin e Dieldrin	0,005	0,03
Atrazina	2	2
Carbaril	0,02	70
2,4 -D	4	30
DDT	0,002	1
Endossulfan	0,056	0,22
Endrin	0,004	0,2
Glifosato	65	280
Hexaclorobenzeno	0,0065	
Lindano	0,02	2
Malation	0,1	100
Metacloro	10	
Paration	0,04	35
Pentaclorofenol	0,009	0,009
Simazina	2	
Trifluralina	0,2	

* = águas que podem ser destinadas ao abastecimento humano, após tratamento simplificado;

** = águas que podem ser destinadas ao abastecimento humano após tratamento convencional;

*** = águas que podem ser destinadas à irrigação de culturas arbóreas, cerealíferas e forrageiras