

ANA LÚCIA DE TOFFOLI

**Fipronil e produtos de degradação: Adaptação de
método analítico e caracterização de amostras de
água, solo e sedimento da Bacia Hidrográfica do
Turvo/Grande**

São José do Rio Preto, 28 de Fevereiro de 2014

ANA LÚCIA DE TOFFOLI

**Fipronil e produtos de degradação: Adaptação de método analítico e
caracterização de amostras de água, solo e sedimento da Bacia
Hidrográfica do Turvo/Grande**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (IBILCE) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de São José do Rio Preto como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Química.

São José do Rio Preto, 28 de Fevereiro de 2014

Toffoli, Ana Lúcia de.

Fipronil e produtos de degradação : adaptação de método analítico e caracterização de amostras de água, solo e sedimento da Bacia Hidrográfica do Turvo/Grande / Ana Lúcia de Toffoli. -- São José do Rio Preto, 2014

101 f. : il., gráfs., tabs.

Orientador: Altair Benedito Moreira

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas

I. Química ambiental. 2. Toxicologia ambiental. 3. Produtos químicos agrícolas – Biodegradação. 4. Turvo Grande, Bacia Hidrográfica (SP)
I. Moreira, Altair Benedito. II. Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho". Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas. III. Título.


CDU – 54:577.4

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca do IBILCE
UNESP - Câmpus de São José do Rio Preto

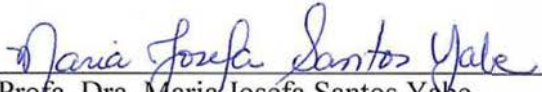
ANA LÚCIA DE TOFFOLI

**Fipronil e produtos de degradação: Adaptação de método analítico e
caracterização do solo, água superficial e sedimento de rios da Bacia
Hidrográfica do Turvo/Grande**

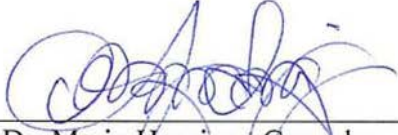
BANCA EXAMINADORA



Prof. Dr. Altair Benedito Moreira
Professor Assistente Doutor
UNESP – São José do Rio Preto
Orientador



Prof. Dra. Maria Josefa Santos Yabe
Professor Associado
Universidade Estadual de Londrina



Prof. Dr. Mario Henrique Gonzalez
Professor Assistente Doutor
UNESP – São José do Rio Preto

São José do Rio Preto, 28 de Fevereiro de 2014

DEDICATÓRIA

Dedico com amor e carinho:

Aos meus pais, Célia e Antônio pela oportunidade e incentivo para realizar meus estudos e pelo constante apoio e amor incondicional. Dizer obrigada seria pouco para expressar a gratidão e o amor que tenho por vocês. Vocês são e sempre serão os principais responsáveis por todas as conquistas em minha vida.

Amo Muito Vocês!!!

AGRADECIMENTOS

Acima de tudo a Deus e a Nossa Senhora Aparecida, por me abençoarem sempre, iluminando meu caminho e dando-me sabedoria necessária para realizar os meus sonhos.

Ao meu namorado, Hugo Lacerda por seu exemplo de perseverança, por sempre ter me dado forças para vencer cada etapa e por me confortar em todos os momentos. Agradeço pelo seu amor, apoio, carinho, compreensão e companheirismo que nunca me foram ausentes. Te amo muito e sempre!!!

A Dona Fraíde, ao Sr. João, a Eliete e ao Gelson por todo carinho e apoio durante esses anos, vocês foram muito importantes na minha caminhada.

Ao Prof. Dr. Altair pela orientação, confiança, amizade, por todas as oportunidades que me proporcionou e pelo crescimento profissional e pessoal adquirido durante esses anos.

À Prof^a. Dr^a. Márcia Cristina Bisinoti pelos conselhos e por todo o incentivo que me ajudou muito.

Aos Profs. Drs. Mario Henrique Gonzalez e Eduardo Alves de Almeida pela participação no exame de qualificação, pelas valiosas contribuições e por todo saber compartilhado.

Ao Profs. Drs. Antônio Aparecido Mozeto e Pedro Sérgio Fadini, pelo empréstimo do amostrador de sedimentos e a Prof^a. Dr^a. Maria Stela Noll pelo empréstimo dos coletes salva-vidas para a realização das coletas.

Ao Prof. Dr. Flávio Fernando Manzini e ao técnico Nilson Dias Menezes pelo empréstimo dos materiais para as análises de granulometria.

Ao Elias Tessaro e a Rose do laboratório ThoMson e ao Guilherme do laboratório de Biogeoquímica Ambiental (LBGqA) por todos os ensinamentos.

À CAPES pela bolsa concedida.

À FAPESP pelo financiamento deste projeto.

Ao meu amigo querido Pedro Henrique Vendramini, por todos esses anos de grande amizade, que mesmo distante dos olhos está eternamente em meu coração.

Ao pessoal do Laboratório de Estudos em Ciências Ambientais (LECA) Isabela, Laís, Hortênsia, André, Amanda, Augusto, Bruna, Renata, Henrique, Vinicius, Flávia, Gláucia, Nathalia, Nayrê, Augusto, Jéssica, João Paulo (por toda a ajuda na construção dos gráficos de Shepard), a Kamilla pela ajuda e amizade que foi estabelecida durante toda a convivência, tempo de muito crescimento para nós, e a todos que por lá passaram, pela companhia e momentos de descontração, tornando a rotina de trabalho mais agradável.

Aos professores do Departamento de Química e Ciências Ambientais (DQCA) que contribuíram muito para a minha formação.

Aos funcionários do DQCA Rita Beatriz (secretária aposentada), Gláucia (secretária), Claudinei (técnico), Daniela (técnica) e Eliani (técnica) pela atenção, dedicação e apoio nesses anos.

Agradecer a todos que contribuíram para a realização deste trabalho, mostrou ser uma tarefa difícil. Mas gostaria de agradecer novamente a todas as pessoas que direta ou indiretamente tornaram a realização desse trabalho possível. Sabemos que agradecimentos nunca são suficientes. O sentimento é maior do que as palavras.

Às vezes a caminhada é longa e os obstáculos parecem intermináveis, mas fica a mercê de cada um querer ou não chegar até o fim.

MUITO OBRIGADA!

RESUMO

Este trabalho consistiu na adaptação do método O-1126-02 da Agência de Pesquisa Geológica dos Estados Unidos para extrair e quantificar o fipronil e seus produtos de degradação (fipronil sulfona, fipronil sulfide e fipronil dessulfinil) em amostras de água superficial, solo e sedimento coletados em corpos d'água na bacia hidrográfica do Turvo/Grande (BHTG). Para isso, coletas de água superficial, solo e sedimento em dois períodos distintos (estação seca e chuvosa) foram realizadas. As coletas de água superficial foram realizadas em 06 locais representativos ao longo dos Rios Turvo, Preto e Grande e as amostras de solo e sedimento foram coletadas em regiões vizinhas aos locais empregados na amostragem da água superficial. Nas amostras de água superficial e sedimento para todos os locais de amostragem não foi detectado nenhum dos analitos estudados. Somente para as amostras de solo foi possível quantificar o fipronil e os produtos de degradação F. sulfona e F. sulfide, já o metabólito F. dessulfinil foi somente detectado. No período de seca somente no ponto Rio Turvo em Olímpia (PORTUR) foram encontrados os analitos, já para o período de chuva, com exceção do ponto nascente do Rio Preto (NRP) em todos os demais foram quantificados o agrotóxico fipronil e produtos de degradação. Foi possível inferir por meio do índice de GUS que os produtos de degradação F. sulfona e F. sulfide apresentam improvável lixiviação, já o fipronil e o F. dessulfinil se encontram na zona de transição, isso indica que os analitos devem possuir maior afinidade com o solo, e se lixiviados estão mais suscetíveis a se ligarem ao sedimento.

Palavras-chave: fipronil, matrizes ambientais, produtos de degradação, GC-MS, BHTG.

ABSTRACT

This work consisted in the adaptation of 1126-02 O- method Agency United States Geological Survey to extract and quantify fipronil and its degradation products (fipronil sulfone, fipronil sulfide and fipronil dessulfinyl) in samples of surface water , soil and sediment collected in water bodies in the watershed of Turvo/Grande (BHTG). For this, samples of surface water, soil and sediment in two different periods (dry and rainy seasons) were performed. Sampling of surface water were performed in 06 representative over the Grande, Preto and Turvo rivers and samples of soil and sediment were collected from local neighboring regions to local employees in the sampling of surface water. In samples of surface water and sediment for all sampling sites wasn't detected any analytes studied. Only in soil samples was possible to quantify fipronil and F. sulfone and F. sulfide degradation products, however the metabolite F. dessulfinyl was only detected. During the dry season only point in Turvo river in Olímpia (PORTUR) found the analytes, and for the rainy season, with the exception of the rising point of the Preto river (NRP) in all other pesticide fipronil and degradation products were quantified. It was possible to infer from the GUS index that degradation products F. sulfone and F. sulfide leaching present unlikely, since fipronil and F. dessulfinyl are in the transition zone, this indicates that the analytes must have greater affinity with the soil, and leachates are more likely to bind to sediment.

Keywords: fipronil, environmental matrices, degradation products, GC-MS, BHTG.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01: Movimento dos agrotóxicos no ciclo hidrológico (Adaptado Infobibos, 2010).....	7
Figura 02: Etapas em SPE para isolamento dos analitos (Fonte: Adaptado Fernando Lanças, 04).....	12
Figura 03: Mapa com os principais corpos aquáticos e localização dos pontos de amostragem ao longo da bacia hidrográfica do Turvo/Grande (Adaptado Campanha, 2010).....	22
Figura 04: Fotos dos seis locais de amostragem selecionados ao longo dos rios da BHTG, sendo (a) NRP, (b) CAPRP, (c) PORTUR, (d) RPARTUR, (e) RTURARG e (f) RGRANDE.....	25
Figura 05: a) Amostras de água armazenadas em vidro e caixas térmicas, b) Preparo do solo para amostragem e medição da profundidade, c) Amostras de solo previamente homogeneizado, d) Amostrador Van-Veen para coleta de sedimento e e) Coleta de sedimento superficial.....	29
Figura 06: Organograma das etapas de condicionamento dos cartuchos e da extração e pré-concentração de fipronil e produtos de degradação amostras de água por SPE.....	37
Figura 07: Sistema de SPE com manifold utilizado na extração e pré-concentração das amostras de água.....	37
Figura 08: No detalhe preparo da amostra de solo para posterior extração em ultrassom, o qual foi utilizado para extração das amostras de solo e sedimento.....	39
Figura 09: Resultados das amostras de água para COT no período de chuva e seca (n=1).....	43
Figura 10: Diagrama ternário da classificação textural de Shepard das amostras de solo coletadas no período de seca e chuva em 4 locais de amostragem na BHTG (n=1).....	45
Figura 11: Diagrama ternário da classificação textural de Shepard das amostras de sedimento coletadas no período de seca e chuva em 4 locais de amostragem na BHTG (n=1).....	47
Figura 12: Resultados da análise elementar das amostras de solo no período de seca e chuva (n=1).....	48
Figura 13: Resultados da análise elementar das amostras de sedimento no período de seca e chuva (n=1).....	50
Figura 14: Cromatogramas do fipronil e produtos de degradação nas concentrações de 20, 40, 60, 80, 100 e 120 $\mu\text{g L}^{-1}$ utilizados para a construção da curva analítica.....	52

Figura 15: Curvas analíticas utilizadas na quantificação do fipronil, F. sulfona, F. sulfide e F. dessulfinil nas amostras ambientais.....	53
Figura 16: (a) Cromatograma do padrão misto do fipronil seus produtos de degradação na concentração de $60 \mu\text{g L}^{-1}$ em GC-MS e (b) o cromatograma ampliado.....	54
Figura 17: Cromatograma na concentração de $60 \mu\text{g L}^{-1}$ e espectro de massas do analito F. dessulfinil.....	54
Figura 18: Cromatograma na concentração de $60 \mu\text{g L}^{-1}$ e espectro de massas do analito F. sulfide.....	54
Figura 19: Cromatograma na concentração de $60 \mu\text{g L}^{-1}$ e espectro de massas do analito fipronil.....	55
Figura 20: Cromatograma na concentração de $60 \mu\text{g L}^{-1}$ e espectro de massas do analito F. sulfona.....	55
Figura 21: Curva analítica do fipronil apresentando a regressão linear.....	56
Figura 22: Curva analítica do F. sulfide apresentando a regressão linear.....	57
Figura 23: Curva analítica do F. sulfona apresentando a regressão linear.....	57
Figura 24: Curva analítica do F. dessulfinil apresentando a regressão linear.....	58
Figura 25: Cromatograma da amostra de solo PORTUR amostrada no período de seca.....	64
Figura 26: Cromatograma da amostra de solo PORTUR amostrada no período de chuva.....	65
Figura 27: Cromatograma da amostra de solo RTURARG amostrada no período de chuva.....	65
Figura 28: Cromatograma da amostra de solo RPARTUR amostrada no período de chuva.....	66

LISTA DE TABELAS

Tabela 01: Estrutura do fipronil e seus principais produtos de degradação.	10
Tabela 02: Localização dos pontos de coleta de água, solo e sedimento, denominações e suas respectivas coordenadas geográficas.	24
Tabela 03: Tempo de retenção e íons selecionados (m / z) do fipronil e seus produtos de degradação.	32
Tabela 04: Condições cromatográficas do método oficial e do método adaptado utilizadas para a quantificação dos analitos.	33
Tabela 05: Valores de pH, temperatura (T), oxigênio dissolvido (OD) e turbidez obtidos na amostragem das águas superficiais dos seis corpos aquáticos pertencentes à BHTG no período de seca de 2012 e de chuva de 2013 (n=1).	42
Tabela 06: Valores de pH, teor de umidade e matéria orgânica das amostras de solo coletadas em quatro pontos pertencentes à BHTG no período de seca de 2012 e de chuva de 2013 (n=1)	44
Tabela 07: Valores de pH, umidade e matéria orgânica das amostras de sedimento coletadas em quatro pontos pertencentes à BHTG no período de seca de 2012 e de chuva de 2013 (n=1).	46
Tabela 08: Valores da razão C/N para o período de seca e chuva nas amostras de solo (n=1).	49
Tabela 09: Valores da razão C/N para o período de seca e chuva nas amostras de sedimento (n=1).	50
Tabela 10: Resultados de repetitividade e precisão intermediária dos padrões analíticos do fipronil e produtos de degradação.	59
Tabela 11: Valores de concentração adicionada ($\mu\text{g L}^{-1}$ e $\mu\text{g Kg}^{-1}$), recuperação e desvio padrão relativo para os testes de recuperação das amostras de água, solo e sedimento.	60
Tabela 12: Limites de Quantificação (LQ) e Limites de Detecção (LD) obtidos para os analitos estudados.	61
Tabela 13: Resultados das análises de fipronil e seus principais produtos de degradação em amostras de solo. Todas as amostras tiveram um fator de concentração de 50 vezes.	63

Tabela 14: Propriedades físico-químicas do fipronil e produtos de degradação e valores de GUS para amostras de solo utilizando a Equação 8. 68

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1: Regressão linear da curva analítica.....	15
Equação 2: Cálculo do desvio padrão absoluto (s).....	15
Equação 3: Cálculo do desvio padrão relativo (RSD) ou coeficiente de variação (CV).....	16
Equação 4: Cálculo da recuperação dos analitos.....	17
Equação 5: Cálculo do limite de detecção.....	18
Equação 6: Cálculo do limite de quantificação.....	18
Equação 7: Cálculo do índice de GUS.....	67

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ABNT – Associação Brasileira de Normas

Técnicas

ANVISA – Agência Nacional de Vigilância

Sanitária

BHTG – Bacia Hidrográfica do

Turvo/Grande

CAPRP – Captação do Rio Preto

CESTESB – Companhia de Tecnologia de

Saneamento Ambiental

CHN – Análise elementar

CONAMA – Conselho Nacional do Meio

Ambiente

COT – Carbono orgânico total

EMBRAPA – Empresa Brasileira de

Pesquisa Agropecuária

EPA – Environmental Protection Agency

GC-MS – Cromatógrafo gasoso acoplado a

espectrômetro de massas

GUS – Groundwater Ubiquity Score

ICH – International Conference on

Harmonisation

INMETRO – Instituto Nacional de

Metrologia, Qualidade e Tecnologia

K_{ow} – Coeficiente de partição octanol-água

LD – Limite de detecção

LQ – Limite de quantificação

m/z – massa carga

NH₄OH – Hidróxido de amônio

NOAA – National Oceanic and Atmospheric

Administration

NRP – Nascente do Rio Preto

OD – Oxigênio dissolvido

PORTUR – Rio Turvo entre São José do

Rio Preto e Olímpia

RGRANDE – Rio Grande

RPARTUR – Rio Preto antes de desaguar

no Rio Turvo

RTURARG – Rio Turvo antes de desaguar

no Rio Grande

SPE – Extração em fase sólida

USGS – U. S. Geological Survey

UGRHI – Unidade de Gerenciamento de

Recursos Hídricos

F. – Fipronil

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
2.1. Comportamento dos agrotóxicos no ambiente	6
2.2. Contaminação das águas, solos e sedimentos.....	8
2.3. Fipronil e produtos de degradação	9
2.4. Extração e pré - concentração em fase sólida (SPE) de amostras de água superficial	11
2.5. Extração de agrotóxicos por ultrassom em amostras de solo e sedimento	13
2.6. Cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrômetro de massas (GC-MS).....	13
2.7. Validação de métodos cromatográficos.....	14
2.7.1. Seletividade e especificidade	14
2.7.2. Linearidade e curva analítica.....	15
2.7.3. Precisão	15
2.7.4. Exatidão.....	17
2.7.5. Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ)	17
3. OBJETIVOS	19
3.1. Objetivo geral	20
3.2. Objetivos específicos	20
4. PARTE EXPERIMENTAL.....	21
4.1. Área de estudo, pontos de amostragem e períodos de coleta	22
4.2. Reagentes.....	26
4.3. Padrão Interno – Fenantreno-d10	26
4.4. Surrogate – Diazinon-d10.....	26
4.5. Materiais e equipamentos	27
4.6. Limpeza dos materiais	27
4.7. Procedimento de amostragem e preservação de amostras.....	27
4.8. Caracterização físico-química das amostras.....	30
4.8.1. Amostras de água superficial	30
4.8.2. Amostras de solo e sedimento.....	30
4.9. Análise elementar (CHN)	31

4.10. Adaptação e validação do método analítico para análise de fipronil e produtos de degradação	31
4.10.1. Condições cromatográficas utilizadas para a determinação do fipronil e produtos de degradação.....	32
4.10.2. Seletividade e especificidade	34
4.10.3. Linearidade e curva analítica.....	34
4.10.4. Precisão	34
4.10.5. Exatidão.....	35
4.10.6. Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ)	35
4.11. Procedimento de extração e quantificação do fipronil e produtos de degradação em amostras de água por extração em fase sólida (SPE)	36
4.12. Procedimento de extração e quantificação do fipronil e produtos de degradação em amostras de solo e sedimento por ultrassom	38
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
5.1. Caracterização físico-química das amostras.....	41
5.1.1. Amostras de água superficial	41
5.1.2. Amostras de solo	43
5.1.3. Amostras de sedimento	45
5.2. Análise elementar (CHN)	48
5.2.1. Amostras de solo	48
5.2.2. Amostras de sedimento	49
5.3. Adaptação e validação do método analítico para análise de fipronil e produtos de degradação	51
5.3.1 Condições cromatográficas	51
5.3.2. Curva analítica para quantificação do fipronil e produtos de degradação em água, solo e sedimento.....	51
5.3.3. Seletividade e especificidade	53
5.3.4. Linearidade e curva analítica.....	56
5.3.5. Precisão	58
5.3.6. Exatidão.....	59
5.3.7. Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ)	61

5.4. Análises das amostras ambientais.....	61
5.4.1. Água superficial	61
5.4.2. Solo.....	63
5.4.3. Sedimento.....	68
6. CONCLUSÕES	70
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	73

1. INTRODUÇÃO



Rio Turvo – Olímpia

Defensivos agrícolas, praguicidas, pesticidas, remédios de plantas, veneno ou agrotóxicos são algumas das várias denominações referentes a um conjunto de substâncias químicas utilizadas no combate de pragas e doenças de plantas (PERES; MOREIRA, 2003).

Com o aumento populacional a demanda por alimentos tem aumentado, tornando necessário o desenvolvimento e aplicação de novos princípios ativos para o controle de pragas. Grandes ganhos de produtividade na agricultura têm sido alcançados através do uso de agrotóxicos, principalmente após a segunda guerra mundial. Os agrotóxicos são aplicados geralmente em grandes quantidades e, após os eventos de chuva devido ao escoamento superficial agrícola tem como principal destino as matrizes ambientais água, solo, sedimento e ar (NAVALÓN et al., 2002; FILHO; SANTOS; PEREIRA, 2010; GALLI; SOUZA; MACHADO, 2011). Devido à alta toxicidade e persistência desses compostos no ambiente, diversas alternativas para o controle de pragas em variadas culturas foram propostas, entre elas a utilização dos agrotóxicos organofosforados, carbamatos, piretróides entre outros, os quais estão entre os mais utilizados no mundo (AZEVEDO et al., 2000; MANIRAKIZA et al., 2001; MARGARIDO et al., 2013).

Esses agrotóxicos podem ser classificados quanto à ação que exercem diante da praga a ser combatida em: herbicidas, fungicidas, acaricidas, inseticidas e outros, ou quanto a sua estrutura química em: clorados, fosforados, carbamatos, piretróides, tiocarbamatos, derivados da uréia, e outros.

O Brasil vem se destacando como um dos maiores consumidores mundiais de agrotóxicos, sendo as culturas de soja, cana-de-açúcar, milho e arroz as principais responsáveis por esse elevado consumo (SINDAG). De acordo com a União da Indústria de Cana-de-açúcar (ÚNICA) o Brasil produziu 569 milhões de toneladas de cana-de-açúcar durante os anos de 2008/2009. Esse valor corresponde a quase o dobro que foi produzido nos anos de 2001/2002, sendo a grande consequência dessa expansão, a intensa utilização de agrotóxicos.

Dentre todos os agrotóxicos comercializados, o inseticida fipronil vem sendo amplamente utilizado, principalmente na cultura de cana-de-açúcar, a qual é considerada a segunda maior responsável pelo consumo de agrotóxico no país (CABRERA; COSTA; PRIMEL, 2008; MANRIQUE; FIGUEIREDO; MACHADO-NETO, 2013). O inseticida fipronil ((RS)-5-amino-1-(2,6-dichloro- α,α,α -trifluoro-p-tolyl)-4-trifluoromethylsulfanylpyrazole-3-carbonitrile, é um

produto do pirazol, bem como seus principais produtos de degradação, o fipronil sulfona, fipronil sulfide e o fipronil dessulfinitil. Este agrotóxico vem sendo utilizado na agricultura como inseticida, formicida e cupinicida em culturas de arroz, batata, milho, algodão e principalmente no cultivo da cana-de-açúcar, sendo esta também usada em várias composições de produtos veterinários, entre outras formulações, sendo as mais conhecidas Termidor[®], Frontline[®], Regent[®] e Evolution[®]. (KADAR; FAUCON, 2006; VÍLCHEZ et al., 2001; OLIVEIRA; BECHARA; CAMARGO-MATHIAS, 2008; MARTINI, 2010).

A degradação do fipronil ocorre em condições oxidativas e de redução produzindo assim diferentes produtos de degradação. No solo, o fipronil pode sofrer redução a fipronil sulfide ou oxidação a fipronil sulfona. Já o fipronil amida e fipronil dessulfinitil são resultantes da sua hidrólise e fotodegradação, respectivamente (BOBÉ; COSTE; COOPER, 1997; LIN et al., 2009). Alguns dos produtos de degradação gerados pela degradação do fipronil são considerados mais tóxicos do que o composto parental, sendo eles o fipronil sulfide, fipronil sulfona e o fipronil desulfinitil (WU et al., 2011).

As principais fontes de contaminação das águas dos rios e do lençol freático são provenientes dos despejos de efluentes domésticos e resíduos industriais contendo metais tóxicos e contaminantes orgânicos (FILIZOLA et al., 2002; PINA et al., 2009). Dentre os contaminantes orgânicos, fazem parte desta classe os agrotóxicos aplicados na agricultura, os quais podem atingir as águas superficiais por diferentes maneiras como exemplo, por drenagem, percolação lateral, escoamento superficial e subsuperficial, erosão e por volatilização seguida de precipitação (BROWN; VAN BEINUM, 2009).

Com relação as matrizes solo e sedimento, os compostos orgânicos tendem a se acumular em função da concentração de matéria orgânica, devido ao caráter lipofílico (SECCO et al., 2005). A persistência desses compostos nas matrizes solo e sedimento variam conforme a eficiência dos processos físicos capazes de alterar o ambiente, tais como evaporação, lixiviação, erosão, temperatura, matéria orgânica, umidade, tipo de solo entre outros (SMALLING; KUIVILA, 2008). A caracterização dos agrotóxicos nos solos, corpos aquáticos e sedimentos podem contribuir significativamente para o conhecimento e acompanhamento do estado de conservação de uma bacia hidrográfica. Entretanto, mais importante que determinar o estoque

dos agrotóxicos no ambiente é entender o seu comportamento desde a sua aplicação até o destino final.

Do ponto de vista ambiental é extremamente importante determinar o estoque desses agrotóxicos na água superficial, solo e sedimento, já que esses compostos podem indicar a qualidade ambiental da região em estudo. A averiguação desses compostos nos trazem informações de grande importância, como por exemplo, o destino desses analitos no ambiente, a afinidade desses compostos com os compartimentos ambientais, o tipo de utilização e manejo com esses produtos, entre outros.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA



Rio Turvo – Cardoso

2.1. Comportamento dos agrotóxicos no ambiente

A partir do momento em que ocorre o aporte das moléculas dos agrotóxicos no ambiente, elas podem ser modificadas pela ação da luz solar, pela água ou por outros compostos, bem como, pela ação de microorganismos, como as bactérias (KATAGI, 2004; CHEYNS, et al., 2010). A degradação normalmente resulta na produção de compostos menos tóxicos. Entretanto pode ocorrer a formação de produtos de degradação ainda mais tóxicos que o composto de origem (MUNEER; THEURICH; BAHNEMANN, 1999; GUNASEKARA; TROUNG, 2007).

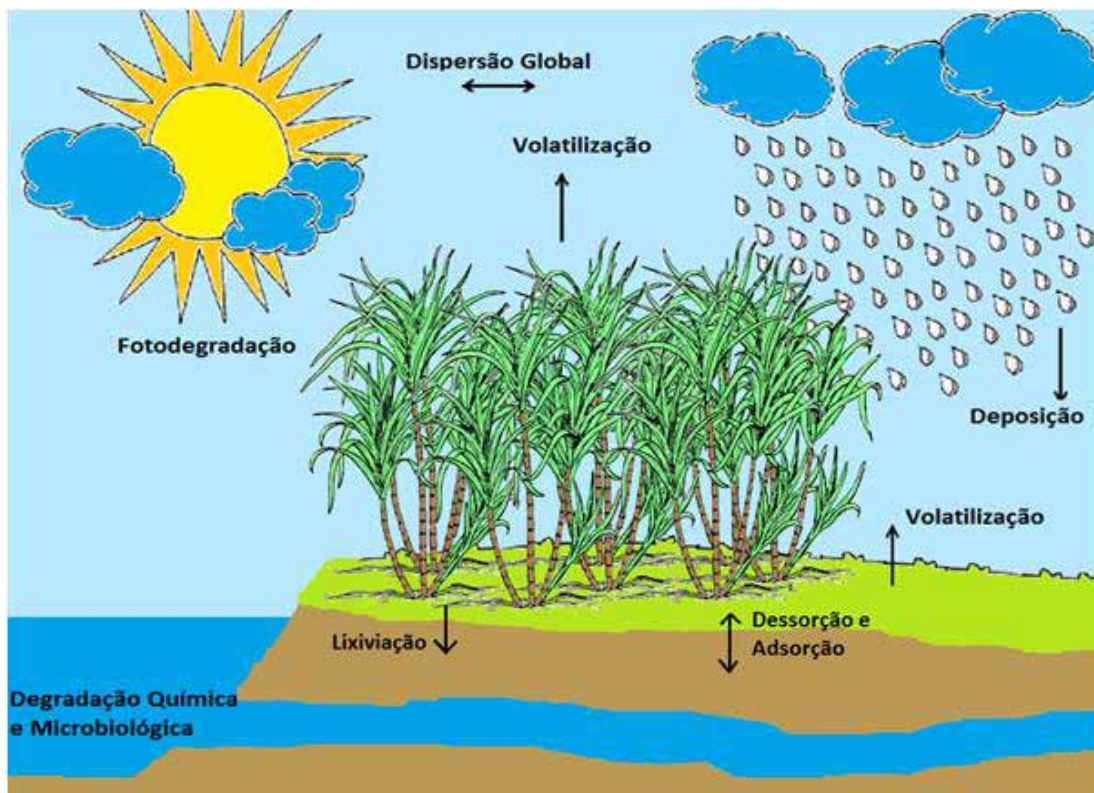
Alguns agrotóxicos, como os organoclorados apresentam grande estabilidade no ambiente devido a sua degradação lenta, podendo assim permanecer estáveis por longo período de tempo sem sofrer alteração (KATAYAMA; MATSUMURA, 1993). Já outros compostos têm maior probabilidade de serem transportados a maiores distâncias e permanecer no ambiente como poluentes. Além da persistência, existem outras propriedades dos agrotóxicos que interferem o seu comportamento no ambiente. Dentre elas destacam-se o coeficiente de adsorção (K_{oc}) que se refere ao processo pelo qual os compostos são retidos em uma superfície sólida, especialmente às partículas do solo, a solubilidade, a densidade que possibilita determinar seu potencial de lixiviação, a pressão de vapor e o coeficiente de partição octanol-água (K_{ow}) (COQUET; BARRIUSO, 2002). Este último representa o balanço entre as propriedades hidrofílicas e lipofílicas do composto, que influenciam no transporte de um composto orgânico no ambiente (FINIZIO; VIGHI; SANDRONI, 1997). Agrotóxicos com elevado valor de K_{ow} apresentam características lipofílicas e, portanto, possuem maior potencial para acumulação nos organismos e matrizes ambientais ao invés de serem lixiviados (BRAEKEVELT; TITTEMIER; TOMY, 2003).

A adsorção é considerada um dos principais processos que influenciam a interação entre o agrotóxico e a fase sólida do solo (FARENHORST et al., 2008), influenciando diretamente a magnitude do efeito de outros fatores como biodegradabilidade e lixiviação, podendo assim contribuir para a contaminação ou não de corpos aquáticos ou lençol freático (KOOKANA; BASKARAN; NAIDU, 1998). A adsorção nos colóides do solo, especificamente na fração mineral, para a maioria dos agrotóxicos, envolve diferentes mecanismos, como: fixação física, forças de Van der Waals, ligação de hidrogênio, ligação iônica, complexação por íons metálicos,

ligação hidrofóbica, complexo de transferência de carga, entre outras (DE JONGE; DE JONGE, 1999).

As características e as propriedades dos agrotóxicos no ambiente permitem prever suas interações com o solo e a possibilidade de contaminação e transporte quando estes estão dissolvidos em água ou associados aos sedimentos (CARVALHO; PAULILLO, 2006). Quando os agrotóxicos são aplicados diretamente no solo podem ser degradados por vias químicas, fotólise e pela ação de outros microorganismos. Porém, as moléculas com alta persistência podem permanecer no ambiente sem sofrer alterações por um longo período. Essas moléculas de agrotóxicos podem sofrer lixiviação e atingir os lençóis subterrâneos, serem adsorvidas e dessorvidas nas partículas do solo, sofrer carreamento e atingir as águas superficiais, serem dispersas na atmosfera, se depositarem nos solos e nos sedimentos (IBAÑEZ; PICO; MANES, 1996). O comportamento dos agrotóxicos nos diversos compartimentos ambientais está demonstrado na Figura 01.

Figura 01: Movimento dos agrotóxicos no ciclo hidrológico (Adaptado Infobibos, 2010).



2.2. Contaminação das águas, solos e sedimentos

O risco de contaminação ambiental depende de diversos fatores e seus efeitos causados no meio ambiente dependem da ecotoxicidade, da concentração, do modo e das condições de aplicação, das propriedades físico-químicas, das condições ambientais, do comportamento e destino dos agrotóxicos no ambiente (SPADOTTO et al., 2004; ROCHA et al., 2004).

Os agrotóxicos podem alcançar os corpos aquáticos, os solos e os sedimentos diretamente e indiretamente devido ao controle de plantas daninhas, drenagem de terras agrícolas, permeação, lixiviação, entre outros (BIZIUK et al., 1996).

Os agrotóxicos possuem diversas utilidades sendo a agricultura, sem dúvida, o setor que mais os utiliza (PEREIRA, 2003). A contaminação das águas ocorre principalmente devido a lixiviação das águas de chuva e de irrigação, mas também deve se levar em consideração diferentes possibilidades de contaminação (MARTINS, 2004).

É importante destacar que a solubilidade em água desses agrotóxicos interfere no comportamento, transporte e destino final desses compostos no meio ambiente, a solubilidade é considerada um fator importante já que mostra a tendência do composto ser lixiviado superficialmente e atingir assim águas superficiais (XUE; ZHANG; XU, 2006).

A persistência desses agrotóxicos no solo e sedimento dependem da eficiência dos processos físicos de transformação no meio ambiente, entre eles temos erosão, lixiviação, evaporação, absorção pelo meio, adsorção e outros fatores como temperatura, umidade, acidez, pH, tipo de solo e outros (ROBERTSON; LESTER, 1994).

Os principais processos que modificam os agrotóxicos nas matrizes solo e sedimento são a sorção e a dessorção. Estes processos estão diretamente relacionados com a biodegradabilidade e biocumulação. Pelas propriedades do solo pode-se calcular o valor de Koc, o qual se baseia na quantidade de carbono contida no solo ou sedimento. As moléculas com alta solubilidade apresentam valores de Koc geralmente baixos e conseqüentemente são rapidamente biodegradados nos compartimentos ambientais (CUNHA, 2003).

A sorção e a dessorção de compostos orgânicos são também influenciadas por alguns fatores como acidez, alcalinidade, polaridade das moléculas, funções orgânicas, solubilidade em água entre outros (CABRERA, 2008; VIEIRA et al., 1999).

2.3. Fipronil e produtos de degradação

No Brasil o fipronil foi o primeiro praguicida fenilpirazol sintetizado em laboratório em 1987 por Rhône-Poulenc Agro Company, atualmente conhecida como Bayer CropScience. Ele foi introduzido no mercado em 1933 e registrado no ano de 1966 nos EUA. No Brasil, o começo de sua utilização foi registrado em 2000, na região nordeste do país (MASUTTI; MERMUT, 2007) é classificado como pesticida de segunda geração e classificação toxicológica classe II pela EPA – Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (GUNASEKARA et al., 2007). O agrotóxico fipronil ((RS)-5-amino-1-(2,6-dichloro- α,α,α -trifluoro-p-tolyl)-4-trifluoro methylsulfinylpyrazole-3-carbonitrile, é um produto do pirazol (TINGLE et al., 2003), bem como seus principais produtos de degradação, o F. sulfona, F. sulfide e o F. dessulfinil conforme mostrado na Tabela 01.

O produto Regent 800WG o qual contém 80% de fipronil em sua composição é muito utilizado em plantações de cana-de-açúcar, geralmente no período de junho a agosto, depois do plantio e em sulcos no solo, com o propósito de criar um bloqueio contra os insetos (AGROFIT, 2007; MOREIRA; SANTOS; ROCHA, 2012). A Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA também disponibiliza informações referentes a uma grande variedade de agrotóxicos, onde é possível obter dados referentes ao grupo químico, ingrediente ativo, classe toxicológica, formulação e o tipo de cultura em que são utilizados.

Tabela 01: Estrutura do fipronil e seus principais produtos de degradação.

Nome do Ingrediente Ativo	Estrutura Molecular	Fórmula Molecular
FIPRONIL		$C_{12}H_4Cl_2F_6N_4OS$
FIPRONIL SULFONA		$C_{12}H_4Cl_2F_6N_4O_2S$
FIPRONIL DESSULFINIL		$C_{12}H_4Cl_2F_6N_4$
FIPRONIL SULFIDE		$C_{12}H_4Cl_2F_6N_4S$

O fipronil é considerado um composto estável à temperatura ambiente, possuindo baixa solubilidade em água e maior afinidade por matrizes orgânicas tal como lipídeos, óleos e solventes orgânicos (GUNASEKARA et al., 2007). É degradado lentamente no solo e na água (TINGLE et al., 2003), sendo que no solo o fipronil depende dos diferentes processos de sorção e dessorção e da variedade desses solos para que se possa prever o seu destino e a sua disponibilidade nessa matriz (SPOMER; KAMBLE, 2010).

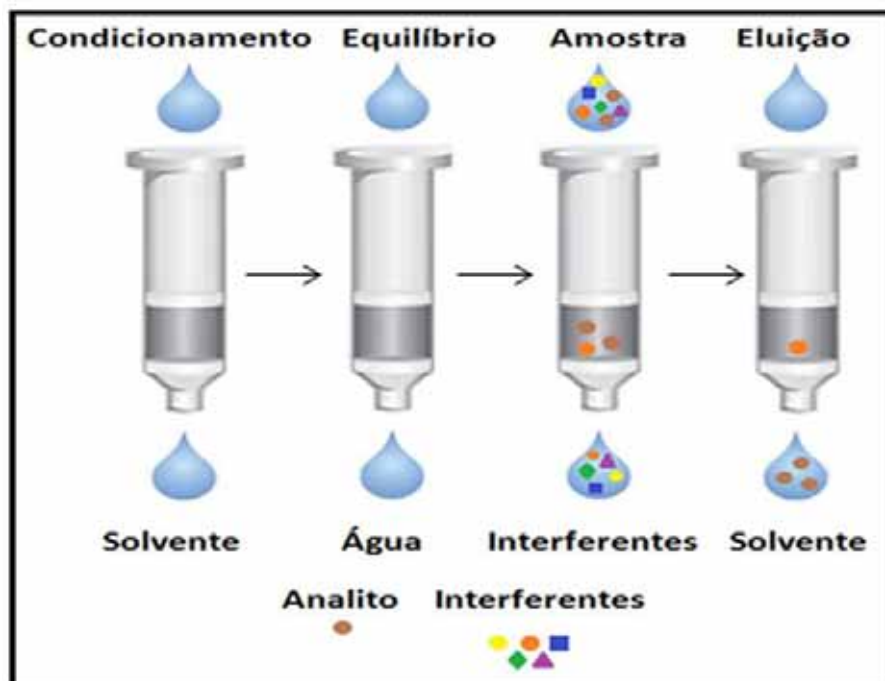
Em condições aeróbicas e em solo arenoso a vida média do fipronil é de 122-128 dias e se aplicado em outros tipos de solo pode variar de 3-7 meses (GUNASEKARA et al., 2007). A degradação do fipronil ocorre em condições oxidativas e redutivas produzindo assim diferentes produtos de degradação.

O fipronil é um inseticida considerado de nova geração, por isso ele não segue a rota bioquímica comum dos piretróides, os quais têm como função o bloqueio dos canais de sódio e nem dos organofosforados e carbamatos que atuam como inibidores de colinesterase. Essas rotas são consideradas comuns para os inseticidas. Entretanto, com o passar do tempo alguns insetos conseguiram desenvolver resistência a esse mecanismo. Diferente dos outros inseticidas o fipronil interfere nos canais de ligação com o ácido γ -aminobutírico (GABA), interrompendo assim a transmissão normal do influxo nervoso. Em dose suficiente causa paralisia severa, excitação nervosa excessiva e morte do inseto (GUNASEKARA et al., 2007; KADAR; FAUCON, 2006).

2.4. Extração e pré - concentração em fase sólida (SPE) de amostras de água superficial

A técnica de extração em fase sólida (SPE) é uma das mais utilizadas para extração, *clean-up* e/ou pré-concentração de amostras complexas, pois permite a separação dos analitos em concentrações muito baixas. (QUEIROZ; MELO; JARDIM, 2006). Além de ser uma técnica simples, possui uma série de vantagens tais como o uso de pouco solvente, rapidez, já que permite o preparo simultâneo de várias amostras, boa recuperação dos analitos, automação das análises, adequada seletividade, entre outras (MAJORS, 2001). Pelas vantagens apresentadas, esta técnica é muito utilizada para isolar micropoluentes orgânicos em água, extrair e concentrar diversos agrotóxicos e seus produtos de degradação (QUINTANA et al., 2001).

Para a extração dos analitos utilizando C18 é necessário seguir algumas etapas, as quais são demonstradas na Figura 02. Essas etapas foram otimizadas para se obter o máximo de recuperação dos analitos estudados neste trabalho.

Figura 02: Etapas em SPE para isolamento dos analitos (Fonte: Adaptado Fernando Lanças, 2004).

Toda extração por SPE requer o condicionamento do cartucho para que esse possa ser ativado ou preparado para reter o analito, o condicionamento geralmente é feito com solventes e/ou água, sendo essa etapa considerada um pré-requisito para a adsorção reproduzível do analito de interesse. Após o condicionamento do cartucho a amostra de água é percolada, nessa etapa o analito se distribui por simples adsorção a superfície ou por meio da penetração, onde um equilíbrio é estabelecido (SIMPSON; WELLS, 2000). Após a percolação da amostra deve ser feita a eluição dos analitos, onde os compostos de interesse serão eluídos com um pequeno volume de solvente. A vazão de eluição deve ser baixa e o volume eluído deve ser de 2 a 5 mL para cartuchos de 500 mg, pois quanto menor o volume de desorção maior o fator de pré-concentração. A desorção dos analitos do cartucho é considerada mais eficiente quando são percolados para eluição duas ou mais alíquotas de 1 mL ao invés de uma alíquota única de 2 ou 3 mL (BARCELÓ; HENNION, 1997).

2.5. Extração de agrotóxicos por ultrassom em amostras de solo e sedimento

O uso da técnica de ultrassom nos processos químicos vem crescendo significativamente, podendo ser usada para limpeza, extração, esterilização, flotação, homogeneização, cristalização entre outras (SILVA; ZINI; CARAMÃO, 2011).

A extração de compostos pela técnica de ultrassom está relacionada aos efeitos causados pela cavitação que é o crescimento e colapso de pequenas bolhas, as quais se formam no meio líquido e aumentam a interação entre o solvente e a superfície dos sólidos, assim os analitos migram para o solvente de extração, sendo que a eficiência de extração varia conforme o solvente utilizado. A energia provocada pela cavitação é suficiente para favorecer a extração de analitos a partir de materiais sólidos (KORN; DE ANDRADE; BORGES, 2003; PAN; XIA; LIANG, 2008).

Vários estudos demonstram a eficiência do ultrassom para análise de agrotóxicos nos solos e sedimentos. Essa técnica é considerada eficiente quando comparada com outros métodos de extração, como por exemplo, quando se usa a extração por soxhlet, apresentando assim vantagens que o tornam um método eficiente para análises de várias amostras, incluindo alta eficiência de extração, redução de custos, facilidade de operação, entre outras (BANJOO; NELSON, 2005; GONÇALVES; ALPENDURADA, 2005).

2.6. Cromatografia em fase gasosa acoplada a espectrômetro de massas (GC-MS)

Para a detecção de agrotóxicos em compartimentos ambientais é necessário o uso de métodos analíticos com alta confiabilidade, sensibilidade e seletividade.

A cromatografia é uma técnica analítica muito utilizada para a separação de analitos em uma mistura, na qual os componentes estão distribuídos entre duas fases, uma delas permanece estacionária enquanto a outra (fase móvel) elui entre os interstícios ou sobre a superfície da fase estacionária (PEIXOTO, 2007).

A identificação dos compostos na espectrometria de massas é feita geralmente por meio da utilização de bibliotecas digitais e também pela utilização de padrões com elevado grau de pureza o qual permite a identificação dos compostos com alta precisão (SANTOS, 2007; RANGEL, 2008). Também é comumente utilizado em análises cromatográficas um padrão interno e um surrogate para minimizar erros nas análises e extrações.

2.7. Validação de métodos cromatográficos

A validação de um método possibilita o acesso a informações confiáveis, fornecendo assim resultados com precisão e exatidão adequada, podendo assim assegurar por meio de estudos que o método atenda as exigências das aplicações analíticas (RIBANI et al., 2004). A validação deve ser feita para certificar que o novo método analítico reproduza resultados confiáveis e interpretáveis.

Normalmente, deve-se selecionar e monitorar os parâmetros que são necessários para garantir a interpretação fidedigna dos resultados. Alguns dos parâmetros analíticos avaliados num processo de validação são: precisão, exatidão, especificidade e seletividade, limite de quantificação (LQ) e limite de detecção (LD).

2.7.1. Seletividade e especificidade

A seletividade corresponde à capacidade de distinção entre um analito e outro (INMETRO, 2007). A capacidade na confirmação de um composto pode ser feita por várias técnicas, entre essas temos a espectrometria de massas (SANCO, 2007).

Para verificar a seletividade de um método há duas maneiras, primeiro deve-se comparar uma matriz isenta de analitos com outra onde foi feita uma adição, para que se possa verificar a coeluição de analitos com outros compostos interferentes da matriz, a segunda maneira é por meio da utilização de detectores sensíveis como, por exemplo, o espectrômetro de massas. Essa técnica permite comparar o espectro de massas do pico obtido na amostra com o espectro do padrão puro (RIBANI et al., 2004).

A especificidade está relacionada com o processo de detecção do método da mesma maneira que a seletividade. A diferença entre esses parâmetros é quando um método que produz respostas para vários analitos, mas que consegue distinguir um analito de outro é considerado seletivo. Já um método que produz resposta para apenas um analito é considerado específico (INMETRO, 2007).

2.7.2. Linearidade e curva analítica

A linearidade é a capacidade que o método possui em produzir resultados diretamente proporcionais à concentração dos analitos estudados dentro de uma determinada faixa (RIBANI et al., 2004). Esta linearidade é observada por meio de gráficos de calibração, denominados curvas analíticas (LANÇAS, 2004). A curva analítica é determinada no mínimo com 5 pontos em ordem crescente de concentração, injetando no mínimo três vezes cada ponto da curva e considerando o RSD entre as injeções inferiores a 5% (RIBANI et al., 2004).

A curva analítica corresponde à regressão linear conforme mostrado na Equação 1, onde y é uma variável dependente, a qual corresponde ao sinal analítico das diferentes concentrações, x é a variável independente a qual se refere às várias concentrações das soluções padrão, a é o coeficiente angular da reta e b o coeficiente linear da reta (LANÇAS, 2004; CASSIANO et al., 2009).

$$y = a + bx \quad (1)$$

Onde temos que, y = variável dependente, x = variável independente, a = coeficiente angular e b = coeficiente linear.

2.7.3. Precisão

A precisão é considerada um parâmetro de grande importância já que permite estimar os erros e variações do método, esse parâmetro é expresso como uma estimativa do desvio padrão absoluto (s) e por meio da estimativa do desvio padrão relativo (RSD) ou desvio padrão, também conhecido como coeficiente de variação (CV) (LANÇAS, 2004; RIBANI et al., 2004). Em análises traço são aceitos CV de até 20%, variando conforme a complexidade da amostra. Com as Equações 2 e 3 abaixo, pode se obter os valores de s e CV.

$$s = \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \quad (2)$$

Onde temos que,

\bar{x} é a média aritmética de um pequeno número de medições

X_i é o valor individual de cada medição

n é o número de medições

$$\text{RSD (\%)} \text{ ou } \text{CV(\%)} = (s/\bar{x}) \times 100 \quad (3)$$

Onde temos que,

s é o desvio padrão de uma amostra

\bar{x} é a média das determinações

A precisão pode ser determinada pelas condições específicas de medição expressa em alguns parâmetros tais como:

- Repetitividade: expressa a concordância entre os resultados de sucessivas medições de uma mesma amostra, analisadas nas mesmas condições de medição, mesmo procedimento de extração, mesmo observador, mesmo instrumento, mesmo local e repetições em tempos curtos (INMETRO, 2007). Conforme o INMETRO para determinar a repetitividade de um método é necessário realizar sete ou mais repetições para o cálculo do CV (%), já segundo a ICH (International Conference on Harmonisation) e a ANVISA são necessárias nove repetições (três níveis com três repetições para cada um) para o cálculo da CV (%).
- Precisão Intermediária: deve ser avaliada sobre a mesma amostra, amostras iguais ou padrões, utilizando o mesmo método, no mesmo laboratório ou em laboratórios diferentes, mas deve-se definir as condições que irão variar, como diferentes dias, analistas ou equipamentos (INMETRO, 2007). A quantidade de ensaios necessária para o cálculo da CV(%), conforme a ICH e a ANVISA, são os mesmos recomendados para a repetitividade.
- Reprodutibilidade: refere-se a várias medições de um mesmo analito efetuadas por diferentes condições variadas nas medições, como por exemplo, mudança de laboratórios, equipamentos, analistas (RIBANI et al., 2004).

2.7.4. Exatidão

A exatidão é definida como sendo a concordância entre o resultado de um ensaio e o valor de referência que é aceito como verdadeiro. Há várias maneiras de se verificar a exatidão de um método, entre elas temos os materiais de referência certificados. Esse material possui um certificado que mostra o valor de concentração de uma ou várias substâncias, quando os valores obtidos nas análises são comparados com os valores certificados do material de referência para posterior verificação da exatidão. Outra maneira de verificar a exatidão do método é por meio de ensaios de recuperação, nos ensaios temos a quantidade da substância de interesse presente ou adicionada na amostra, a qual deve ser extraída e quantificada. A faixa de valor aceitável para recuperação nas análises de traços é de 80 a 120%, mas dependendo da complexidade da amostra pode haver variações.

A recuperação pode ser calculada utilizando a Equação 4 abaixo:

$$R(\%) = (C1/C2) \times 100 \quad (4)$$

Onde temos que,

C1 é a concentração determinada na amostra fortificada

C2 é a concentração adicionada à amostra

2.7.5. Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ)

O limite de quantificação do método corresponde a menor concentração de um analito que se pode medir por meio de determinado método, já o limite de detecção do método refere-se a menor concentração de um analito que pode ser detectada, mas não necessariamente precisa ser quantificada (LANÇAS, 2004; RIBANI et al., 2004).

O limite de detecção e de quantificação podem ser determinados por diferentes maneiras: pelo método da relação sinal/ruído, do desvio padrão e por outros processos, sendo que o método mais utilizado é o da relação sinal-ruído.

O limite de detecção pode ser determinado por três métodos distintos, o visual o qual se determina por meio da adição de concentrações conhecidas do analito a matriz, e assim

determinar o menor nível que se consegue detectar o analito, a relação sinal/ruído onde se determina por meio da comparação entre a medição dos sinais de amostras conhecidas com baixa concentração do analito na matriz e um branco. O método da relação sinal-ruído é usado somente em métodos analíticos que exibem linha de base, essa razão é determinada por meio da comparação dos sinais dos cromatogramas das amostras com baixas concentrações do analito, determinando-se assim a concentração inferior a qual o analito pode ser detectado e quantificado. Outra maneira é basear em parâmetros da curva analítica de acordo com a Equação 5.

$$\mathbf{LD = 3,3 \times (s/a)} \quad \mathbf{(5)}$$

Onde temos que:

s é a estimativa do desvio padrão da resposta do coeficiente linear da equação da reta da curva analítica

a é a inclinação ou coeficiente angular da equação da reta da curva

Para o limite de quantificação adotam-se os mesmos parâmetros utilizados para o limite de detecção, com isso podemos calcular pelo método visual, sinal/ruído (10:1) ou baseado na curva analítica utilizando-se a Equação 6.

$$\mathbf{LQ = 10 \times (s/a)} \quad \mathbf{(6)}$$

Onde temos que:

s é a estimativa do desvio padrão da resposta do coeficiente linear da equação da reta da curva analítica

a é a inclinação ou coeficiente angular da equação da reta da curva analítica

3. OBJETIVOS



Rio Preto – Pontes Gestal

3.1. Objetivo geral

Este projeto teve como principal objetivo a adaptação do método e caracterização de amostras de água, solo e sedimento da bacia hidrográfica do Turvo/Grande.

3.2. Objetivos específicos

- Adaptar e validar o método analítico para extrair, concentrar e quantificar o fipronil e seus principais produtos de degradação em amostras de água, solo e sedimento, utilizando extração em fase sólida (SPE) e ultrassom, separação por cromatografia em fase gasosa e quantificação por espectrometria de massas (GC-MS).
- Caracterizar os parâmetros físico-químicos das águas, dos sedimentos e solos da bacia hidrográfica do Turvo/Grande.
- Determinar o estoque do agrotóxico fipronil e produtos de degradação nos compartimentos água, solo e sedimento dos Rios Preto, Turvo e Grande em áreas representativas do cultivo de cana-de-açúcar.
- Verificar a influência do fipronil e produtos de degradação nas águas, solos e sedimentos da região e o impacto ambiental produzido.

4. PARTE EXPERIMENTAL



Nascente Rio Preto – Cedral

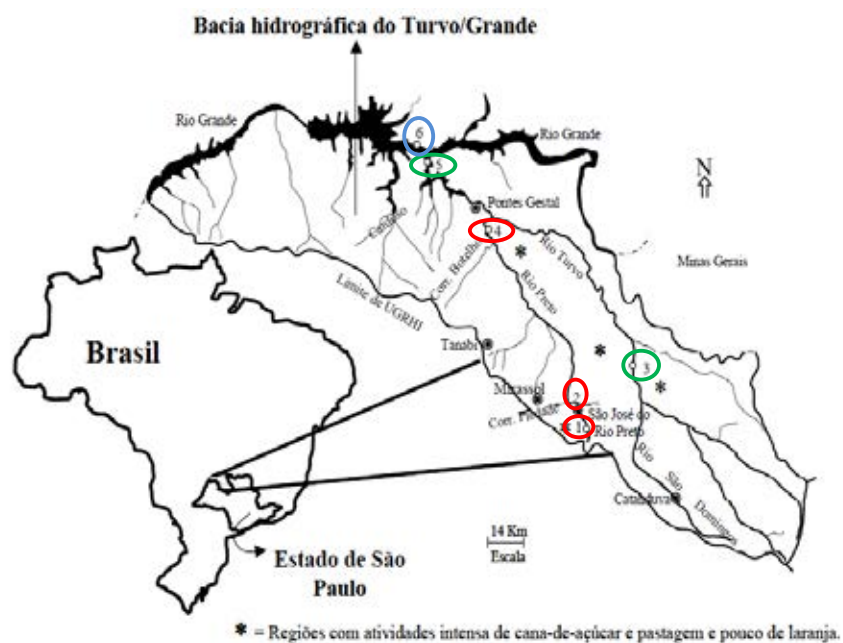
4.1. Área de estudo, pontos de amostragem e períodos de coleta

A bacia hidrográfica do Turvo/Grande (BHTG) é constituída por 66 municípios e possui uma área de drenagem de 15.975 Km². Os Rios São Domingos, Turvo, Grande, Preto, da Cachoeirinha e Ribeirão da Onça são os principais corpos aquáticos que a constituem. Estes recursos hídricos englobam desde a Usina Hidrelétrica de Marimbondo até a foz do Rio Paranaíba. Com relação ao uso e ocupação do solo nota-se a presença de atividades urbana, industrial e agropecuária, destacando-se intensamente as culturas de cana-de-açúcar, laranja e em menor escala as pastagens (PERFIL REGIONAL, 2009).

A Figura 03 mostra o mapa com os locais de amostragem. A coloração dos pontos mostrados na Figura depende do corpo hídrico onde foram coletadas as amostras. Esses pontos de coleta foram escolhidos devido à intensa atividade canavieira nessa região, englobando assim a bacia hidrográfica do Turvo/Grande, os quais estão descritos na Tabela 02.

Os pontos amostrados estão descritos como: nascente do Rio Preto (NRP, Ponto 1), represa do Rio Preto (CAPRP, Ponto 2), Rio Turvo na ponte que liga a cidade de São José do Rio Preto a Olímpia (PORTUR, Ponto 3) e antes de desaguar no Rio Grande (RTURARG, Ponto 4), Rio Turvo antes de desaguar no Rio Grande (RTURARG, Ponto 5) Rio Grande (RGRANDE, Ponto 6).

Figura 03: Mapa com os principais corpos aquáticos e localização dos pontos de amostragem ao longo da bacia hidrográfica do Turvo/Grande (Adaptado Campanha, 2010).



Foram realizadas duas coletas de amostras de água superficial, solo e sedimento ao longo da BHTG. A primeira coleta foi realizada no período de seca (22 de setembro de 2012), e a segunda coleta foi realizada no período de chuva (28 de fevereiro de 2013). As coletas de água foram feitas em 6 locais de amostragem ao longo dos rios da bacia hidrográfica do Turvo/Grande pontos de 1 a 6. As coletas de solo foram feitas em 4 locais de amostragem próximos aos pontos 1, 3, 4 e 5 e os sedimentos nos pontos 1, 2, 5 e 6 (Figura 03). Foram coletados para cada um dos pontos 3 L de água e para os pontos onde foram coletados solo e sedimento coletou-se 1,5 Kg. É importante destacar que os pontos de coleta estão localizados onde há intensa atividade canavieira.

Na Tabela 02 são apresentadas as coordenadas geográficas, localização e denominações dos pontos de coleta. Vale ressaltar que estes locais já foram amostrados em trabalhos realizados pelo grupo no período de 2006 a 2009, mas com foco em compostos inorgânicos e metais (CAMPANHA et al., 2010).

A amostragem realizada no ponto NRP (1) refere-se a nascente do Rio Preto, localizada no município de Cedral, situada em área rural, com predominância em cultivo de cana-de-açúcar (Figura 04a). O ponto CAPRP (2) é referente ao local de captação da água do Rio Preto e localiza-se na área urbana do município de São José do Rio Preto (Figura 04b). O terceiro ponto de amostragem PORTUR (3) está localizado no Rio Turvo na ponte da rodovia que liga São José do Rio Preto à Olímpia com predominância em cultivo de cana-de-açúcar (Figura 04c). O penúltimo ponto foi o RPARTUR (4) localizado no município de Pontes Gestal, o qual possui como atividade predominante o cultivo de cana-de-açúcar (Figura 04d). Os últimos pontos coletados foram o RTURARG (5) e o RGRANDE (6), os quais correspondem ao Rio Turvo antes de desaguar no Rio Grande e Rio Grande após receber as águas do Rio Turvo respectivamente, esses pontos de coleta estão localizados no município de Cardoso (Figura 04e e 04f).

Tabela 02: Localização dos pontos de coleta de água, solo e sedimento, denominações e suas respectivas coordenadas geográficas.

Locais de amostragens	Siglas	Corpo Hídrico	Município	Coordenadas Geográficas
1. Nascente do Rio Preto	NRP	Rio Preto	Cedral	S20°55'11,3" W049°17'59,9"
2. Captação do Rio Preto	CAPRP	Rio Preto	São José do Rio Preto	S20°48'29,2" W049°22'24,1"
3. Ponte na rodovia que liga SJRP à Olímpia	PORTUR	Rio Turvo	Olímpia	S20°44'31,8" W049°06'11,4"
4. Rio Preto antes de desaguar no Rio Turvo	RPARTUR	Rio Preto	Pontes Gestal	S20°10'53,4" W49°40'41,9"
5. Rio Turvo antes de desaguar no Rio Grande	RTURARG	Rio Turvo	Cardoso	S19°58'09,8" W049°53'37,1"
6. Rio Grande após receber água dos Rios Preto e Turvo	RGRANDE	Rio Grande	Cardoso	S19°56'28,7" W049°55'23,1"

Figura 04: Fotos dos seis locais de amostragem selecionados ao longo dos rios da BHTG, sendo (a) NRP, (b) CAPRP, (c) PORTUR, (d) RPARTUR, (e) RTURARG e (f) RGRANDE.



(a)



(b)



(c)



(d)



(e)



(f)

4.2. Reagentes

Os reagentes utilizados para a quantificação e os padrões analíticos dos agrotóxicos foram todos de alta pureza (Sigma-Aldrich, Fluka, ChemService e Accustandard). Os solventes utilizados foram acetona e metanol (Suprasolv – Darmstadt, Germany), hexano (Fluka – St. Louis, USA), isopropanol, acetato de etila, sulfato de sódio (Sigma Aldrich – St. Louis, USA), diclorometano (Tedia – Fairfield, USA), cartuchos de SPE Discovery DSC-18 (Supelco Analytical – Bellefonte, USA). Os padrões utilizados foram o fipronil (98.3%), F. sulfona (99.3%) e F. sulfide (99.0%) (ChemService – West Chester, Pennsylvania) e F. dessulfenil (Dr. Ehrenstorfer – Augsburg, Germany). Utilizou-se também o surrogate diazinon-(diethyl-d10) e o padrão interno Fenantreno-d10 (Sigma-Aldrich – Miamisburg, USA).

4.3. Padrão Interno – Fenantreno-d10

Foi utilizado um padrão interno para construção da curva analítica, o padrão interno é uma substância ausente nas amostras e nos padrões analíticos e, portanto é adicionado em uma concentração constante a todas as amostras, brancos e padrões. Sua função é compensar erros aleatórios e sistemáticos, efeitos de matriz e preparo de amostras. A correlação é feita entre a razão do sinal de resposta do analito pelo sinal de resposta do padrão interno (LIGIERO et al., 2009).

4.4. Surrogate – Diazinon-d10

O surrogate é um composto químico deuterado, o qual não é esperado encontrar nas amostras ambientais, foi adicionado em todas as amostras ambientais e nos brancos antes de realizar a extração das amostras para verificar a eficiência de extração.

A recuperação do padrão surrogate é utilizada para monitorar erros grosseiros de processamento de amostra, monitorar efeitos de matrizes não usuais, entre outras. A recuperação do surrogate é avaliada determinando se a concentração permaneceu constante ou se houve grandes variações nas amostras. Dependendo do efeito que foi verificado é feita uma correção na concentração das amostras conforme é mostrado pela variação na concentração do padrão surrogate (DE OLIVEIRA et al., 2005).

4.5. Materiais e equipamentos

Os seguintes materiais e equipamentos disponíveis no Laboratório de Estudos de Ciências Ambientais (LECA), localizado no Departamento de Química e Ciências Ambientais do IBILCE/UNESP/SJRP, adquiridos em projeto auxílio FAPESP, foram necessários para o desenvolvimento do estudo proposto:

Vidrarias (Laborglas), Micropipetas (Eppendorf – Research), Sistema de produção de água deionizada (Millipore – Direct-Q), Balança analítica (Shimadzu – AX200), Medidor Multiparâmetro pH/Cond/TDS/Temp (Hanna, HI991300), Medidor de Oxigênio Dissolvido (Hanna, HI9146-04), Analisador de Carbono Orgânico Total (Shimadzu – TOC-VCSN), Manifold (Hexis), Bomba de vácuo (Marconi – MA057/2), Banho ultrassom (Furlab – ultracleaner 1600A), Dry block solab (SL-16/25) e Cromatógrafo em Fase Gasosa acoplado a Espectrômetro de Massas (GC-MS Agilent).

4.6. Limpeza dos materiais

Para a limpeza das vidrarias deixou-se os materiais por no mínimo seis horas em solução de Extran a 5% (v/v), posteriormente foram enxaguadas em água corrente até a total retirada do detergente e lavou-se por três vezes com água deionizada. Para finalizar metanol foi utilizado nas vidrarias seguidas de secagem na estufa por pelo menos uma hora por 100 °C (exceto as vidrarias volumétricas).

4.7. Procedimento de amostragem e preservação de amostras

Os procedimentos de amostragem e preservação das amostras seguiram as recomendações propostas pela Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT) NBR 9898 (Associação Brasileira de Normas Técnicas, 1987), Environmental Protection Agency (EPA) (Environmental Protection Agency, 1994) e Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (CLESCERI; GREENBERG; EATON, 1998).

As amostras de água foram coletadas em recipientes de vidro e armazenadas na temperatura ideal em caixas térmicas contendo gelo até o laboratório (Figura 05a). Posteriormente foram mantidas em geladeira até a extração dos analitos.

Para a amostragem dos solos, limpou-se previamente a superfície do solo evitando retirar camadas de solo, então foi feito 3 covas de aproximadamente 30 x 30 x 30 cm com o auxílio de uma cavadeira (Figura 05b), após a homogeneização (Figura 05c) o solo foi transferido para caixas de alumínio e armazenado em caixas térmicas contendo gelo até o laboratório onde as amostras foram armazenadas em freezer a temperatura de -18 °C.

As coletas de sedimento superficial foram realizadas com o auxílio de uma draga do tipo Van-Veen (Figura 05d) e o sedimento foi removido manualmente do interior da draga (Figura 05e). As amostras foram transferidas para caixas de alumínio e armazenadas em caixas térmicas contendo gelo até o laboratório, posteriormente armazenadas em freezer a temperatura de -18 °C.

Figura 05: a) Amostras de água armazenadas em vidro e caixas térmicas, b) Preparo do solo para amostragem e medição da profundidade, c) Amostras de solo previamente homogeneizado, d) Amostrador Van-Veen para coleta de sedimento e e) Coleta de sedimento superficial.



(a)



(b)



(c)



(d)



(e)

4.8. Caracterização físico-química das amostras

4.8.1. Amostras de água superficial

Nas amostras de água foram medidos em campo os parâmetros temperatura, oxigênio dissolvido, turbidez e pH diretamente no corpo aquático, com o auxílio de equipamentos multiparâmetros (Hanna, HI991300 para pH/CE/STD/T e HI9146-04 para OD). No laboratório foi feita a quantificação do carbono orgânico total (COT) utilizando um analisador de carbono orgânico total (Shimadzu, TOC- VCSN).

4.8.2. Amostras de solo e sedimento

Para as amostras de solo e sedimento foi determinado o teor de umidade por método gravimétrico, secando-se uma massa conhecida em estufa a 105 °C até peso constante.

Para a determinação de pH em solos foi utilizado o método proposto pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA, 1997), já para a determinação de pH em amostras de sedimento adaptou-se o método de determinação de pH em solos. Esse método consiste na agitação de 2 a 3 g de amostra úmida em 10 mL de água destilada por 10 minutos, realizando a leitura do pH na solução sobrenadante logo em seguida com o auxílio de um eletrodo de pH (CAMPANHA, 2011).

O teor de matéria orgânica dos solos e sedimentos foi determinado pelo método de perda por ignição, onde aproximadamente 10 g de amostra seca a 105 °C em estufa é calcinada em mufla a 550 °C por 4 horas e a perda de matéria orgânica foi calculada por meio da diferença entre o resíduo após a calcinação e a massa de sedimento pesada inicialmente (SANTISTEBAN et al., 2004).

A granulometria dos solos e sedimentos foi determinada pelo método da pipeta. Esse método é baseado na velocidade de decantação de partículas de diferentes tamanhos. As amostras foram secas a temperatura ambiente, maceradas em almofariz e peneiradas em malha de 0,5 mm de abertura para a remoção de material de grossa granulação, os quais podem ser interferentes. Após a secagem é pesado cerca de 50 g de amostra a qual é transferida para uma proveta de 1000 mL, nessas amostras devem ser adicionados 100 mL de solução de NH₄OH 36% (v/v) e completar o volume com água. A mistura deve ser agitada com o auxílio de um agitador manual e posteriormente mantida em repouso. Após 58 segundos contados a partir da agitação, foi retirada

da mistura uma alíquota de 20 mL introduzindo uma pipeta a 20 cm abaixo do menisco. Essa alíquota é correspondente à fração de silte e argila. Após 2 horas e 3 minutos de repouso foi removida a 10 cm abaixo do menisco outra alíquota de 20 mL, correspondente à fração argila. As alíquotas foram transferidas para cadinhos, secas em estufa a 60~70 °C por 24 horas e em seguida pesadas para o cálculo das porcentagens de argila, silte e areia. A fração silte foi obtida subtraindo-se o valor da fração correspondente à silte e argila daquela correspondente apenas à argila (SUGUIO, 1973; NOAA, 1999).

4.9. Análise elementar (CHN)

A análise elementar é utilizada para determinar os elementos químicos de substâncias, geralmente orgânicas. Geralmente a técnica consiste na combustão da amostra a 925 °C na presença de oxigênio puro e a quantificação dos produtos obtidos. A análise é realizada com a combustão de uma quantidade definida de amostra na presença de oxigênio, com alterações na condutividade térmica. Para os compostos orgânicos e organometálicos o hidrogênio é convertido a água, o carbono a dióxido de carbono e o nitrogênio a gás nitrogênio. A partir dessas quantificações pode-se calcular as porcentagens relativas de cada elemento e com isso comparar os valores com a literatura (SKOOG et al., 2006).

As amostras de solo e sedimento foram analisadas pela Central de Análises Químicas Instrumentais do Instituto de Química de São Carlos (CAQI) utilizando um analisador elementar CE Instruments, modelo EAGER 200. As amostras foram secas, limpas, peneiradas, maceradas em almofariz e armazenadas em frascos de vidro em temperatura ambiente até o momento das análises.

4.10. Adaptação e validação do método analítico para análise de fipronil e produtos de degradação

O processo de adaptação e validação do método analítico foi realizado com a finalidade de checar a fidedignidade dos resultados gerados. O método utilizado para realizar a extração e quantificação das amostras para o qual foi adaptado e validado foi O-1126-02 da Agência de Pesquisa Geológica dos Estados Unidos (USGS, 2003). Os parâmetros checados foram:

seletividade e especificidade, linearidade e curva analítica, precisão, exatidão, limite de detecção e quantificação.

4.10.1. Condições cromatográficas utilizadas para a determinação do fipronil e produtos de degradação

O método utilizado para a quantificação dos analitos foi baseado no método O-1126-02 da Agência de Pesquisa Geológica dos Estados Unidos (MADSEN; SANDSTROM; ZAUGG, 2003). Para a reprodução do método modificou-se alguns parâmetros, como temperatura do injetor, da fonte de íons e interface, programação da temperatura, coluna e fluxos, por isso o método teve algumas modificações, sendo assim necessário validá-lo para as análises realizadas.

Para a otimização das condições cromatográficas utilizadas na diferenciação do fipronil e seus produtos de degradação foram preparadas soluções analíticas de cada um deles para posterior injeção no GC-MS, de maneira a verificar o tempo de retenção e a razão massa carga (m/z) de cada composto. O cromatógrafo em fase gasosa acoplado ao espectrômetro de massas é da marca Agilent Technologies (modelo 5975C/MSD e 7890A/GC).

Abaixo segue o tempo de retenção e os íons selecionados (m/z) dos analitos (Tabela 03) e na sequência as condições cromatográficas do método oficial e do método adaptado utilizadas para a quantificação (Tabela 04).

Tabela 03: Tempo de retenção e íons selecionados (m/z) do fipronil e seus produtos de degradação.

Analitos	Tempo de Retenção (min)	m/z
Fipronil	22,9	367/213
F. Dessulfinil	19,9	388/390
F. Sulfide	22,7	351/255
F. Sulfona	25,2	383/255

Tabela 04: Condições cromatográficas do método oficial e do método adaptado utilizadas para a quantificação dos analitos.

Parâmetros	Método Oficial	Método Adaptado
Coluna Capilar	Coluna capilar de polifenilmetilsilicone (25 m x 0,20 mm x 0,33 μ m)	HP-5MS (5% fenil-95% polidimetilsiloxano; 30 m x 0,25 mm x 0,25 μ m).
Modo de Injeção	splitless	splitless
Temperatura do Injetor	250 °C	280 °C
Gás de Arraste	Hélio 5.0	Hélio 5.0
Volume de Injeção	2 μ L	2 μ L
Fluxo da Purga	Não descrito	3,0 mL min ⁻¹
Fluxo	Não descrito	1,5 mL min ⁻¹
Tempo total da corrida	53,3 minutos	32,3 minutos
Programação da temperatura	Temperatura inicial 100 °C; 100 °C – 5 °C min ⁻¹ ; 300 °C – 6 °C min ⁻¹ , Temperatura final: 300 °C	Temperatura inicial 100 °C; 250 °C – 5 °C min ⁻¹ ; 280 °C – 22 °C min ⁻¹ , Temperatura final: 280 °C
Modo de Operação	SIM e ionização a 70 eV	SIM e ionização a 70 eV
Temperatura da fonte de íons e interface	200 °C/290 °C	280 °C/280 °C

4.10.2. Seletividade e especificidade

A seletividade do método foi determinada por meio dos tempos de retenção e a confirmação foi feita pelo espectro de massas obtido para cada analito pela injeção individual de padrões. Esses cromatogramas foram comparados com o cromatograma obtido da mistura de todos os analitos. O padrão misto foi injetado para comprovação do mesmo tempo de retenção dos padrões injetados individualmente, comprovando assim a não coeluição dos analitos.

4.10.3. Linearidade e curva analítica

As curvas analíticas foram construídas com um padrão misto, o qual continha o fipronil e seus produtos de degradação (F. sulfona, F. sulfide e F. dessulfínil) a partir de padrões puros dos agrotóxicos. A curva foi construída com seis níveis de concentração: 20, 40, 60, 80, 100 e 120 $\mu\text{g L}^{-1}$ onde foi utilizado um padrão interno (Fenantreno d-10) na concentração de 1 mg L^{-1} e um surrogate (Diazinon d-10) na concentração de 60 $\mu\text{g L}^{-1}$. Para cada nível de concentração foram injetados três padrões e posteriormente construíram-se as curvas analíticas para cada composto. Por meio da construção das curvas foi possível avaliar a linearidade do método para cada analito pelo coeficiente de correlação linear.

4.10.4. Precisão

A avaliação da precisão foi feita de duas maneiras, em termos de repetitividade e precisão intermediária, com três níveis de fortificação e em triplicatas.

Para avaliar a repetitividade prepararam-se 3 níveis de concentração com três injeções para cada nível, sendo os níveis respectivamente o controle de qualidade baixa, média e alta de 40 $\mu\text{g L}^{-1}$; 80 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 120 $\mu\text{g L}^{-1}$, as injeções foram feitas em triplicata resultando em um total de 9 padrões injetados. O resultado foi expresso em função da estimativa do desvio padrão relativo das injeções RSD (%).

Já para avaliar a precisão intermediária foi utilizado o mesmo procedimento descrito acima, mas em dias diferentes, sendo o resultado também expresso em função da estimativa do desvio padrão relativo das injeções RSD (%) (RIBANI et al., 2004; ANVISA, 2003; INMETRO, 2007).

4.10.5. Exatidão

Para a determinação da exatidão do método foi feito estudo de recuperação realizado em três diferentes níveis de concentração. As amostras foram fortificadas nas seguintes concentrações 40, 80 e 120 $\mu\text{g L}^{-1}$. Os testes foram realizados com amostras de água, solo e sedimento, isentas dos analitos que estão sendo estudados, para isso foram feitos testes preliminares com as amostras, verificando assim que nenhum dos compostos estava presente.

Os testes de recuperação foram realizados da mesma maneira que seria feito para extração das amostras ambientais. As amostras de água superficial foram extraídas usando cartuchos de SPE e as amostras de solo e sedimento pela técnica de ultrassom, com a diferença de se ter feito uma adição (*Spike*) dos analitos em concentrações diferentes para determinar a recuperação da extração (ANVISA, 2003; INMETRO, 2007).

4.10.6. Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ)

Em cromatografia é muito comum não haver respostas do equipamento nas provas em branco, por isso deve-se fazer a adição de padrão em uma prova em branco para que possamos determinar os limites de detecção e quantificação.

Para a determinação dos limites de detecção e quantificação foi utilizado o método relação sinal/ruído, nesse método foi feita a comparação da medição dos sinais dos analitos com concentrações mínimas conhecidas e de brancos, sendo que para o limite de detecção a concentração do analito deve ser capaz de gerar um sinal três vezes maior que a amplitude do ruído.

Para a determinação do LQ adotou-se os mesmo critérios que foram utilizados para o LD. Entretanto, a concentração do analito deve ser capaz de gerar um sinal dez vezes maior que a amplitude do ruído (ANVISA, 2003; INMETRO, 2007).

4.11. Procedimento de extração e quantificação do fipronil e produtos de degradação em amostras de água por extração em fase sólida (SPE)

A extração e quantificação do agrotóxico fipronil e de seus produtos de degradação em água foi feita por extração em fase sólida (SPE), empregando-se cartuchos C18 segundo o método O-1126-02 da Agência de Pesquisa Geológica dos Estados Unidos (U. S. Geological Survey), (USGS, 2003), o qual foi adaptado e validado para a quantificação das amostras de água, solo e sedimento.

As amostras coletadas foram previamente filtradas em membrana de fibra de vidro 0,7 μm (Sartorius Stedim Biotech). Posteriormente, foram percolados nos cartuchos de SPE 500 mL da amostra previamente fortificada com o surrogate Diazinon - d10 com uma vazão aproximada de 2 mL min^{-1} . Após a percolação total da amostra foi feita a eluição dos analitos com 3 mL de acetato de etila (3 alíquotas de 1 mL) por gravidade. O eluato foi evaporado com nitrogênio até a secagem completa e ressuscitado em 1 mL de acetato de etila. Após a ressuspensão foi injetado no GC-MS 2 μL das amostras para quantificação. As etapas otimizadas para extração em fase sólida do fipronil e produtos de degradação estão descritas no fluxograma abaixo (Figura 06).

Todas as amostras em duplicata foram percoladas e eluídas pelo sistema *manifold*, que é um sistema formado por uma caixa de vácuo (Figura 07), com espaço simultâneo para 12 cartuchos de SPE. Para auxiliar no processo de percolação das amostras foram empregados tubos de PEEK de 1/16 mm de diâmetro. O sistema *manifold* é altamente eficiente quando se vai trabalhar com um número grande de amostras, já que várias amostras podem ser extraídas ao mesmo tempo.

Figura 06: Organograma das etapas de condicionamento dos cartuchos e da extração e pré-concentração de fipronil e produtos de degradação amostras de água por SPE.

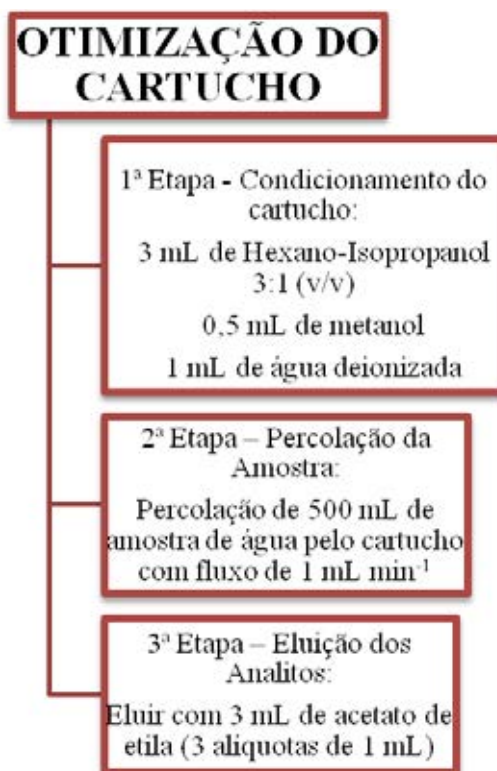


Figura 07: Sistema de SPE com manifold utilizado na extração e pré-concentração das amostras de água.



4.12. Procedimento de extração e quantificação do fipronil e produtos de degradação em amostras de solo e sedimento por ultrassom

O processo de extração do agrotóxico fipronil e de seus produtos de degradação empregado para as amostras de solo/sedimento foi adaptado dos métodos descrito por You e colaboradores (2004) e Silva e colaboradores (2011).

Antes de realizar as extrações dos solos e sedimentos foram utilizados diferentes solventes e diferentes misturas para a extração como, por exemplo, metanol, acetona, acetato de etila, hexano e diclorometano. Nesses testes preliminares também foram variados o tempo de extração em ultrassom e o número de extrações para uma mesma amostra. Com esses experimentos foi possível verificar que para a extração do agrotóxico fipronil e produtos de degradação os solventes acetona e diclorometano 1:1 (v/v) e o tempo de extração de 15 minutos foram os que apresentaram melhor eficiência para extração, garantindo assim a recuperação dos analitos nos solventes e tempo utilizado.

Inicialmente foi realizada a homogeneização do solo/sedimento e secagem total a temperatura ambiente em vidros de relógio. Para a etapa de extração foram pesados 10 g de sulfato de sódio anidro, o qual foi adicionado a 20 g de solo/sedimento e na sequência foi realizada a homogeneização do material. Em seguida foram adicionados a amostra 50 mL da mistura de acetona: diclorometano 1:1 (v/v) e em seguida procedeu-se à extração por 15 minutos em banho de ultrassom (Figura 08). O extrato obtido foi deixado em repouso para decantar e depois transferido para os tubos de ensaio, por fim as amostras foram filtradas em papel de filtro sobre aproximadamente 2 g de sulfato de sódio. Após a filtração, o extrato final foi evaporado com N₂ até a secagem completa e ressuspendido com 1 mL de acetato de etila e então injetado no GC-MS. Para a quantificação dos analitos foi utilizado o mesmo método das análises de água, conforme já descrito anteriormente.

Figura 08: No detalhe preparo da amostra de solo para posterior extração em ultrassom, o qual foi utilizado para extração das amostras de solo e sedimento.



5. RESULTADOS E DISCUSSÃO



Captação Rio Preto – São José do Rio Preto

5.1. Caracterização físico-química das amostras

5.1.1. Amostras de água superficial

Os valores obtidos nas amostras de água superficial para parâmetros físico-químicos, os quais foram medidos em campo com equipamentos multiparâmetros, como pH, temperatura (°C), oxigênio dissolvido (OD) e turbidez (NTU) são apresentados na Tabela 05 referentes a 1ª e 2ª coleta.

O pH encontrado nos corpos aquáticos analisados no período de seca e chuva manteve-se perto da neutralidade, variando de 5,2 a 7,9, que está coerente com o padrão de qualidade da água para rios classe 2, segundo a Resolução do Conselho Nacional do Meio Ambiente (CONAMA 430, 2011), o qual indica que o pH deve estar próximo da faixa de 6,0 a 9,0.

O parâmetro oxigênio dissolvido variou de 1,4 a 8,4 para os períodos de estudo, sendo que concentração menor que 5 mg L⁻¹ foi encontrada no ponto NRP e CAPRP no período de seca e no ponto de coleta PORTUR e RPARTUR no período de chuva. Já os outros corpos aquáticos apresentaram concentrações acima do valor mínimo estabelecido pela Resolução CONAMA (5 mg L⁻¹), os quais variaram de 5,2 a 8,4.

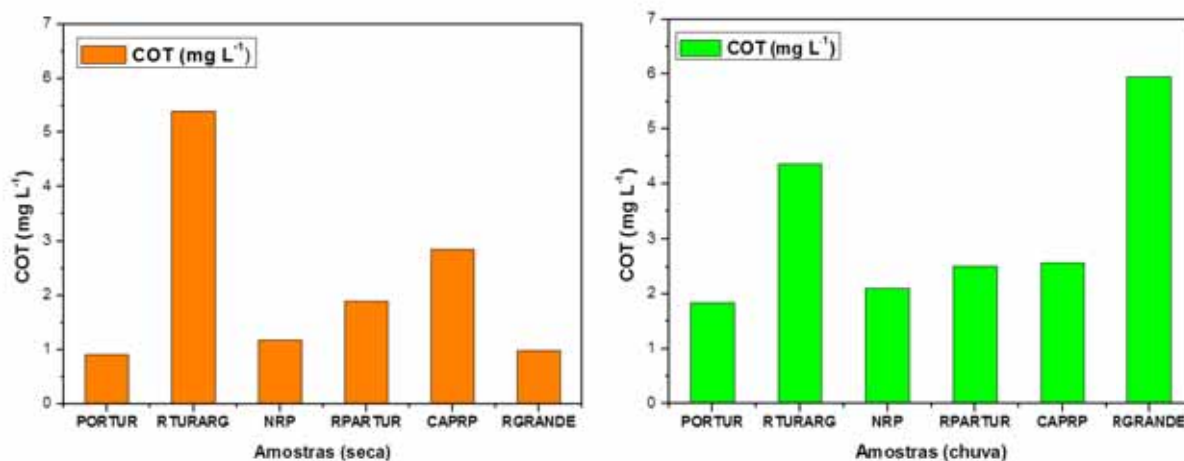
Para o parâmetro turbidez foi possível perceber que para o período de chuva os pontos RPARTUR, RGRANDE, RTURARG e NRP apresentaram maiores valores que o período de seca o qual pode ser atribuído às chuvas, pois partículas podem ser carregadas para os corpos aquáticos aumentando assim a concentração das mesmas e conseqüentemente a turbidez do meio (CAMPANHA, 2011).

Tabela 05: Valores de pH, temperatura (T), oxigênio dissolvido (OD) e turbidez obtidos na amostragem das águas superficiais dos seis corpos aquáticos pertencentes à BHTG no período de seca de 2012 e de chuva de 2013 (n=1).

Local de amostragem	pH	T (°C)	OD (mg L ⁻¹)	Turbidez (NTU)				
					SECA		CHUVA	
NRP	5,8	21,9	1,4	5,3	5,2	29,5	5,2	6,0
CAPRP	5,5	24,5	2,8	24,7	5,3	29,7	5,3	1,4
PORTUR	5,6	24,1	7,3	21,2	6,0	29,0	4,2	14,9
RTURARG	7,0	26,2	8,4	12,9	7,9	34,3	7,0	17,8
RGRANDE	5,6	26,6	7,8	3,2	6,4	31,0	5,5	8,9
RPARTUR	6,3	22,1	7,2	13,4	6,3	29,4	4,4	36,0

A Figura 09 mostra os valores de carbono orgânico total (COT) no período de seca e chuva. Como é possível observar, as concentrações encontradas para as análises de COT foram baixas no período de seca, sendo mais elevadas nos pontos CAPRP e RTURARG. Destaca-se que no ponto CAPRP há lançamentos clandestinos de efluentes domésticos, o qual possui elevadas concentrações de matéria orgânica (CAMPANHA et al., 2010). Para o período de chuva foi possível observar que no ponto RGRANDE houve um grande aumento da concentração do COT e que no geral os valores de COT para o período de chuva foi maior que para o período de seca, isso pode ser explicado devido ao grande escoamento superficial para os corpos aquáticos e com isso um aumento considerável nos valores de COT.

Figura 09: Resultados das amostras de água para COT no período de chuva e seca (n=1).



5.1.2. Amostras de solo

Os resultados de pH, teor de umidade e matéria orgânica dos solos amostrados no período de seca em 2012 e de chuva em 2013 estão apresentados na Tabela 06.

Os valores de pH dos solos ficaram próximos da faixa considerada de neutralidade, variando entre 5,4 a 6,4 para os dois períodos de coleta, sendo considerados solos moderadamente ácidos (LOPES, 1989).

Para os valores de teor de umidade foi possível perceber que houve um pequeno aumento no período de seca, sendo que o teor de umidade mais elevado foi o ponto PORTUR tanto para o período de seca como de chuva (17,5% e 13,6% respectivamente).

Com relação aos valores obtidos para a matéria orgânica foi possível perceber que para PORTUR houve uma diferença entre os valores no período de seca e chuva. Isso pode ser explicado pelo fato de que esse ponto é localizado em uma área predominantemente rural onde não há grande escoamento superficial de áreas urbanas ou com habitações com grande carga de matéria orgânica, sendo que no período de seca essa matéria orgânica estava concentrada e no período de chuva ela provavelmente foi diluída apresentando assim um baixo valor.

Para a NRP, observaram-se diferentes valores para os dois períodos amostrados, entretanto o ponto PORTUR apresentou comportamento contrário. É importante destacar que a NRP é um local rural, mas com habitações e criações de animais onde se verifica que no período

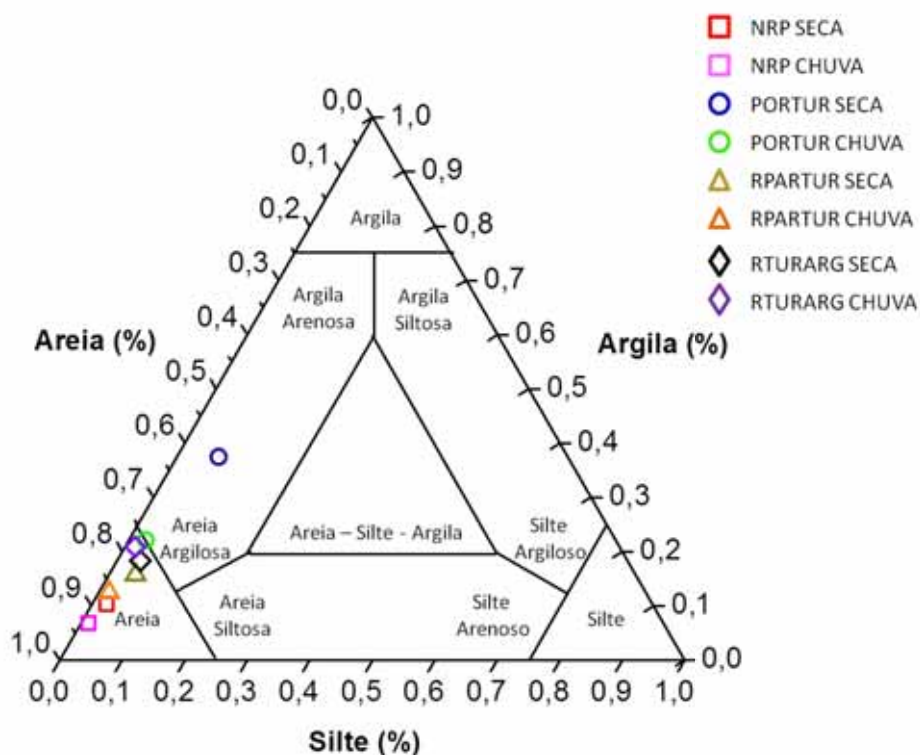
de seca o valor de matéria orgânica se encontra baixo e no período de chuva houve um aumento considerável o que pode ser explicado pelo escoamento superficial dessas áreas habitadas. Para os demais pontos os valores se mantiveram próximos nos dois períodos estudados.

Tabela 06: Valores de pH, teor de umidade e matéria orgânica das amostras de solo coletadas em quatro pontos pertencentes à BHTG no período de seca de 2012 e de chuva de 2013 (n=1).

Local de amostragem	pH	Umidade (%)	Matéria Orgânica (%)			
				pH	Umidade (%)	Matéria Orgânica (%)
SECA				CHUVA		
NRP	5,8	9,2	11,6	6,2	5,3	36,9
PORTUR	6,1	17,5	25,2	5,5	13,6	1,2
RPARTUR	5,4	11,6	20,0	5,9	12,2	20,2
RTURARG	6,4	11,4	16,2	6,3	11,8	15,7

Os resultados de granulometria dos solos para o período de seca e chuva conforme mostrado na plotagem dos percentuais no diagrama ternário da classificação textural de Shepard na Figura 10 nos mostraram que em geral há predominância da fração arenosa (> 0,63 µm), sendo que as porcentagens foram maiores que 55%, já a porcentagem de silte nesses solos ficou entre 10,8 a 37,9% e as porcentagens de argila foram as menores ficando entre 1,65 e 7,08%. Foi possível perceber que o ponto PORTUR SECA ficou totalmente na classe de areia argilosa.

Figura 10: Diagrama ternário da classificação textural de Shepard das amostras de solo coletadas no período de seca e chuva em 4 locais de amostragem na BHTG (n=1).



5.1.3. Amostras de sedimento

Os resultados do pH, umidade e matéria orgânica dos sedimentos amostrados no período de seca em 2012 e de chuva em 2013 estão apresentados na Tabela 07.

Os valores de pH encontrados nos sedimentos no período de seca variaram entre 6,1 a 6,7, já no período de chuva os valores ficaram entre 6,6 a 7,7 indicando que em ambos os períodos os valores estão próximos da neutralidade conforme dados da CETESB (2010), com o pH de sedimentos de rios do estado de São Paulo variando de 6,6, a 7,3.

Com relação à umidade foi possível verificar que para o período de seca os valores mais elevados foram encontrados em CAPRP, RGRANDE e RTURARG (55,6%; 52,6% e 60,0% respectivamente). O baixo teor de umidade encontrado na NRP pode estar relacionado com a sua granulometria altamente arenosa (94,3%) a qual é responsável pelo baixo potencial de retenção de água.

Para o período de chuva, houve um aumento da umidade nos pontos, o que pode ser explicado pelo fato de que a coleta de sedimentos foi feita superficialmente e não em diferentes profundidades. Com isso, o sedimento superficial fica constantemente em contato com a água, tanto no período de seca como de chuva. Mas sabemos que no período de chuva esse contato fica mais intenso devido a maior quantidade de água e ao alagamento nos corpos aquáticos (CAMPANHA, 2011).

Com relação à quantidade de matéria orgânica para o período de seca, foi possível perceber que os valores dos pontos amostrados não apresentaram diferenças expressivas. Já para o período de chuva, somente o ponto NRP apresentou um valor maior se comparado aos outros pontos, os quais apresentam valores próximos. Em geral o período de seca apresentou os menores teores de matéria orgânica quando comparado ao período de chuva. De acordo com Esteves (1998) sedimentos cujo teor de matéria orgânica é maior que 10% são considerados orgânicos, e sedimentos com valores inferiores a 10%, inorgânicos. Assim todos os sedimentos coletados na bacia hidrográfica do Turvo/Grande são considerados predominantemente orgânicos para os dois períodos coletados, pois apresentaram valores maiores que 10%.

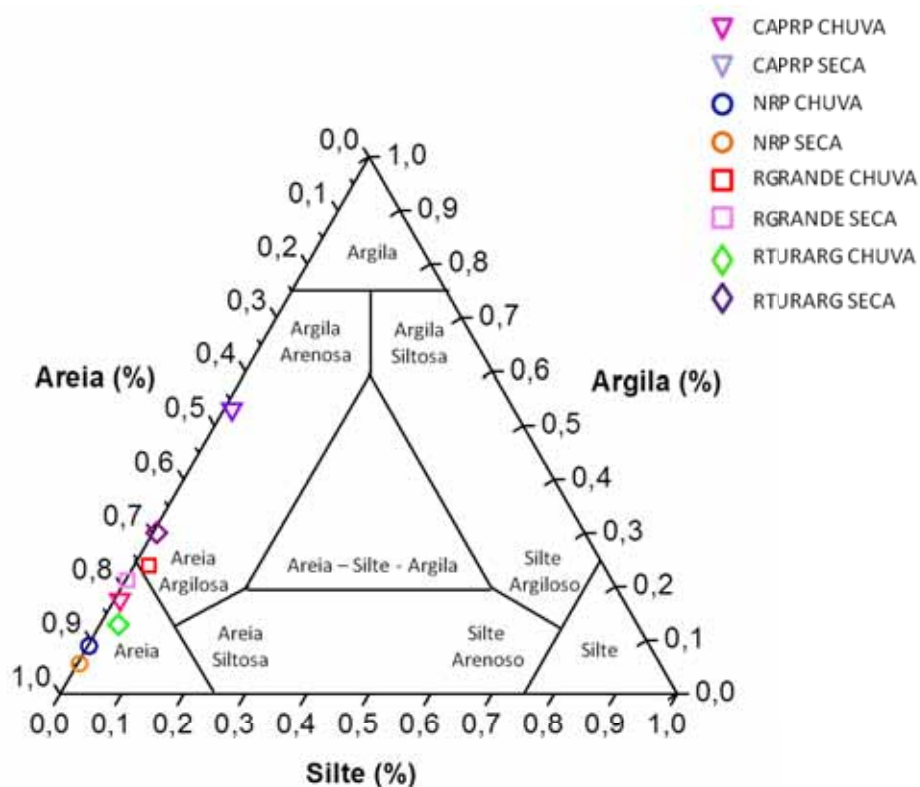
Tabela 07: Valores de pH, umidade e matéria orgânica das amostras de sedimento coletadas em quatro pontos pertencentes à BHTG no período de seca de 2012 e de chuva de 2013 (n=1).

Local de amostragem	pH	Umidade (%)	Matéria Orgânica (%)	pH	Umidade (%)	Matéria Orgânica (%)
CAPRP	6,4	55,6	48,5	6,6	60,0	65,3
NRP	6,1	23,1	56,8	7,3	72,0	80,6
RGRANDE	6,4	52,6	53,0	6,8	61,7	68,4
RTURARG	6,7	60,0	48,6	7,1	62,0	69,9

Os resultados de granulometria dos sedimentos no período de seca e de chuva são apresentados na Figura 11. Como pode ser observado o sedimento apresenta textura com predominância da fração arenosa ($> 0,63 \mu\text{m}$), sendo que algumas amostras são totalmente arenosas, e outras, areia argilosas, isso tende a variar de acordo com o período amostrado e o ponto de coleta. As porcentagens de areia que foram predominantes variaram entre 77,62 a 90,57%, as de silte de 5,1 a 52,62%, e as de argila, as menores ficaram entre 0,6 e 3,4%.

De acordo com a Figura 11 no diagrama ternário da classificação textural de Shepard, foi possível observar que os sedimentos foram classificados em sua maioria como arenosos e que os pontos CAPRP chuva e seca apresentaram uma grande diferença nos períodos de amostragem juntamente com os pontos RTURARG chuva e seca, os quais também apresentaram diferença. Estas variações podem estar relacionadas devido às diferenças existentes entre os períodos de amostragens.

Figura 11: Diagrama ternário da classificação textural de Shepard das amostras de sedimento coletadas no período de seca e chuva em 4 locais de amostragem na BHTG (n=1).



5.2. Análise elementar (CHN)

5.2.1. Amostras de solo

Os resultados em porcentagens de C, H e N em amostras de solo são apresentados na Figura 12. Foram realizadas análises químicas para obter informações sobre a distribuição dos elementos químicos no solo. As amostras apresentaram maiores porcentagens de carbono, porcentagens intermediárias de hidrogênio e porcentagens mínimas de nitrogênio tanto para o período de seca como chuva. A relação da razão C/N para os solos serve de critério para analisar o período de decomposição e a quantidade de nutrientes presentes nesse material orgânico. Segundo Scholl e Nieuwenhuis (2004) o material orgânico considerado velho e duro deve apresentar razão C/N elevada, já o material mais recente e maleável apresenta uma razão C/N baixa.

De acordo com Boddey; Alves; Urquiaga, 2004 e Neu, 2005 a alta razão C/N pode dificultar ou facilitar a decomposição da matéria orgânica no solo, assim dependendo dos valores a razão C/N pode indicar o nível da estabilidade biológica (SANTOS, 2007).

A Tabela 08 mostra a razão entre a concentração molar do carbono orgânico e nitrogênio total (C/N) para as amostras de solo, nas quais foi possível perceber valores semelhantes e baixos para todos os pontos. E de acordo com dados na literatura, pode ser considerado um material mais recente e maleável.

Figura 122: Resultados da análise elementar das amostras de solo no período de seca e chuva (n=1).

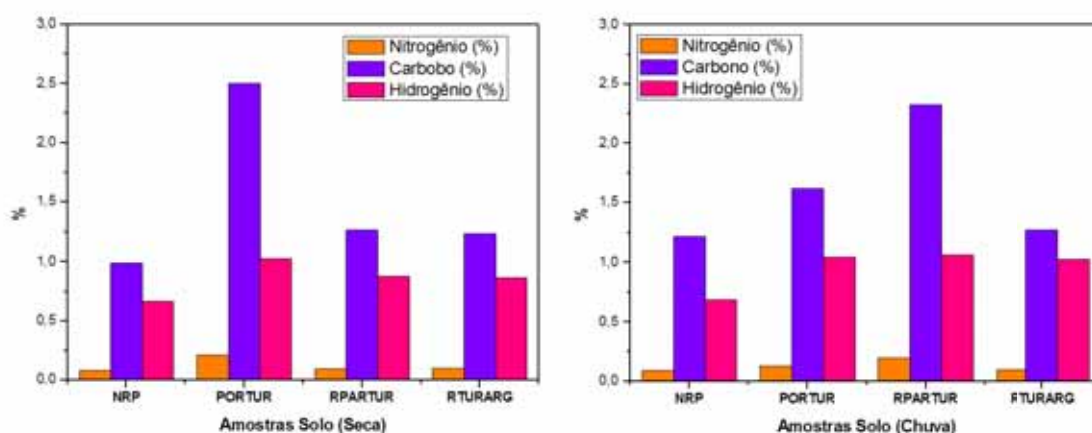


Tabela 08: Valores da razão C/N para o período de seca e chuva nas amostras de solo (n=1).

Amostras	Razão C/N (Seca)	Razão C/N (Chuva)
NRP	12,13	13,35
PORTUR	11,98	12,80
RPARTUR	14,07	11,87
RTURARG	12,21	13,31

5.2.2. Amostras de sedimento

Para as amostras de sedimento conforme mostrado na Figura 13, às análises químicas de C, H e N apresentaram porcentagens elevadas para o elemento carbono, porcentagens menores para o hidrogênio e porcentagens mínimas para o nitrogênio nos sedimentos da bacia em estudo.

A Tabela 09 mostra os valores da razão entre a concentração molar do carbono orgânico e nitrogênio total (C/N) para as amostras de sedimento. Essa razão tem sido extensivamente empregada para identificar a origem da matéria orgânica (aquática ou terrestre) nesses compartimentos (BORDOVSKI, 1965; MEYERS, 1994, ALONGI, 1996). Segundo Stein (1991) valores de $C/N \leq 10$ representam a matéria orgânica de vegetais aquáticos. Já valores de $C/N > 10$ representam uma mistura de fontes da matéria orgânica.

De acordo com Meyers (1994) e Hedges e colaboradores (1997), a composição elementar da matéria orgânica distingue as fontes alóctones das autóctones. As fontes alóctones são representadas pelas plantas terrestres, as quais possuem moléculas com baixo teor de nitrogênio (celuloses, ligninas, entre outros) o que resulta em altas razões de C/N. No entanto, as fontes autóctones são formadas por bactérias e algas, sendo assim ricas em proteínas e apresentando razões de C/N que variam de 4 a 10.

Conforme indicado pela Tabela 09 é possível perceber que os sedimentos da BHTG em sua maioria apresentaram valores de $C/N > 10$ caracterizando assim uma mistura de fontes de matéria orgânica, com exceção do ponto NRP para o período de seca onde essa razão foi de 5,4, indicando matéria orgânica proveniente de vegetais. Vale ressaltar que esse ponto de coleta

possui grande quantidade de algas em seu corpo hídrico, representando a matéria orgânica de vegetais, o que no período de chuva pode se modificar totalmente pela possibilidade de ocorrer escoamento de matéria orgânica proveniente de outras fontes.

Figura 13: Resultados da análise elementar das amostras de sedimento no período de seca e chuva (n=1).

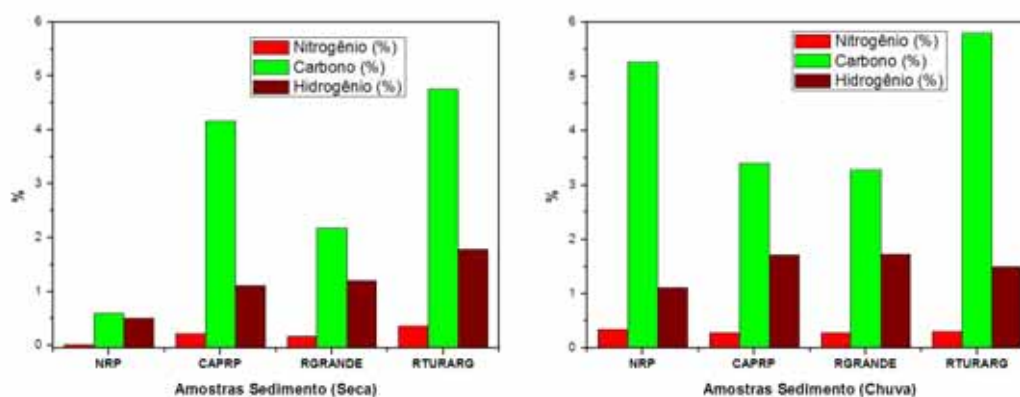


Tabela 09: Valores da razão C/N para o período de seca e chuva nas amostras de sedimento (n=1).

Amostras	Razão C/N	Razão C/N
	(Seca)	(Chuva)
NRP	5,40	15,58
CAPRP	18,64	11,85
RGRANDE	12,51	11,74
RTURARG	12,98	18,66

Os resultados da análise elementar na BHTG mostraram que as amostras de solo e sedimento apresentaram como elemento químico principal o carbono tanto para o período de seca como de chuva. As razões C/N calculadas para as amostras de solos mostram que em ambos os períodos coletados as razões são consideradas baixas quando comparadas a estudos já descritos na literatura caracterizando solos como recentes e maleáveis. Para as amostras de sedimentos as razões C/N ficaram maiores que 10 caracterizando os sedimentos como uma mistura matéria

orgânica de diversas fontes, com exceção do ponto NRP onde essa razão ficou menor que 10 indicando assim material orgânico de origem vegetal.

5.3. Adaptação e validação do método analítico para análise de fipronil e produtos de degradação

5.3.1 Condições cromatográficas

As condições cromatográficas citadas na Tabela 4 foram determinadas observando a melhor resolução dos picos e a não sobreposição dos analitos. Foram injetadas soluções padrão do fipronil e produtos de degradação no modo SCAN para se determinar com precisão os tempos de retenção e íons relativos de cada um dos analitos. Para confirmação final foi injetado no modo SIM, modo utilizado nas análises de quantificação. A partir dos espectros de massas e com os fragmentos de cada um dos agrotóxicos foi possível determinar os íons característicos e mais abundantes de cada um deles, tornando possível à realização das leituras cromatográficas no modo SIM (monitoramento do íon seletivo).

Para construção da curva analítica e na extração das amostras foram utilizados o *surrogate* diazinon-d10 na concentração de $60 \mu\text{g L}^{-1}$ e o padrão interno Fenantreno-d10 na concentração de 1 mg L^{-1} .

5.3.2. Curva analítica para quantificação do fipronil e produtos de degradação em água, solo e sedimento

Para a construção da curva analítica foi utilizado o Fenantreno-d10 como padrão interno para correção de concentração. A Figura 14 ilustra os cromatogramas com o F. dessulfínil, F. sulfide, fipronil e F. sulfona nas concentrações 20, 40, 60, 80, 100 e $120 \mu\text{g L}^{-1}$, juntamente com o padrão interno Fenantreno-d10 (1 mg L^{-1}) e o *surrogate* Diazinon-d10 ($60 \mu\text{g L}^{-1}$). A curva analítica para quantificação dos analitos foi obtida plotando a razão entre a área do padrão interno pela área do analito em função da sua concentração. O mesmo procedimento foi adotado para seus produtos de degradação.

A Figura 15 mostra as curvas de cada um dos compostos em questão e boa correlação foi observada para todos analitos. Essa curva foi utilizada para a quantificação das amostras e para os testes de recuperação realizados antes da quantificação. É importante destacar que em dias posteriores à construção da curva, antes de iniciar as análises sempre foi injetado um padrão na

concentração de $60 \mu\text{g L}^{-1}$ para verificar a reprodução da curva. E em casos de erros superiores a 5% uma nova curva analítica era construída.

Figura 14: Cromatogramas do fipronil e produtos de degradação nas concentrações de 20, 40, 60, 80, 100 e $120 \mu\text{g L}^{-1}$ utilizados para a construção da curva analítica.

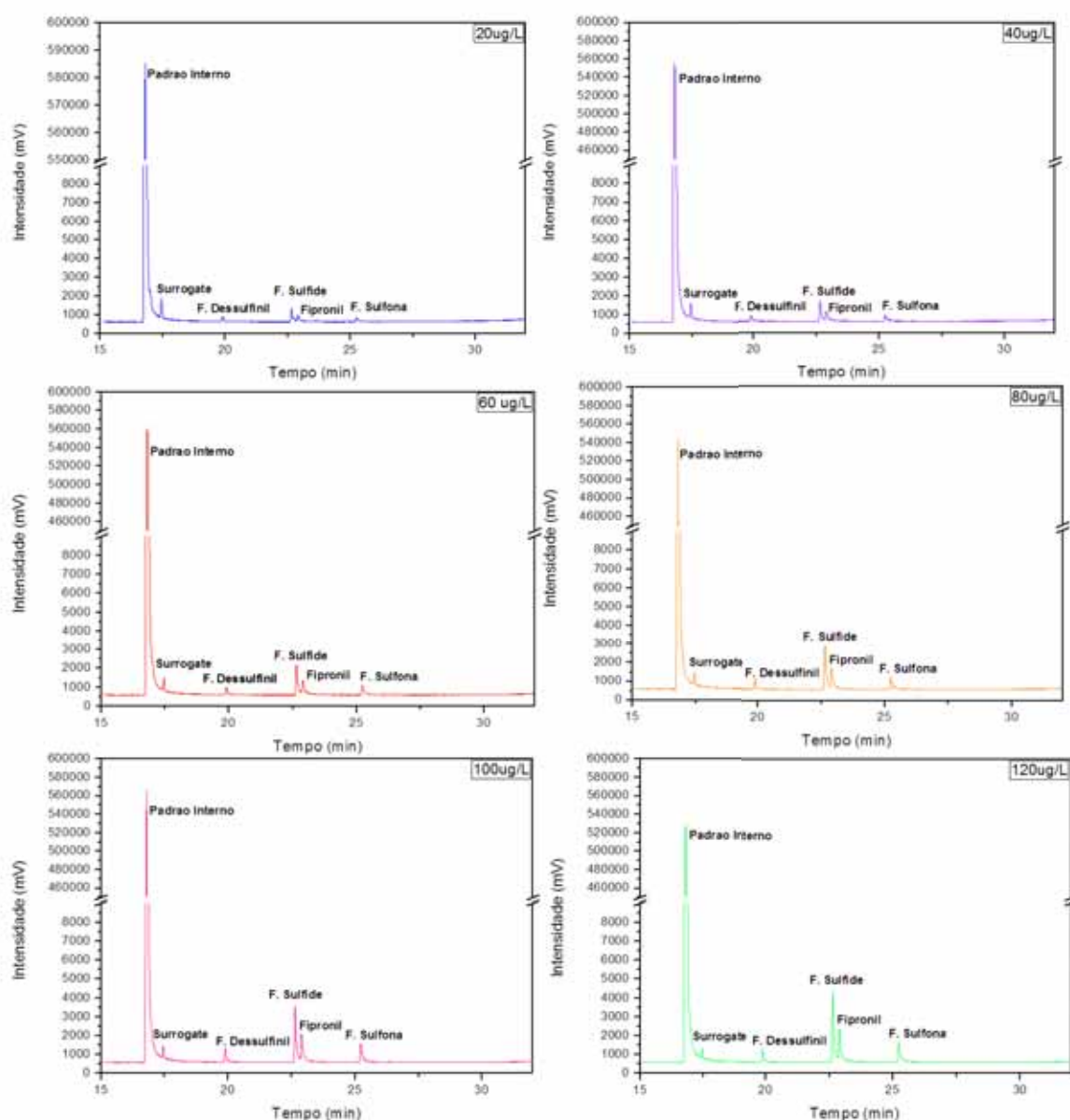
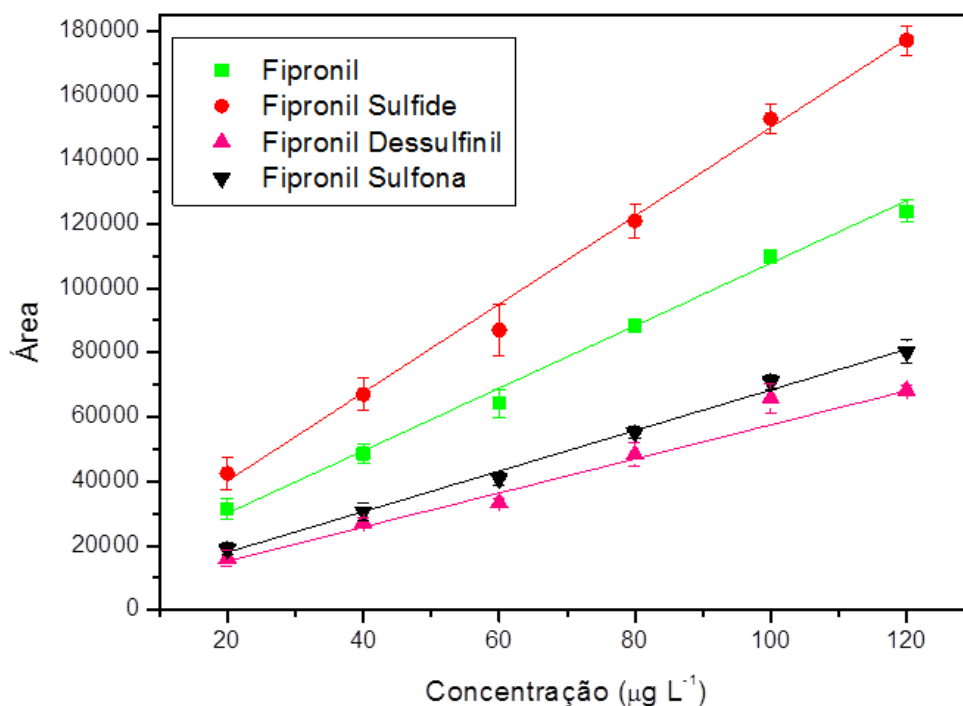


Figura 15: Curvas analíticas utilizadas na quantificação do fipronil, F. sulfona, F. sulfide e F. dessulfinil nas amostras ambientais.



5.3.3. Seletividade e especificidade

O método mostrou-se seletivo para os analitos em estudo, sendo assim possível determinar qualitativamente e quantitativamente cada composto estudado, baseando-se nos tempos de retenção e garantem que os picos obtidos no cromatograma sejam exclusivos de cada composto de interesse por meio da análise dos espectros de massas.

As fragmentações obtidas dos analitos estudados foram comparadas com as existentes na literatura para a confirmação dos resultados. Foram obtidos cromatogramas de cada analito no modo SIM com uma concentração de $60 \mu\text{g L}^{-1}$ e seus respectivos espectros de massas com os principais íons característicos. A Figura 16 mostra o cromatograma da solução padrão mista do fipronil e seus produtos de degradação na concentração de $60 \mu\text{g L}^{-1}$ com os tempos de retenção determinados, no modo SIM, e as Figuras 17 a 20 mostram respectivamente os cromatogramas e o espectro de massas dos compostos, F. dessulfinil, F. sulfide, fipronil e F. sulfona.

Figura 16: (a) Cromatograma do padrão misto do fipronil seus produtos de degradação na concentração de $60 \mu\text{g L}^{-1}$ em GC-MS e (b) o cromatograma ampliado.

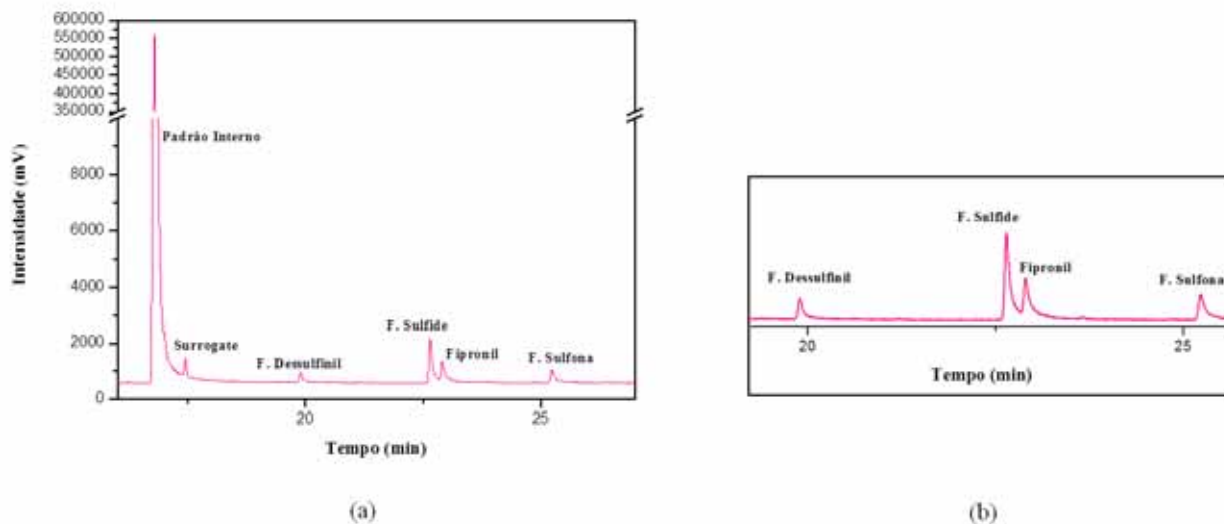


Figura 17: Cromatograma na concentração de $60 \mu\text{g L}^{-1}$ e espectro de massas do analito F. dessulfnil.

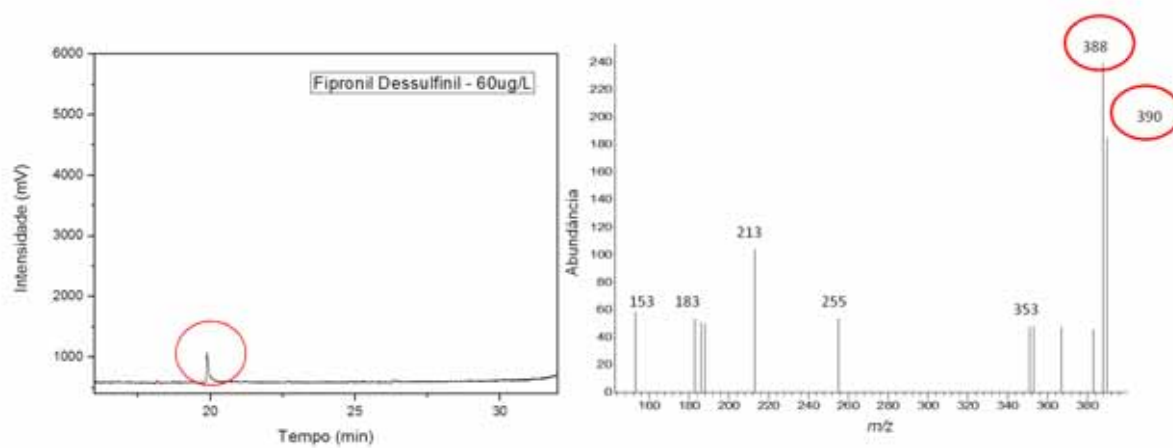


Figura 18: Cromatograma na concentração de $60 \mu\text{g L}^{-1}$ e espectro de massas do analito F. sulfide.

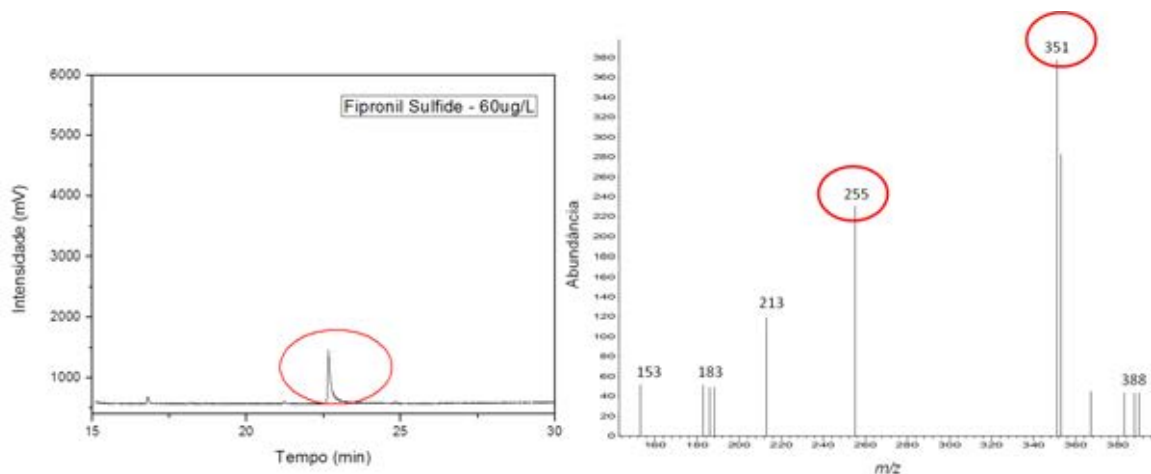


Figura 19: Cromatograma na concentração de $60 \mu\text{g L}^{-1}$ e espectro de massas do analito fipronil.

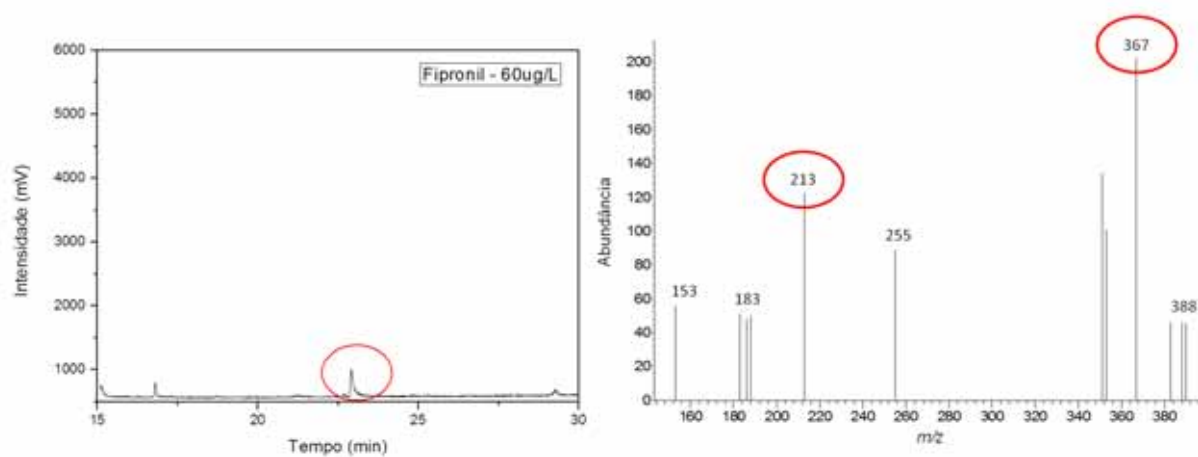
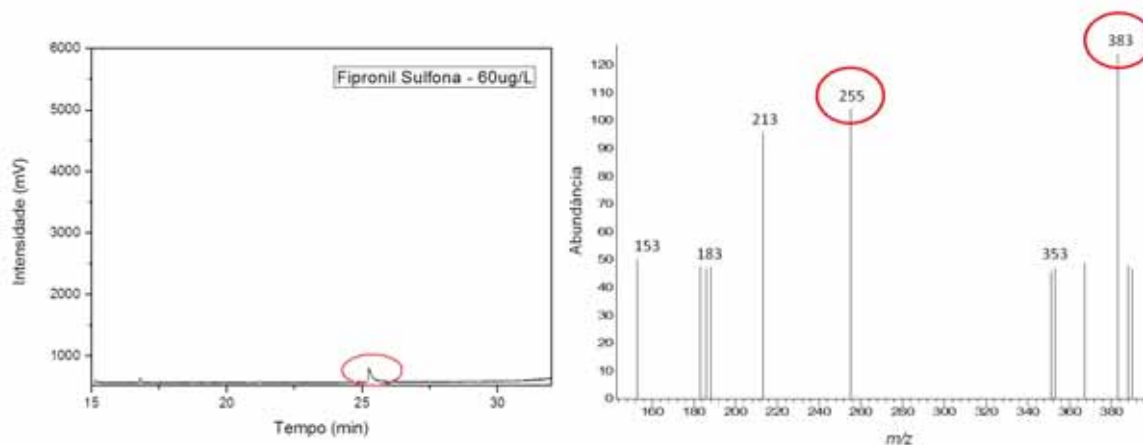


Figura 20: Cromatograma na concentração de $60 \mu\text{g L}^{-1}$ e espectro de massas do analito F. sulfona.



5.3.4. Linearidade e curva analítica

A obtenção das curvas analíticas por meio de padrões dos agrotóxicos permitiu a obtenção de coeficientes de correlação linear satisfatórios para o fipronil, F. sulfona, F. sulfide e F. dessulfenil. As Figuras 21 a 24 apresentam as curvas analíticas realizadas em triplicata para cada analito.

Com os valores obtidos para cada curva analítica pode-se concluir que o modelo de regressão linear mostrou-se adequado para as análises em estudo e foi possível perceber que os coeficientes de correlação linear foram maiores que 0,99 para três dos analitos, com exceção do F. Dessulfenil com 0,97 demonstrando assim uma correlação entre concentração e resposta obtida. A ANVISA recomenda um coeficiente de correlação de no mínimo 0,99 e o INMETRO que seja acima de 0,90.

Figura 21: Curva analítica do fipronil apresentando a regressão linear.

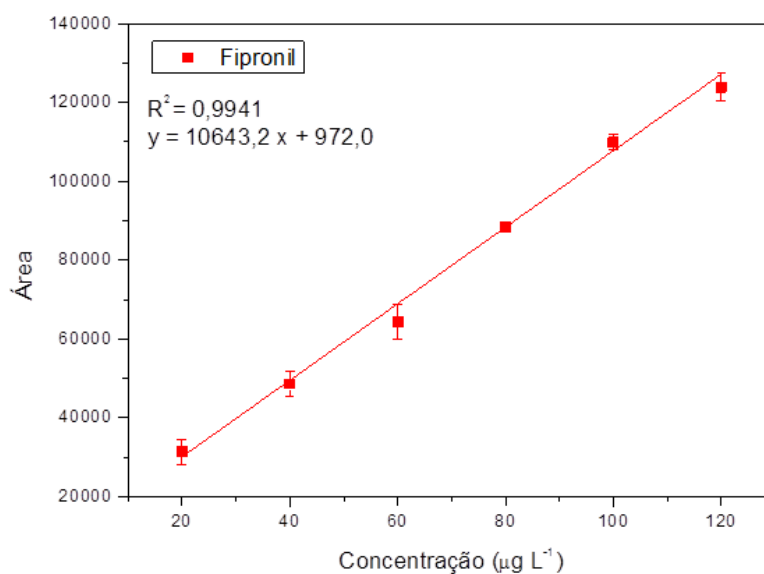


Figura 22: Curva analítica do F. sulfide apresentando a regressão linear.

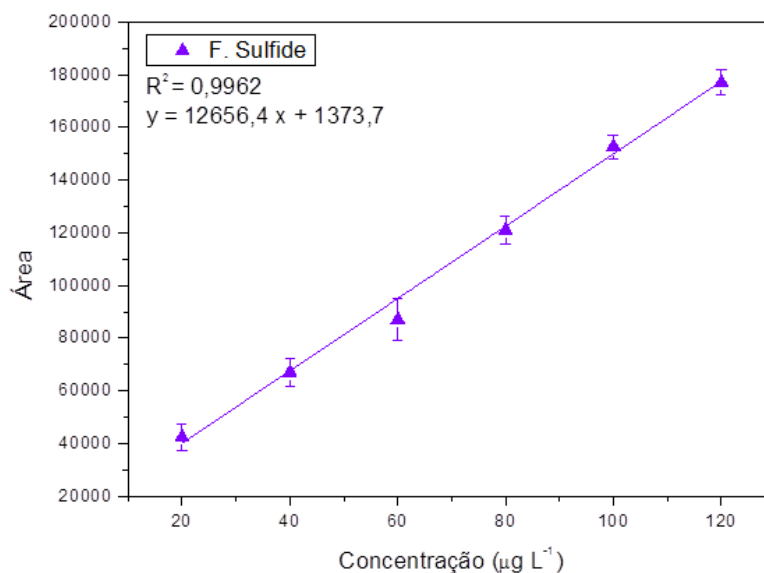


Figura 23: Curva analítica do F. sulfona apresentando a regressão linear.

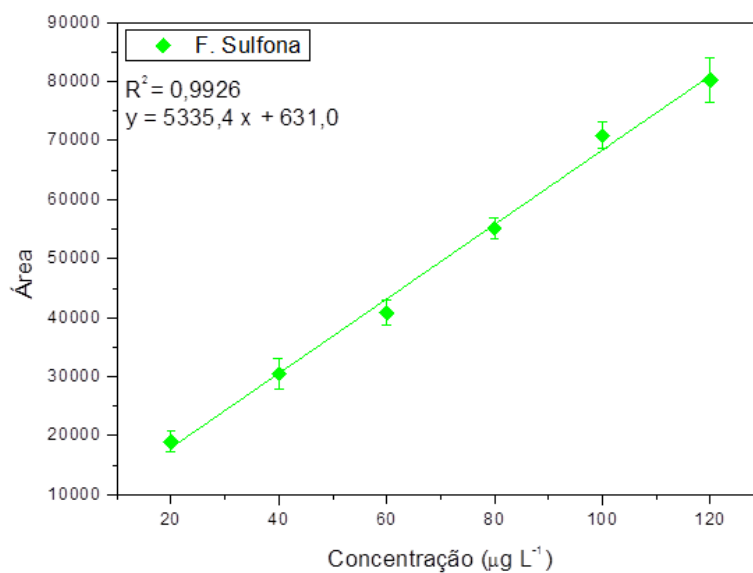
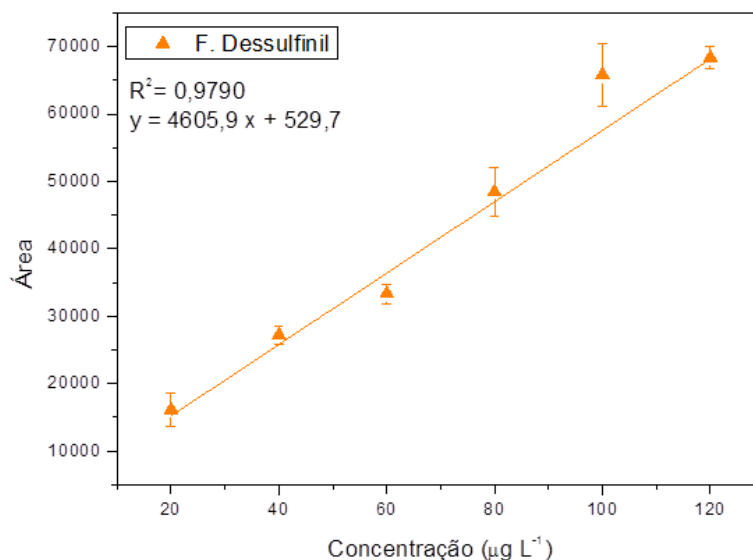


Figura 24: Curva analítica do F. dessulfínil apresentando a regressão linear.

5.3.5. Precisão

A precisão foi avaliada em termos de repetitividade e precisão intermediária em três níveis de fortificação e em triplicata (Tabela 10). Para a repetitividade foi feita as injeções em triplicata no mesmo dia de todos os padrões. Já a precisão intermediária foi avaliada realizando ensaios em dias consecutivos e não consecutivos para verificar se o método apresenta o mesmo comportamento em diferentes dias. Para isto foram injetados três níveis de concentração em triplicata da mesma maneira que foi feito para repetitividade. Tanto para a repetitividade quanto para a precisão intermediária foram obtidos coeficientes de variação inferiores a 15%, conforme mostrado na Tabela 10, comprovando que o método é repetitivo não só quando os ensaios são realizados no mesmo dia, mas permanece constante em dias diferentes.

Tabela 10: Resultados de repetitividade e precisão intermediária dos padrões analíticos do fipronil e produtos de degradação.

Analitos	Repetitividade (RSD%)			Precisão Intermediária (RSD%)		
	40 $\mu\text{g L}^{-1}$	80 $\mu\text{g L}^{-1}$	120 $\mu\text{g L}^{-1}$	40 $\mu\text{g L}^{-1}$	80 $\mu\text{g L}^{-1}$	120 $\mu\text{g L}^{-1}$
Fipronil	10,7	2,0	4,3	4,4	4,7	4,0
F. Sulfona	9,5	3,6	4,6	4,1	3,3	3,0
F. Sulfide	12,4	4,2	4,5	3,9	1,6	1,1
F. Dessulfenil	13,4	3,3	4,1	5,3	1,0	2,9

5.3.6. Exatidão

A exatidão foi avaliada a partir dos ensaios de adição e recuperação de padrões adicionados nas amostras. Para todas as amostras de água, solo e sedimento a recuperação dos analitos fipronil, F. sulfide, F. sulfona, F. dessulfenil oscilaram entre 88,26 e 111,75% para todos os níveis de concentração (40 a 120 $\mu\text{g L}^{-1}$ para amostras de água, e 100 a 300 $\mu\text{g Kg}^{-1}$ para amostras de solo e sedimento).

A Tabela 11 mostra os valores de adição e recuperação do fipronil e produtos de degradação nas matrizes ambientais água, solo e sedimento nos três níveis de fortificação. Deste modo é possível considerar a exatidão satisfatória já que os intervalos aceitáveis de recuperação para análises de resíduos de contaminantes estão entre 70 a 120% (RIBANI et al., 2004; PRESTES, 2007; SANCO, 2007).

Vários fatores afetam na recuperação da amostra tais como o tipo de matriz, método de extração, quantidade de analito adicionada e dependendo da matriz essa faixa permitida pode ser ampliada ou restringida (GONÇALVES, 2007).

Tabela 11: Valores de concentração adicionada ($\mu\text{g L}^{-1}$ e $\mu\text{g Kg}^{-1}$), recuperação e desvio padrão relativo para os testes de recuperação das amostras de água, solo e sedimento.

Analito	Água			Solo			Sedimento	
	Concentração Adicionada ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Recuperação (%)	RSD (%)	Concentração Adicionada ($\mu\text{g Kg}^{-1}$)	Recuperação (%)	RSD (%)	Recuperação (%)	RSD (%)
Fipronil	40	106,95	2,90	100	107,45	5,50	102,76	12,21
	80	102,01	7,33	200	110,18	1,97	92,92	5,76
	120	100,93	4,54	300	100,33	10,43	102,13	8,95
F. Sulfide	40	99,18	10,38	100	109,63	3,21	99,80	10,23
	80	103,90	4,63	200	102,97	6,42	103,87	6,91
	120	100,79	4,88	300	100,42	8,47	100,30	3,56
F.Sulfona	40	88,26	2,37	100	101,26	12,22	101,84	14,00
	80	94,25	7,47	200	109,82	7,71	91,17	6,07
	120	100,58	2,62	300	89,09	1,71	111,75	0,08
F.	40	103,67	11,79	100	99,19	13,73	104,56	10,19
Desulfinil	80	105,23	6,70	200	106,77	5,59	105,68	8,22
	120	103,63	1,79	300	108,47	2,61	100,56	9,57

5.3.7. Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ)

Na Tabela 12 são apresentados os limites de detecção e quantificação do método ($\mu\text{g L}^{-1}$) e os limites de detecção e quantificação ambientais ($\mu\text{g Kg}^{-1}$) para o fipronil e seus produtos de degradação.

Tabela 12: Limites de Quantificação (LQ) e Limites de Detecção (LD) do método e ambientais obtidos para os analitos estudados.

Analitos	LD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LD ($\mu\text{g Kg}^{-1}$)	LQ ($\mu\text{g Kg}^{-1}$)
F. Dessulfinil	2,0	6,5	5,0	16,3
F. Sulfide	1,5	4,5	3,8	11,3
Fipronil	3,1	10,2	7,8	25,5
F. Sulfona	3,3	10,8	8,3	27,0

Os limites de detecção e quantificação instrumentais variaram de 1,5 a 3,3 $\mu\text{g L}^{-1}$ e 4,5 a 10,8 $\mu\text{g L}^{-1}$, e os limites de detecção e quantificação ambiental variaram de 3,8 a 8,3 $\mu\text{g Kg}^{-1}$ e 11,3 a 27,0 $\mu\text{g Kg}^{-1}$ respectivamente. Os LD e LQ dos compostos foram realizados para a condução das análises e tratamento dos dados.

5.4. Análises das amostras ambientais

5.4.1. Água superficial

As amostras de água superficial coletadas dos rios da bacia hidrográfica do Turvo/Grande tanto para o período de seca (1ª Coleta) quanto para o período de chuva (2ª Coleta) ficaram abaixo do limite de detecção do método para o agrotóxico fipronil e seus produtos de degradação.

Apesar do uso intenso desses agrotóxicos na cultura da cana-de-açúcar durante o plantio, foi possível perceber que esses valores foram todos inferiores ao limite de detecção para os dois períodos coletados, sendo possível compreender que mesmo se houve lixiviação desses

compostos, principalmente no período chuvoso, o fipronil pode não ter sido integrado às águas superficiais.

Em estudo realizado por Cappelini (2008), quando amostras de água do Rio Ribeirão do Feijão em São Carlos foram coletadas no período de seca para determinação de alguns agrotóxicos, entre eles o fipronil, utilizando-se o método de extração em fase sólida (SPE), não foi observado a ocorrência do fipronil e outros agrotóxicos nas amostras de água. Cella (2009) analisou resíduos do agrotóxico fipronil e outros compostos em águas coletadas na bacia do Rio Corumbataí, também empregando o método de extração em fase sólida (SPE) e para a quantificação foi utilizado um GC-MS, sendo que em nenhuma das amostras analisadas foi detectado o composto fipronil ou seus produtos de degradação.

Segundo Prata et al., (2003) a lixiviação é uma das formas de transporte no solo das moléculas não voláteis e solúveis em água, o que vale ressaltar que o composto fipronil é semi-volátil e praticamente insolúvel em água, podendo apresentar assim forte interação com o solo. Deve-se levar em consideração que esse processo de lixiviação depende de vários fatores entre eles o tipo de solo, as condições climáticas, as características específicas de cada pesticida, entre outras (ROSSI; ALVES; MARQUES JÚNIOR, 2005).

5.4.2. Solo

Para as amostras de solo, conforme mostrado na Tabela 13 foram encontrados resíduos do agrotóxico fipronil e alguns de seus produtos de degradação nos dois períodos de coleta (chuva e seca).

Tabela 13: Resultados das análises de fipronil e seus principais produtos de degradação em amostras de solo. Todas as amostras tiveram um fator de concentração de 50 vezes.

Pontos de coleta	Seca ($\mu\text{g Kg}^{-1}$)			Chuva ($\mu\text{g Kg}^{-1}$)		
	Fipronil	F. Sulfide	F. Sulfona	Fipronil	F. Sulfide	F. Sulfona
NRP	<Ld	<Ld	<Ld	<Ld	<Ld	<Ld
PORTUR	120 ± 12	35 ± 5	180 ± 10	16 ± 12	11 ± 9	69 ± 6
RTURARG	<Ld	<Ld	<Ld	<Ld	<Ld	6 ± 3
RPARTUR	<Ld	<Ld	<Ld	21 ± 5	18 ± 4	78 ± 12

Ld = Limite de detecção

Para o período de seca no ponto PORTUR localizado na ponte que liga a cidade de São José do Rio Preto a Olímpia foi encontrado o agrotóxico fipronil e dois produtos de degradação, o F. sulfide e o F. sulfona em amostras de solo. Entretanto, em todos os outros pontos amostrados não foram encontradas concentrações acima do limite de detecção do método para a coleta realizada no período de seca. A Figura 25 mostra o cromatograma da amostra de solo (PORTUR) onde foi encontrado o agrotóxico fipronil e dois de seus produtos de degradação no período de seca.

Para o período de chuva no ponto PORTUR, foram encontrados novamente resíduos do agrotóxico fipronil e dos mesmos produtos de degradação que foram encontrados nas amostras coletadas no período de seca, sendo que no período de chuva a concentração das amostras foi menor que no período de seca, conforme mostrado na Figura 26.

No ponto RTURARG, localizado no município de Cardoso, no Rio Turvo antes de desaguar no Rio Grande foi encontrado um dos produtos de degradação o F. sulfona, ilustrado na Figura 27. E no ponto RPARTUR localizado na cidade de Pontes Gestal no Rio Preto antes de

desaguar no Rio Turvo foi encontrado o agrotóxico fipronil e dois de seus produtos de degradação o F. sulfide e o F. sulfona, conforme mostrado na Figura 28.

O metabólito F. dessulfínil foi detectado em todos os pontos de coleta no período de chuva para as amostras de solo, mas não foi possível quantificá-lo, pois seus valores ficaram entre o LD e o LQ.

Figura 25: Cromatograma da amostra de solo PORTUR amostrada no período de seca.

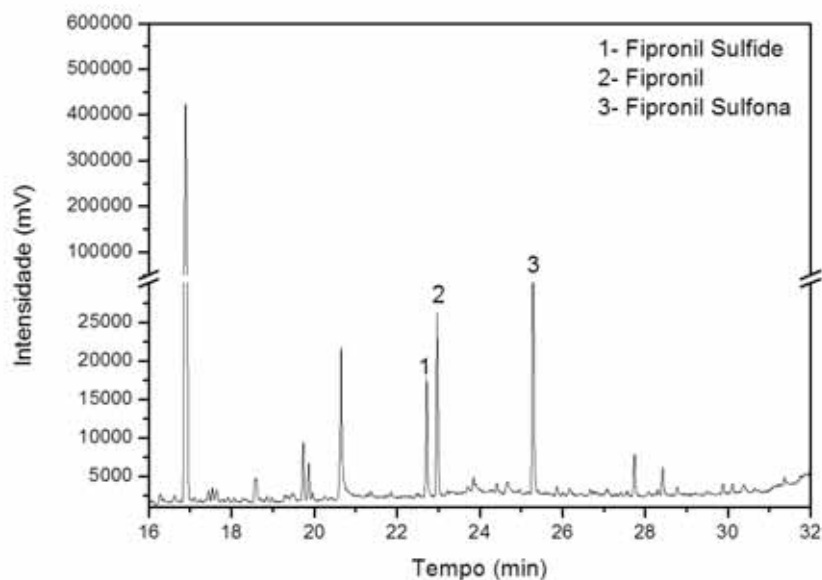


Figura 26: Cromatograma da amostra de solo PORTUR amostrada no período de chuva.

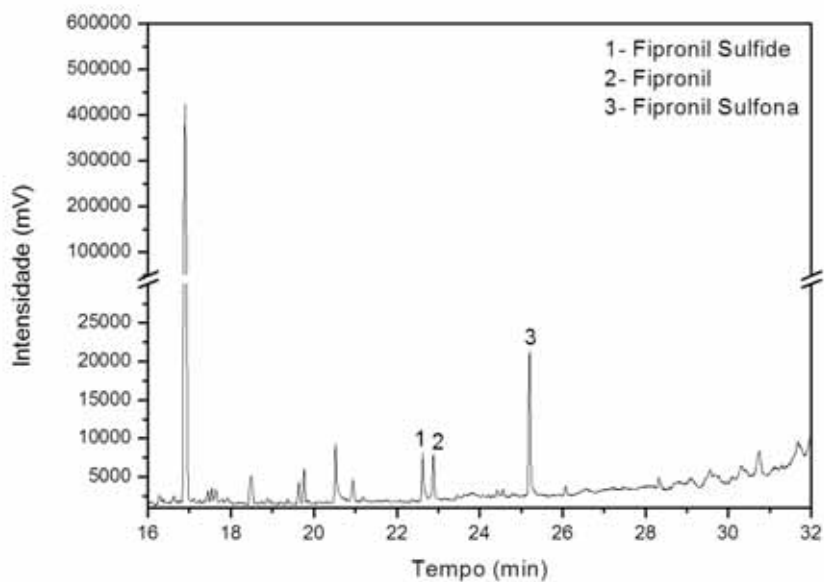


Figura 27: Cromatograma da amostra de solo RTURARG amostrada no período de chuva.

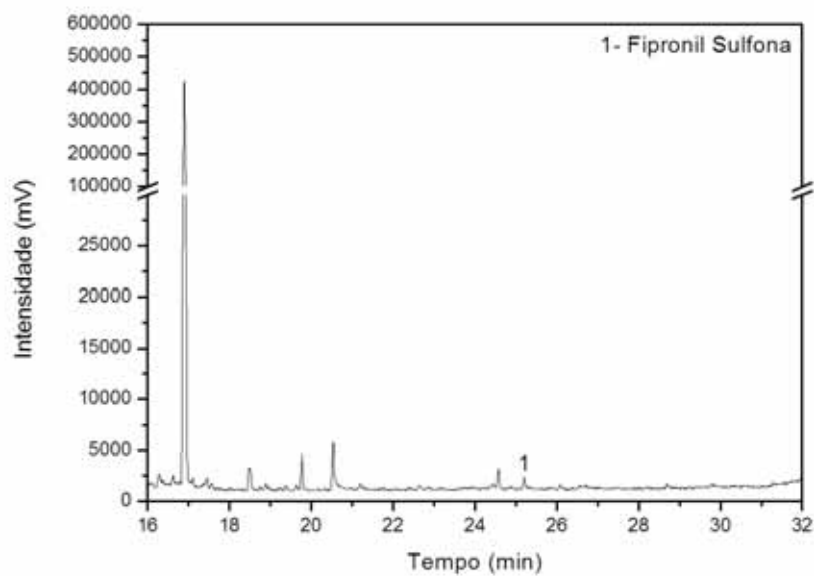
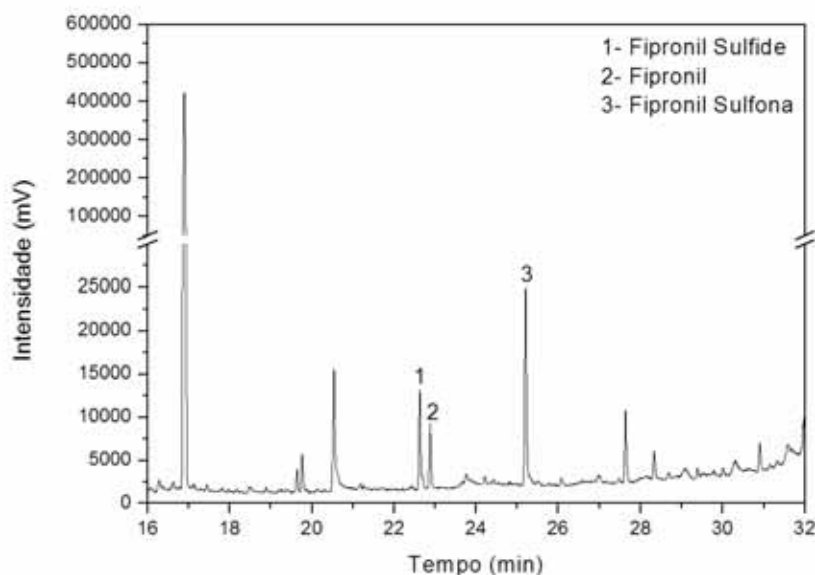


Figura 28: Cromatograma da amostra de solo RPARTUR amostrada no período de chuva.

Como já mencionado anteriormente a degradação do fipronil pode ocorrer por diferentes processos e assim originar os produtos de degradação, os quais possuem maior sorção ao solo, podendo permanecer por mais tempo no ambiente (YING; KOOKANA, 2001). Nas amostras foi possível perceber que o F. dessulfenil foi detectado em todas as amostras da 2ª coleta. Isso pode ter acontecido devido ao fato de o F. dessulfenil ser gerado a partir da fotodegradação. Essa transformação ocorre rapidamente quando o fipronil fica exposto à luz solar (BOBÉ et al.,1998), valendo ressaltar que os locais de coleta dos solos estão diretamente expostos a radiação solar. O metabólito F. sulfide foi identificado em três das quatro amostras que continham os analitos. Esse metabólito é gerado a partir de processos de redução. Já o metabólito F. sulfona foi identificado nas quatro amostras que continham os analitos. Esse metabólito é gerado a partir de processos de oxidação, sendo que esses processos acontecem com maior frequência nos solos devido aos diversos componentes químicos presentes, variando também com relação à composição dos solos, teor de matéria orgânica, granulometria, pH entre outros processos físico-químicos (BOBÉ et al.,1998).

Conforme estudo realizado por Lin et al., (2009) entre os três produtos de degradação do fipronil (F. sulfide, F. sulfona e F. dessulfenil), os quais são os mesmos estudados nesse projeto,

os autores mostraram que o F. sulfona foi o mais resistente para se degradar em sedimento, permanecendo assim por mais tempo nesse ambiente. Conforme visto no trabalho aqui realizado esse analito foi o único que tanto no período de chuva quanto de seca foi encontrado nas amostras de solo, as quais continham os analitos, conforme já descrito anteriormente.

Muitos processos podem influenciar na dinâmica dos agrotóxicos no ambiente, como processos de sorção destes com partículas de solo, o tempo de meia vida, a solubilidade, a densidade, os quais possibilitam determinar seu potencial de lixiviação, a pressão de vapor, entre vários outros (COQUET; BARRIUSO, 2002).

Para efeito de avaliação do potencial de lixiviação podemos considerar que quanto mais arenoso o solo, maior a facilidade de infiltração, causada pela porosidade existente entre as partículas de areia e silte (SANTOS, 2009). A região de estudo apresenta predominantemente solos arenosos, sendo verificado pelas análises físico-químicas feitas nas amostras de solo conforme mostrado anteriormente.

Uma maneira teórica de se avaliar a tendência de lixiviação do agrotóxico é por meio do índice GUS (Groundwater Ubiquity Score), o qual pode ser calculado de acordo com a Equação 07. Esse índice leva em consideração a persistência da molécula no solo e a força da matriz relacionada ao impedimento da lixiviação do pesticida (GUSTAFSON, 1989).

$$GUS = \log(t_{1/2}) \times [4,0 - \log(K_{oc})] \quad (7)$$

De acordo com a classificação de Gustafson (1989), podemos classificar os compostos em três categorias, conforme o valor apresentado, a saber: moléculas que possuem valores inferiores a 1,8 apresentam baixo potencial de lixiviação, moléculas com valores superiores a 2,8 possuem potencial de lixiviação elevado e moléculas com valores entre 1,8 a 2,8 estão em uma zona de transição (lixiviação intermediária), onde se leva em consideração vários outros fatores específicos.

A ocorrência de agrotóxicos em águas subterrâneas vem sendo amplamente estudada o que nos mostra a possível contaminação desse recurso hídrico. Na Tabela 14 estão descritos algumas propriedades físico-químicas que foram utilizadas para calcular o índice de GUS do fipronil e de seus produtos de degradação, e como pode ser observado, o fipronil possui

predominância em ser encontrado nas amostras de solo já que possui lixiviação intermediária segundo critério de GUS. O valor de K_{oc} do fipronil é de 803 e do F. dessulfenil é de 1258 sendo assim um indicativo de moderada mobilidade em solo, onde deve se levar em consideração outros fatores, já para o F. sulfide e F. sulfona os valores de K_{oc} são respectivamente 2511 e 3981, indicando uma baixa mobilidade no solo. Em concentrações traço o fipronil tem maior afinidade com a fase aquosa do solo podendo ser mais facilmente transportado para camadas mais profundas do que para águas superficiais (BOBÉ et al., 1997). Para os produtos de degradação foi possível perceber que o F. sulfona apresentou baixo potencial de lixiviação e que o F. sulfide e F. dessulfenil estão em uma zona de transição possuindo assim lixiviação intermediária.

Tabela 14: Propriedades físico-químicas do fipronil e produtos de degradação e valores de GUS para amostras de solo utilizando a Equação 8.

Agrotóxicos	K_{oc} (mL g ⁻¹)	$t_{1/2}$ (dias)	GUS	Lixiviação
Fipronil	803	140	2,35	Intermediária
F. Sulfona	3981	712	1,14	Baixa
F. Dessulfenil	1258	388	2,32	Intermediária
F. Sulfide	2511	588	1,65	Baixa

5.4.3. Sedimento

Da mesma maneira que nas amostras de água superficial, também não foi detectado nas amostras de sedimento da 1ª e 2ª coleta resíduos do agrotóxico fipronil e produtos de degradação na bacia hidrográfica do Turvo/Grande.

Esses dois compartimentos ambientais estão interligados já que uma vez na água os resíduos dos agrotóxicos podem se ligar ao material particulado em suspensão, se depositar no sedimento ou ser absorvido por organismos. Com isso, fica destacado que existe uma interação contínua dos agrotóxicos com o sedimento e água superficial, a qual é influenciada por vários fatores tais como o movimento da água, temperatura, turbulência entre outros (SILVA; SANTOS, 2007).

A disponibilidade dos agrotóxicos em sedimentos nos mostra relevantes informações a respeito da contaminação do corpo hídrico. Existem vários fatores que caracterizam o tipo de sedimento e como esse irá reagir frente a diversas contaminações, como por exemplo, dependendo da sua constituição físico-química o sedimento se comporta como fonte de acumulação de poluentes. Outro aspecto importante a ser considerado é a intensidade do uso, época de aplicação, forma de aplicação, pois esses aspectos influenciam diretamente na possível sorção dos agrotóxicos nos sedimentos (SECCO et al., 2005; CUNHA, 2003).

A solubilidade em água dos analitos também é um fator importante, a qual deve ser considerada quando se quer estudar a disponibilidade desses analitos nos compartimentos ambientais, pois influenciam no comportamento, transporte e destino desses compostos. A solubilidade em água é um parâmetro que indica a afinidade do agrotóxico a ser carregado superficialmente no solo e assim atingir águas superficiais (CABRERA; COSTA; PRIMEL, 2008). A solubilidade indica a tendência de o agrotóxico ser carregado superficialmente no solo pela água da chuva ou de irrigação e com isso atingir as águas superficiais e os sedimentos. O agrotóxico fipronil possui baixa solubilidade em água e uma persistência longa no ambiente, dificultando assim ainda mais a sua lixiviação para os corpos aquáticos e a sua deposição nos sedimentos (BARRIGOSI; LANNA; FERREIRA, 2005). Devido a suas características e comportamento no ambiente, não foi detectado em amostras de sedimento, da mesma forma que na água dos rios estudados.

6. CONCLUSÕES



Rio Grande - Cardoso

- As amostras de água superficial da 1ª e 2ª coleta apresentaram pH próximo da faixa de neutralidade e para quatro corpos aquáticos o oxigênio dissolvido ficou abaixo de 5 mg L^{-1} . A turbidez variou entre os períodos de coleta, sendo que no período de chuva para alguns corpos aquáticos esse valor aumentou e as análises de COT apresentaram no geral valores maiores para o período de chuva.
- As amostras de solo em ambas coletas apresentaram pH dentro da faixa de neutralidade, o teor de umidade apresentou valores maiores para o período de seca e a matéria orgânica foi mais expressiva em dois pontos de coleta. Os solos da BHTG em sua maioria apresentaram características arenosas e a análise elementar mostrou que há predominância do elemento químico carbono, onde os valores da razão C/N caracterizam o solo como mais recente e maleável.
- Os valores de pH para a 1ª e 2ª coleta de sedimento ficaram próximos da neutralidade, o teor de umidade apresentou para o período de chuva um aumento de todos os pontos quando comparado ao período de seca. Os valores de matéria orgânica apresentaram o período de seca valores menores que o período de chuva. As análises granulométricas para os sedimentos apresentaram características predominantemente arenosas, e os resultados da análise elementar para os sedimentos mostrou que o elemento carbono é predominante e a razão C/N indicou que há uma mistura de fontes de matéria orgânica para todos os pontos, com exceção da NRP onde a matéria orgânica possivelmente seria de origem aquática.
- A adaptação e validação do método se mostrou eficaz na detecção e quantificação do agrotóxico fipronil e produtos de degradação nas matrizes água, solo e sedimento utilizando cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas.
- Nas amostras de água superficial e sedimento o agrotóxico fipronil e seus produtos de degradação não foram detectados. Com exceção do F. Dessulfenil, o qual foi somente detectado, foram quantificados na matriz solo em ambos os períodos amostrados (chuva e seca) o agrotóxico fipronil e dois produtos de degradação (F. sulfide e F. sulfona). No período de seca somente no

ponto PORTUR foi encontrado o fipronil, F. sulfona e F. Sulfide. Já para o período de chuva, com exceção do ponto NRP em todos os demais foram quantificados o agrotóxico fipronil e os produtos de degradação F. sulfona e F. sulfide.

- Utilizando-se o índice de GUS foi possível inferir que os produtos de degradação F. sulfona e F. sulfide apresentam baixa probabilidade de lixiviação. Já o agrotóxico fipronil e o metabólito F. dessulfenil se encontram na zona de transição, indicando que os analitos possuem maior afinidade com o solo, ou se lixiviados estão mais propícios a se ligarem ao sedimento do que serem encontrados na água superficial.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABNT - Associação Brasileira de Normas Técnicas, **NBR 9898: preservação e técnicas de amostragem de efluentes líquidos e corpos receptores**, Rio de Janeiro, Junho 1987.

AGROFIT - Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. **Regent 800WG: Relatório de produtos formulados**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Brasília, 2007.

ALONGI, D. M. The dynamics of benthic nutrient pools and fluxes in tropical mangrove forests. **Journal of Marine Research**, v. 54, p. 123-148, 1996.

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária, **Guia para Validação de Métodos Analíticos e Bioanalíticos, Resolução - RE nº 899**, Brazil, 2003.

AZEVEDO, D. A.; LACORTE, S.; VINHAS, T.; VIANA, P.; BARCELÓ, D. Monitoring of priority pesticides and other organic 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. 879, p. 13-26, 2000.

BANJOO, D. R.; NELSON, P. K. Improved ultrasonic extraction procedure for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments. **Journal of Chromatography A**, v. 1066, p. 9-18, 2005.

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

BARRIGOSI, J. A. F.; LANNA, A. C.; FERREIRA, E. Inseticidas registrados para a cultura do arroz e análise de parâmetros indicadores de seu comportamento no ambiente. **Circular técnica Embrapa Arroz e Feijão**, v. 74, p. 1-4, 2005.

BIZIUK, M.; PRZYJAZNY, A.; CZERWINSKI, J.; WIERGOWSKI, M. Occurrence and determination of pesticides in natural and treated waters. **Journal of Chromatography A**, v.754, p. 103-123, 1996.

BROWN, C. D.; VAN BEINUM, W. Pesticide transport via sub-surface drains in Europe. **Environmental Pollution**, v. 157, p. 3314-3324, 2009.

BRAEKEVELT, E; TITTELMIER, S. A.; TOMY, G. T. Direct measurement of octanol-water partition coefficients of some environmentally relevant brominated diphenyl ether congeners. **Chemosphere**, v. 51, p. 563-567, 2003.

BOBÉ, A.; COOPER, J. F.; COSTE, C. M.; MULLER, M. A. Behaviour of Fipronil in soil under Sahelian Plain field conditions. **Pesticide Science**, v. 52, p. 275-281, 1998.

BOBÉ, A.; COSTE, C. M.; COOPER, J. F. Factors influencing the adsorption of fipronil on soil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45, p. 4861-4865, 1997.

BODDEY, R. M.; ALVES, B. J. R.; URQUIAGA, S. S. **Sequestro de carbono em solos sob sistemas agropecuários produtivos**. EMBRAPA Agrobiologia, Rio de Janeiro, 2004.

BORDOVSKI, O. K. Accumulation of organic matter in bottom sediments. **Marine Geology**, v. 3, p. 33-82, 1965.

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

CASSIANO, N. M.; BARREIRO, J. C.; MARTINS, L. R. R.; OLIVEIRA, R. V.; CASS, Q. B. Validação em métodos cromatográficos para análises de pequenas moléculas em matrizes biológicas. **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 1021-1030, 2009.

CAMPANHA, M. B. **Biogeoquímica de metais em sedimentos dos rios da bacia hidrográfica do Turvo/Grande**. 2011. 111 f. Tese (Mestrado em Química) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto.

CAMPANHA, M. B.; MELO, C. A.; MOREIRA, A. B.; FERRARESE, R. F. M. S.; TADINI, A. M.; GARBIN, E. V.; PEREIRA-FILHO, E. R.; BISINOTI, M. C. Variabilidade espacial e temporal de parâmetros físico-químicos nos rios Turvo, Preto e Grande no Estado de São Paulo, Brasil. **Química Nova**, v. 33, n. 9, p. 1831-1836, 2010.

CAPPELINI, L. T. D. **Análise dos pesticidas ametrina, atrazina, diuron e fipronil em amostras de água do Ribeirão do Feijão – São Carlos – SP**. 2008. 83 f. Tese (Mestrado em Química) - Universidade de São Paulo, Instituto de Química de São Carlos, São Carlos.

CARVALHO, M. S.; PAULILLO, L. F. O suco orgânico e as governanças alternativas para os citricultores no Brasil. In: PAULILLO *et al.* (Coord.). **Agroindústria no Brasil: diferenças e dominância**. Rio de Janeiro: Papers; cap.8; p. 321-341, 2006.

CELLA, A. L. **Ecotoxicologia do agrotóxico fipronil em pacu (*Piaractus mesopotamicus* Holmberg) e paulistinha (*Danio rerio*) e resíduos de agrotóxicos na bacia do rio Corumbataí**. 2009. 93 f. Tese (Doutorado em Química na Agricultura e no Ambiente), Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo, São Paulo.

CETESB - Companhia Ambiental do Estado de São Paulo. Apêndice F – **Dados das variáveis de qualidade das águas (Doce, Salobra e Salina) e dos Sedimentos 2010**. Disponível

em:<http://www.cetesb.sp.gov.br/media/files/Agua/relatorios/rios/rel_aguas_int_2010/apendices_anexos.zip>. Acesso em 25 de Março 2013.

CHEYNS, K.; MERTENS, J.; DIELS, J.; SMOLDERS, E.; SPRINGAEL, D. Monod kinetics rather than a first-order degradation model explains atrazine fate in soil mini-columns: Implications for pesticide fate modeling. **Environmental Pollution**, v. 158, p. 1405-1411, 2010.

CLESCERI, L. S.; GREENBERG, A. E.; EATON, A. D. Standard methods for the examination of water and wastewater. **American Public Health Association**, 20. ed. Washington: 1998.

CONAMA - Conselho Nacional de Meio Ambiente, **Resolução 430 de 2011**. Disponível em: <http://www.saude.mg.gov.br/publicacoes/estatistica-e-informacao-em-saude/residuos-de-servicos-de-saude/RE%20CONAMA%204032011_Lancamento%20de%20Efluentes.pdf> Acesso em 12 de Junho 2012.

COQUET, Y.; BARRIUSO, E. Spatial variability of pesticide adsorption within the topsoil of a small agricultural catchment. **Agronomie**, v. 22, p. 389-398, 2002.

CUNHA, M. L. F. **Determinação de resíduos de pesticidas em sedimento dos principais Rios do Pantanal Mato Grossense por GC/EM**. 2003. 89 f. Tese (Mestrado em Saúde e Ambiente) – Universidade Federal do Mato Grosso, Instituto de Saúde Coletiva, Cuiabá.

DE JONGE, H.; DE JONGE, L. W. Influence of pH and solution composition on the sorption of Glyphosate and Prochloraz to a sandy loam soil. **Chemosphere**, v. 39, n. 5, p. 753-763, 1999.

DE OLIVEIRA, F. M.; TAVARES, T. M.; BERETTA, M. Otimização de método analítico para determinação de PCBS por GC-MS-MS em amostras de biota. **Revista Analytica**, n. 14, p. 45-53, 2005.

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análise de solos**. 2. ed. Rio de Janeiro: 1997.

ESTEVES, F. A.; **Fundamentos de Limnologia**. Rio de Janeiro, RJ: Interciência, FINEP, 1998, 575 p.

FARENHORST, A.; PAPIERNIK, S. K.; SAIYED, I.; MESSING, P.; SCHUMACHER, J. A.; LOBB, D. A.; LI, S.; LINDSTROM, M. J.; SCHUMACHER, T. E. Herbicide sorption coefficients in relation to soil properties and terrain attributes on a cultivated prairie. **Journal of Environmental Quality**, v. 37, p. 1201-1208, 2008.

FILHO, A. M.; SANTOS, F. N. D.; PEREIRA, P. A. P. Development, validation and application of a method based on DI-SPME and GC-MS for determination of pesticides of different chemical groups in surface and groundwater samples. **Microchemical Journal**, v. 96, p. 139-141, 2010.

FILIZOLA, H. F.; FERRACINI, V. L.; SANS, L. M. A.; GOMES, M. A. F.; FERREIRA, C. J. A. Monitoramento e avaliação do risco de contaminação por pesticidas em água superficial e subterrânea na região de Guaíra. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 37, n. 5, p. 659-667, 2002.

FINIZIO, A.; VIGHI, M.; SANDRONI, D. Determination of N-octanol/water partition coefficient (Kow) of pesticide critical review and comparison of methods. **Chemosphere**, v. 34, p. 131-161, 1997.

GALLI, A.; SOUZA, D. D.; MACHADO, S. A. S. Pendimethalin determination in natural water, baby food and river sediment samples using electroanalytical methods. **Microchemical Journal**, v. 98, p. 135-143, 2011.

GONÇALVES, C.; ALPENDURADA, M. F. Assessment of pesticide contamination in soil samples from an intensive horticulture area, using ultrasonic extraction and gas chromatography-mass spectrometry. **Talanta**, v. 65, p. 1179-1189, 2005.

GONÇALVES, F. F. **Estudo de métodos empregando HPLC-DAD e LC-MS/MS para a determinação de resíduos de herbicidas em água e solo do cultivo do arroz irrigado**. 2007. 149 p. Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul.

GUNASEKARA, A. S.; TROUNG, T.; GOH, K. S.; SPURLOCK, F.; TJEERDEMA, R. S. Environmental fate and toxicology of fipronil. **Journal of Pesticide Science**, v. 32, p. 189-199, 2007.

GUSTAFSON, D. I. Groundwater Ubiquity Score: a simple method for assessing pesticide leachability. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 8, n. 4, p. 339-357, 1989.

HEDGES, J. I.; KEIL, R. G.; BENNER, R. What happens to terrestrial organic matter in the ocean? **Organic Geochemistry**, v. 27, n. 5/6, p. 195-212, 1997.

IBAÑEZ, M.; PICÓ, Y.; MÃNES, J. On-line liquid chromatographic trace enrichment and high-performance liquid chromatographic determination of diquat, paraquat and difenzoquat in water. **Journal of Chromatography A**, v. 728, p. 325-331, 1996.

INFOBIBOS - Organização de Eventos Técnico-Científicos. **Avaliação do potencial de impacto dos agrotóxicos no meio ambiente.** Disponível em: <http://www.infobibos.com/Artigos/2010_2/agrotoxicos/index.htm>. Acesso em 28 de Novembro 2012.

INMETRO - Instituto Nacional de Metrologia. Normalização e Qualidade Industrial. **Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos:** documento de caráter orientativo. 2007.

KADAR, A.; FAUCON, J. P. Determination of traces of Fipronil and its metabolites in pollen by liquid chromatography with electrospray ionization – tandem mass spectrometry. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 54, p. 9741-9746, 2006.

KATAGI, T. Photodegradation of pesticides on plant and soil surfaces. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 182, p. 1-189, 2004.

KATAYAMA, A.; MATSUMURA, F. Degradation of organochlorine pesticides, particularly endosulfan, by trichoderma-harzianum. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 12, p. 1059-1065, 1993.

KORN, M.; DE ANDRADE, M. V. A.; BORGES, S. D. S. Procedimentos analíticos assistidos por ultrassom. **Revista Analytica**, n. 3, p. 34-39, 2003.

KOOKANA, R. S.; BASKARAN, S.; NAIDU, R. Pesticide fate and behavior in Australian soils in relation to contamination and management of soil and water: a review. **Australian Journal of Soil Research**, v. 36, p. 715-764, 1998.

LANÇAS, F. M. **Validação de métodos cromatográficos de análises.** São Carlos, SP: Ede Acta, 2004.

LIGIERO, C. B. P.; DOS REIS, L. A.; PARRILHA, G. L.; FILHO, M. B.; CANELA, M. C. Comparação entre métodos de quantificação em cromatografia gasosa: um experimento para cursos de química. **Química Nova**, v. 32, n. 5, p. 1338-1341, 2009.

LIN, K.; HAVER, D.; OKI, L.; GAN, J. Persistence and sorption of fipronil degradates in urban stream sediments. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 32, n. 7, p. 1462-1468, 2009.

LOPES, A. S. **Manual de Fertilidade do Solo.** São Paulo: ANDA/POTAFOS, 1989, 153 p.

MADSEN, J. E.; SANDSTROM, M. W.; ZAUGG, S. D. Methods of Analysis by the U. S. Geological Survey National Water Quality Laboratory – A Method Supplement for the Determination of Fipronil and Degradates in Water by Gas Chromatography/Mass Spectrometry. **U. S. Geological Survey Open – File Report 02-462**, 2003.

MAJORS, R. E. New designs and formats in solid-phase extraction sample preparation. In: LC-GC, v. 19, n.7, 2001, Europa.

MANIRAKIZA, P.; COVACI, A.; ANDRIES, S.; SCHEPENS, P. Automated soxhlet extraction and single step clean-up for the determination of organochlorine pesticides in soil by GC-MS or GC-ECD. **International Journal of Environment Analytical Chemistry**, v. 81, p. 25-39, 2001.

MANRIQUE, W. G.; FIGUEIREDO, M. A. P.; MACHADO-NETO, J. G. Dissipação e risco ambiental do fipronil no meio aquático. **The Biologist**, v. 11, p. 107-117, 2013.

MARGARIDO, T. C. S.; FELÍCIO, A. A.; ROSSA-FERES, D. C.; ALMEIDA, E. A. Biochemical biomarkers in *Scinax fuscovarius* tadpoles exposed to a commercial formulation of the pesticide fipronil. **Marine Environmental Research**, v. 91, p. 61-67, 2013.

MARTINI, L. F. D. M. **Transporte de agrotóxicos e uso de água em diferentes manejos de irrigação de arroz**. 2010. 108 f. Tese (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

MARTINS, M. L. **Determinação de pesticidas e compostos relacionados em água de superfície e efluente industrial empregando extração em fase sólida e cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas**. 2004. 144 f. Tese (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

MASUTTI, C. S. M.; MERMUT, A. R. Degradation of fipronil under laboratory conditions in a tropical soil from Sirinhaém Pernambuco, Brazil. **Journal of Environmental Science and Health, Part B: Pesticides, Food contaminants, and Agricultural Wastes**, v. 42, p. 33-43, 2007.

MEYERS, P. A. Preservation of elemental and isotopic source identification of sedimentary organic matter. **Chemical Geology**, v. 144, p. 289-302, 1994.

MOREIRA, R. A.; SANTOS, R. M.; ROCHA, O. Avaliações preliminares da toxicidade aguda do pesticida fipronil aos rotíferos *Asplanchna Sieboldi*, *Brachionus Caudatus* e *Lepadella Patella*. **Periódico Eletrônico Fórum Ambiental da Alta Paulista**, v. 8, n. 2, p. 63-75, 2012.

MUNEER, M.; THEURICH, J.; BAHNEMANN, D. Formation of toxic intermediates upon the photocatalytic degradation of the pesticide diuron. **Research on Chemical Intermediates**, v. 25, p. 667- 683, 1999.

NAVALÓN, A.; PRIETO, A.; ARAUJO, L.; VÍLCHEZ, J. L. Determination of oxadiazon residues by headspace solid-phase microextraction and gas chromatography – mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 946, p. 239-245, 2002.

NEU, V. **Influência da cobertura vegetal na ciclagem de nutrientes via solução do solo na região de Manaus – AM**. 2005. 110 f. Tese (Mestrado em Ecologia de Agroecossistemas) – Universidade de São Paulo – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba.

NOAA - National Oceanic and Atmospheric Administration. **Sediment Quality Guidelines developed for the National Status and Trends Program**. 1999. Disponível em: <http://archive.orr.noaa.gov/book_shelf/121_sedi_qual_guide.pdf> Acesso em: 12 de Junho 2013.

OLIVEIRA, P. R.; BECHARA, G. H.; CAMARGO-MATHIAS, M. I. Evaluation of cytotoxic effects of Fipronil on ovaries of semi-engorged *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) tick female. **Food and Chemical Toxicology**, v. 46, p. 2459-2465, 2008.

PAN, J.; XIA, X. X.; LIANG, J. Analysis of pesticide multi-residues in leafy vegetables by ultrasonic solvent extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 15, p. 25-32, 2008.

PEIXOTO, S. C. **Estudo da estabilidade a campo dos pesticidas carbofurano e quincloraque em água de lavoura de arroz irrigado empregando SPE e HPLC-DAD**. 2007. 129 f. Tese (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Santa Maria, Rio Grande do Sul.

PERES, F.; MOREIRA, J. C. **É veneno ou é remédio? Agrotóxicos, saúde e ambiente**. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2003.

PERFIL REGIONAL - **Região Administrativa de São José do Rio Preto, 2009**. Disponível em: <<http://www.planejamento.sp.gov.br/des/textos8/SJRioPreto.pdf>>. Acesso em 12 de Julho 2012.

PEREIRA, T. P. M. **Impacte da utilização de pesticidas em ecossistemas orizícolas sobre a qualidade de águas superficiais**. 2003. 392 f. Tese (Doutorado em Engenharia Agrônômica) – Instituto Superior de Agronomia, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa.

PINA, C. I.; LANCE, V. A.; FERRONATO, B. O.; GUARDIA, I.; MARQUES, T. S.; VERDADE, L. M. Heavy Metal Contamination in *Phrynos geoffroanus* (Schweigger, 1812)

(Testudines: Chelidae) in a River Basin, São Paulo, Brazil. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 83, p. 771-775, 2009.

PRATA, F.; CARDINALI, V. C. B.; LAVORENTI, A.; TORNISIELO, V. L.; REGITANO, J. B. Glyphosate sorption and desorption in soils with distinct phosphorus levels. **Scientia Agricola**, v. 60, n. 1, p. 175-180, 2003.

PRESTES, O. D. **Desenvolvimento e validação de método multirresíduo para determinação de pesticidas em arroz polido utilizando método QuEChERS modificado, clean up dispersivo, e GC-MS (NCI-SIM)**. 2007. 108 p. Tese (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul.

QUINTANA, J.; MARTÍ, I.; VENTURA, F. Monitoring of pesticides in drinking water and relates waters in NE Spain with a multiresidue SPE-GC-MS method including an estimation of the uncertainty of the analytical results. **Journal of Chromatography A**, v. 938, p. 3-13, 2001.

QUEIROZ, S. C. N.; MELO, F. S. C.; JARDIM, I. C. S. F. Novos sorventes baseados em poli (metiloctilsiloxano) sobre sílica para uso em extração em fase sólida. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 637-640, 2006.

RANGEL, C. F. **Monitoramento de agrotóxicos em águas brutas e tratadas destinadas ao consumo humano, utilizando método multi-resíduo por EFS/GC-EM**. 2008. 147 f. Tese (Mestrado em Ciências na área de Saúde pública e Meio Ambiente). Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouco, Rio de Janeiro.

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

ROBERTSON, A. M.; LESTER, J. N. Supercritical fluid extraction of S-triazines and phenylurea herbicides from sediment. **Environmental Science Technology**, v. 28, p. 346-351, 1994.

ROSSI, C. V. S.; ALVES, P. L. C. A.; MARQUES JUNIOR, J. Mobilidade do sulfentrazone em latossolo vermelho e em chernossolo. **Planta Daninha**, v. 23, n. 4, p. 701-710, 2005.

SANCO, Commission of the european communities (2003). **Document n° SANCO/2007/3131. Method validation and quality control procedures for pesticide residues analysis in food and feed**. 3ª ed., Bruxelas, Bélgica. 31/10/2007.

SANTISTEBAN, J. I.; MEDIAVILLA, R.; LÓPEZ-PAMO, E.; DABRIO, C. J.; ZAPATA, M. B. R.; GARCÍA, M. J. G.; CASTAÑO, S.; MARTÍNEZ-ALFARO, P. E. Loss on ignition: a qualitative or quantitative method for organic matter and carbonate mineral content in sediments. **Journal of Paleolimnology**, v. 32, p. 287-299, 2004.

SANTOS, A. P. **Determinação de compostos organoclorados e hidrocarbonetos poliaromáticos na lagoa de Carapicuíba – SP**. 2007. 96 f. Tese (Mestrado em Ciências) - Universidade de São Paulo, Instituto de Química de São Carlos, São Carlos.

SANTOS, E. **Carbono, nitrogênio e relação C/N em gleissolo e cambissolo sob diferentes tipologias vegetais na área de ocorrência da floresta ombrófila densa, Antonina – PR**. 2007. 104 f. Tese (Mestre em Ciência do Solo), Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

SANTOS, J. S. **Remediação de solos contaminados com agrotóxicos pelo tratamento com radiação gama**. 2009. 63 f. Tese (Mestre em Ciências na área de Tecnologia Nuclear – Aplicações) – IPEN, Universidade de São Paulo, São Paulo.

SCHOLL, L. V.; NIEUWENHUIS, R. **Soil fertility management**. Agrodok 2 - Agromisa Foundation, Wageningen, 2004.

SECCO, T.; PELLIZZATO, F.; SFRISO, A.; PAVONI, B. The changing state of contamination in the Lagoon of Venice. Part 1: organic pollutants. **Chemosphere**, v. 58, p. 279-290, 2005.

SILVA, J. M.; ZINI, C. A.; CARAMÃO, E. B. Evaluation of comprehensive two-dimensional gas chromatography with micro-electron capture detection for the analysis of seven pesticides in sediment samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1218, p. 3166-3172, 2011.

SILVA, J. M.; SANTOS, J. R. Toxicologia de agrotóxicos em ambientes aquáticos. **Oecologia Brasiliensis**, v. 11, p. 565-573, 2007.

SIMPSON, N. J. K.; WELLS, M. J. M. Introduction to solid-phase extraction. In: Simpson, N. J. K. (Ed.) *Solid-phase extraction: principles, techniques and applications*. New York: Marcel Dekker, Inc., p. 1-17, 2000.

SINDAG - Sindicato Nacional da Indústria de Produtos para Defesa Agrícola. Disponível em : <<http://www.sindag.com.br/>>. Acesso em 20 de novembro 2012.

SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Fundamentos de Química Analítica**. 8ªed., Thomson Learning Ltda, 2006. 999 p.

SMALLING, K. L.; KUIVILA, K. M. Multi-residue method for the analysis of 85 current-use and legacy pesticides in bed and suspended sediments. **Journal of Chromatography A**, v. 1210, p. 8-18, 2008.

SPADOTTO, C. A.; GOMES, M. A. F.; LUCHINI, L. C.; ANDRÉA, M. M. Monitoramento do risco ambiental de agrotóxicos: princípios e recomendações. 1ª ed. Jaguariúna: Empraba Meio Ambiente, 29 p., 2004.

SPOMER, N. A.; KAMBLE, S. T. Sorption and desorption of fipronil in Midwestern soils. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 84, p. 264-268, 2010.

STEIN, R. Accumulation of organic carbon in marine sediments. Results from the deep sea drilling project/ocean drilling program. **Lecture Notes Earth Sciences**, v. 34, p. 217-224, 1991.

SUGUIO, K. Introdução à sedimentologia, São Paulo: Edgar Blucher, 1973, 318 p.

TUNDISI, J. G. Water resources in the future: problems and solutions. *Estudos Avançados*, v. 22, n. 63. São Paulo, 2008.

TINGLE, C. C. D.; ROTHER, J. A.; DEWHURST, C. F.; LAUER, S.; KING, W. J. Environmental fate, ecotoxicology, and human health concerns. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 176, p. 1-66, 2003.

UNICA – União da Indústria de Cana-de-açúcar. Disponível em: <<http://www.unica.com.br/mapa-da-producao/>>. Acesso em 20 de janeiro 2013.

USGS - United States Geological Survey, Method O-1126-02 - A method supplement for the determination of fipronil and degradates in water by gas chromatography/mass spectrometry, 2003.

VIEIRA, E. M.; PRADO, A. G. S.; LANDGRAF, M. D.; REZENDE, M. O. O. Estudo da adsorção/dessorção do ácido 2,4 diclorofenoxiacético (2,4D) em solo na ausência e presença de matéria orgânica. **Química Nova**, v. 22, n. 3, p. 305-308, 1999.

VÍLCHEZ, J. L.; PRIETO, A.; ARAUJO, L.; NAVALÓN, A. Determination of fipronil by solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 919, p. 215-221, 2001.

WU, J.; LIN, Y.; LU, J.; WILSON, C. Copper clean-up procedure for ultrasonic extraction and analysis of pyrethroid and phenylpyrazole pesticides in sediments by gas

chromatography-electron capture detection. **Science of Total Environment**, v. 409, p. 3482-3491, 2011.

XUE, N.; ZHANG, D.; XU, X. Organochlorinated pesticide multiresidues in surface sediments from Beijing Guanting reservoir. **Water Research**, v. 40, p. 183-194, 2006.

YING, G-G.; KOOKANA, R. S. Sorption of fipronil and its metabolites on soils from south Australia. **Journal of Environmental Science and Health, Part B: Pesticides, Food contaminants, and Agricultural Wastes**, v. 36, p. 545-558, 2001.

YOU, J.; WESTON, D. P.; LYDY, M. J. A sonication extraction method for the analysis of pyrethroid, organophosphate, and organochlorine pesticides from sediment by gas chromatography with electron capture detection. **Archives of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 47, p. 141-147, 2004.