

**ADALBERTO OLIVEIRA DE SOUZA**

**DETERMINAÇÃO DE DISSULFOTON EM AMOSTRAS DE  
ÁGUA EMPREGANDO CROMATOLOGRAFIA EM FASE  
GASOSA E VOLTAMETRIA DE ONDA QUADRADA**

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

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2005

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

S729d  
2005

Souza, Adalberto Oliveira de, 1977-

Determinação de dissulfoton em amostras de água empregando cromatografia em fase gasosa e voltametria de onda quadrada / Adalberto Oliveira de Souza. – Viçosa: UFV, 2005.

xi, 78f : il. ; 29cm.

Orientador: Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referência bibliográfica: f. 74-78

1. Pesticidas - Cromatografia gasosa. 2. Pesticidas -Análise cromatográfica. 3. Pesticidas - Análise eletroanalítica. 4. Dissulfoton. I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22.ed. 632.951

ADALBERTO OLIVEIRA DE SOUZA

Determinação de Dissulfoton em Amostras de Água  
Empregando Cromatografia em Fase Gasosa e Voltametria  
de Onda Quadrada

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

APROVADA: 29 de julho de 2005

---

Prof. Dr. Antônio Augusto Neves  
(Conselheiro)

---

Prof. Dr. Efraim Lázaro Reis  
(Conselheiro)

---

Prof. Dr. César Reis

---

Prof. Dr. José Fernando de Paiva

---

Prof<sup>a</sup>. Dra. Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz  
(Orientadora)

A vida é DEUS e o trabalho.

"Arnaldo Antônio de Souza"

A Deus ,

Aos meus pais Arnaldo e Neuza,  
Aos meus irmãos Alexandre e Brena

A Dyjane

Com amor,  
Dedico.

## Agradecimentos

A Deus, por ter me prestado com saúde e perseverança para realizar este trabalho, entre outras coisas.

Aos meus pais, Arnaldo Antônio de Souza e Neuza de Oliveira Souza, pela vida, pelas orações, conselhos e apoio.

A Dyjane, que participou efetivamente de todos os acontecimentos desta escalada.

A minha orientadora, Dr<sup>a</sup> Maria Eliana. L. R de Queiroz e ao professor Dr. Antonio Augusto Neves pela oportunidade, amizade e convívio.

Ao professor Dr. César Reis, pelas valiosas sugestões e frutífera cooperação.

Ao professor Dr. Efraim Lázaro Reis, pela oportunidade e convívio.

Ao professor Cláudio Ferreira Lima, ao Professor Jose Humberto de Queiroz e à Elizete pela amizade.

A todos os amigos do laboratório de química analítica - LAQUA: Fabrícia, Telma, Heulla, Simone, Raquel, Gevany, Vanessa, Luciana, Deise, Marciano, Leila, Lucimara, Ricardo e Elisa pelo aprendizado no convívio, e pela inesquecível amizade.

Aos amigos: Carlos André, Brangione, Luciano (Pica-pau), Marcinha, Ideumar (Breguete), Dartagnan, Fernando (Chulipa), Carlinha, Antonio (Tunim), Marcelo Japa, Marcelinho, Adir (cachorrão), Porquinho, Robertim e Rafael, Augusto (Baiano), Honey, Neyton, e tantos outros, pela presença amiga em todos os momentos.

Ao professor José Fernando de Paiva, pelo auxílio, dedicação e paciência.

Ao professor Hermínio A. Nalini Jr, pela oportunidade, atenção e confiança.

Aos membros do LGqA (DEGEO/UFOP), pela oportunidade, atenção, auxílio e pela possibilidade do uso de suas instalações na condução dos trabalhos.

A todos os amigos do departamento de química e do mestrado em agroquímica, pelos bate-papos e colaboração.

À (CAPES), pelo suporte financeiro, permitindo a dedicação à pesquisa e a oportunidade da contribuição científica.

A Universidade Federal de Viçosa e ao departamento de química, pela oportunidade oferecida para realização deste curso e trabalho.

Enfim, àqueles que embora não citados nominalmente, que nesta caminhada, em todos os momentos, me ajudaram, se não com ações, com exemplos e ensinamentos.

## **Biografia**

ADALBERTO OLIVEIRA DE SOUZA, filho de Arnaldo Antônio de Souza e Neuza de Oliveira Souza, nasceu em 16 de setembro de 1977, em Belo Horizonte-MG.

Viveu até os 18 anos na cidade de Dom Eliseu - PA.

Em dezembro de 1996 concluiu o curso de técnico em agropecuária pela Escola Agrotécnica Federal de Castanhal-PA

Em março de 1997 iniciou o curso de agronomia na Universidade Federal de Viçosa, um ano e meio depois transferiu-se para o curso de Química, formando em setembro de 2002 como bacharel e licenciado. Foi bolsista de iniciação científica no período de abril /2000 a julho /2002.

Em agosto de 2003, iniciou o curso de pós-graduação em Agroquímica, em nível de mestrado, na Universidade Federal de Viçosa, defendendo a dissertação em 29 de julho de 2005.

# ÍNDICE

|   |           |
|---|-----------|
| RESUMO .....  | vii       |
| ABSTRACT .....  | x         |
| <b>1. INTRODUÇÃO .....</b>  | <b>1</b>  |
| 1.1. Objetivos.....   | 3         |
| <b>2. REVISÃO DA LITERATURA.....</b>  | <b>4</b>  |
| 2.1. Considerações gerais .....   | 4         |
| 2.2. Ação biológica .....   | 5         |
| 2.3. Contaminação dos recursos hídricos .....                                   | 5         |
| 2.4. Cultura do café .....  | 7         |
| 2.5. Dissulfoton.....   | 8         |
| 2.5.1. Dissulfoton no solo.....   | 9         |
| 2.6. Técnicas de análise por cromatografia gasosa .....                         | 10        |
| 2.7. Técnicas voltamétricas .....   | 12        |
| 2.7.1. Voltametria de onda quadrada.....  | 14        |
| <b>3. MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>   | <b>16</b> |
| 3.1. Amostras de água.....  | 16        |
| 3.1.1. Coleta .....   | 16        |
| 3.1.2. Características das amostras do ribeirão São Bartolomeu .....            | 16        |
| 3.2. Análise por cromatografia gasosa.....                                      | 18        |
| 3.2.1. Soluções padrão .....  | 18        |
| 3.2.2. Amostras fortificadas.....   | 18        |
| 3.2.3. Extração líquido-líquido por partição a baixa temperatura.....           | 19        |
| 3.2.3.1. Eficiência da técnica de extração e escolha da faixa de trabalho ..... | 19        |
| 3.2.3.2. Extração do dissulfoton em amostra de água.....                        | 20        |
| 3.2.4. Condições da análise cromatográfica .....                                | 22        |
| 3.2.5. Quantificação.....   | 22        |
| 3.2.5.1. Amostras do ribeirão São Bartolomeu e água destilada .....             | 23        |

|   |    |
|---|----|
| 3.3. Validação do método cromatográfico.....                        | 23 |
| 3.3.1. Seletividade .....   | 23 |
| 3.3.2. Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) ..... | 24 |
| 3.3.2.1. LD e LQ do equipamento .....                               | 24 |
| 3.3.2.2. LD e LQ do método .....                                    | 24 |
| 3.3.3. Precisão.....  | 25 |
| 3.3.3.1. Precisão instrumental.....                                 | 25 |
| 3.3.3.2. Repetitividade .....                                       | 25 |
| 3.3.3.3. Precisão intermediária.....                                | 26 |
| 3.3.4. Exatidão.....  | 26 |
| 3.3.4.1. Ensaio de recuperação .....                                | 26 |
| 3.4. Análise voltamétrica.....                                      | 27 |
| 3.4.1. Procedimentos preliminares.....                              | 27 |
| 3.4.2. Instrumentação para voltametria de onda quadrada .....       | 27 |
| 3.4.3. Soluções padrão .....  | 28 |
| 3.4.4. Preparo das amostras.....                                    | 28 |
| 3.4.5. Análise por voltametria.....                                 | 29 |
| 3.4.6. Escolha do eletrólito de suporte .....                       | 29 |
| 3.4.6.1. Preparo da solução tampão .....                            | 30 |
| 3.4.7. Estudo dos parâmetros voltamétricos .....                    | 31 |
| 3.4.8. Planejamento fatorial .....                                  | 32 |
| 3.4.8.1. Metodologia para superfície de resposta.....               | 32 |
| 3.4.8.2. Amplitude .....  | 34 |
| 3.4.8.3. Frequência .....   | 34 |
| 3.4.9. Escolha da faixa de trabalho e linearidade.....              | 35 |
| 3.4.10. Condições da análise voltamétrica.....                      | 35 |
| 3.4.11. Quantificação .....   | 36 |
| 3.4.11.1. Curva analítica .....                                     | 36 |
| 3.5. Validação do método voltamétrico .....                         | 37 |
| 3.5.1. Seletividade .....   | 37 |
| 3.5.2. Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) ..... | 37 |
| 3.5.3. Precisão.....  | 38 |
| 3.5.3.1. Precisão instrumental.....                                 | 38 |
| 3.5.3.2. Repetitividade .....                                       | 38 |
| 3.5.3.3. Precisão intermediária.....                                | 38 |
| 3.5.4. Exatidão.....  | 39 |

|  |           |
|--|-----------|
| <b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>   | <b>40</b> |
| 4.1. Análises cromatográficas .....  | 40        |
| 4.1.1. Eficiência da técnica de ELL-PBT .....  | 41        |
| 4.1.2. Escolha da faixa de trabalho .....  | 42        |
| 4.1.3. Curva analítica e linearidade .....   | 43        |
| 4.2. Validação para análises cromatográficas .....   | 45        |
| 4.2.1. Seletividade .....  | 45        |
| 4.2.2. Limite de detecção e limite de quantificação .....                                  | 47        |
| 4.2.3. Precisão .....  | 49        |
| 4.2.3.1. Precisão instrumental .....   | 49        |
| 4.2.3.2. Repetitividade .....  | 50        |
| 4.2.3.3. Precisão intermediária .....  | 50        |
| 4.2.4. Exatidão .....  | 51        |
| 4.2.4.1. Ensaio de recuperação .....   | 51        |
| 4.3. Análises voltamétricas .....  | 52        |
| 4.3.1. Planejamento experimental .....   | 52        |
| 4.3.2. Planejamento experimental para seleção do eletrólito de suporte .....               | 52        |
| 4.3.3. Planejamento fatorial para seleção da amplitude e frequência .....                  | 54        |
| 4.3.3.1. Amplitude .....   | 55        |
| 4.3.3.2. Frequência .....  | 57        |
| 4.3.4. Metodologia para superfície de resposta .....                                       | 59        |
| 4.3.5. Linearidade e escolha da faixa de trabalho .....                                    | 61        |
| 4.3.6. Curva analítica .....   | 63        |
| 4.4. Validação para análises voltamétricas .....   | 67        |
| 4.4.1. Seletividade .....  | 67        |
| 4.4.2. Limite de detecção e limite de quantificação .....                                  | 69        |
| 4.4.3. Precisão .....  | 70        |
| 4.4.3.1. Precisão instrumental .....   | 70        |
| 4.4.3.2. Repetitividade .....  | 70        |
| 4.4.3.3. Precisão intermediária .....  | 71        |
| 4.4.4. Exatidão .....  | 71        |
| 4.5. Comparação das análises por cromatografia gasosa e voltametria de onda quadrada ..... | 72        |
| <b>5. CONCLUSÃO .....</b>  | <b>73</b> |
| <b>6. REFERÊNCIAS .....</b>  | <b>74</b> |

## RESUMO

SOUZA, Adalberto Oliveira de, M.S., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2005. **Determinação de dissulfoton em amostras de água empregando cromatografia em fase gasosa e voltametria de onda quadrada.** Orientadora: Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz. Conselheiros: Antônio Augusto Neves e Efraim Lázaro Reis.

O “dissulfoton” é um inseticida organofosforado de formulação granulada destinado ao controle do bicho-mineiro (*Perileucoptera Coffeella*) em culturas de café. Este produto geralmente é aplicado ao solo, podendo, em função do índice pluviométrico, atingir os recursos hídricos. A análise do dissulfoton em amostras de água é feita geralmente, empregando a cromatografia gasosa precedida por uma técnica de extração. Para determinação do dissulfoton em amostras de água foi utilizado a extração líquido-líquido por partição a baixa temperatura (ELL-PBT) e quantificação por cromatografia gasosa com detector por captura de elétrons, em condições pré-estabelecidas. A técnica de ELL-PBT, apresentou porcentagens de recuperações próximas a 100 % para todos os ensaios realizados na determinação do dissulfoton nas amostras de água destilada e água proveniente de ribeirão São Bartolomeu. Nessas condições analíticas o método ELL-PBT foi validado. Outras técnicas de análise de pesticidas tem surgido devido aos avanços tecnológicos ocorridos nos últimos anos, como por exemplo, as técnicas eletroanalíticas. Neste trabalho foi empregada a voltametria de onda quadrada para identificação e quantificação do dissulfoton em amostras de água. Para aplicar essa técnica foram estudadas as influências do eletrólito de suporte, amplitude e frequência na resposta obtida para o dissulfoton. Experimentos foram conduzidos com o intuito de otimizar e validar a técnica de voltametria de onda quadrada. Os seguintes parâmetros de validação foram avaliados para as duas técnicas estudadas: seletividade, limite de detecção e limite de quantificação, precisão (precisão instrumental, repetitividade e precisão intermediária) e exatidão (porcentagem

de recuperação). A análise cromatográfica apresentou um limite de detecção de 0,009 mg L<sup>-1</sup> para o dissulfoton em acetonitrila. A voltametria de onda quadrada apresentou um limite de detecção de 0,035 mg L<sup>-1</sup> utilizando amostras de dissulfoton em água destilada. Portanto, a voltametria de onda quadrada se apresenta como uma ferramenta alternativa para análise do dissulfoton em amostras de água.

## ABSTRACT

SOUZA, Adalberto Oliveira de, M.S., Universidade Federal de viçosa, July, 2005. **Determination of dissulfoton in samples of water employing chromatography in gas phase and square wave voltammetry.** Adviser Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz. Committee members: Antônio Augusto Neves and Efraim Lázaro Reis.

The “dissulfoton” is an organophosphate insecticide with granular formulation designed to the control of the leaf miner (*Perileucoptera Coffeella*) on coffee crops. this product is usually applied on the soil which, regarding to the index of rainfall, might reach the hydric resources. The analyses of dissulfoton in samples of water is usually done employing gas chromatograph preceded by an extraction technique. to determine dissulfoton in samples of water it was used the liquid-liquid extraction and partition in low temperature (ELL-PBT) and quantification through gas chromatography with detector for electron capture in pre-established conditions. The ELL-PBT technique showed percentages with recovering close to 100% for the trials carried out on the determination of dissulfoton in the sample of distillate water and water from the river São Bartolomeu. On these analytical conditions the ELL-PBT method was validated. Other techniques of analyses of pesticide has aroused due to the technological advances that occurred in the last years as for instance the eletroanalytical techniques. In this work the voltammetry of square wave was employed to identify and quantify dissulfoton in samples of water. To apply this technique, the influences of electrolyte of support, amplitude and frequency on the response obtained for the dissulfoton were studied. Experiments were conducted with the objective to optimize and valid the voltammetry technique of square wave. The following parameters of validation were evaluated for the two studied techniques: selectiveness, limit of detection and limit of quantification, precision (instrumental precision, repetitiveness and intermediary precision) and accuracy

(percentage of recovering). The chromatographic analyses showed a limit of detection of  $0.009 \text{ mg L}^{-1}$  for the disulfoton in acetonitrila. The voltammetry square wave showed a limit of detection of  $0.0035 \text{ mg L}^{-1}$  using samples of disulfoton in distillate water. Thus, the voltammetry of square wave shows itself as alternative tool for the analyses of square wave in samples of water.

## 1. INTRODUÇÃO

A cafeicultura é uma atividade que possui um grande destaque principalmente no estado de Minas Gerais, devido a grandes áreas de cultivo e produtividade. Assim como as demais culturas, os cafezais são também susceptíveis a pragas e doenças que afetam a sua produtividade e seu tempo de vida. Para controlar sua principal praga, o bicho mineiro, os agricultores utilizam um inseticida organofosforado, o dissulfoton em formulação granulada, incorporado diretamente no solo. Este produto, quando incorporado ao solo pode, em função das características do solo e intensidade pluviométrica, alcançar águas superficiais e subterrâneas, comprometendo assim a vida aquática e todos que se beneficiam destes recursos hídricos. Portanto se faz necessário o monitoramento deste produto e o desenvolvimento de metodologias e técnicas de análise de resíduos em água, provenientes da aplicação deste princípio ativo.

Tradicionalmente a análise de resíduos de pesticidas em amostras ambientais é realizada utilizando-se técnicas cromatográficas. Estas constituem uma família de técnicas relacionadas à separação e análise de uma larga variedade e tipos de amostras ambientais.

Para realizar uma análise cromatográfica é necessário a utilização de algumas etapas de preparo das amostras antes que elas possam ser analisadas, com o objetivo de deixar o analito em um solvente adequado e eliminar possíveis interferentes. Esta etapa de preparo da amostra faz com que o tempo total de análise aumente e conseqüentemente seus custos.

Desta maneira, as técnicas eletroanalíticas surgem como uma ferramenta alternativa importante para análise de resíduos de pesticidas.

---

A principal vantagem destas técnicas é a possibilidade da medida quantitativa ou qualitativa ser feita diretamente na amostra, sem pré-tratamento. Esta vantagem, aliada ao curto tempo de análise, ao baixo custo da instrumentação em comparação aos métodos cromatográficos e principalmente, à especificidade que as técnicas eletroanalíticas apresentam em relação à presença de interferentes, fez com que esta metodologia se tornasse uma técnica alternativa a ser utilizada para as análises de resíduos de pesticidas em amostras ambientais.

Para determinar dissulfoton em amostras de água por cromatografia gasosa a técnica de extração líquido-líquido por partição a baixa temperatura (ELL-PBT) empregada neste trabalho, foi submetida a um processo de validação segundo recomendação do INMETRO (2003). Esta técnica de extração foi desenvolvida por GOULART (2003), para análise de piretróides em leite e otimizada por DARDENGO (2004), para análise de dissulfoton em água.

Para definição dos estudos relativos ao dissulfoton em amostras de água por voltametria de onda quadrada foram realizados testes preliminares com o intuito de verificar se este composto podia ser identificado pela técnica voltamétrica de onda quadrada. Estes testes foram baseados na metodologia empregada por HANEDA (2000), para dois compostos organofosforados de características estruturais semelhantes.

Após a identificação do dissulfoton pela técnica de voltametria de onda quadrada, foram otimizados respectivamente, o eletrólito de suporte a amplitude e a frequência da corrente aplicada. Tendo em vista que estes fatores apresentam influência na resposta voltamétrica para o dissulfoton. Foi utilizado um planejamento experimental para avaliação do comportamento da resposta voltamétrica, estabelecendo, portanto as melhores condições de análise. Com os parâmetros otimizados, o método eletroanalítico foi submetido a um processo de validação.

### **1.1. Objetivos**

Validar a técnica de extração líquido-líquido por partição a baixa temperatura (ELL-PBT) para análise do dissulfoton em amostras de água empregando a cromatografia gasosa como técnica de análise.

Aplicar a técnica ELL-PBT em amostra de água proveniente de recursos naturais.

Empregar a técnica de voltametria de onda quadrada para identificar e quantificar resíduos de dissulfoton em amostras de água.

Estabelecer as melhores condições voltamétricas para análise do dissulfoton em amostras de água.

Validar a técnica de voltametria de onda quadrada para determinação de dissulfoton em amostras de água.

Comparar os resultados das análises eletroanalíticas com os resultados obtidos por cromatografia gasosa.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1. Considerações gerais

Basicamente, os pesticidas são usados na agricultura com três objetivos: obtenção de grandes produções, boa qualidade dos produtos e redução de trabalho. Sem dúvida, esses objetivos foram alcançados nessas últimas décadas. No entanto, o uso indiscriminado, sem critérios e sem conhecimento aprofundado de sua ação e efeitos, trouxeram e estão trazendo problemas muito sérios ao meio ambiente e, conseqüentemente, à qualidade de vida do ser humano (EMBRAPA, 1996).

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

Os inseticidas organofosforados têm sido, atualmente muito utilizados em diversas culturas, em função da sua baixa persistência e alta eficiência. Apresentam algumas vantagens se comparados aos demais inseticidas, apesar de serem bastante tóxicos. Os compostos organofosforados são hidrofílicos e

---

se degradam rapidamente, são absorvidos por via dérmica e oral, não se acumulam em tecidos adiposos e são prontamente eliminados pelas fezes e pela urina. Devido a grande aplicação no campo, os inseticidas organofosforados são os principais responsáveis pela maioria dos casos de intoxicação na zona rural (MOREIRA, 1995).

## **2.2. Ação biológica**

Os inseticidas organofosforados possuem ação biológica em mamíferos e artrópodes atacando o sistema de transmissão neural, atuam bloqueando a acetilcolinesterase. A sua inibição resulta em um acúmulo de acetilcolina na membrana do dendrito receptor da sinapse, que é impossibilitado de retornar ao estado inicial (FEST & SCHMIDT, 1973).

Os organofosforados provocam sintomas de intoxicação em aves e em mamíferos, inclusive no homem, como a diminuição nítida dos movimentos (peresias) ou mesmo a paralisia completa (GRAZIANO, 1982).

## **2.3. Contaminação dos recursos hídricos**

Os pesticidas são comumente aplicados sobre as plantas ou diretamente no solo. Mesmo quando aplicados sobre as plantas, cerca de 50% do total da dose aplicada poderá ter como destino final o solo, independentemente da forma como for realizada essa aplicação. Após chegar ao solo, o pesticida pode ter seu destino influenciado por três formas principais de transporte: (1) volatilização: transferência do pesticida do solo para a atmosfera e posteriormente, sua deposição nas águas superficiais. Perdas por volatilização logo após a aplicação podem chegar a 90% da dose aplicada; (2) lixiviação: transporte vertical do pesticida no perfil do solo juntamente com a água da chuva ou irrigação tem sido apontada como a principal causadora da contaminação de águas subterrâneas. De uma maneira geral, o transporte de pesticida por lixiviação corresponde de 1 a 5% da dose aplicada; (3) escoamento superficial: corresponde ao carreamento de matéria pela água da enxurrada na superfície do solo, ocasionando, portanto a contaminação de

águas superficiais. Estudos têm demonstrado perdas em torno de 1% a 2% da dose aplicada, considerando apenas uma única chuva (JÚNIOR, 2004).

A concentração da maioria dos pesticidas em água é baixa em parte, devido ao fato de serem geralmente pouco solúveis em água e em parte devido ao efeito de diluição (HIGASHI, 1991). Entretanto, pesticidas persistentes e com grande mobilidade no ambiente têm sido detectados em águas superficiais e subterrâneas (DORES & FREIRE, 2001).

Os agrotóxicos presentes em corpos d'água podem penetrar nos organismos aquáticos através de diversas portas de entrada e seu grau de acumulação depende do tipo de cadeia alimentar, da disponibilidade e persistência do contaminante na água e especialmente de suas características físicas e químicas (TOMITA & BEYRUTH, 2002).

A preocupação com a contaminação de ambientes aquáticos aumenta, principalmente, quando os recursos aquáticos são usados para o consumo humano.

No Brasil, a portaria nº 020 / CONAMA, de 18/06/86, estabelece limites máximos de tolerância para diversos pesticidas como, por exemplo, organoclorados, organofosforado e carbamatos, que venham por ventura a contaminar os recursos hídricos. No que diz respeito aos organofosforado e carbamatos totais esta portaria indica um limite máximo de  $100 \text{ g L}^{-1}$  em paration para águas doces. A resolução 36/MG de 19/01/90 do ministério da Saúde (padrão de potalidade de água destinada ao abastecimento de populações humanas) estabelece também limites de pesticidas em água destinadas ao consumo humano. Estas legislações não contemplam a maioria dos pesticidas em uso atualmente.

## 2.4. Cultura do café

O cenário mundial de café continua favorável ao Brasil. O consumo mundial cresceu 8,5%. As exportações brasileiras em 2002 somaram cerca de 28 milhões de sacas, o correspondente a um terço das exportações mundiais. As exportações brasileiras de café torrado tiveram um aumento de 35% sobre o ano anterior com o surgimento de diversos novos compradores, como Taiwan, Grécia, Hong Kong, Jordânia e etc. O café continua sendo um dos mais importantes produtos agrícolas de exportação, gerando riquezas e divisas para o país com grande função social (REZENDE & ROSADO, 2003).

Assim como tantas outras, a cultura do café sofre ataques de pragas e doenças muito comuns que vem provocando enormes perdas às lavouras de café em todo o mundo. Estas pragas e doenças são capazes de diminuir sua produção bem como a longevidade das lavouras. Dentre as principais pragas que atacam a lavoura cafeeira destacam-se: o bicho mineiro (*Perileucoptera Coffeela*), a broca do café (*Hypothenemus Hampei*), as cigarras (*Quesadas Gigas*, *Garineta SP*, *Fidicina Pronoe* e *Dorisiana SPP*) e as Cochonilhas de raiz (*Dismicococcus Criptus*). Uma medida que vem trazendo resultados satisfatórios no controle desses agentes é o emprego de produtos químicos (UFLA, 2004).

O bicho-mineiro, uma praga exótica que tem como região de origem o continente africano, foi constatada no Brasil a partir de 1851, vindo provavelmente em mudas provenientes das Antilhas e ilha de Bourbon. É considerada praga monófaga, pois ataca somente a cultura do café (REIS & SOUZA 1998). O adulto é um micro-lepidóptero (pequena mariposa) de coloração prateada (LIMA et al., 2003), que possui um ciclo de vida que varia de 19 a 87 dias, de acordo com as condições climáticas (GALLO et al., 1988).

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

## 2.5. Dissulfoton

O dissulfoton é um inseticida/acaricida organofosforado sistêmico muito utilizado para o controle de insetos que se alimentam de seiva (SZETO et al., 1983). O composto reduz o número de larvas, apresentando mortalidade deste inseto entre duas a quatro semanas, após a aplicação (WANJALA, 1976).

O dissulfoton foi introduzido pela BAYER em 1956, apresentado toxicidade para um grande número de pragas. Após sua aplicação em solos, o inseticida e/ou metabólitos são absorvidos pela raiz e translocados para a folhagem (CHAPMAN et al.; 1994). Este produto foi classificado por HARRIS et. all (1988) como relativamente tóxico. Sua estrutura é mostrada na figura 01.

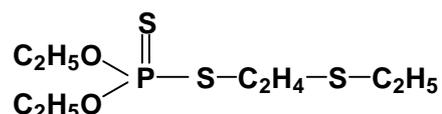


Figura 01. Fórmula do dissulfoton: [O, O – dietil – S – [2 – (etiltio) etil] fosforoditioato].

Sua eficiência no controle de pragas depende da época do ano em que é aplicado, pois a quantidade de chuva, a umidade no solo e a época em que a praga ocorre na planta são fatores que interferem diretamente no seu modo de ação (WANJALA, 1976).

O dissulfoton apresenta-se na forma de óleo, cujo ponto de ebulição é de 128 °C e pressão de vapor de  $3,47 \times 10^{-5}$  Pa a 20 °C. Sua solubilidade em água é de 12,0 mg L<sup>-1</sup>, sendo ainda mais solúvel em solventes orgânicos (MARTIN et al., 1968).

O dissulfoton está classificado, como pouco residual ou rapidamente decomposto, pois perde sua atividade no solo dentro de duas ou quatro semanas, o que não significa que tenha sido completamente inativado dentro deste período, pois seus produtos de degradação, como o dissulfoton sulfona, persistem por mais de 64 dias no ambiente (ETO, 1974). Estudos realizados por OLIVEIRA; (1999), referente ao comportamento do dissulfoton e seus metabólitos no solo e no cafeeiro, revelaram que 270 dias após a aplicação do produto comercial ainda são encontrados resíduos de alguns subprodutos do dissulfoton.

### **2.5.1. Dissulfoton no solo**

FARIA, 2003 mostrou em seus estudos que o dissulfoton é um composto pouco estável e de baixa persistência no solo. Sua degradação leva a compostos, como o dissulfoton sulfona e o seu análogo oxigenado. Esses compostos são bem mais estáveis e de mais alta mobilidade no solo, sendo detectados inclusive em águas percoladas. Estes dois subprodutos, ao contrário do dissulfoton, apresentam um risco em potencial de contaminação de águas subterrâneas, caso a profundidade do solo não seja alta.

O dissulfoton quando presente no solo sofre degradação. SZETO et al. (1983) sugerem que a rota de degradação do dissulfoton no solo ocorre por oxidação, formando inicialmente compostos como sulfóxido e sulfona, seguido da degradação destes intermediários. IBRAHIM et al. (1969), determinaram uma possível rota de decomposição, a partir do dissulfoton, Figura 02. Segundo THORNTON & ANDERSON (1968), o dissulfoton, após ser absorvido pelas plantas, é convertido a sulfóxido e após período prolongado, há o aumento dos teores do dissulfoton nas formas de sulfona, análogo oxigenado do dissulfoton sulfóxido e do análogo oxigenado do dissulfoton sulfona, conforme a Figura 02.

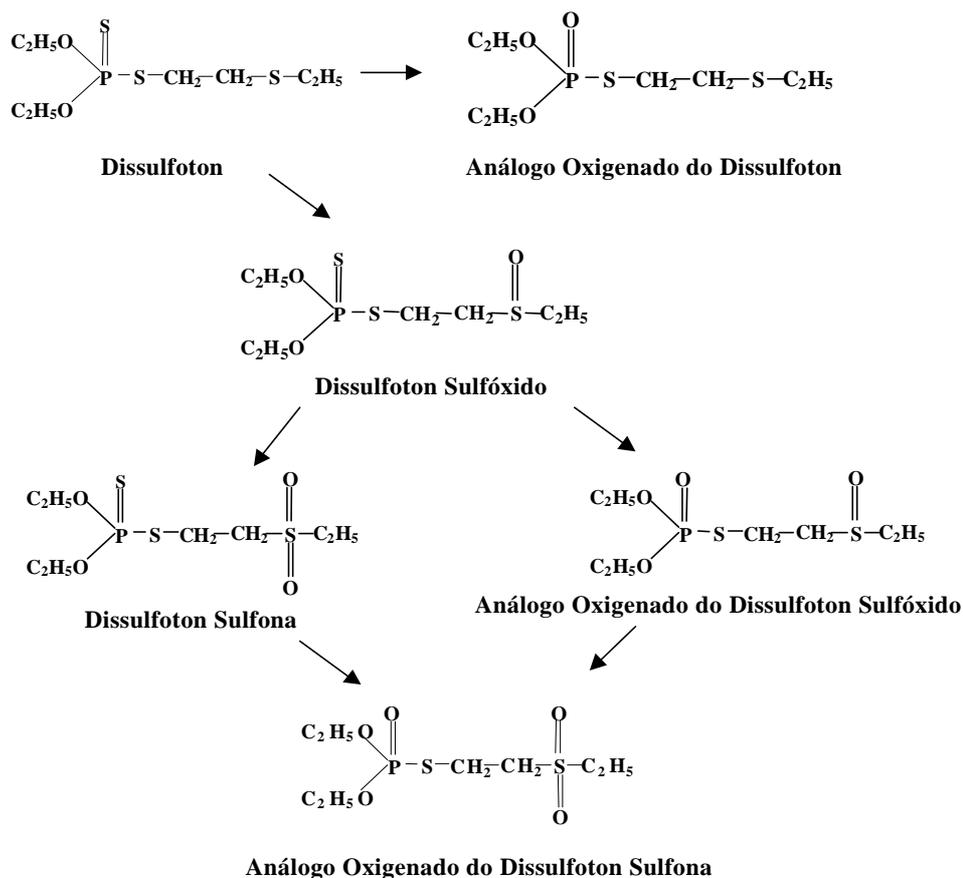


Figura 02. Rota de degradação do Dissulfoton.

## 2.6. Técnicas de análise por cromatografia gasosa

Várias são as técnicas utilizadas para quantificação dos resíduos de dissulfoton em amostras de vegetais, águas e solos. Dentre elas destaca-se a cromatografia gasosa com detector termiônico ou ionização em chama (LOPES, 2000; EISERT et al., 1994; THORNTON & ANDERSON, 1968; SPECHT, 1977) e (FARIA, 2003). As amostras analisadas por cromatografia gasosa necessitam de um preparo prévio, sendo submetidas, portanto a técnicas de extração, em que o composto de interesse é extraído da matriz em estudo por um solvente adequado, para ser analisado em cromatógrafo. Como técnica de extração podemos citar, por exemplo, a extração líquido-líquido e a extração por ponto nuvem (FARIA, 2003).

Apesar do desenvolvimento das técnicas de extração e micro extração em fase sólida, a extração líquido-líquido continua sendo a mais empregada por ser uma técnica simples, pois não exige instrumentações sofisticadas, sendo esta de fácil execução. Entretanto esta técnica tem como desvantagem a produção de grandes volumes de solventes. Assim, nos últimos anos vários trabalhos têm sido realizados com o objetivo de otimizar e minimizar o consumo de solventes utilizados por esta técnica.

GOULART (2004), desenvolveu uma metodologia simples e de baixo custo, para análise de deltametrina e cipermetrina em leite. No método chamado: extração e purificação por precipitação a baixa temperatura, os piretróides foram extraídos de 20,0 mL de leite fortificado em 40,0 mL de acetonitrila, sob agitação e congelamento a -20 °C por 12 horas. A análise do extrato em acetonitrila foi feita por cromatografia gasosa utilizando o detector de captura de elétrons. Segundo GOULART (2004), a taxa de recuperação do método foi de 93% para cipermetrina e 84% para deltametrina. Esta técnica foi otimizada por VIEIRA (2005) com o nome de extração líquido-líquido por partição em baixa temperatura (ELL-PBT), para análise desses princípios ativos em amostras de água e solo. DARDENGO (2004), realizou a otimização da técnica de ELL-PBT simultaneamente para o dissulfoton e triadimenol em amostras de água.

Para ser utilizado na extração por partição à baixa temperatura, o solvente deve apresentar algumas características, como: miscibilidade em água, densidade inferior a da água e apresentar-se líquido à temperatura de aproximadamente -20 °C. Portanto, a acetonitrila é um solvente adequado para realização desta extração, pois permite a formação de uma fase única durante a extração. Na etapa de partição a -20 °C a água torna-se sólida na parte inferior do recipiente utilizado e o solvente contendo os resíduos de pesticidas extraídos permanecem na parte superior, necessitando-se apenas de ser retirada por filtração.

A acetonitrila apresenta as seguintes propriedades físico-químicas: densidade:  $0,78 \text{ kg L}^{-1}$ , miscibilidade em água: sem limites  $\text{g L}^{-1}$ , ponto de fusão:  $-46 \text{ }^\circ\text{C}$  e ponto de ebulição  $81 \text{ }^\circ\text{C}$ .

## **2.7. Técnicas voltamétricas**

A voltametria compreende um grupo de métodos eletroanalíticos nos quais as informações sobre o analito se baseiam na medida da corrente resultante de uma oxidação ou redução na superfície do eletrodo de trabalho durante a aplicação de uma diferença de potencial na célula eletroquímica. Tal técnica pode determinar espécies eletroativas orgânicas, inorgânicas e organometálicas, analitos que reajam com uma espécie eletroativa ou que possam ser derivatizados à eletroatividade (ZUMAN, 2000 e SKOOG, 1998).

As técnicas eletroanalíticas surgem como uma alternativa entre as técnicas utilizadas na determinação de defensivos agrícolas em diversas matrizes ambientais como solos, plantas, água e matrizes biológicas. Além da possibilidade da análise ser realizada diretamente na amostra, também possuem a vantagem de dispensar etapas de pré-tratamento de amostra como as técnicas cromatográficas.

Em geral, as técnicas eletroanalíticas para determinação de pesticidas são menos seletivas e sensíveis que as cromatográficas, mas são mais rápidas e baratas. A sensibilidade pode variar de alguns  $\text{mg L}^{-1}$  ou menos até vários  $\text{g L}^{-1}$ . A seletividade é expressa pelo potencial de redução ou oxidação que são característicos para cada substância em condição experimental e a sensibilidade pela corrente das ondas ou picos gerados nos processos eletroquímicos ocorrendo no eletrodo (EMBRAPA, 1996).

A utilização de técnicas eletroanalíticas dependem da presença de grupos ou sítios eletroativos, na estrutura do composto a ser analisado, que são os grupos passíveis de sofrerem processos de redução e ou oxidação. No entanto, é possível tornar um composto não eletroativo em um composto eletroativo, pela substituição ou adição de um grupo eletroativo, eliminando assim uma das limitações ao uso destas técnicas (SOUZA, 2002).

Algumas técnicas eletroanalíticas foram utilizadas para quantificar e determinar a presença de pesticidas em diversas matrizes. A voltametria de onda quadrada foi utilizada na determinação dos pesticidas fenitrothion e diclorvos em amostras de água (HANEDA, 2000); metilparathion em amostras de solo, (CASTANHO, 2003); foram determinados também por esta técnica os herbicidas paraquat (SOUZA & MACHADO 2003) e ametrina (CABRAL, 2003) em amostras de água. A utilização da voltametria com pulso diferencial e voltametria de onda quadrada foi empregada na determinação do herbicida glifosato em amostras de água, solo e vegetais (TEOFILO, 2003).

Por sua vez, as técnicas “adsortivas” são mais sensíveis, fornecendo limites de detecção mais baixos, entretanto, necessitam de espécies que possuam grupos funcionais que possam se adsorver na superfície eletródica. Isso ocorre, em geral, com pesticidas que contenham enxofre na molécula, por exemplo, a ametrina (EMBRAPA, 1996).

Em algumas análises se faz necessário estudar aspectos como a variação do pH do eletrólito de suporte, degradação e influência de interferentes (partículas coloidais, matéria orgânica dissolvida, íons e etc), antes de poder usar as técnicas eletroanalíticas como procedimento analítico (EMBRAPA, 1996).

### 2.7.1. Voltametria de onda quadrada

Ainda que a voltametria de onda quadrada tenha surgido em 1957 devido aos estudos de Baker, a utilização da técnica era limitada pela tecnologia eletrônica. Com os progressos da tecnologia analógica e digital ela passou a ser incorporada nos polarógrafos a partir dos anos 80. Ela também é chamada de voltametria de onda quadrada de Osteryoung, atribuída ao pesquisador que a desenvolveu (ALEIXO, 2004).

A técnica de voltametria de onda quadrada (VOQ) é uma técnica que utiliza pulsos de pequena amplitude com potencial controlado e tem recebido muita atenção nos recentes anos. Ela envolve a aplicação de um potencial na forma de uma onda definida na figura 03. As correntes  $I(1)$  e  $I(2)$  em cada ciclo da onda quadrada, são medidas. A corrente é amostrada perto do fim de cada meio ciclo da onda quadrada para minimizar os efeitos de carga de dupla camada (TEOFILO, 2003).

Na voltametria de onda quadrada, a forma do pico de corrente resultante é proveniente da aplicação de potenciais de altura  $\Delta E_s$ , que variam de acordo com uma escada de potencial com largura  $\Delta E_p$  e duração  $2t$  (período). As correntes elétricas são medidas ao final dos pulsos diretos (1) e reversos (2) e o sinal é dado como uma intensidade da corrente resultante ( $\Delta I$ ) que é um sinal obtido diferencialmente, e apresenta excelente sensibilidade e alta rejeição a correntes capacitivas. Esta medida precede um tempo inicial ( $t$ ) que é onde o eletrodo de trabalho é polarizado a um potencial onde a reação redox não ocorre (SOUZA, 2002).

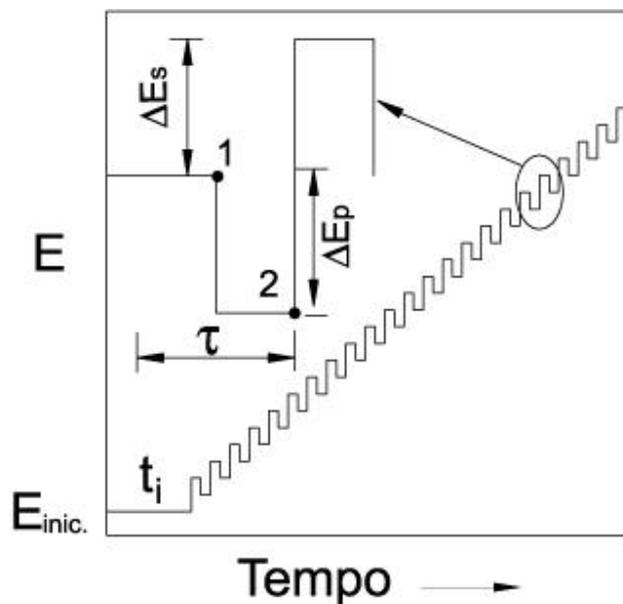


Figura 03. Forma de aplicação do potencial na voltametria de onda quadrada. (SOUZA et al., 2003)

A diferença na corrente  $DI = I(1) - I(2)$ , é usada para gerar o voltamograma, quando disposta em um gráfico contra o potencial aplicado, E.

Do ponto de vista analítico, a principal vantagem da voltametria de onda quadrada encontra-se na sua habilidade em executar uma varredura completa do potencial em poucos segundos ao contrário de outras técnicas eletroanalíticas com pulso (TEOFILO, 2003).

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1. Amostras de água

Para otimização e validação dos métodos de análise descritos neste trabalho foram utilizadas amostras de água destilada e água do ribeirão São Bartolomeu.

##### 3.1.1. Coleta

A água utilizada neste experimento foi coletada em um frasco de polietileno com aproximadamente 1,50 L de capacidade previamente lavado com solução de ácido nítrico 7% e água destilada. A amostra foi coletada superficialmente a aproximadamente 60 cm da margem esquerda do ribeirão São Bartolomeu, nos dias 09 de março e 27 de maio de 2005 às 10 horas, em um único ponto, situado no campus da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, representado na figura 04.

##### 3.1.2. Características das amostras do ribeirão São Bartolomeu

Segundo dados fornecidos pela estação de tratamento de água da Universidade Federal de Viçosa, as amostras possuem as seguintes características relativas aos dias e horário das coletas, tabela 01.

Tabela 01. Características da água coletada no ribeirão São Bartolomeu

| Características                        | 09/03/2005 | 27/05/2005 |
|--|------------|------------|
| Alcalinidade (mg CaCO <sub>3</sub> /L) | 24,1       | 28,8       |
| Cor (uC*)                              | 125,0      | 50,0       |
| pH                                     | 6,91       | 6,90       |
| Temperatura (°C)                       | 23,6       | 20,0       |
| Turbidez (NTU*)                        | 33,3       | 11,1       |

\*(uC) : unidade de cor

\*(NTU) : unidade de turbidez

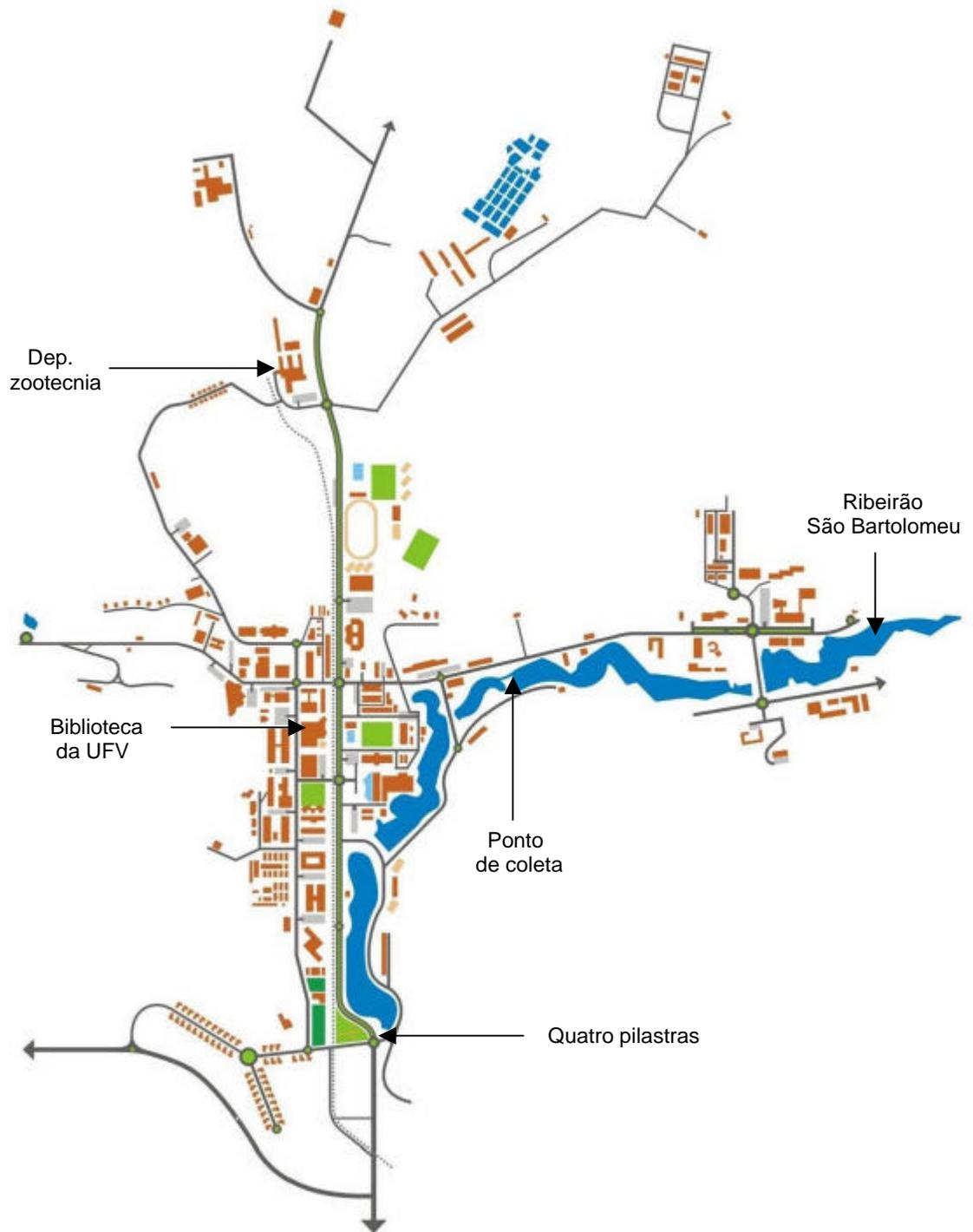


Figura 04. Ponto de coleta da amostra de água do ribeirão São Bartolomeu no campus da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG. Mapa fornecido pela prefeitura do campus da UFV.

## **3.2. Análise por cromatografia gasosa**

### **3.2.1. Soluções padrão**

A solução estoque do dissulfoton foi preparada em metanol e as demais soluções derivadas desta, foram diluídas em acetonitrila.

Foram preparados 100,0 mL de uma solução estoque de 1000,0 mg L<sup>-1</sup> de dissulfoton em metanol a partir de um de um padrão fornecido pela BAYER com 98,45% de pureza. Uma solução-trabalho de 10,0 mL contendo 100,0 mg L<sup>-1</sup> foi preparada pela diluição da solução estoque em acetonitrila (Mallinckrodt / HPLC).

A partir da solução-trabalho foram preparados sete padrões de dissulfoton em acetonitrila com as seguintes concentrações: 5,000 mg L<sup>-1</sup>, 3,000 mg L<sup>-1</sup>, 1,000 mg L<sup>-1</sup>, 0,500 mg L<sup>-1</sup>, 0,100 mg L<sup>-1</sup>, 0,050 mg L<sup>-1</sup> e 0,010 mg L<sup>-1</sup>.

A solução-trabalho e as demais soluções padrão foram transferidas para frascos com tampa rosqueada e septo de teflon devidamente etiquetados. Esses frascos tiveram suas massas anotadas, sendo armazenadas em freezer até o momento da análise.

### **3.2.2. Amostras fortificadas**

Fortificar uma amostra significa adicionar a esta uma quantidade conhecida de um determinado padrão. Desta forma, sete amostras de 4,00 mL de água destilada e de água do ribeirão São Bartolomeu foram fortificadas com a solução-trabalho nas concentrações de 100,0 mg L<sup>-1</sup> e 10,0 mg L<sup>-1</sup> para obter respectivamente concentrações iguais a 12,50 mg L<sup>-1</sup>, 7,50 mg L<sup>-1</sup>, 2,50 mg L<sup>-1</sup>, 1,25 mg L<sup>-1</sup>, 0,250 mg L<sup>-1</sup>, 0,125 mg L<sup>-1</sup> e 0,025 mg L<sup>-1</sup>.

### **3.2.3. Extração líquido-líquido por partição a baixa temperatura**

As análises realizadas por cromatografia gasosa são geralmente precedidas por processos de extração que têm por objetivo deixar o analito de interesse em uma matriz (solvente orgânico) adequada ao tipo de detector empregado na análise cromatográfica.

Com o objetivo de validar a técnica de extração líquido-líquido por partição a baixa temperatura (ELL-PBT) para o dissulfoton, em água proveniente de rios e água destilada, foram realizados testes utilizando amostras fortificadas com quantidades conhecidas de dissulfoton. O dissulfoton foi extraído das amostras e as suas concentrações determinadas por cromatografia gasosa.

#### **3.2.3.1. Eficiência da técnica de extração e escolha da faixa de trabalho**

Para confirmar o emprego do método de extração a ser utilizado, procedeu-se a avaliação da eficiência de extração e escolha da faixa de trabalho, como testes preliminares. Os resultados correspondentes à eficiência foram obtidos através da comparação das áreas geradas nos cromatogramas dos extratos e dos padrões de dissulfoton, sendo os resultados expressos em porcentagem de recuperação. A faixa de trabalho foi escolhida pela injeção de cinco (5) padrões de dissulfoton em concentrações crescentes para análise da linearidade de resposta.

Amostras de água destilada foram fortificadas com 0,01 mg, 0,03 mg e 0,05 mg de dissulfoton e submetidas ao processo de extração seguido de análise em cromatógrafo.

Foram preparados padrões de dissulfoton em acetonitrila nas concentrações de 5,00 mg L<sup>-1</sup>, 1,00 mg L<sup>-1</sup>, 0,50 mg L<sup>-1</sup>, 0,10 mg L<sup>-1</sup>, e 0,05 mg L<sup>-1</sup>, para determinação da faixa de trabalho.

### 3.2.3.2. Extração do dissulfoton em amostra de água

A metodologia da ELL-PBT foi aplicada em amostras de água destilada e água proveniente do ribeirão São Bartolomeu.

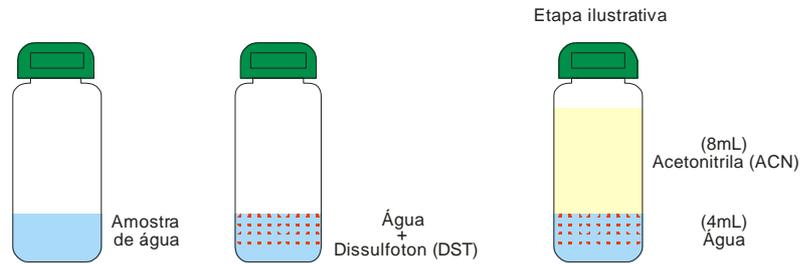
Em frascos de vidro transparente com, tampa rosqueada e septo de teflon com aproximadamente 15,0 mL de capacidade foram adicionados 4,00 mL de amostra de água fortificada com dissulfoton. Logo após foi adicionado 8,00 mL de acetonitrila. Os frascos foram etiquetados e mantidos sob agitação mecânica em mesa agitadora (Tecnal TE- 420), por 10 minutos a temperatura ambiente  $\pm 26$  °C em 150 opm (oscilações por minuto).

Após a agitação os frascos foram transferidos para um freezer com temperatura aproximada de -20 °C onde permaneceram por 16 horas. Após o período de resfriamento, separou-se a fase aquosa congelada, da fase orgânica (líquida), que foi passada por uma coluna de vidro (11,0 cm de comprimento e 0,8 cm de diâmetro interno) contendo 1,50 g de sulfato de sódio anidro (nuclear-PA). Ao final da filtração foi realizado a lavagem de cada funil com acetonitrila para garantir uma máxima transferência do dissulfoton que por ventura tivesse aderido na superfície interna da coluna de vidro.

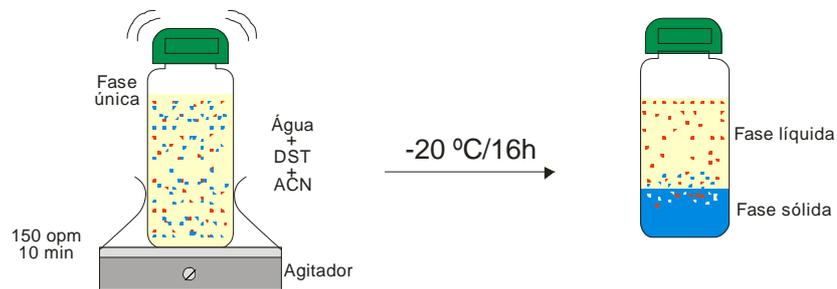
Os extratos foram recolhidos em balões volumétricos de 10,0 mL e completados os volumes com acetonitrila. Os extratos foram transferidos para frascos de vidro e armazenados em freezer até o momento da análise cromatográfica.

O procedimento de extração é ilustrado na figura 05.

**1ª ETAPA: PREPARO E FORTIFICAÇÃO**



**2ª ETAPA: AGITAÇÃO E RESFRIAMENTO**



**3ª ETAPA: FILTRAÇÃO**

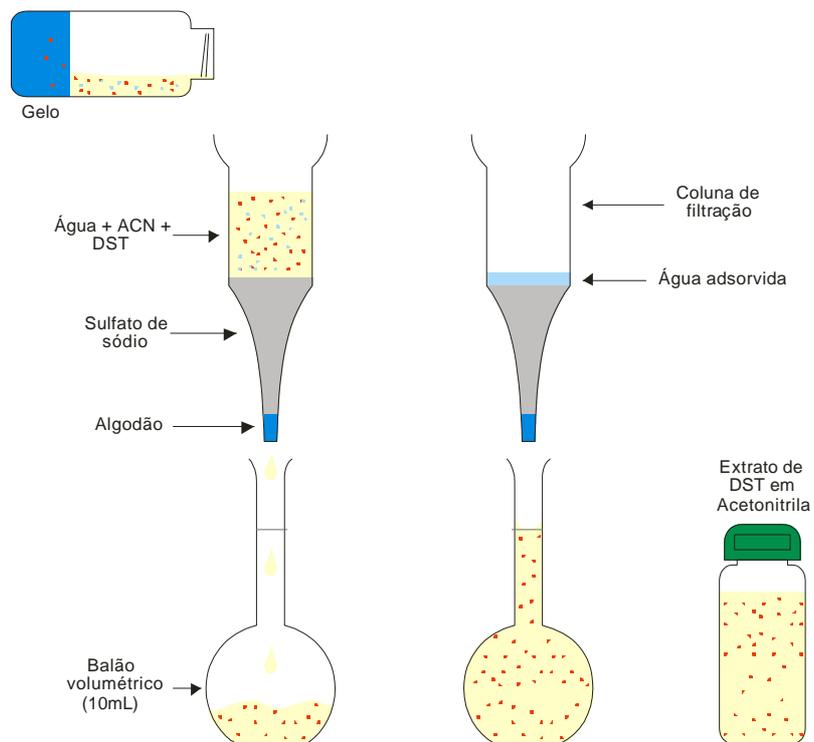


Figura 05. Esquema representativo do processo de ELL-PBT.

### 3.2.4. Condições da análise cromatográfica

A identificação e quantificação dos extratos e padrões do dissulfoton foram realizadas em cromatógrafo a gás (Shimadzu, modelo GC 17A) com sistema de detecção por captura de elétrons (DCE). Foram utilizadas as seguintes condições de análises:

\*Coluna HP-5 com fase estacionária composta de 5 % de fenil e 95 % de dimetilpolisiloxano, 30,0 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e 1 µm de espessura de filme.

- \*Programação de temperatura:.....170 °C      10 °C/min      230 °C  
—————▶
- \*Tempo total de análise:.....6,0 min
- \*Temperatura do injetor:.....250 °C
- \*Temperatura do detector:.....300 °C
- \*Volume injetado:.....1 µL
- \*Vazão do gás de arraste:.....1,2 mL min<sup>-1</sup>
- \*Gás de arraste:.....Nitrogênio
- \*Razão split:.....1:5

### 3.2.5. Quantificação

A quantificação dos extratos de dissulfoton foi realizada pelo método do padrão externo. Este método implica na construção de um gráfico que relaciona as concentrações dos padrões de dissulfoton (5,00 mg L<sup>-1</sup>, 3,00 mg L<sup>-1</sup>, 1,00 mg L<sup>-1</sup>, 0,50 mg L<sup>-1</sup>, 0,10 mg L<sup>-1</sup>, 0,05 mg L<sup>-1</sup> e 0,01 mg L<sup>-1</sup> preparados em acetonitrila) com a área dos picos obtidos nos cromatogramas, sendo construído a partir destes dados uma curva analítica. Obteve-se por regressão linear desta curva a equação da reta, representada pela expressão  $y = ax + b$ , que permite calcular a concentração do dissulfoton nas amostras de água, a partir dos valores das áreas dos picos dos extratos geradas nos seus respectivos cromatogramas.

---

### **3.2.5.1. Amostras do ribeirão São Bartolomeu e água destilada**

Com o objetivo de avaliar o comportamento da técnica de extração com relação ao tipo de matriz, amostras de água destilada e água proveniente de um recurso natural foram fortificadas com diferentes concentrações de dissulfoton e submetidas à técnica de extração descrita no item 3.2.3.2. Foi construído um gráfico relacionando área versus concentração de dissulfoton.

### **3.3. Validação do método cromatográfico**

Para que um método analítico gere informações confiáveis e interpretáveis sobre uma amostra, ele deve ser submetido a um processo denominado validação (RIBANI et al., 2004). A validação deve garantir, através de estudos experimentais, que o método atenda as exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados (ANVISA, 2002).

Para elaboração deste trabalho foram escolhidos os seguintes parâmetros de validação: seletividade, linearidade, limite de detecção (LD), limite de quantificação (LQ), precisão (precisão instrumental, repetitividade e precisão intermediária) e exatidão.

#### **3.3.1. Seletividade**

Com o intuito de avaliar se a acetonitrila, as amostras de água destilada e do ribeirão São Bartolomeu continham qualquer interferente no intervalo do tempo de retenção característico do dissulfoton após análise cromatográfica, foram realizados os testes de seletividade.

O teste consistiu em aplicar a metodologia de ELL-PBT nas amostras de água destilada, não fortificadas e fortificadas com dissulfoton a uma concentração esperada de 1,00 mg L<sup>-1</sup> depois de submetidas ao processo de ELL-PBT. Esta etapa também foi repetida para as amostras de água do ribeirão São Bartolomeu. A seletividade foi avaliada comparando-se os cromatogramas obtidos nos ensaios.

---

### 3.3.2. Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ)

O LD e LQ foram determinados pelo método baseado nos parâmetros da curva analítica (RIBANI et al., 2004).

$$LD = 3,3 \times \frac{b}{a} \qquad LQ = 10 \times \frac{b}{a}$$

Onde:  $b$  é a estimativa do coeficiente linear da equação.  
 $a$  é o coeficiente angular da equação

#### 3.3.2.1. LD e LQ do equipamento

Para determinar o LD e o LQ do equipamento foi utilizado a equação da curva analítica onde foram realizadas as injeções de soluções padrão em diferentes concentrações de dissulfoton em acetonitrila.

#### 3.3.2.2. LD e LQ do método

Para determinar o LD e o LQ do método de extração foram utilizadas as equações provenientes das curvas analíticas dos extratos das amostras de água destilada e água do ribeirão São Bartolomeu, fortificadas com dissulfoton nas seguintes concentrações: 12,50 mg L<sup>-1</sup>, 7,50 mg L<sup>-1</sup>, 2,50 mg L<sup>-1</sup>, 1,25 mg L<sup>-1</sup>, 0,250 mg L<sup>-1</sup>, 0,125 mg L<sup>-1</sup> e 0,025 mg L<sup>-1</sup>.

### 3.3.3. Precisão

A precisão foi avaliada sob condições de precisão instrumental repetitividade e precisão intermediária.

A precisão foi avaliada pelo coeficiente de variação (CV) segundo as normas descritas por RIBANI et al., 2004. Calculado pela expressão:

$$CV(\%) = \frac{s}{\bar{x}} \times 100 \quad s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

Onde:  $s$  = estimativa do desvio padrão  
 $\bar{x}$  = média das medidas  
 $x_i$  = valor medido  
 $n$  = número de medidas

#### 3.3.3.1. Precisão instrumental

Este parâmetro tem como objetivo verificar a variação da resposta do equipamento através de sucessivas injeções de uma mesma amostra. A precisão instrumental foi avaliada realizando-se sete (7) injeções de um único extrato a uma concentração de 1,00 mg L<sup>-1</sup> de dissulfoton. Os ensaios foram realizados em uma mostra de água destilada.

#### 3.3.3.2. Repetitividade

Este parâmetro tem como objetivo avaliar a variação da resposta obtida, através de aplicações sucessivas do método, efetuadas sob as mesmas condições de medição.

A repetitividade do método de ELL-PBT foi avaliada realizando-se sete (7) extrações, em um mesmo dia para amostras de água destilada fortificadas com dissulfoton a uma concentração de 2,50 mg L<sup>-1</sup>.

### 3.3.3.3. Precisão intermediária

Este parâmetro tem como objetivo verificar o comportamento da resposta analítica pela aplicação do método em diferentes dias.

Foram preparadas três (3) amostras em água destilada com 2,50 mg L<sup>-1</sup>, 7,50 mg L<sup>-1</sup> e 12,50 mg L<sup>-1</sup> de dissulfoton sendo estas submetidas à técnica de ELL-PBT, em três dias diferentes (04/03/2005, 11/03/2005 e 29/03/2005). As amostras foram fortificadas nos seus respectivos dias de avaliação.

A precisão intermediária foi determinada pelo cálculo do desvio padrão e coeficiente de variação. Os ensaios foram realizados em triplicatas.

### 3.3.4. Exatidão

Segundo a ANVISA; 2002, a exatidão é expressa pela relação:

$$Exatidão = \frac{Concentração\ experimental}{Concentração\ teórica} \times 100$$

Entre os processos utilizados para avaliar a exatidão será abordado neste trabalho: ensaio de recuperação, referente às análises por cromatografia gasosa.

#### 3.3.4.1. Ensaio de recuperação

O ensaio de recuperação avalia a porção do analito que estava originalmente na matriz em estudo que foi transferida para o solvente extrator.

O ensaio de recuperação foi realizado fortificando-se as amostras de água destilada com as seguintes quantidades de dissulfoton: 0,01 mg, 0,03 mg e 0,05 mg e submetendo as amostras a técnica de ELL-PBT. Foram utilizadas três (3) concentrações com o intuito de verificar a existência ou não de variações nas respostas obtida. Os resultados foram comparados com seus respectivos padrões.

---

### **3.4. Análise voltamétrica**

#### **3.4.1. Procedimentos preliminares**

Os testes preliminares foram realizados com o intuito de observar se o dissulfoton produziria uma resposta voltamétrica quando submetido a uma varredura pela voltametria de onda quadrada. Os testes preliminares foram baseados nos procedimentos metodológicos utilizados por (HANEDA, 2000), para determinação dos pesticidas organofosforados fenitrothion e diclorvos por voltametria de onda quadrada.

Os testes foram realizados em solução tampão (ácido acético /acetato de sódio) em pH 4,5. Primeiramente foi realizada a varredura com 5,0 mL da solução tampão, e logo após a adição de 100,0 L de uma solução de 100,0 mg L<sup>-1</sup> de dissulfoton em metanol foram realizadas três varreduras. O tempo de purga para a solução tampão foi de 240 segundos e de 60 segundos para purga com dissulfoton. Foi utilizado o gás N<sub>2</sub> para a purga.

#### **3.4.2. Instrumentação para voltametria de onda quadrada**

As medidas voltamétricas foram realizadas em um analisador polarográfico 757 VA Computrace Stand (Metrohm Ltd. CH-9101 Herisau Switzerland) operando com um eletrodo de mercúrio de gota pendente (HMDE) como eletrodo de trabalho, um eletrodo de referência de KCl e um eletrodo auxiliar de platina, como mostrado na figura 06.

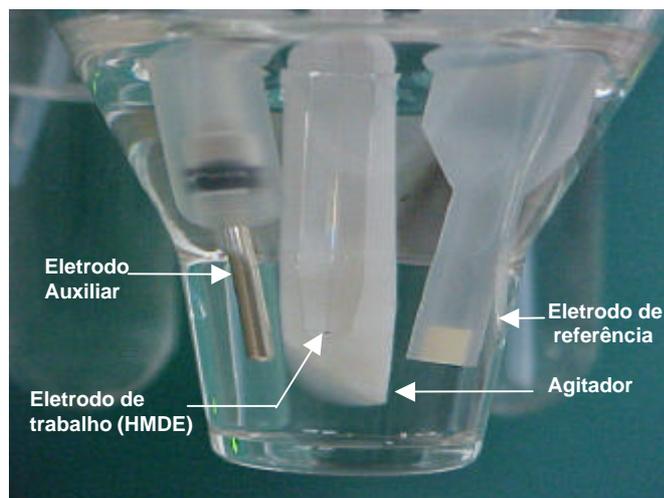


Figura 06. Célula voltamétrica do analisador polarográfico 757 VA Computrace Stand, destacando os três eletrodos e o agitador não magnético.

### 3.4.3. Soluções padrão

Foram preparadas três (3) soluções padrão de dissulfoton nas concentrações de  $25,0 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $50,0 \text{ mg L}^{-1}$  e  $100,0 \text{ mg L}^{-1}$  em metanol, transferindo-se respectivamente  $0,25 \text{ mL}$ ,  $0,50 \text{ mL}$  e  $1,00 \text{ mL}$  da solução estoque de  $1000,0 \text{ mg L}^{-1}$  para balões volumétricos de  $10,0 \text{ mL}$ .

Foi separado um frasco contendo aproximadamente  $45 \text{ mL}$  de metanol, para ser analisado como “branco”.

### 3.4.4. Preparo das amostras

As amostras de água destilada foram preparadas a partir da solução estoque ( $1000,0 \text{ mg L}^{-1}$ ), transferindo-se alíquotas de  $0,25 \text{ mL}$ ,  $0,50 \text{ mL}$  e  $1,00 \text{ mL}$  para balões volumétricos de  $10,0 \text{ mL}$ . Antes de completar os volumes dos balões foram acrescentados a estes  $2,25 \text{ mL}$ ,  $2,00 \text{ mL}$  e  $2,00 \text{ mL}$  de metanol, respectivamente, obtendo portanto, soluções de concentrações iguais a  $25,0 \text{ mg L}^{-1}$  (25% de metanol),  $50,0 \text{ mg L}^{-1}$  (25% de metanol) e  $100,0 \text{ mg L}^{-1}$  (30% de metanol). O meio alcoólico foi utilizado para garantir a solubilidade do dissulfoton em água.

Para os estudos com a água do ribeirão São Bartolomeu foram preparadas duas amostras de concentrações iguais a  $25,0 \text{ mg L}^{-1}$  (25% de metanol) e  $50,0 \text{ mg L}^{-1}$  (25% de metanol) em balões volumétricos de 10,0 mL, partindo da solução estoque, mas completando-se os volumes dos balões com água do ribeirão. Foram separados frascos contendo aproximadamente 45 mL das amostras de água destilada e amostra do ribeirão São Bartolomeu, para serem analisadas como “branco”.

#### **3.4.5. Análise por voltametria**

Antes de usar as técnicas eletroquímicas como procedimento analítico é importante estudar a influência de aspectos como variação do pH do eletrólito de suporte, amplitude, frequência, faixa do potencial de trabalho, degradação do composto estudado e possíveis interferentes. Em alguns casos se faz necessário a utilização de soluções tampão como eletrólito suporte para que se possa controlar o pH no momento da análise. Amostras contendo partículas em suspensão devem ser submetidas a processos de filtração ou centrifugação.

Neste trabalho foram estudadas as influências da variação do eletrólito de suporte e dos parâmetros voltamétricos, amplitude e frequência.

#### **3.4.6. Escolha do eletrólito de suporte**

Uma alíquota de 150,0 L da solução de dissulfoton a  $100,0 \text{ mg L}^{-1}$  em água destilada foi submetida a varreduras com diferentes tipos de eletrólitos de suporte.

Soluções de cloreto de cálcio ( $\text{CaCl}_2$ ) em meio tamponado em ácido acético e acetato de sódio foram empregadas como eletrólito de suporte. Foi realizado um planejamento experimental para estudar o comportamento simultâneo dos fatores: concentração da solução de cloreto de cálcio, concentração da solução tampão e pH das soluções. Para escolher o melhor eletrólito de suporte foram empregadas soluções de cloreto de cálcio e soluções

tampão de ácido acético e acetato de sódio nas concentrações de  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  e  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ , correspondendo aos níveis (-) e (+) descritos na tabela 02 e variação de pH em três níveis: 4,0, 5,0 e 6,0.

Tabela 02. Planejamento experimental para seleção do eletrólito de suporte

| Ensaio | pH  | Fatores |                   |
|--------|-----|---------|-------------------|
|        |     | Tampão  | CaCl <sub>2</sub> |
| 01     | 4,0 | +       | -                 |
| 02     | 4,0 | +       | +                 |
| 03     | 4,0 | -       | -                 |
| 04     | 4,0 | -       | +                 |
| 05     | 5,0 | +       | -                 |
| 06     | 5,0 | +       | +                 |
| 07     | 5,0 | -       | -                 |
| 08     | 5,0 | -       | +                 |
| 09     | 6,0 | +       | -                 |
| 10     | 6,0 | +       | +                 |
| 11     | 6,0 | -       | -                 |
| 12     | 6,0 | -       | +                 |

#### 3.4.6.1. Preparo da solução tampão

Preparou-se 100,0 mL de uma solução de ácido acético a  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  em água deionizada.

Preparou-se 100,0 mL de uma solução de acetato de sódio a  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$  em água deionizada.

As soluções, de ácido acético e acetato de sódio em concentrações iguais a  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  foram preparadas a partir de diluições das suas respectivas soluções nas concentrações de  $0,10 \text{ mol L}^{-1}$ .

Para se obter os valores de pH de 4,0, 5,0 e 6,0, soluções tampão de ácido acético (Pro Analysis) e acetato de sódio (MERCK) foram preparadas como descrito na tabela 03. Os valores de pH das soluções foram medidos utilizando eletrodo de vidro combinado acoplado a um potenciômetro da DIGIMED modelo DM 20.

Foi utilizado água deionizada (TKA. Water Purification System) para o preparo dos eletrólitos de suporte.

Tabela 03. Volumes de ácido acético e acetato de sódio, necessários para obter os diferentes níveis de pH

| Ácido acético (mL) | Acetato de sódio (mL) | pH do tampão | Concentração do tampão (mol L <sup>-1</sup> ) | Volume final (mL) |
|--------------------|-----------------------|--------------|---|-------------------|
| 20,0               | 5,0                   | 4,0          | 0,1   | 25,0              |
| 7,5                | 17,5                  | 5,0          | 0,1   | 25,0              |
| 1,2                | 23,8                  | 6,0          | 0,1   | 25,0              |

A tabela 03 mostra os volumes de ácido acético e acetato de sódio necessários para se obter os valores de pH selecionados, em uma solução tampão de 0,1 mol L<sup>-1</sup>. Estes volumes também foram empregados para se obter as soluções tampão de 0,01 mol L<sup>-1</sup>.

Para procedimento de leitura por voltametria de onda quadrada, foram fixados os valores para a amplitude e freqüência em 20 mV e 100 Hz respectivamente.

### 3.4.7. Estudo dos parâmetros voltamétricos

Os parâmetros escolhidos para o estudo foram amplitude (A), em mV, e freqüência (Fr), em Hz.

O estudo foi realizado variando-se os níveis da amplitude e da freqüência e mantendo-se fixados os seguintes fatores:

Eletrólito de suporte: Solução de CaCl<sub>2</sub> 0,01 mol L<sup>-1</sup> em tampão ácido acético / acetato de sódio 0,01 mol L<sup>-1</sup> em pH 6,0

Volume da cela eletrolítica: 10,0 mL.

### **3.4.8. Planejamento fatorial**

Um tipo particular de planejamento experimental, conhecido como planejamento fatorial, é de grande utilidade em investigações preliminares quando se deseja saber se determinados fatores têm ou não influência sobre a resposta desejada (NETO, 1995). Neste contexto chamou-se de fatores, as variáveis de interesse; amplitude e frequência e, chamou-se de níveis as suas variações 10 mV a 60 mV, para amplitude e 40 Hz a 140 Hz para frequência.

#### **3.4.8.1. Metodologia para superfície de resposta**

A metodologia para a superfície de resposta é uma técnica de otimização baseada no emprego de planejamentos fatoriais e que tem sido usada com grande sucesso na modelagem de diversos processos industriais (NETO, 1995).

Uma superfície de resposta é um gráfico que mostra o comportamento da resposta como função de dois ou mais fatores, oferecendo assim uma conveniente maneira de visualizar como vários fatores afetam as medidas do sistema.

Neste trabalho será utilizado o planejamento tipo estrela.

O resultado do planejamento em estrela  $x_1$  e  $x_2$  representam os valores das variáveis codificadas mostradas na tabela 04.

Tabela 04. Variáveis codificadas para construção do gráfico de superfície de resposta do planejamento em estrela

| Ensaio | Fatores           |                   |
|--------|-------------------|-------------------|
|        | (X <sub>1</sub> ) | (X <sub>2</sub> ) |
| 01     | -1                | -1                |
| 02     | 1                 | -1                |
| 03     | -1                | 1                 |
| 04     | 1                 | 1                 |
| 05     | -1,41             | 0                 |
| 06     | 1,41              | 0                 |
| 07     | 0                 | -1,41             |
| 08     | 0                 | 1,41              |
| 09     | 0                 | 0                 |
| 10     | 0                 | 0                 |
| 11     | 0                 | 0                 |
| 12     | 0                 | 0                 |

O planejamento pode ser representado em um gráfico onde as variáveis são dispostas em eixos cartesianos, figura 07.

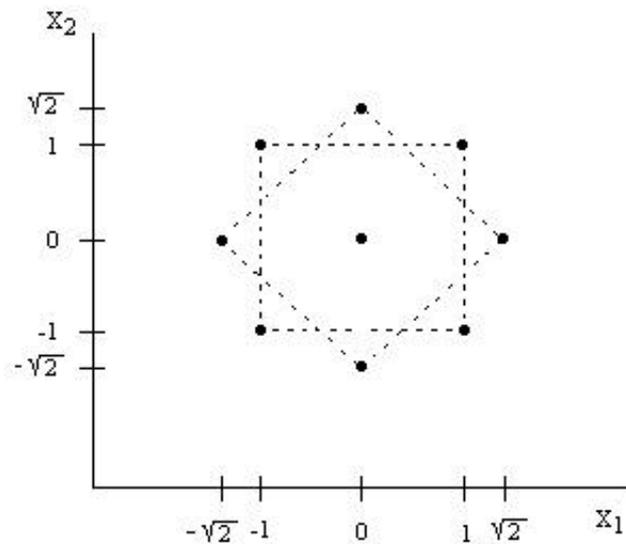


Figura 07. Planejamento em estrela para dois fatores representados pelas variáveis codificadas X<sub>1</sub> (frequência) e X<sub>2</sub> (amplitude).

Este planejamento foi utilizado para a escolha dos melhores valores da amplitude e frequência adotados para análise do dissulfoton em amostras de água.

### 3.4.8.2. Amplitude

Foi verificado o comportamento da resposta voltamétrica nos níveis 10, 20, 30, 40, 50, e 60 mV de amplitude, fixando-se o valor de 100 Hz para a frequência na realização dos ensaios.

Para verificação da resposta obtida foi construído um voltamograma adicionando-se para cada nível de amplitude 150,0 L da solução de dissulfoton a uma concentração de 100,0 mg L<sup>-1</sup> em água destilada, obtendo uma concentração de 1,50 mg L<sup>-1</sup> no ato da leitura. Outro voltamograma também foi construído com objetivo de verificar o comportamento da resposta voltamétrica em uma concentração mais baixa, para isso, foi adicionado para cada nível de amplitude, 25,0 L da solução de dissulfoton a uma concentração de 100,0 mg L<sup>-1</sup> em água destilada, obtendo-se uma concentração de 0,25 mg L<sup>-1</sup> para o dissulfoton no ato da leitura. Para cada nível de amplitude estudado foi renovado o eletrólito de suporte.

### 3.4.8.3. Frequência

Foi verificado o comportamento da resposta voltamétrica nos níveis de 40, 60, 80, 100, 120 e 140 Hz de frequência, fixando-se o valor de 20 mV para a amplitude na realização dos ensaios.

Para verificação da resposta obtida nos estudos da frequência foi construído um voltamograma adicionando-se para cada nível de frequência 150,0 L da solução de dissulfoton a uma concentração de 100,0 mg L<sup>-1</sup> em água destilada, obtendo-se uma concentração de 1,50 mg L<sup>-1</sup> no ato da leitura. Outro voltamograma também foi construído com o objetivo de verificar o comportamento da resposta voltamétrica em uma baixa concentração, para isso, foi adicionado para cada nível de frequência, 25,0 L da solução de dissulfoton a uma concentração de 100,0 mg L<sup>-1</sup> em água destilada, obtendo-se uma concentração de 0,25 mg L<sup>-1</sup> para o dissulfoton no ato da leitura. Para cada nível de frequência estudado foi renovado o eletrólito de suporte.

---

### 3.4.9. Escolha da faixa de trabalho e linearidade

Com o objetivo de determinar e quantificar a menor concentração para o dissulfoton em amostras de água, foi realizado um estudo da linearidade e avaliação da faixa de trabalho. Para isso, foi realizada a adição seqüencial de 10 alíquotas 100,0 L de dissulfoton em uma concentração de 25,0 mg L<sup>-1</sup>, seguida de suas respectivas varreduras por voltametria de onda quadrada. As seguintes concentrações foram obtidas no ato da leitura: 0,25 mg L<sup>-1</sup>; 0,49 mg L<sup>-1</sup>; 0,73 mg L<sup>-1</sup>; 0,96 mg L<sup>-1</sup>; 1,19 mg L<sup>-1</sup>; 1,41 mg L<sup>-1</sup>; 1,63 mg L<sup>-1</sup>; 1,85 mg L<sup>-1</sup>; 2,05 mg L<sup>-1</sup> e 2,27 mg L<sup>-1</sup>.

### 3.4.10. Condições da análise voltamétrica

Após os estudos da variação da amplitude, freqüência e do eletrólito de suporte, foram fixados as condições de análise para o dissulfoton em amostras de água. A técnica de voltametria de onda quadrada combinada com eletrodo de mercúrio de gota suspensa (HMDE) foi então utilizada nas condições abaixo.

|                             |  |
|-----------------------------|--|
| Volume de injeção:.....     | 100 L e 50 L   |
| Eletrólito de suporte:..... | Solução de CaCl <sub>2</sub> 0,01 mol L <sup>-1</sup> em tampão 0,01 mol L <sup>-1</sup> de ácido acético / acetato de sódio pH 6,0. |
| Volume da cela:.....        | 10,0 mL  |
| Tempo de purga longa:.....  | 240 s  |
| Tempo de purga curta:.....  | 60 s   |
| Tempo de equilíbrio:.....   | 10 s   |
| Potencial inicial:.....     | -0,5 V   |
| Potencial final:.....       | -1,4 V   |
| Voltagem <i>step</i> :..... | 20 mV  |
| Amplitude:.....             | 50 mV  |
| Freqüência:.....            | 120 Hz   |

### 3.4.11. Quantificação

A quantificação foi realizada através do método do padrão externo, que relaciona as concentrações na cela eletrolítica com as correntes máximas produzidas nos potenciais de pico gerados nos voltamogramas.

Obtém-se, portanto, a equação de reta da curva analítica, que permite calcular a concentração do dissulfoton nas amostras de água.

#### 3.4.11.1. Curva analítica

Tendo em vista que o analito não é destruído após ser submetido ao processo de análise, a curva analítica foi construída por adições seqüenciais dos padrões de dissulfoton seguidas de suas respectivas leituras. Foram construídas três curvas analíticas nas diferentes matrizes (padrão em metanol, água destilada e água do ribeirão São Bartolomeu) partindo de padrões de 25,0 mg L<sup>-1</sup> (25% de metanol). As injeções foram realizadas como descrito na tabela 05.

Tabela 05. Seqüência de adições e concentrações no ato da leitura para o dissulfoton em três diferentes matrizes (metanol, água destilada e água do ribeirão São Bartolomeu)

| Adições        | Volume ( L) | Concentração( mg L <sup>-1</sup> ) |
|----------------|-------------|------------------------------------|
| 1 <sup>a</sup> | 50,0        | 0,125                              |
| 2 <sup>a</sup> | 50,0        | 0,245                              |
| 3 <sup>a</sup> | 100,0       | 0,489                              |
| 4 <sup>a</sup> | 100,0       | 0,726                              |
| 5 <sup>a</sup> | 100,0       | 0,959                              |
| 6 <sup>a</sup> | 100,0       | 1,188                              |
| 7 <sup>a</sup> | 100,0       | 1,412                              |

### 3.5. Validação do método voltamétrico

Após estabelecer as condições de análise para o dissulfoton em amostras de água destilada e água proveniente de um recurso natural, a metodologia de análise foi submetida a um processo de validação com os mesmos parâmetros utilizados para as análises cromatográficas.

#### 3.5.1. Seletividade

A seletividade foi avaliada comparando-se os voltamogramas de amostras fortificadas e não fortificadas de dissulfoton. Foram empregadas soluções a  $50,0 \text{ mg L}^{-1}$  de dissulfoton, com um volume de injeção de  $100,0 \text{ L}$ . A cada análise foi renovado o eletrólito de suporte. Os ensaios foram realizados como mostra a tabela 06.

Tabela 06. Procedimento e seqüência das análises para avaliação da seletividade

| Ensaio         | Matrizes (100 L) | Padrão (100 L)         |
|----------------|------------------|------------------------|
| 1 <sup>o</sup> | Metanol          | DST em Metanol         |
| 2 <sup>o</sup> | Água Destilada   | DST em água destilada  |
| 3 <sup>o</sup> | Água do Ribeirão | DST em amostra natural |

DST: dissulfoton

#### 3.5.2. Limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ)

Para determinar o LD e o LQ do método empregando a voltametria de onda quadrada foram utilizadas as equações provenientes das curvas analíticas onde foram utilizadas as soluções padrão de dissulfoton em metanol, água destilada e água do ribeirão São Bartolomeu.

Neste tópico não serão abordados os LD e LQ do equipamento e sim do método, uma vez que no equipamento pode ser injetado qualquer matriz, não possuindo portanto uma matriz própria para análise, como é o caso da cromatografia gasosa.

### **3.5.3. Precisão**

#### **3.5.3.1. Precisão instrumental**

A precisão instrumental foi avaliada a partir da adição de uma alíquota de 100,0 L de uma solução de 50,0 mg L<sup>-1</sup> de dissulfoton em água destilada seguida de sete (7) leituras consecutivas desta mesma adição, obtendo-se uma concentração de 0,5 mg L<sup>-1</sup> no ato da leitura em uma amostra de água destilada.

#### **3.5.3.2. Repetitividade**

Para a avaliação da repetitividade foram preparadas e analisadas sete (7) soluções de 50,0 mg L<sup>-1</sup> de dissulfoton em água destilada, adicionando-se 100,0 L de cada solução com renovação do eletrólito de suporte a cada varredura, obtendo-se uma concentração de 0,5 mg L<sup>-1</sup> no ato da leitura em amostras de água destilada.

#### **3.5.3.3. Precisão intermediária**

Para a avaliação da precisão intermediária foram preparadas três soluções de dissulfoton com 100,0 mg L<sup>-1</sup>, 50,0 mg L<sup>-1</sup> e 25,0 mg L<sup>-1</sup> em água destilada sendo avaliadas em três dias diferentes (31/05/2005, 09/06/2005 e 24/06/2005), com adição de 100,0 L. As amostras foram preparadas com no máximo dois dias antes das análises.

#### **3.5.4. Exatidão**

Para avaliar este parâmetro foram analisadas as amostras de água destilada fortificadas com dissulfoton nas concentrações: 25,0 mg L<sup>-1</sup>, 50,0 mg L<sup>-1</sup> e 100,0 mg L<sup>-1</sup>. Realizou-se portanto a adição de 100 L na cela eletrolítica de cada amostra e submeteu a varredura por voltametria de onda quadrada.

Os resultados foram expressos através do valor médio referente as análises do dia 24 de junho de 2005, estes resultados foram comparados com suas respectivas concentrações no ato da injeção, 0,25 mg L<sup>-1</sup>, 0,50 mg L<sup>-1</sup> e 1,00 mg L<sup>-1</sup>. Estes ensaios foram realizados com três (3) repetições para cada concentração.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Análises cromatográficas

A identificação do dissulfoton nos extratos pela análise cromatográfica, foi feita pela comparação dos tempos de retenção ( $t_R$ ) de picos dos extratos com os de soluções padrão deste composto. A figura 08 representa um cromatograma de uma solução padrão de dissulfoton, em acetonitrila.

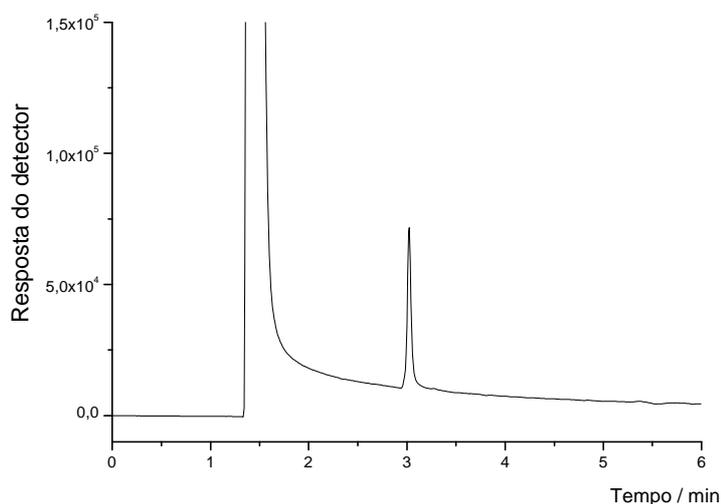


Figura 08. Cromatograma referente a injeção de 1 L de um padrão de dissulfoton a  $5,0 \text{ mg L}^{-1}$ .  $t_R = 3,05 \text{ min}$ : para o dissulfoton.

Como mostrado na figura 08, as condições de análise citadas no item 3.2.4, possibilitaram uma boa identificação e quantificação do dissulfoton em acetonitrila.

O dissulfoton apresenta, nas condições de análise, um pico de resposta bem definido com tempo de retenção de aproximadamente 3,05 min.

#### 4.1.1. Eficiência da técnica de ELL-PBT

Na tabela 07 são apresentados os resultados da eficiência da técnica de ELL-PBT, para três (3) diferentes concentrações de dissulfoton em amostras de água destilada. A eficiência foi avaliada em termos de porcentagem de extração.

Tabela 07. Resultados das porcentagens de extração, como teste preliminar

| Ensaio | Concentração (mg) | Porcentagem de extração (%) |
|--------|-------------------|-----------------------------|
| 1º     | 0,01              | 107,0                       |
| 2º     | 0,03              | 109,6                       |
| 3º     | 0,05              | 106,1                       |

De acordo com os resultados obtidos pelas análises por cromatografia gasosa, a técnica de extração líquido-líquido por partição a baixa temperatura apresentou excelente eficiência para extração do dissulfoton em amostras de água destilada. Resultados semelhantes foram obtidos por DARDENGO (2004), com 105% de extração para o dissulfoton em amostras de água destilada.

#### 4.1.2. Escolha da faixa de trabalho

Para escolha da faixa de trabalho foi avaliada, em caráter preliminar, a linearidade de resposta do detector em função da concentração. A figura 09 mostra o gráfico utilizado para escolha da faixa de trabalho.

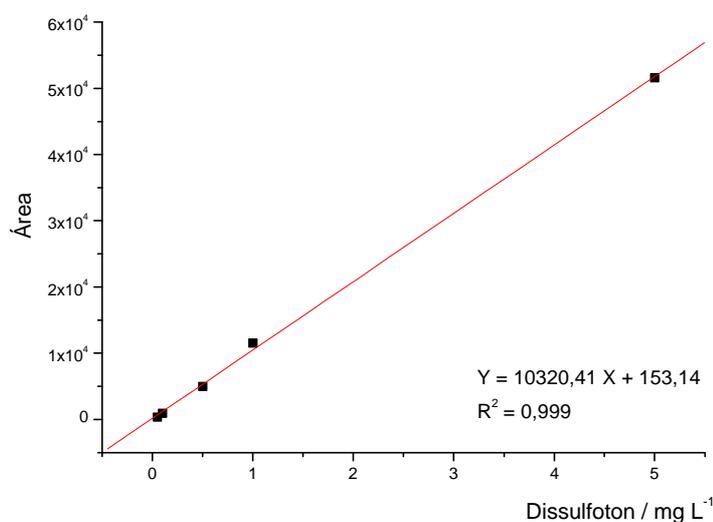


Figura 09. Curva analítica obtida para a escolha da faixa de trabalho nas análises do dissulfoton.

A curva, concentração do dissulfoton em mg L<sup>-1</sup> versus área do pico apresenta uma boa linearidade confirmada pelo valor de R<sup>2</sup> igual a 0,999. Para isso, foram acrescentadas duas novas concentrações, 0,01 mg L<sup>-1</sup> e 3,00 mg L<sup>-1</sup> com finalidade de se trabalhar com sete níveis de concentração. A concentração de 0,01 mg L<sup>-1</sup> foi escolhida para melhor visualização do limite de detecção e averiguação da resposta fornecida para esta concentração. Portanto a faixa de trabalho é composta por sete (7) concentrações de 0,01 mg L<sup>-1</sup> a 5,00 mg L<sup>-1</sup> de dissulfoton.

### 4.1.3. Curva analítica e linearidade

Linearidade é a habilidade de um método analítico em produzir resultados diretamente proporcionais à concentração do analito em padrões ou amostras, em uma dada faixa de concentração. No limite inferior da faixa de concentração, os valores limitantes são os valores dos limites de detecção e de quantificação. No limite superior, os fatores limitantes dependem da resposta do equipamento de medição (INMETRO, 2003).

Nas figuras 10, 11 e 12 são apresentadas respectivamente, as curvas analíticas de soluções padrões e dos extratos das amostras de água destilada e do ribeirão São Bartolomeu submetidas ao processo de extração.

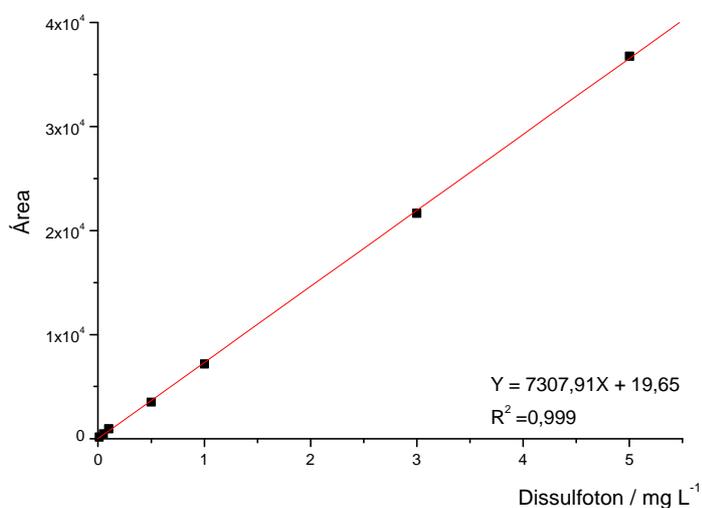


Figura 10. Curva analítica dos padrões de dissulfoton em acetonitrila e análise de regressão.

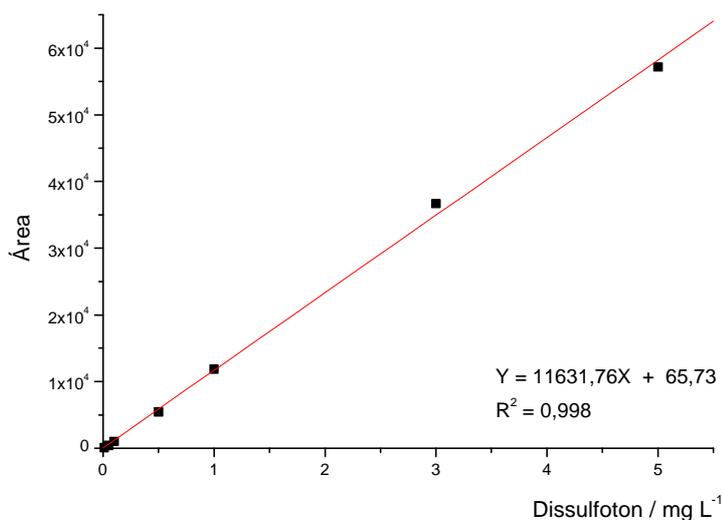


Figura 11. Curva analítica dos extratos das amostras de água destilada, submetidas a ELL-PBT e análise de regressão.

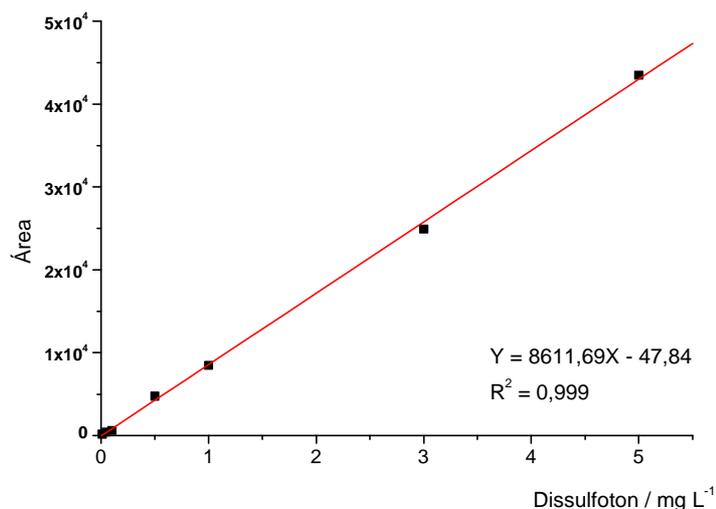


Figura 12. Curva analítica dos extratos das amostras de água do ribeirão São Bartolomeu submetidas a ELL-PBT e análise de regressão.

Como mostram as figuras 10, 11 e 12, estes ensaios apresentaram uma boa linearidade representada pelo valor de  $R^2$  que foram próximo de 1,00. O valor de  $R^2$  próximo de 1,00 é um indicativo de um bom ajuste entre a equação escolhida e os dados experimentais, valores de  $R^2$  abaixo de 0,95 indicam que a regressão não é eficiente (RIBANI et al., 2004). Os gráficos revelam um comportamento linear da resposta cromatográfica nas concentrações estudadas

para os padrões em acetonitrila e para os extratos em água destilada e água do ribeirão São Bartolomeu.

## 4.2. Validação para análises cromatográficas

Os estudos de validação foram conduzidos a fim de fornecer uma visão realista do comportamento das respostas pelo método aplicado. E, portanto é essencial que os estudos sejam representativos (RIBANI et al., 2004).

### 4.2.1. Seletividade

A seletividade é o primeiro passo no desenvolvimento e validação de um método instrumental de separação.

Um método que produz resposta para vários analitos, mas que pode se distinguir a resposta de um analito da de outro é chamado seletivo (RIBANI, 2004). A avaliação da seletividade foi realizada através da comparação dos cromatogramas mostrados nas figuras 13, 14, 15, e 16.

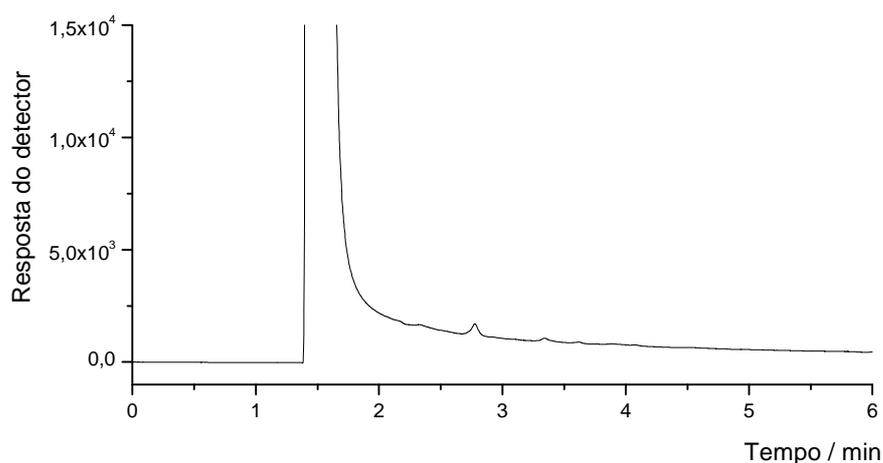


Figura 13. Cromatograma referente a injeção de 1,0 L de um extrato da amostra de água destilada não fortificada.

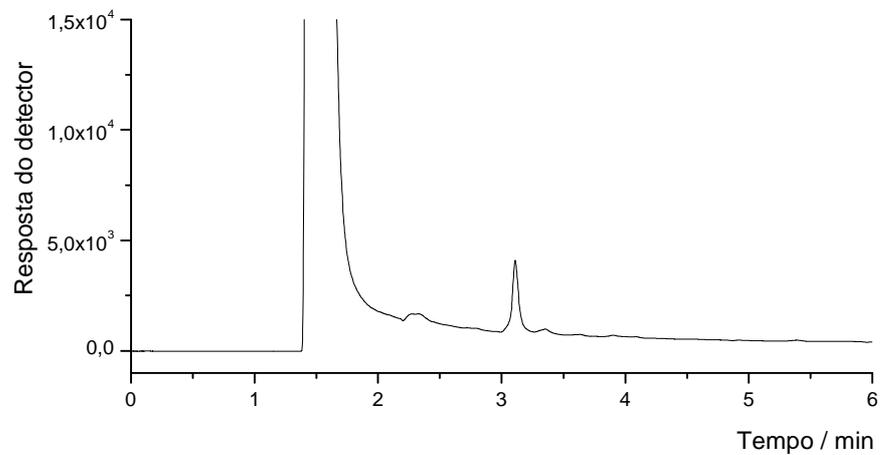


Figura 14. Cromatograma referente a injeção de 1,0 L de extrato da amostra de água destilada fortificada com  $2,50 \text{ mg L}^{-1}$  de dissulfoton.

Os resultados das análises dos extratos das amostras em água destilada fortificada e não fortificada, mostradas nas figuras 13 e 14, não apresentaram nenhum composto que alterasse a resposta do dissulfoton no intervalo da corrida cromatográfica.

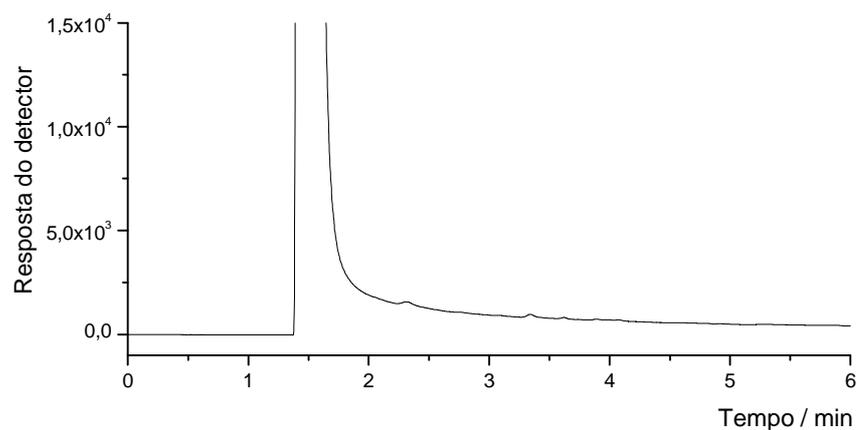


Figura 15. Cromatograma referente a injeção de 1,0 L de um extrato da amostra do ribeirão São Bartolomeu não fortificada.

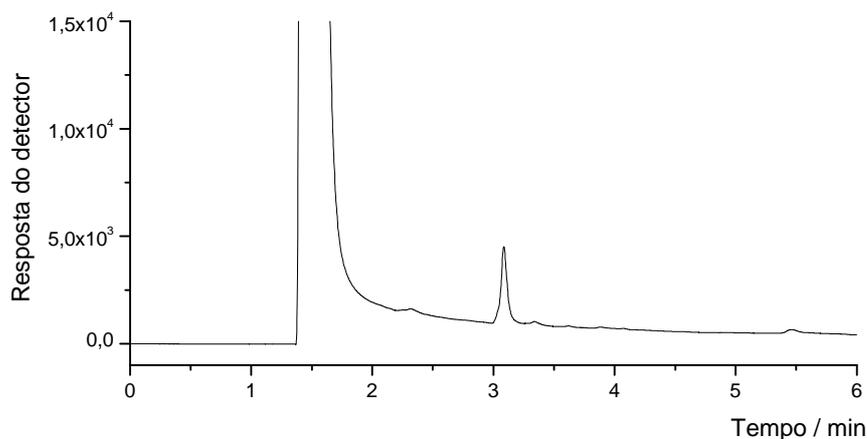


Figura 16. Cromatograma referente a injeção de 1,0 L de extrato da amostra de água do ribeirão São Bartolomeu fortificada com 2,50 mg L<sup>-1</sup> de dissulfoton.

Os resultados das análises dos extratos das amostras coletadas no ribeirão São Bartolomeu apresentados pelas figuras 15 e 16 não mostraram nenhum composto que respondesse no mesmo tempo de retenção do dissulfoton ou que alterasse a sua resposta, portanto, não foi observado a presença de interferentes.

Tal estudo foi realizado para avaliar os efeitos nas respostas cromatográficas que a matriz natural poderia sofrer após submetida a ELL-PBT.

#### 4.2.2. Limite de detecção e limite de quantificação

O limite de detecção (LD) representa a menor concentração da substância em exame, que pode ser detectada e diferenciada do ruído do sistema empregado. O limite de quantificação (LQ) é a menor concentração que pode ser determinada com um nível aceitável de precisão (INMETRO, 2003).

Os resultados obtidos do LD e LQ referentes a curva analítica dos padrões de dissulfoton e os extratos das amostras de água são mostrados na tabela 08.

Os LD e LQ do aparelho foram obtidos pelos resultados das análises cromatográficas realizadas com as soluções padrão de dissulfoton em acetonitrila tabela 08.

Os LD e LQ do método foram obtidos pelos resultados das análises cromatográficas, realizadas em águas fortificadas com dissulfoton após serem submetidas ao processo de ELL-PBT. Os LD e LQ do método foram obtidos das amostras de água destilada e água do ribeirão São Bartolomeu, tabela 08.

Tabela 08. Equação da reta, LD e LQ das análises realizadas com os padrões em acetonitrila, extratos em água destilada e extrato em água do ribeirão São Bartolomeu analisadas por cromatografia gasosa

| Ensaio                 | Equação da reta          | LD (mg L <sup>-1</sup> ) | LQ (mg L <sup>-1</sup> ) |
|------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Padrão em acetonitrila | $Y = 7307,91 x + 19,65$  | 0,009                    | 0,026                    |
| Água destilada         | $Y = 11631,76 x - 65,73$ | 0,019                    | 0,056                    |
| Água do ribeirão       | $Y = 8611,69 x - 47,84$  | 0,018                    | 0,055                    |

Os resultados dos LD e LQ das amostras de água destilada e água do ribeirão São Bartolomeu apresentaram valores próximo, revelando que as matrizes das águas utilizadas para as análises não apresentaram uma diferença significativa para estes limites.

Observou-se que o emprego do detector DCE melhorou os resultados dos LD e LQ para as análises do dissulfoton, quando comparados com os resultados realizados por FARIA 2003, que obteve os LD e LQ de 0,5 mg L<sup>-1</sup> e 2,5 mg L<sup>-1</sup> respectivamente, utilizando um detector FID.

É necessário que a amostra de água, submetida ao processo de ELL-PBT tenha uma concentração mínima de 0,048 mg L<sup>-1</sup> de dissulfoton para que possa ser detectado, tendo em vista que a amostra não é submetida a nenhuma etapa de pré-concentração e sim, uma diluição da ordem de 2,5 vezes, conforme ilustrado na figura 05.

### **4.2.3. Precisão**

A precisão representa a dispersão de resultados entre ensaios independentes, repetidos de uma mesma amostra, amostras semelhantes ou padrões, sob condições definidas (INMETRO, 2003). A precisão foi avaliada em termos de precisão instrumental, repetitividade e precisão intermediária.

Normalmente, métodos que quantificam compostos em macro quantidades requerem um CV de 1 a 2%. Em métodos de análise de traços ou impurezas são aceitos CV de até 20%, dependendo da complexidade da amostra (RIBANI et al., 2004).

Segundo a ANVISA; 2002, em termos de precisão não se admite valores superiores a 15%.

#### **4.2.3.1. Precisão instrumental**

A precisão instrumental foi avaliada pelas injeções repetitivas e seqüenciais de uma mesma amostra.

O valor médio encontrado para este ensaio foi de  $1,03 \pm 0,03 \text{ mg L}^{-1}$ , apresentando um coeficiente de variação de 2,9%.

Os resultados obtidos para este parâmetro variou de  $1,00 \text{ mg L}^{-1}$  a  $1,06 \text{ mg L}^{-1}$  em termos de concentração. Tal margem de erro pode ser explicada por problemas operacionais em manter o volume de injeção constante durante a análise.

O ideal é que o CV, para precisão instrumental seja 1% (RIBANI et al., 2004).

#### 4.2.3.2. Repetitividade

Representa o grau de concordância entre os resultados de medições sucessivas, efetuadas sob as mesmas condições como: mesmo procedimento, mesmo analista, mesmo instrumento, mesmo local e repetições em curto intervalo de tempo (INMETRO, 2003).

A precisão do método de extração foi avaliada pelo cálculo do coeficiente de variação, de sete (7) repetições do procedimento analítico (extração seguida da análise cromatográfica) em água destilada, fortificada com dissulfoton.

O valor médio encontrado para estes ensaios foi de  $1,04 \pm 0,03 \text{ mg L}^{-1}$ , apresentando um coeficiente de variação de 2,8%.

Os resultados obtidos nas amostras de água variaram de  $1,01 \text{ mg L}^{-1}$  e  $1,07 \text{ mg L}^{-1}$  em termos de concentração, apresentando, portanto uma pequena variação em torno da média obtida.

#### 4.2.3.3. Precisão intermediária

A precisão intermediária indica o efeito das variações dentro do laboratório devido a eventos como: diferentes dias, diferentes analistas, diferentes equipamentos ou combinações destes eventos. O objetivo deste estudo é verificar que no mesmo laboratório o método fornecerá os mesmos resultados (RIBANI et al., 2004). Esta medida de precisão é reconhecida como a mais representativa da variabilidade dos resultados em um laboratório (INMETRO, 2003). Os resultados desse estudo são apresentados na tabela 09.

Tabela 09. Precisão intermediária do método de ELL-PBT para amostras de água fortificadas com dissulfoton em três níveis de concentração

| Concentração<br>( $\text{mg L}^{-1}$ ) | Concentração ( $\text{mg L}^{-1}$ ) dos extratos<br>em água destilada | CV(%) |
|--|---|-------|
| 1,00                                   | $1,04 \pm 0,02$   | 1,9   |
| 3,00                                   | $3,1 \pm 0,1$   | 3,2   |
| 5,00                                   | $5,3 \pm 0,1$   | 2,0   |

Os resultados obtidos para os parâmetros de precisão (precisão instrumental, repetitividade e precisão intermediária) apresentaram pequena variação em torno de seus respectivos valores de referência, sendo considerados como ótimos resultados para análise do dissulfoton em amostras de água. Em termo de precisão os valores encontrados estão abaixo de 15%, valor máximo admitido pela ANVISA, 2002.

#### 4.2.4. Exatidão

Exatidão do método é definido como sendo a concordância entre o resultado de um ensaio e o valor de referência aceito como verdadeiro (INMETRO, 2003). Entre os processos utilizados para avaliar a exatidão, o ensaio de recuperação, foi o escolhido para avaliar este parâmetro.

##### 4.2.4.1. Ensaio de recuperação

A recuperação é definida como a proporção da quantidade da substância a ser analisada, presente ou adicionada na porção analítica do material teste, que é extraída e passível de ser quantificada (RIBANI et al., 2004).

Os dados obtidos apresentam a porcentagem de extração para amostras de água destilada fortificadas com 0,01 mg, 0,03 mg e 0,05 mg de dissulfoton.

Tabela 10. Porcentagem de extração do dissulfoton em amostras de água

| Concentração (mg) | Extração $\bar{x} \pm s$ (%) |
|-------------------|------------------------------|
| 0,01              | 102 $\pm$ 3                  |
| 0,03              | 103 $\pm$ 3                  |
| 0,05              | 107 $\pm$ 2                  |

Os dados apresentados na avaliação da recuperação do dissulfoton empregando o método de extração líquido-líquido por partição a baixa temperatura, seguida de análise cromatográfica revelaram um intervalo de recuperação de 99% a 109% para diferentes concentrações do dissulfoton em

amostras de água destilada, demonstrando, portanto que o método de extração empregado possui uma boa porcentagem de recuperação e com valores dos desvios relativamente baixos. Segundo RIBANI et al., 2004, os intervalos aceitáveis de recuperação para análise de resíduos geralmente estão entre 70% e 120%, dependendo da complexidade analítica e da amostra.

Os resultados possuem uma concordância com os resultados apresentados por DARDENGO (2004), que obteve  $105\% \pm 5$  de extração para o dissulfoton utilizando a técnica de ELL-PBT em amostras de água destilada.

#### **4.3. Análises voltamétricas**

Um planejamento experimental foi realizado para estabelecer a escolha do melhor eletrólito de suporte bem como na avaliação da amplitude e da frequência adequadas para proceder a varredura pela técnica de voltametria de onda quadrada.

##### **3.3.1. Planejamento experimental**

Um planejamento experimental é uma série de testes pré-estabelecidos em que determinadas mudanças são feitas nas variáveis de entrada de um processo ou sistema, de tal modo que se possa observar e identificar os fatores que modificam a resposta (MONTGOMERY, 1991).

De fato pode se visualizar a experimentação como parte de um processo científico e como uma das maneiras de descrever sobre como os sistemas e processos se comportam. Portanto, foi realizado um planejamento experimental para escolha do eletrólito de suporte.

##### **4.3.2. Planejamento experimental para seleção do eletrólito de suporte**

Um planejamento foi realizado tendo como principal objetivo, avaliar a influência dos fatores: pH, concentração do tampão e força iônica do meio na resposta voltamétrica com a aplicação da varredura com onda quadrada.

O eletrólito é uma substância que quando dissolvida em um dado solvente produz uma solução com uma condutividade elétrica maior que a condutividade do solvente. Em princípio, devem apresentar as seguintes características: alta solubilidade, alto grau de ionização e ser estável química e eletroquimicamente no solvente empregado. Para apresentar estabilidade química, o eletrólito de suporte não deve reagir com outras espécies presentes na solução enquanto que estabilidade eletroquímica implica em admitir que o eletrólito não deve ser oxidado nem reduzido eletroquimicamente em toda a faixa de potencial de interesse (AGOSTINHO, 2004).

Para manter constante o pH do sistema no ato da leitura e a realização de análises em amostras naturais se faz necessário o emprego de um sistema tamponante como eletrólito de suporte (AGOSTINHO, 2004).

Em função disso foi estabelecido a utilização do tampão ácido acético/acetato de sódio para fixar o valor do pH em conjunto com o cloreto de cálcio, responsável pela força iônica do sistema.

Tabela 11. Resposta da corrente voltamétrica para escolha do eletrólito de suporte

| Ensaio | Fatores |                               |  | Corrente<br>( $\bar{x} \pm s$ ) $10^{-8}$ A* |
|--------|---------|-------------------------------|--|--|
|        | pH      | Tampão (mol L <sup>-1</sup> ) | CaCl <sub>2</sub> (mol L <sup>-1</sup> ) |  |
| 01     | 4,0     | 0,10                          | 0,01                                     | 6,41 ± 0,54                                  |
| 02     | 4,0     | 0,10                          | 0,10                                     | 6,24 ± 0,31                                  |
| 03     | 4,0     | 0,01                          | 0,01                                     | 6,14 ± 0,12                                  |
| 04     | 4,0     | 0,01                          | 0,10                                     | 6,12 ± 0,09                                  |
| 05     | 5,0     | 0,10                          | 0,01                                     | 6,53 ± 0,23                                  |
| 06     | 5,0     | 0,10                          | 0,10                                     | 5,76 ± 0,01                                  |
| 07     | 5,0     | 0,01                          | 0,01                                     | 6,16 ± 0,14                                  |
| 08     | 5,0     | 0,01                          | 0,10                                     | 5,92 ± 0,23                                  |
| 09     | 6,0     | 0,10                          | 0,01                                     | 5,95 ± 0,02                                  |
| 10     | 6,0     | 0,10                          | 0,10                                     | 5,91 ± 0,27                                  |
| 11     | 6,0     | 0,01                          | 0,01                                     | 6,63 ± 0,85                                  |
| 12     | 6,0     | 0,01                          | 0,10                                     | 6,24 ± 0,15                                  |

\*A - Ampère

Os resultados na tabela 11 mostram que os ensaios 01, 05 e 11 apresentaram maiores valores para a corrente na determinação do eletrólito de suporte. Estes resultados não apresentam uma diferença significativa em termos de corrente, porém o ensaio 11 ( $\text{CaCl}_2$   $0,01 \text{ mol L}^{-1}$  em tampão pH 6,0  $0,01 \text{ mol L}^{-1}$ ) apresenta uma menor incidência de ruídos nos gráficos após a varredura por voltametria de onda quadrada, sendo este eletrólito de suporte utilizado para proceder as análises do dissulfoton.

#### **4.3.3. Planejamento fatorial para seleção da amplitude e frequência**

Um planejamento fatorial foi realizado tendo como principal objetivo a verificação da variação simultânea dos níveis da amplitude e frequência sobre a resposta por voltametria de onda quadrada na análise do dissulfoton.

Para melhor visualização do comportamento da amplitude e frequência, os estudos foram realizados utilizando dois níveis de concentração para o dissulfoton,  $1,50 \text{ mg L}^{-1}$  e  $0,25 \text{ mg L}^{-1}$ .

Desses estudos foram selecionados os valores máximos e mínimos da amplitude e frequência necessários para serem submetidos à avaliação por superfície de resposta.

#### 4.3.3.1. Amplitude

A figura 17 apresenta a resposta voltamétrica com injeções de  $1,50 \text{ mg L}^{-1}$  de dissulfoton de amostras de água destilada para diferentes níveis de amplitude em uma frequência fixa de 100 Hz.

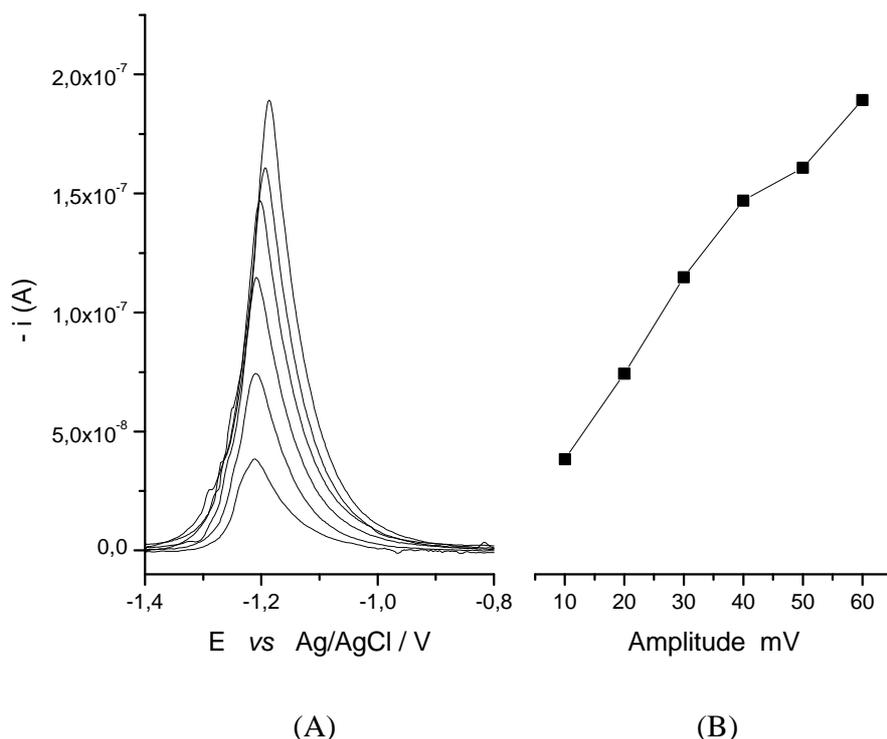


Figura 17. (A) Voltamograma referente à resposta obtida pela variação da amplitude. (B) Gráfico correspondente à resposta voltamétrica em função da variação da amplitude. Estudos realizados com dissulfoton a  $1,50 \text{ mg L}^{-1}$ .

De acordo com a figura 17, o aumento da amplitude, mostrou ter grande influência sobre o aumento da corrente para uma mesma concentração de dissulfoton, no entanto, para valores acima de 40 mV há um deslocamento no potencial de pico para valores mais positivos. Para valores de amplitude próximos a 10 mV observa-se uma ligeira deformação no pico.

Este estudo permitiu visualizar o comportamento da corrente em relação a variação da amplitude em uma concentração de  $1,50 \text{ mg L}^{-1}$  de dissulfoton. O nível de  $60 \text{ mV}$  apresentou além do deslocamento uma maior formação de ruído, sendo portanto descartado.

A figura 18 apresenta o voltamograma referente à resposta voltamétrica com injeções de  $0,25 \text{ mg L}^{-1}$  de dissulfoton de amostras de água destilada para diferentes níveis de amplitude em uma frequência fixa de  $100 \text{ Hz}$ .

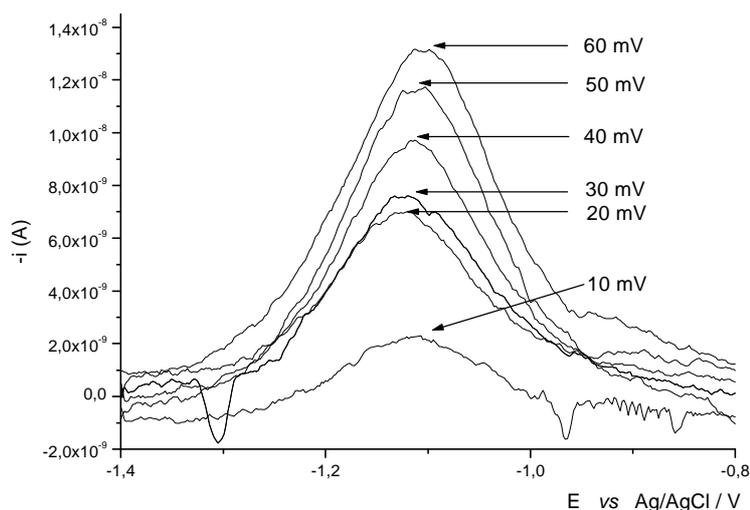


Figura 18. Voltamograma referente a resposta obtida em diferentes níveis (10, 20, 30, 40, 50 e  $60 \text{ mV}$ ) de amplitude. Estudos realizados com dissulfoton a  $0,25 \text{ mg L}^{-1}$ .

A figura 18 mostra o voltamograma relativo à variação da amplitude realizada com uma concentração de  $0,25 \text{ mg L}^{-1}$  de dissulfoton. É observado que o valor  $10 \text{ mV}$  apresentou uma baixa definição em relação aos demais valores de amplitude, sendo, este valor descartado.

Portanto, os níveis máximo e mínimo de amplitude selecionados para o estudo em superfície de resposta foram de  $20 \text{ mV}$  e  $50 \text{ mV}$ .

### 4.3.3.2. Freqüência

A figura 19 apresenta a resposta voltamétrica com injeções de  $1,50 \text{ mg L}^{-1}$  de dissulfoton de amostras de água destilada para diferentes níveis de freqüência em uma amplitude fixa de 20 mV.

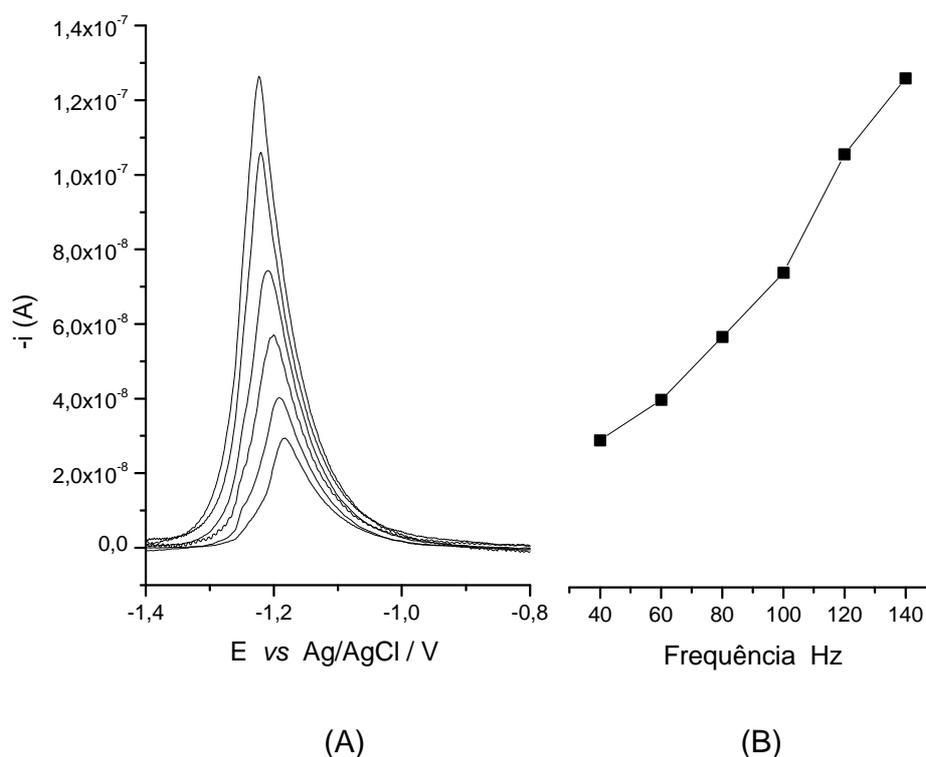


Figura 19. (A) Voltamograma da resposta obtida pela variação da freqüência. (B) Resposta voltamétrica em função da variação da freqüência. Análise correspondente a varredura de  $1,50 \text{ mg L}^{-1}$  de dissulfoton.

A figura 19 (A) e (B) revela que a variação da freqüência tem influência sobre a corrente para uma mesma concentração de dissulfoton,  $1,50 \text{ mg L}^{-1}$ . Entretanto com o aumento da freqüência nota-se um deslocamento no potencial de pico para valores mais negativos. Não sendo observadas deformações nos picos pela formação de ruído como nos ensaios realizados com a variação da amplitude.

A figura 20 apresenta o voltamograma referente à resposta voltamétrica com injeções de  $0,25 \text{ mg L}^{-1}$  de dissulfoton de amostras de água destilada para diferentes níveis de frequência em uma amplitude fixa de 20 mV.

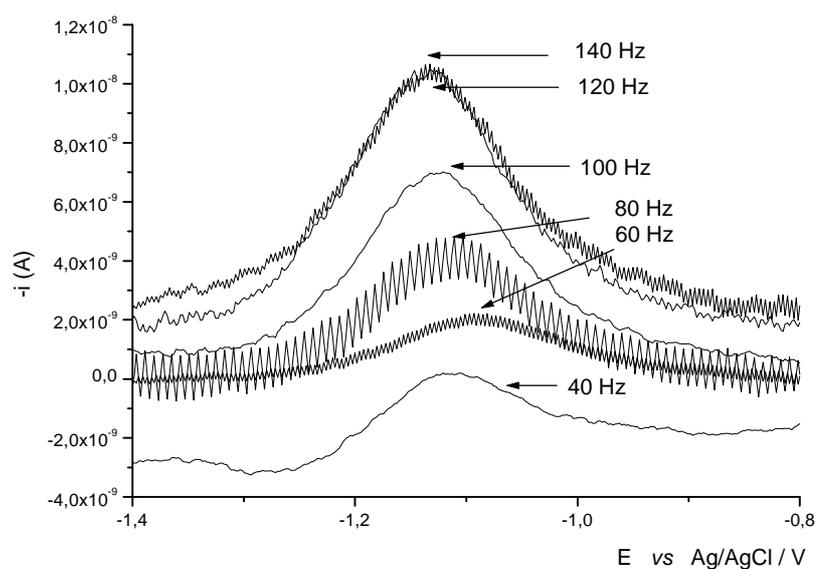


Figura 20. Voltamograma referente a resposta obtida em diferentes níveis (40, 60, 80, 100, 120 e 140 Hz) de frequência. Análise correspondente à varredura de  $0,25 \text{ mg L}^{-1}$  de dissulfoton.

O nível correspondente a 40 Hz foi descartado devido ao baixo valor da corrente e pela baixa definição em relação aos demais picos.

Os níveis de frequência selecionados para o estudo em superfície de resposta foram de 60 Hz e 120 Hz.

#### 4.3.4. Metodologia para superfície de resposta

Para a elaboração do planejamento CCD (Central Composite Design), os níveis -1 e +1 (variáveis codificadas) para amplitude e frequência são mostrados na tabela 14. Os valores da amplitude e frequência correspondentes às variáveis codificadas foram calculados a partir da equação:

$$Z = \frac{x_i - \bar{x}}{\frac{\Delta x}{2}}$$

Onde  $Z$  é o valor codificado para o planejamento,  $x_i$  o valor para o nível de amplitude e frequência em estudo,  $\bar{x}$  o valor médio entre os níveis -1 e +1, que é o próprio valor para o nível 0 e  $\Delta x$  é o valor da diferença entre o nível -1 e +1.

Tabela 12. Fatores e níveis escolhidos para amplitude e frequência

| Fatores            | Níveis |     |
|--------------------|--------|-----|
|                    | -1     | +1  |
| Amplitude-(A) mV   | 20     | 60  |
| Frequência-(Fr) Hz | 50     | 120 |

A tabela 13 mostra o planejamento fatorial em variáveis codificadas e seus valores correspondentes a amplitude, frequência e a resposta para cada ensaio.

Tabela 13. Planejamento fatorial e respectivas respostas para voltametria de onda quadrada

| Ensaio | Fatores |       | Fatores |         | Corrente<br>( $\bar{x}$ ) $10^{-8}$ A* |
|--------|---------|-------|---------|---------|--|
|        | A       | Fr    | A (mV)  | Fr (Hz) |  |
| 01     | -1      | -1    | 20      | 60      | 3,473                                  |
| 02     | 1       | -1    | 50      | 60      | 7,742                                  |
| 03     | -1      | 1     | 20      | 120     | 7,263                                  |
| 04     | 1       | 1     | 50      | 120     | 15,556                                 |
| 05     | -1,41   | 0     | 14      | 90      | 3,855                                  |
| 06     | 1,41    | 0     | 56      | 90      | 12,750                                 |
| 07     | 0       | -1,41 | 35      | 48      | 4,974                                  |
| 08     | 0       | 1,41  | 35      | 132     | 14,787                                 |
| 09     | 0       | 0     | 35      | 90      | 8,406                                  |
| 10     | 0       | 0     | 35      | 90      | 8,686                                  |
| 11     | 0       | 0     | 35      | 90      | 7,964                                  |
| 12     | 0       | 0     | 35      | 90      | 8,498                                  |

A\* Ampére

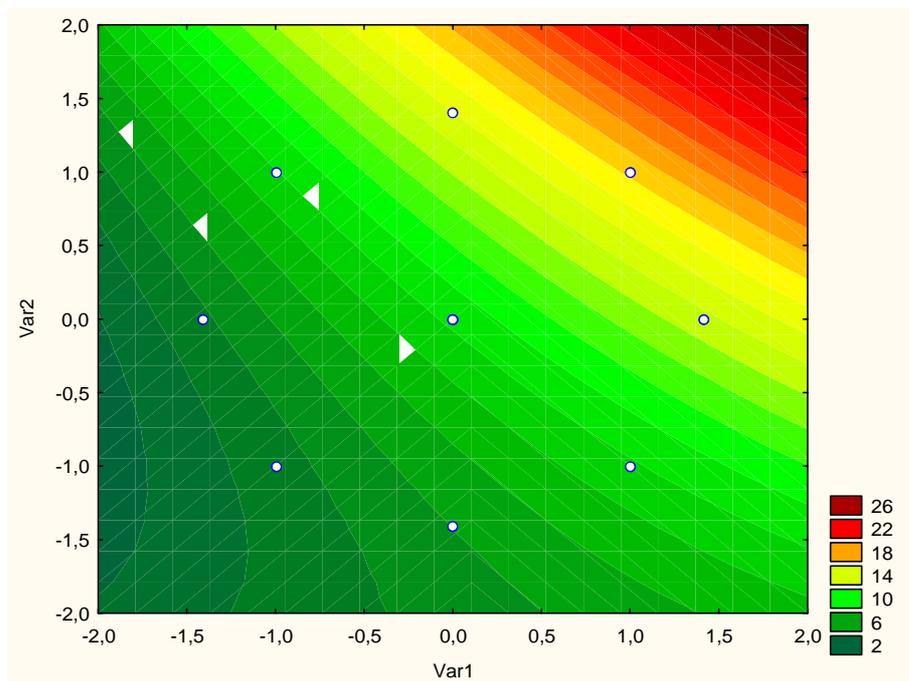


Figura 21. Superfície de resposta onde a amplitude é representada pela (Var 2) e a frequência pela (Var 1) em termos de variáveis codificadas. A legenda mostra os valores da corrente  $\times 10^{-8}$  A\*, obtidos no ensaio.

A superfície de resposta gerada pela equação 01, apresentada na figura 21, revela que a interseção dos níveis +1,0 (Var 1) e +1,0 (Var 2) referentes aos valores de amplitude 50 mV e frequência 120 Hz, apresentou um melhor valor da corrente voltamétrica ( $15,556 \times 10^{-8}$  A), para a determinação do dissulfoton em água, sendo estes valores (50 mV e 120 Hz) utilizados para proceder as análises.

$$y = \underset{\pm 0,26}{8,340} + \underset{\pm 0,18}{3,14}x_1 + \underset{\pm 0,18}{3,17}x_2 + \underset{\pm 0,26}{0,56}x_2^2 + \underset{\pm 0,25}{1,01}x_1x_2$$

Equação 01: Modelo polinomial quadrático.

A relação acima apresenta o modelo polinomial quadrático com um termo cruzado, referente a análise por superfície de resposta indicando os efeitos das variáveis estudadas.

Este modelo mostra que a amplitude  $x_1$  e a frequência  $x_2$  apresentam efeitos significativos e semelhantes para a resposta da corrente e o termo cruzado  $x_1x_2$ , mostra que há interação entre a amplitude e frequência na resposta da corrente obtida nos ensaios realizados.

#### **4.3.5. Linearidade e escolha da faixa de trabalho**

A linearidade corresponde a capacidade do método de fornecer resultados diretamente proporcionais a concentração da substância em exame dentro de uma faixa de aplicação (RIBANI, 2004). Para tanto é mostrado na figura 23 (A) e (B), o comportamento da resposta voltamétrica em função da variação da concentração de dissulfoton.

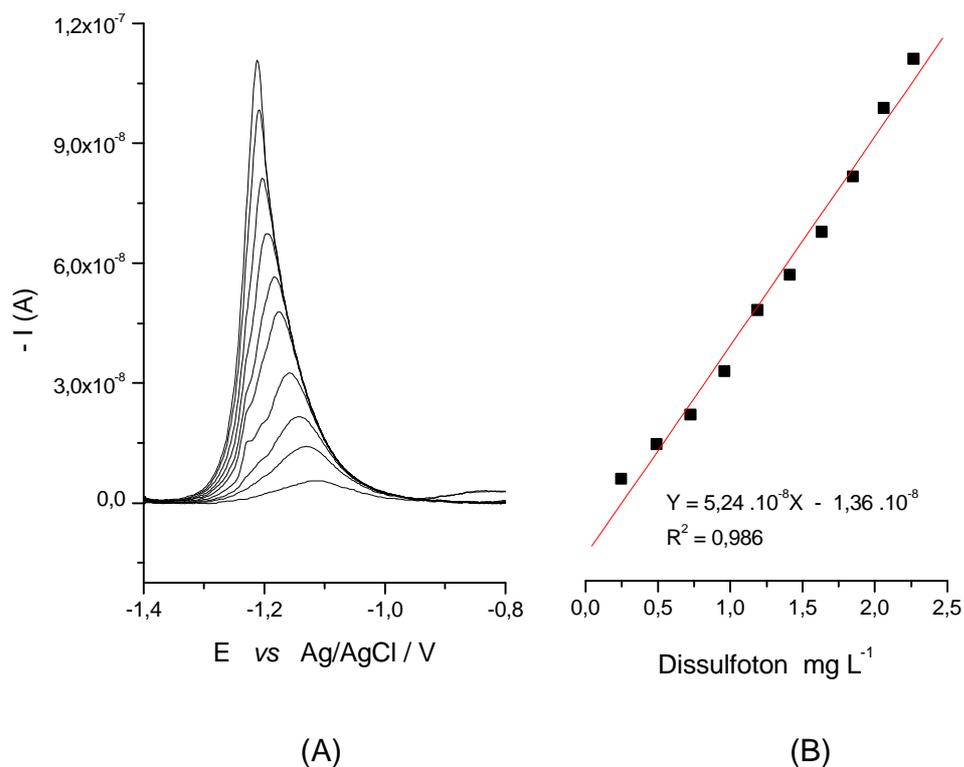


Figura 22. (A) Voltamograma referente ao estudo do comportamento da corrente para avaliação da faixa de trabalho. (B) Comportamento da resposta voltamétrica em função da variação da concentração do dissulfoton.

A figura 22 mostra que as correntes de pico em função da concentração apresentaram uma boa linearidade no intervalo de concentração de  $0,25 \text{ mg L}^{-1}$  e  $2,26 \text{ mg L}^{-1}$ , que é demonstrado pelo valor de  $R^2$  igual a  $0,987$ . Pela metodologia ter apresentado uma boa resposta para a concentração de  $0,25 \text{ mg L}^{-1}$ , decidiu-se acrescentar uma concentração mais baixa, ou seja,  $0,125 \text{ mg L}^{-1}$ . Portanto a faixa de trabalho é compreendida entre o intervalo de  $0,125 \text{ mg L}^{-1}$  e  $1,412 \text{ mg L}^{-1}$ , distribuídos em sete pontos neste intervalo.

#### 4.3.6. Curva analítica

Os voltamogramas e suas respectivas curvas analíticas que demonstram o comportamento da corrente após as análises do dissulfoton nas matrizes: metanol, água destilada e água do ribeirão São Bartolomeu são apresentados nas figuras 23, 24, 25, 26, 27 e 28.

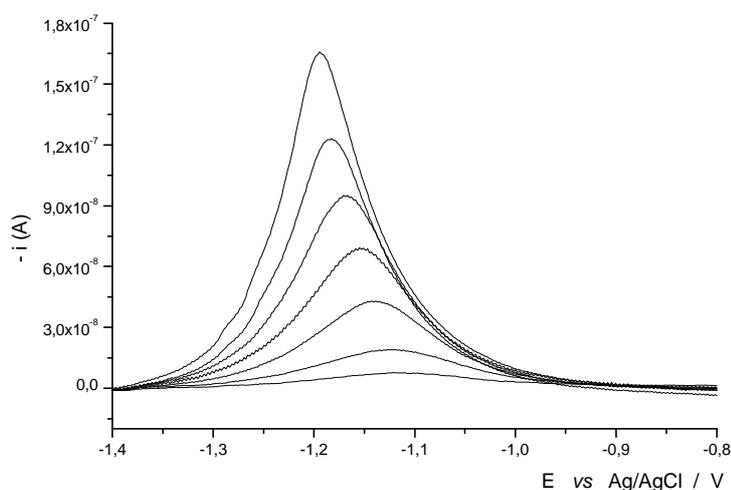


Figura 23. Voltamograma das análises realizadas em metanol no intervalo de  $0,125 \text{ mg L}^{-1}$  a  $1,412 \text{ mg L}^{-1}$  de dissulfoton.

De acordo com o voltamograma da figura 23, o dissulfoton apresenta uma resposta em um potencial de pico que varia de  $-1,1 \text{ V}$  a  $-1,2 \text{ V}$ .

É observado também um deslocamento do pico de resposta para valores mais negativos em decorrência do aumento da concentração do dissulfoton.

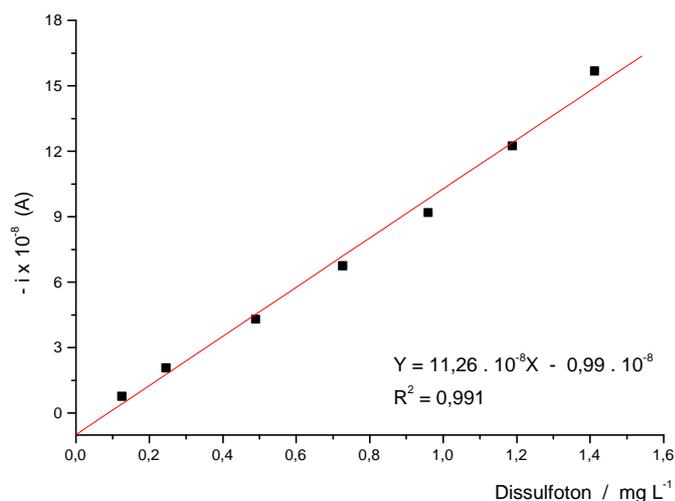


Figura 24. Curva analítica do dissulfoton em metanol.

As figuras 23 e 24, apresentam o comportamento voltamétrico e a linearidade de resposta das soluções padrão em metanol no intervalo de 0,125 mg L<sup>-1</sup> a 1,412 mg L<sup>-1</sup> de dissulfoton. Pode-se observar pelas figuras 23 e 24 que o metanol não interfere na identificação e quantificação do dissulfoton.

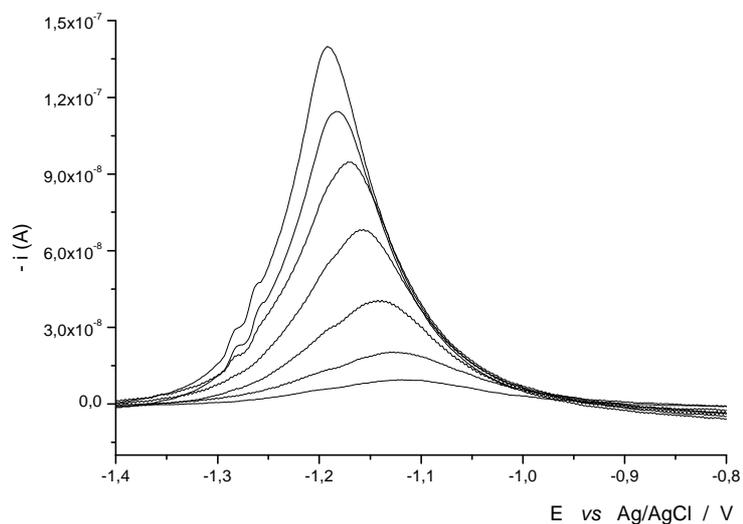


Figura 25. Voltamograma realizado com água destilada fortificada com dissulfoton na faixa de concentração de 0,125 mg L<sup>-1</sup> a 1,412 mg L<sup>-1</sup>.

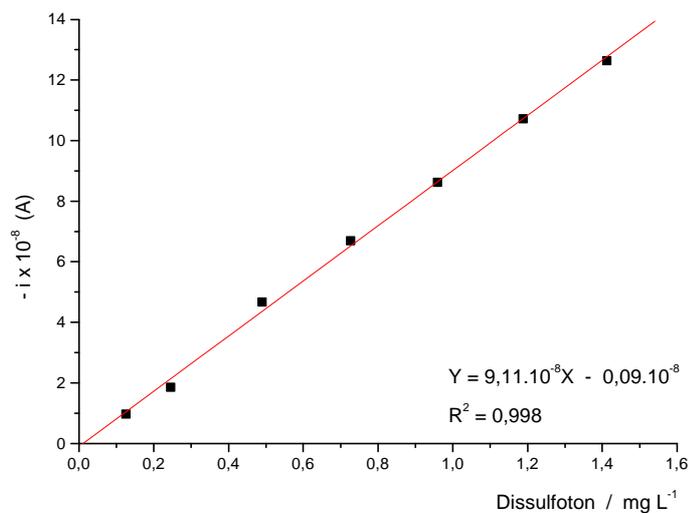


Figura 26. Curva analítica para análise do dissulfoton em água destilada.

As figuras 25 e 26 apresentam o comportamento voltamétrico e a linearidade de resposta das análises realizadas com água destilada avaliadas no intervalo de 0,125 mg L<sup>-1</sup> a 1,412 mg L<sup>-1</sup> de dissulfoton. Conforme apresentado nas figuras 25 e 26 a água destilada não interfere na identificação e quantificação do dissulfoton.

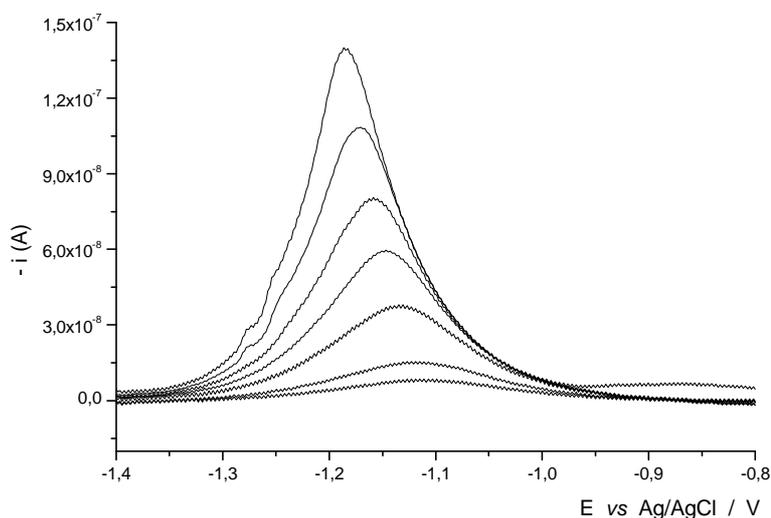


Figura 27. Voltamograma realizado com água do ribeirão São Bartolomeu fortificada com dissulfoton na faixa de concentração de 0,125 mg L<sup>-1</sup> a 1,412 mg L<sup>-1</sup>.

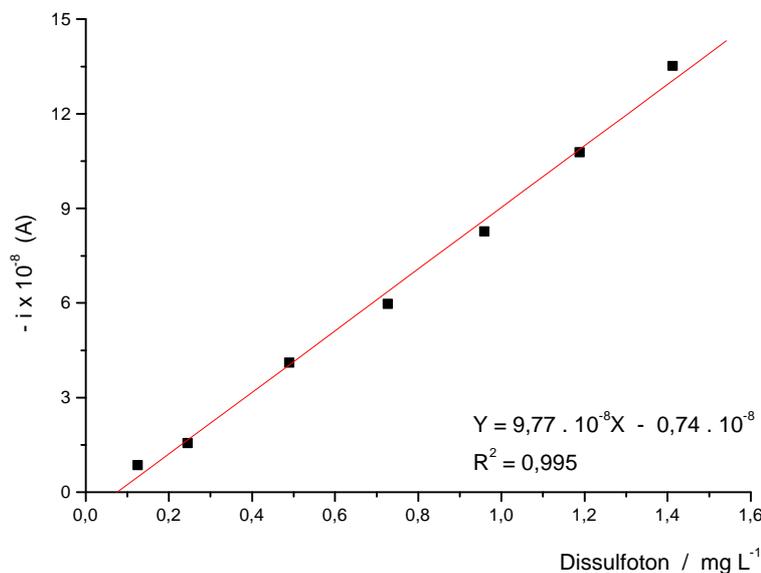


Figura 28. Curva analítica para a análise do dissulfoton em água do ribeirão São Bartolomeu.

As figuras 27 e 28 apresentam o comportamento voltamétrico e a linearidade da resposta das análises do dissulfoton em amostras de água coletada no ribeirão São Bartolomeu avaliadas na faixa de concentração de 0,125 mg L<sup>-1</sup> a 1,412 mg L<sup>-1</sup>. Como mostrado nas figuras 27 e 28, a água do ribeirão São Bartolomeu não apresentou problemas na identificação e quantificação do dissulfoton nesta faixa de trabalho.

As respostas voltamétricas obtidas para as amostras de água e metanol, apresentaram um deslocamento do pico de resposta para valores mais negativos em decorrência do aumento da concentração do dissulfoton no intervalo de -1,1V a -1,2V figuras 23, 25 e 27.

As análises apresentaram uma excelente linearidade de resposta demonstrada pelo valor de R<sup>2</sup>, que foi próximo de 1,00 para todos os ensaios realizados com dissulfoton nas diferentes matrizes estudadas, figuras 24, 26 e 28.

#### 4.4. Validação para análises voltamétricas

Os parâmetros aqui apresentados foram estabelecidos de forma a serem comparados com os resultados obtidos para o dissulfoton em amostras de água analisadas por cromatografia gasosa.

##### 4.4.1. Seletividade

Os resultados referentes aos estudos da seletividade, serão apresentados através dos voltamogramas das diferentes matrizes (metanol, água destilada e água do ribeirão são Bartolomeu) não fortificadas e fortificadas com dissulfoton.

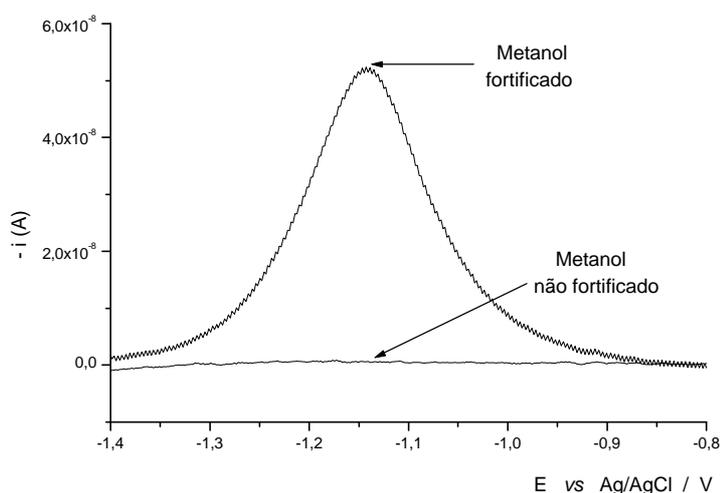


Figura 29. Voltamograma da análise realizada com metanol fortificado com 50,0 mg L<sup>-1</sup> de dissulfoton e metanol não fortificado.

A matriz metanol fortificada apresentou a resposta correspondente ao pico voltamétrico para o dissulfoton, já a matriz não fortificada não apresentou nenhum sinal de interferência, no potencial de resposta para o dissulfoton. Conforme mostrado na figura 29.

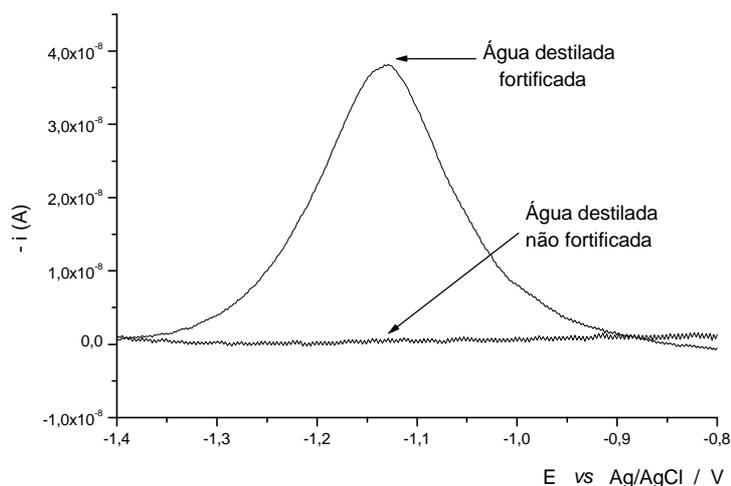


Figura 30. Voltamograma da análise realizada com água destilada fortificada com  $50,0 \text{ mg L}^{-1}$  de dissulfoton e água destilada não fortificada.

A matriz água destilada fortificada apresentou a resposta correspondente ao sinal voltamétrico para o dissulfoton, já a matriz não fortificada não apresentou sinal de interferência no potencial de resposta para o dissulfoton. Conforme mostrado na figura 30.

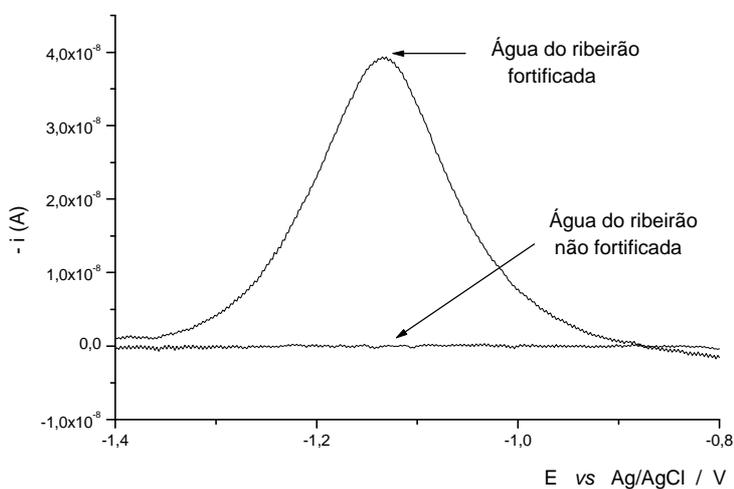


Figura 31. Voltamograma da análise realizada com água do ribeirão São Bartolomeu fortificada com  $50,0 \text{ mg L}^{-1}$  de dissulfoton e água do ribeirão São Bartolomeu não fortificada.

A matriz água do ribeirão São Bartolomeu fortificada apresentou a resposta correspondente ao sinal voltamétrico para o dissulfoton, já a matriz

não fortificada não apresentou sinal de interferência, no potencial de resposta para o dissulfoton, como mostrado na figura 31.

#### 4.4.2. Limite de detecção e limite de quantificação

Os resultados apresentados para análise dos limites de detecção e quantificação estão relacionados com o tipo de matriz analisada, metanol, água destilada e água proveniente do ribeirão São Bartolomeu.

A tabela 14 apresenta as equações e os limites de detecção e quantificação para as diferentes matrizes fortificadas com dissulfoton.

Tabela 14. Equação da reta, LD e LQ das análises realizadas com dissulfoton em metanol, amostras de água destilada e água do ribeirão São Bartolomeu por voltametria

| Ensaio           | Equação da reta           | LD (mg L <sup>-1</sup> ) | LQ (mg L <sup>-1</sup> ) |
|------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Metanol          | $Y = 11,26932X - 0,99205$ | 0,290                    | 0,880                    |
| Água destilada   | $Y = 9,11137X - 0,09707$  | 0,035                    | 0,106                    |
| Água do ribeirão | $Y = 9,77212X - 0,7455$   | 0,251                    | 0,762                    |

O LD e LQ apresentados na tabela 14 para as soluções de dissulfoton nas diferentes matrizes, não representaram uma real estimativa destes limites. Conforme observado nos voltamogramas referentes ao item 4.3.6 foram identificadas concentrações mais baixas como mostrado nas curvas analíticas, referentes a cada matriz. Para tanto o LD e LQ será expresso através do método visual, que consiste em distinguir entre o ruído e o sinal analítico pela visualização da menor concentração estudada (detectável), o mesmo critério pode ser adotado para o limite de quantificação (RIBANI, 2004). Desta forma estes limites se encontram próximos a 0,125 mg L<sup>-1</sup> (LD) e 0,378 mg L<sup>-1</sup> (LQ). Sendo 0,125 mg L<sup>-1</sup> a menor concentração da faixa de trabalho.

Na tabela 15 são apresentados os limites de detecção de alguns pesticidas submetidos a análise por voltametria de onda quadrada em amostras aquosas. Observa-se que, de maneira geral, o limite de detecção mais baixo esperado para a técnica de voltametria de onda quadrada, esta na ordem de  $1 \times 10^{-8}$  mol L.

Tabela 15. Limite de detecção de alguns pesticidas analisados por voltametria de onda quadrada, em amostras aquosas

| <b>Analito</b> | <b>LD mol L<sup>-1</sup></b> | <b>Referência</b>                           |
|----------------|------------------------------|---|
| Geral          | $\sim 10^{-8}$               | Barek et al, 2001                           |
| Ametrina       | $4,4 \times 10^{-10}$        | Cabral et al, 2003                          |
| Diclorvos      | $1,1 \times 10^{-8}$         | Oliveira, R. T. S. & Machado, S. A. S, 2004 |
| Glifosato      | $7,1 \times 10^{-8}$         | Teófilo, R. F, 2003                         |
| Dissulfoton    | $1,3 \times 10^{-7}$         | Este trabalho                               |

#### 4.4.3. Precisão

##### 4.4.3.1. Precisão instrumental

Após sete (7) varreduras sucessivas de uma única amostra, contendo  $0,50 \text{ mg L}^{-1}$  de dissulfoton em água destilada, foram obtidos os seguintes resultados:  $0,43 \pm 0,03 \text{ mg L}^{-1}$  (valor médio  $\pm$  desvio padrão) e um coeficiente de variação de 6,9 %.

Os resultados da precisão instrumental apresentados revelaram uma pequena variação em torno do valor médio expresso pelo coeficiente de variação, estando a resposta compreendida em um intervalo de  $0,40 \text{ mg L}^{-1}$  e  $0,46 \text{ mg L}^{-1}$ .

##### 4.4.3.2. Repetitividade

Após os ensaios de repetitividade com  $0,50 \text{ mg L}^{-1}$  de dissulfoton em água destilada, foram obtidos os seguintes resultados:  $0,49 \pm 0,05 \text{ mg L}^{-1}$  (valor médio  $\pm$  desvio padrão) e um o coeficiente de variação de 10,2 %.

Os resultados apresentaram uma variação da resposta em um intervalo de  $0,44 \text{ mg L}^{-1}$  e  $0,54 \text{ mg L}^{-1}$  de dissulfoton.

#### 4.4.3.3. Precisão intermediária

Os ensaios foram realizados em amostras de água destilada em concentrações de 0,250 mg L<sup>-1</sup>, 0,500 mg L<sup>-1</sup> e 1,000 mg L<sup>-1</sup> de dissulfoton, avaliados nos dias 31/05/2005, 07/06/2005 e 24/06/2005.

Tabela 16. Concentração em três níveis (0,250 mg L<sup>-1</sup>, 0,500 mg L<sup>-1</sup> e 1,000 mg L<sup>-1</sup>) para o dissulfoton em água destilada avaliados em três dias diferentes

| Concentração (mg L <sup>-1</sup> ) | Concentração (mg L <sup>-1</sup> )<br>( $\bar{x} \pm s$ ) | CV(%) |
|------------------------------------|---|-------|
| 0,250                              | 0,22 $\pm$ 0,03   | 13,4  |
| 0,500                              | 0,44 $\pm$ 0,06   | 13,5  |
| 1,000                              | 0,80 $\pm$ 0,09   | 11,2  |

Os resultados apresentados na tabela 16 referentes ao parâmetro da precisão intermediária revelaram uma maior variação em relação à precisão instrumental e a repetitividade, devido à diferença de tempo entre as análises.

Em termo de precisão os valores encontrados para análise do dissulfoton em amostras de água estão abaixo do valor máximo admitido pela ANVISA, 2002, que é de 15%.

#### 4.4.4. Exatidão

A exatidão foi avaliada no dia 24 de junho de 2005, abordando três diferentes concentrações como mostra a tabela 17.

Tabela 17. Exatidão avaliada em três diferentes concentrações: 0,250 mg L<sup>-1</sup>, 0,500 mg L<sup>-1</sup> e 1,000mg L<sup>-1</sup>

| Concentração (mg L <sup>-1</sup> ) | Concentração média (mg L <sup>-1</sup> )<br>( $\bar{x} \pm s$ ) | Exatidão (%)<br>( $\bar{x} \pm s$ ) |
|------------------------------------|---|-------------------------------------|
| 0,250                              | 0,21 $\pm$ 0,02   | 87 $\pm$ 8                          |
| 0,500                              | 0,44 $\pm$ 0,02   | 88 $\pm$ 4                          |
| 1,000                              | 0,91 $\pm$ 0,04   | 91 $\pm$ 4                          |

Os resultados apresentados na tabela 17 mostram que mesmo variando as concentrações de análise os níveis de exatidão mantiveram-se a uma média de 88%.

#### **4.5. Comparação das análises por cromatografia gasosa e voltametria de onda quadrada**

Ambas as técnicas podem ser empregadas para análise de dissulfoton em amostras de água.

Os parâmetros validados (seletividade, precisão e exatidão) para as técnicas estudadas, mostraram resultados adequados para análise do dissulfoton em amostras de água. Os limites de detecção e quantificação analisados por cromatografia gasosa ( $LD = 0,009 \text{ mg L}^{-1}$  e  $LQ = 0,26 \text{ mg L}^{-1}$ ) foram menores que os limites encontrados pela técnica de voltametria de onda quadrada ( $LD = 0,125 \text{ mg L}^{-1}$  e  $LQ = 0,378 \text{ mg L}^{-1}$ ).

O tempo para realizar a análise por cromatografia gasosa é maior que o tempo gasto para realizar a análise por voltametria de onda quadrada. A diferença de tempo entre as análises é devido ao processo extração que precede a análise cromatográfica.

A análise do dissulfoton por voltametria de onda quadrada pode ser realizada diretamente nas matrizes de água ou metanol, não necessitando, portanto de serem submetidas a um processo de extração.

A faixa linear de concentração observada, empregando a cromatografia gasosa ( $0,01 \text{ mg L}^{-1}$  a  $5,00 \text{ mg L}^{-1}$ ) foi maior do que a faixa encontrada pela voltametria de onda quadrada ( $0,125 \text{ mg L}^{-1}$  a  $1,412 \text{ mg L}^{-1}$ ) para análise do dissulfoton.

## 5. CONCLUSÃO

### Cromatografia gasosa

A técnica de ELL-PBT apresenta porcentagens de extração na ordem de 99% a 109% para o dissulfoton em amostras de água.

A técnica de ELL-PBT requer um número de etapas de manipulação menor do que a extração líquido-líquido convencional, consumindo um menor volume de solvente e minimizando conseqüentemente os erros operacionais.

A técnica de ELL-PBT validada para amostras de água, apresentou rendimento de extração próximo a 100 % para uma ampla faixa de concentração.

Os parâmetros avaliados na validação do método mostraram que a técnica apresenta seletividade, precisão, exatidão e limites de detecção e quantificação adequados para análise de dissulfoton em amostras de água.

### Voltametria de onda quadrada

A voltametria de onda quadrada pode ser empregada na determinação do dissulfoton em amostras de água, não exigindo etapas de preparo prévio de amostra.

O eletrólito de suporte ( $\text{CaCl}_2$   $0,01\text{mol L}^{-1}$  / tampão  $0,01\text{mol L}^{-1}$  em pH 6,0 ), amplitude (50 mV) e frequência (120 Hz) obtidos na etapa de otimização foram parâmetros metodológicos relevantes na otimização da resposta voltamétrica, para análise de dissulfoton em amostras aquosas.

Os parâmetros selecionados para validar as análises do dissulfoton em amostras de água empregando a voltametria de onda quadrada apresentaram resultados adequados.

---

## 6. REFERÊNCIAS

- ANVISA. Agencia Nacional de Vigilância Sanitária. Guia para validação de métodos analíticos. Resolução - RE. Nº 475, de março de 2002.
- AGOSTINHO, S. M. L.; VILLAMIL, R. F. V.; NETO, A. A.; ARANHA, H. O. Eletrólito de Suporte e Suas Múltiplas Funções em Processos de Eletrodo. **Química Nova**, Vol 27, Nº 1, 2004.
- ALEIXO, L. M. Voltametria: conceitos e técnicas. Universidade estadual de Campinas, Campinas, São Paulo. <<http://www.Chemkeys.com>> acessado em outubro de 2004.
- BAREK, J.; FOGG, A. G.; MUCK, A.; ZIMA, J. Polarography and voltammetry at mercury electrodes. **Critical Reviews in Anal. Chem.**, 2001, 31(4), 291-309.
- BRIGGS, G. G. Factors affecting the uptake of soil-applied chemicals and other organism. In: HANCE, R. J. (Ed). Soils and crop protection chemicals. Croydon: **British Crop Protection Council**, 1984; p. 35-48. (Monogr. 27).
- CABRAL, M. F.; SOUZA, D.; ALVES, C. R.; MACHADO, S. A. S. Estudo do Comportamento Eletroquímico do Herbicida Ametrina Utilizando a Técnica de Voltametria de Onda Quadrada. **Eclética Química** . Vol 28, Nº2. p 41-47. 2003
- CASTANHO, G. M.; VAZ, C. M. P.; MACHADO, S. A. S. Electroanalytical Procedure for the Determination of Methylparathion in Soil Suspensions and its Application Studies With Brazilian Soils. **J.B.C.S.** Vol. 14, Nº 4, p 594-600, 2003.
- CHAPMAN, R. A.; TOLMAN, J. H.; COLE, C. The Effect of Multiple Applications of Dissulfoton on Enhanced Microbial Degradation in Soil and Subsequent Uptake of Inseticidal Chemicals by Potato Plants, **Journal Environmental Science Health**, B29 v.3, p 485-506.1994.
- CONAMA. Resolução nº 20, de 18/06/1986. Classificação da águas, doce, salobra e salina do território nacional. <<http://www.lei.adv.br/020-86.htm>>. acessado em 30 de setembro de 2004.
-

- 
- DARDENGO, R. P., **Extração simultânea do dissulfoton e triadimenol de águas e análise por cromatografia gasosa**. 28ª reunião anual da sociedade brasileira de química. Química para o desenvolvimento sustentável e inclusão social. Livro de resumo, Poços de Caldas-MG. 2005.
- DORES, E. F. G. C.; FREIRE E. M. L. Contaminação do ambiente aquático por pesticidas. Estudo de casos: Águas usadas para consumo humano em primavera do leste, Mato Grosso-análise preliminar. **Química nova**, V. 24, No 1, p 27-36, 2001.
- EMBRAPA, Empresa Brasileira De Pesquisa Agropecuaria. Centro Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento de Instrumentação Agropecuária.; Análise de pesticidas por técnicas eletroanalíticas. **Comunicado técnico. dezembro 1996. Nº 7**, p.1-12;
- EISERT, R.; LEVSEN, K.; WUNSCH, G., Element-selective detection of pesticides by gas chromatography-atomic emission detection and solid phase microextraction. **Journal of Chromatography**; 683: p.175-183, 1994.
- ETO, M. Organophosphorus pesticides Organic and Biological Chemistry, CRC press, New York, 1974.
- FARIA. A.M. **Dissulfoton: Avaliação da mobilidade e extração ponto nuvem** 121p. Dissertação (mestrado em agroquímica). Universidade Federal de Viçosa. Viçosa-MG, 2003.
- FEST, C.; SCHMIDT, K. J. The Chemistry of Organophosphorus Pesticides, Reactivity, Synthesis, Mode of Action, Toxicology, Berlin, Springer-Verlag, 1973, p. 339.
- GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA, N. S.; CARVALHO, R. P. L.; BATISTA, G. C.; BERTI, F. E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHHI, R. A. ; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. B. **Manual de Entomologia Agrícola**. 2ª. ed. São Paulo: Agronômica Ceres ; 1988. 640p.
- GRAZIANO, N. F., Uso de Agrotóxico e Receituário Agrônomo, **Agroedições, São Paulo**, 1982, p. 194.
- GOULART, S. M. **Extração de deltametrina e cipermetrina de e análise por cromatografia gasosa**. 60p. Dissertação (mestrado em agroquímica). Universidade Federal de Viçosa. Viçosa-MG, 2003.
-

- 
- HANEDA, M. L.; JUNIOR, R. T. S. O.; MACHADO, S. A. S.; AVACA, L. A. **Determinação dos pesticidas organofosforados fenitroton e Diclorvos por voltametria de onda quadrada**, 2000. Disponível em< <http://www.s bq.org.br/ranteriores/23/resumo/1205/index.html>> Acessado em 04 de outubro 2004.
- HARRIS, C. R., CHAPMAN, R. A., TOLMAN, J. H., MOY P.; HENKING K., HARIS C. A. Comparison of the persistence in a clay loam of single and repeated annual applications of seven granular insecticidal used for corn rootworm control. **Journal Environmental Science Health, Part B v. 23**, n.1, p1-32, 1988.
- HIGASHI, K. *Relatório do XV Encontro Nacional de Analistas de Resíduos de Pesticidas*, 68 ,(São Paulo) 1991,.
- IBRAHIM, F. B.; GILBERT, J. M.; EVANS, R. T.; CAVAGNOL, J. C., Decomposition of Dy - Syston (O,O-Diethyl-S-(2-(ethylthio) ethyl) Phosphorodithioate) on Fertilizer by Infrared, Gas-liquid Cromatography, and Thin-layer Cromatography, **Journal of Agricultural Food and Chemistry**, v.17, nº 2, p 300-305; 1968.
- INMETRO, DOQ-CGCRE-008, Orientações sobre validação de métodos de ensaios químicos; março /2003.
- JÚNIOR, R. P. S. Contaminação dos recursos hídricos por pesticidas. <<http://www.jornalexpress.com.br>>. Acessado em 04 agosto 2004.
- LIMA. E, R.; AMBROGI. B, G.; COSTA. F, G.; SARAIVA. R, M. Emprego de semioquímicos no manejo de pragas do café. In ZAMBOLIM, L. (ed) **Produção Integrada de Café**. Viçosa: UFV, Departamento de Fitopatologia, p-49. 2003.
- LOPES, A. L. **Mobilidade do Dissulfoton, de seus produtos de degradação e do triadimenol em latossolo vermelho-amarelo**. 85p. Dissertação (mestrado em agroquímica)- Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG. 2000.
- MARTIN, H.; WORTHING, C. R. Pesticide Manual, Basic Information on the Chemicals used as Active Components of Pesticides, 5th edition, British Crop Protection Council; 1968.
- MONTGOMERY, D. C. Design and analysis of experiments, John Wiley, NY, 1991, 3° ed.
-

- MOREIRA, L. F. **Diagnostico dos problemas ecotoxicológicos causados pelo uso de inseticidas (metamidofós) na região agrícola de Viçosa-MG** 1995. 95p. Dissertação (Mestrado em agroquímica) - UFV, Viçosa, 1995.
- NETO, B. B.; SCARMINIO, I. S. BRUNS., R. E., **Planejamento e otimização de experimentos**, Campinas-SP, editora da UNICAMP, p 165-180. 1995.
- OLIVEIRA, A. M. **Resíduos de triadimenol e dissulfoton no solo e em folhas e frutos do cafeeiro após aplicação de uma formulação granulada.** 113 p. Dissertação (mestrado em agroquímica). Universidade Federal de Viçosa. Viçosa-MG, 1999.
- OLIVEIRA, R. T. S.; MACHADO, S. A. S. Quantificação do pesticida diclorvos por voltametria de onda quadrada em águas puras e naturais. **Química nova, Vol 27**, nº 6, p 911-915, 2004.
- REIS, P, R.; SOUZA, J. C. Manejo Integrado das pragas do cafeeiro em Minas Gerais. **Informe Agropecuário. v, 19.** nº 193 , 21p. EPAMIG 1998.
- REZENDE, A. M.; ROSADO, P. L. a informação no mercado de café. In: ZAMBOLIM, L. (Ed). **Produção integrada de café.** UFV, Viçosa-MG: Departamento de Fitopatologia. p 1-46. 2003.
- RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F. e MELO, L. F. C. Validação em métodos cromatográficos e eletroanalíticos. **Química nova, 27 (5):** 771-780, 2004.
- SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; e NIELMAN, T. A. **Principles of instrumental analysis.** New York, Wiley, 1998, 5° ed.
- SILVA, J. J.; ALVES, S. R.; MEYER, A., PEREZ, F.; SARCCINELLI, P. N.; MATTOS, R. C. O. C. e MOREIRA, J. C. Influencia de fatores socioeconômicos na contaminação por agrotóxicos, Brasil. **Revista da saúde pública, v. 35,** n. 2, p. 130-135, 2001.
- SOUZA, D.; Técnicas Eletroquímicas Aplicadas à Análise de Pesticidas. **CEFET-GO, dia Nacional do químico 18/06/2002.** Instituto de Química - Universidade de São Carlos,SP.
- SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S. Estudo Eletroanalítico do Herbicida Paraquat em Solução Aquosa por Voltametria de Onda Quadrada Utilizando Ultramicroeletrodos. **Química Nova, vol 26,** Nº 5, 644-647, 2003.

- 
- SPECHT, W. Gas-Chromatographic Method for Determining Residues of the Fungicide Fuberidazol, Fluotrimazole and Triadimefon in Plant and Soil, **Pflanzenschutz Nachrichten Bayer**, v.30, nº 1, p 55-71; 1977.
- SZETO, S. Y.; VERNON, R. S.; BROWN, M. J., Degradation of Disulfoton in Soil and its Translocation in Asparagus, **Journal of Agricultural Food and Chemistry**, v.31, nº 2, p 217-220; 1983.
- TEOFILO, R. F. **Planejamento experimental para a otimização da resposta voltamétrica na determinação do herbicida glifosato em solo, água e vegetais**. 96p. dissertação (mestrado em agroquímica). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG. 2003.
- THORNTON, J. S.; ANDERSON, C. A., Determination of Residues of Di-Syston and Metabolites by Thermionic Emission Flame Gas Chromatography, **Journal of Agricultural Food and Chemistry**, v.16, nº 6, p 895-898; 1968.
- TOMITA, R. Y.; BEYRUTH, Z. TOXICOLOGIA DE AGROTÓXICOS EM AMBIENTE AQUÁTICO Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Proteção Ambiental, Publicado em **O Biológico, São Paulo**, v.64, n.2, p.135-142, jul./dez., 2002.
- UFLA - UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS. Núcleo de estudos em cafeicultura da UFLA. Disponível em <<http://www.nucleoestudo.ufla.br/necaf>> Acesso em 04 agosto 2004.
- VIEIRA, H. P. **Otimização e validação da extração simultânea de piretróides em água e sol e análise por cromatografia gasosa**. 65p Dissertação (mestrado em agroquímica) Universidade Federal de Viçosa. Viçosa -MG 2005.
- ZUMAN, P. Role of mercury electrodes in contemporary analytical chemistry. *Electroanal.* 2000, 12 (15), p 1187 - 1194.
- WANJALA, F. M. E., Di-Syston (Disulfoton) Granules Against Leafminers, *Leucoptera Meyricki* Ghesq. Applied at Different Periods a Rainy Season, **Kenya Coffee**, v.41, nº 485, p 277-280. 1976.
-