

PAULO FERNANDO RODRIGUES MATRANGOLO

**AVALIAÇÃO DA PERCOLAÇÃO DO TRIADIMENOL NO SOLO POR
CROMATOGRÁFIA GASOSA E CROMATOGRÁFIA LÍQUIDA DE
ALTA EFICIÊNCIA**

Tese apresentada à Universidade
Federal de Viçosa, como parte das
exigências do Curso de Agroquímica, para
obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
FEVEREIRO - 1999

PAULO FERNANDO RODRIGUES MATRANGOLO

**AVALIAÇÃO DA PERCOLAÇÃO DO TRIADIMENOL NO SOLO POR
CROMATOGRAFIA GASOSA E CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE
ALTA EFICIÊNCIA**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Curso de Agroquímica, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 11 de setembro de 1998.

Prof. Laércio Zambolim
(Conselheiro)

Prof. José Humberto de Queiroz
(Conselheiro)

Prof. Martha Bohrer Adaime

Prof. Carlos Roberto Belatto

Prof. Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz
(Orientadora)

A Deus.

Aos meus pais.

A Célia, Carlos e Walter, muito mais que irmãos.

A minha esposa, que possibilitou a realização deste trabalho.

AGRADECIMENTO

À Prof^á. Dr^á. Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz, pela dedicação e pelo empenho empregados na orientação, favorecendo a execução deste trabalho.

Aos professores conselheiros, Dr. Laércio Zambolim e Dr. José Humberto de Queiroz, pelo apoio e pela dedicação.

Ao professor Antônio Augusto Neves, pelos valiosos conselhos e pela disponibilidade.

A Leonardo Fernandes Moreira, engenheiro-agrônomo da EMATER, pela disponibilidade e pelo apoio conferidos à realização deste trabalho.

Aos professores do Curso, pelos conhecimentos transmitidos e pela ótima convivência.

Aos colegas de laboratório, Ana Maria, Nilva, Alexandre, Raquel, Elenice e Araceli, pela amizade e pelo convívio.

A Eduarda, companheira de todas as horas, pela presença amiga.

Aos meus irmãos, Gu e Zé, pelo incentivo e, especialmente, pela participação fraterna.

Aos técnicos Ricardo (LASA) e Luís (Fitotecnia), pelo auxílio e pela dedicação durante a condução dos trabalhos.

Aos funcionários do Departamento de Química, pela paciência e compreensão.

A todos os estudantes do Curso de Agroquímica, em especial às colegas Clésia e Márcia.

À secretária da Pós Graduação, em especial a Solange, pela presteza e atenção.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pela bolsa de estudo e pelo financiamento do Projeto.

À Universidade Federal de Viçosa, em especial ao Departamento de Química, pela oportunidade de realizar meu treinamento.

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

BIOGRAFIA

PAULO FERNANDO RODRIGUES MATRANGOLO, filho de Walter Matrangolo e Maria Rodrigues Garcia Matrangolo, nasceu em São Paulo, Estado de São Paulo.

Em 1995, bacharelou-se e licenciou-se em Química pela Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, Minas Gerais.

No segundo semestre de 1995, nessa mesma Universidade, ingressou-se no Curso de Mestrado em Agroquímica, defendendo tese em 11 de setembro de 1998.

CONTEÚDO

EXTRATO.....	ix
ABSTRACT.....	xi
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	4
2.1. Pesticidas na agricultura	4
2.2. Controle de doenças e pragas na cafeicultura.....	7
2.3. Degradação dos princípios ativos do dissulfoton e do triadimenol	11
2.4. Métodos de quantificação do triadimenol e do dissulfoton	13
2.5. Legislação	15
3. MATERIAL E MÉTODOS	16
3.1. Amostras	16
3.1.1. Coleta e preparo das amostras de solo.....	16
3.1.2. Análise físico-química das amostras	17
3.1.3. Amostra do fungicida	17
3.2. Extração do princípio ativo.....	17
3.2.1. Extração líquido - líquido.....	18
3.2.2. Extração sólido-líquido	18
3.2.3. Clean up.....	19

3.3. Análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)	20
3.3.1. Testes preliminares em Cromatografia em Camada Delgada (CCD) .	20
3.3.2. Determinação do comprimento de onda máximo (λ_{\max}) de absorção para o princípio ativo.....	21
3.3.3. Testes preliminares em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).....	21
3.3.3.1. Condições analíticas	21
3.3.3.2. Determinação do limite de detecção	22
3.3.3.3. Determinação da linearidade de resposta	22
3.4. Análise por Cromatografia Gasosa (CG).....	23
3.5. Estudo da percolação do triadimenol no solo	23
3.5.1. Montagem dos sistemas de percolação.....	24
3.5.2. Ensaio de simulação de chuva	25
3.5.3. Concentração da solução-padrão de triadimenol aplicada a cada sistema de percolação	26
3.6. Determinação do teor de princípio ativo no produto comercial	27
3.7. Extração do princípio ativo das amostras	27
3.8. Limpeza do material	27
3.9. Quantificação do princípio ativo das amostras	28
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
4.1. Análise dos resíduos de triadimenol.....	29
4.1.1. Análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).....	29
4.1.1.1. Determinação da fase móvel por CCD para a análise do triadimenol por CLAE	30
4.1.1.2. Determinação do comprimento de onda de máxima absorção (λ_{\max}) do triadimenol.....	34
4.1.1.3. Otimização da fase móvel para CLAE	35
4.1.1.4. Condições analíticas propostas.....	37
4.1.1.5. Determinação do limite de detecção	37
4.1.1.6. Determinação da linearidade de resposta	37

4.1.2. Análise por Cromatografia Gasosa (CG)	39
4.2. Rendimento de extração líquido-líquido do triadimenol em água.....	40
4.3. Caracterização das amostras de solo.....	41
4.4. Estudo da percolação	43
4.4.1. Análises por CLAE	43
4.4.2. Análises por CG	47
4.5. Verificação de perdas durante o processo de simulação de chuva	51
4.6. Extração do princípio ativo do solo	52
5. RESUMO E CONCLUSÕES	54
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57
APÊNDICES	63
APÊNDICE A.....	64
APÊNDICE B	67

EXTRATO

MATRANGOLO, Paulo Fernando Rodrigues. M.S., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 1999, **Avaliação da percolação do triadimenol no solo por cromatografia gasosa e cromatografia líquida de alta eficiência.** Orientadora: Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz. Conselheiros: Laércio Zambolim e José Humberto de Queiroz

Este trabalho teve como objetivos estudar a percolação do triadimenol em amostras de dois solos, coletados em locais diferentes e cultivados com o cafeeiro na microrregião de Viçosa, bem como a sua quantificação por Cromatografia Gasosa (CG) e por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). A associação entre o triadimenol com o dissulfoton constitui uma mistura de um fungicida mais um inseticida utilizado na cafeicultura no combate da ferrugem e do bicho mineiro. Entretanto, são escassos os estudos envolvendo a percolação desses agroquímicos em solos cultivados com o cafeeiro. Foram coletadas amostras nas profundidades de 0 a 5 e de 5 a 20 cm para montagem das colunas de solo, utilizando-se tubos de PVC de 10 cm de diâmetro interno. No estudo da percolação foram montados sistemas de 0 a 5 e de 0 a 10 cm, onde foram aplicados 0,5 e 1,0 mL de solução-padrão de triadimenol $1.000 \mu\text{g mL}^{-1}$. As amostras foram submetidas a uma simulação de chuva de 60 mm. A água que

percolou os sistemas foi coletada, o pesticida extraído e, em seguida, realizada a etapa de *clean up*. Os extratos obtidos foram então quantificados por CG e por CLAE. A fase móvel empregada na quantificação do triadimenol por CLAE realizou-se previamente por Cromatografia em Camada Delgada (CCD). Os melhores resultados foram obtidos com uma mistura de diclorometano:acetato de etila 3:7, com um fluxo de fase móvel de $0,6 \text{ mL min}^{-1}$ e tempo de retenção de 10 min para o composto. O limite de detecção do triadimenol foi de $0,01 \text{ ng mL}^{-1}$ para CLAE e de $0,1 \text{ ng mL}^{-1}$ para CG. Testes para verificação do limite de detecção do composto foram realizados por meio de injeções sucessivas, em diferentes concentrações do padrão de triadimenol em acetato de etila, obtendo-se o limite de detecção de $0,01 \text{ ng mL}^{-1}$ para CLAE e de $0,01 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ para CG. Testes de recuperação, após extração de amostras de água deionizada fortificadas com $2 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ de triadimenol, apresentaram rendimento de extração de 91,34%. Mediante aplicação de 0,5 e 1,0 mL de uma solução padrão $1.000 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ de triadimenol, em colunas de solo de 5,0, cm encontraram-se valores inferiores a 1% de princípio ativo nos dois solos estudados, tanto por CLAE como por CG. Nas amostras de água que percolaram as colunas de solo de 10 cm não se detectou presença do princípio ativo triadimenol. Estes resultados mostram que dificilmente esse princípio ativo irá contaminar os lençóis freáticos. Quando comparadas as técnicas de quantificação, CLAE e CG, pode-se verificar que, para as amostras de água, a CLAE apresentou resultados muito próximos aos obtidos por CG na análise do triadimenol.

ABSTRACT

MATRANGOLO, Paulo Fernando Rodrigues. M.S., Universidade Federal de Viçosa, February, 1999. **Evaluation of triadimenol percolation in the soil using gas chromatography and high performance liquid chromatography.** Adviser: Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz. Committee Members: Laércio Zambolim and José Humberto de Queiroz.

This work had the aim to study triadimenol percolation in samples from two soils, collected in different locations and cultivated with coffee, at the Micro Region of Viçosa and also the quantification by gas chromatography (GC) and high performance liquid chromatography (HPLC). The association between triadimenol and dissulfoton is a mixture of a fungicide plus an insecticide commonly used against coffee rust and leafminers. Therefore studies involving the percolation of those agrochemicals on cultivated soils are scarce. Soil samples were harvested from two different layers: 0 to 5 cm and 5 to 20 cm. The soil was used to pack PVC columns with 10 cm of internal diameter. On the percolation studies, a 0 to 5 cm and a 0 to 10 cm systems were built and 0.5 and 1.0 mL of a standard triadimenol solution ($1000 \mu\text{g mL}^{-1}$) were applied. The samples were submitted to a 60 mm rain simulation. The drained water was collected, the pesticide extracted and a clean-up step was performed. The extracts obtained

were quantified by GC and HPLC. The mobile phase used at the HPLC was previously determined by Thin Layer Chromatography (TLC). The best results were obtained using a mixture of dichloromethane: ethyl acetate 3:7, with a mobile phase with a flux of 0.6 mL min^{-1}) with a retention time of 10 minutes for the compound. The detection limit for triadimenol was 0.01 ng mL^{-1} for HPLC and 0.1 ng mL^{-1} for GC. The analyses detection limits were performed through successive injections of the standard solution of triadimenol dissolved in ethyl acetate at different concentrations, obtaining the detection limits of 0.01 ng mL^{-1} for HPLC and $0.01 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ for GC. Recovering tests, after sample extractions using de-ionized water with $2 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ of triadimenol, showed a extraction efficiency of 91.34%. When 0.5 and 1.0 mL of a standard solution of $1000 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ was applied into a 5 cm soil column, less than 1% of the active principle was detected, either by HPLC or GC. Within the water samples that drained from 10 cm columns, the presence of the active principle triadimenol was not detected. These results show that, the chances of occurring a contamination of the water table with this active principle are very small. When compared, the quantification techniques, HPLC and GC, one can verify that, for water samples, HPLC showed results similar to that obtained for GC on the triadimenol analysis.

1. INTRODUÇÃO

Países da América Latina, Ásia e África, a partir da década de 70, viram-se obrigados a importar alimentos de países industrializados, apesar de serem essencialmente agrícolas. Isso decorreu do fato de o crescimento da produção de alimentos não ter acompanhado o elevado crescimento populacional, gerando um déficit alimentar. Como exemplo, pode-se citar o período de 1963 a 1970, em que a média individual de alimentação na América Latina ficou 7% menor (BERNARDE, 1971).

Surgiu, então, a necessidade de se incrementar a produção agrícola, dando-se início ao processo de modernização, que compreende uma série de transformações tecnológicas nos processos produtivos, intensificando-se o uso de insumos como máquinas, equipamentos, fertilizantes e defensivos agrícolas.

As modernas práticas agrícolas, em geral monocultura, são consideradas potencialmente favoráveis ao desenvolvimento de pragas que podem reduzir significativamente a produção.

O controle de pragas e doenças prejudiciais às plantas cultivadas tem sido realizado, principalmente, por meio do uso de defensivos agrícolas, substâncias químicas com propriedades biocidas. Apesar do desenvolvimento de técnicas alternativas, para o combate de pragas agrícolas, os defensivos químicos ainda são os mais utilizados, por se mostrarem mais rápidos e eficientes no controle de pragas e doenças de plantas.

Entretanto, os defensivos podem ser tóxicos ao homem, que manipula diretamente o produto, e, ainda, ao meio ambiente, contaminando o solo e os rios, podendo afetar novamente o homem e os animais domésticos, pela ingestão dos seus resíduos.

O método de aplicação dos defensivos agrícolas varia de acordo com o tipo de praga e com o local de ataque em que se deseja combatê-la. Quando se objetiva o controle de plantas daninhas, insetos e microrganismos que atacam a parte aérea das plantas, utiliza-se, normalmente, a pulverização foliar. No entanto, quando se tem por objetivo o controle de certas pragas e certas doenças que atacam o sistema radicular das plantas, fazem-se aplicações diretamente no solo e em concentrações relativamente altas.

A utilização cada vez maior de compostos sistêmicos, ou seja, de compostos que são absorvidos eficientemente pelas raízes e transportados para as folhas, ocasionou maior aplicação de defensivos agrícolas diretamente no solo. Os defensivos movimentam-se no solo juntamente com a água, e essa movimentação pode se dar pela superfície ou através do perfil do solo, gerando acúmulo de resíduos e possivelmente contaminando o solo e as águas.

Na cultura do café, assim como em tantas outras culturas, também se faz uso intensivo de defensivos agrícolas. O café é um dos principais produtos de exportação do Brasil, sendo que o país participa com cerca de 28% da produção mundial, seguindo-se a Colômbia, com 14%. No Brasil, o Estado de Minas Gerais contribui com 38% de todo o café em coco, sendo 13% desse montante produzido na Zona da Mata mineira (IBGE, 1996).

O Baysiston[®] é um pesticida sistêmico amplamente empregado nas culturas do café e apresenta como princípios ativos o dissulfoton e o triadimenol. Pela grande utilização desse produto, inclusive na microrregião de Viçosa, surge a necessidade de estudar o comportamento desses princípios ativos no solo, na tentativa de avaliar a sua contaminação, bem como a dos recursos hídricos e, principalmente, a dos trabalhadores rurais.

Este trabalho tem como objetivos estudar a percolação do pesticida triadimenol, em amostras de dois solos da microrregião de Viçosa, utilizados na cafeicultura, e estabelecer metodologia para a análise de rotina do princípio ativo triadimenol por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e, ou, por Cromatografia Gasosa (CG).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Pesticidas na agricultura

A utilização de produtos químicos que visam reduzir as perdas decorrentes de pragas na agricultura é há muito conhecida pela humanidade. No entanto, a necessidade crescente de aumento da produção agrícola fez com que novas técnicas de controle de pragas, como o emprego de defensivos químicos ou o controle biológico, fossem desenvolvidas.

No Brasil, as medidas de controle de pragas e doenças baseiam-se quase que exclusivamente na aplicação de produtos químicos (ACUÑA et al., 1992). A utilização de inseticidas e fungicidas no controle de diversas pragas agrícolas tem como consequência a contaminação do meio ambiente de forma geral.

Na agricultura moderna, existe uma preocupação crescente em se produzir alimentos em grandes quantidades e com o mínimo possível de perdas, difundindo-se, assim, o uso de agroquímicos. O não-uso desses agroquímicos acarreta perda da produção agrícola, confrontada à necessidade cada vez maior de produzir quantidades suficientes de alimentos e de se preservar padrões adequados de saúde pública (METCALF, 1972).

Por outro lado, os agrotóxicos, aplicados em grandes quantidades e de modo indiscriminado, levaram ao surgimento de resistência de insetos e

fitopatogénos, que requerem novos produtos para o controle (RÜEGG et al., 1991).

Até 1914, os produtos utilizados para o controle de pragas eram, praticamente, produtos inorgânicos, como o fluoreto de sódio (NaF), o fluorsilicato de bário (BaSiF_4), o arsenato de chumbo (PbHAsO_4), os fungicidas à base de cobre, dentre outros. Em 1914, foi patenteado, nos Estados Unidos, o paradiclorobenzeno, que foi amplamente empregado no combate a mariposas (ROAN, 1955), dando início à era dos organoclorados.

Outro inseticida clorado amplamente empregado foi o DDT (1-cloro-2-(2,2,2,-triclóro-1-(4-clorofenil)etil)-benzeno) e, logo após, desencadeou-se o aparecimento de uma série de novos produtos à base de cloro, também de uso intenso no controle de pragas agrícolas. Os organoclorados caracterizam-se por possuir longo efeito residual. Os efeitos residuais foram inicialmente observados na década de 60, quando se verificou, em estudos, a bioacumulação desses compostos, em diferentes pontos do globo, constatando-se que o nível de resíduos de compostos clorados era consideravelmente maior nos predadores que nas suas presas (ROBINSON et al., 1967).

Os pesticidas organofosforados foram desenvolvidos por Schrader, como resultado de investigações da sua utilização com fins militares na Alemanha, durante a Segunda Guerra Mundial (ROAN, 1955). No entanto, sua utilização para fins agrícolas foi amplamente divulgada a partir de 1947 (ETO, 1974). Comparativamente, os organoclorados são menos tóxicos aos animais de sangue quente que os organofosforados (GALLO, 1988).

Os organofosforados possuem ação biológica em mamíferos e artrópodos atacando o sistema nervoso e impossibilitando a transmissão neural, interferindo, desse modo, nas funções dos organismos alvo. Os organofosforados atuam no metabolismo bloqueando a ação da acetilcolinesterase. A sua inibição resulta em acúmulo de acetilcolina na membrana do dendrito, receptor da sinapse, que é então impossibilitado de retornar ao estado inicial (FEST e SCHMIDT, 1973).

Um exemplo da atuação de organofosforado em mamíferos foi demonstrado por STAVINOHA (1966). Doses diárias de Di-Syston (O,O-dietil S- [2(etiltio) etil] fosforoditioato) de 1 mg/kg eram aplicadas em fêmeas de ratos brancos, para verificar o efeito da inibição da acetilcolinesterase, pela coleta do plasma sanguíneo. A quantificação dos teores de acetilcolina foi realizada por cromatografia gasosa. Até o terceiro dia de aplicação, os ratos apresentavam diarreia, tremores, hiperexcitabilidade e excesso de secreções nos olhos, no nariz e na boca.

Apesar de serem muito tóxicos, os organofosforados apresentam vantagens em relação aos demais inseticidas, por serem hidrofílicos e rapidamente degradáveis. Absorvidos por via dermal e oral, não se acumulam nos tecidos adiposos e são prontamente eliminados pelas fezes e pela urina (CREMLYN, 1990).

Mesmo apresentando vantagens em relação aos demais inseticidas, vários casos de intoxicação em seres humanos, seguidos de morte, foram registrados pelo uso de organofosforados, sendo a grande maioria nos Estados Unidos, principalmente pela exposição ao Parathion (METCALF, 1972). No Brasil, não há dados precisos sobre o número total de intoxicações causadas pela utilização de agrotóxicos. No período de 1967 a 1970, realizou-se um levantamento sobre a incidência de envenenamentos por pesticidas, em três municípios algodoeiros, observando-se que o Parathion foi o principal agente de intoxicação, com 103 mortes dos 329 casos de intoxicação (GRAZIANO NETO, 1982).

Os defensivos utilizados na agricultura podem ser aplicados de diferentes formas, dependendo do tipo de praga que se deseja combater. Quando se objetiva o controle de plantas daninhas, insetos e microrganismos que atacam a parte aérea das plantas, utiliza-se, normalmente, a pulverização foliar. No entanto, quando se tem por objetivo o controle de certas pragas e de certas doenças que atacam o sistema radicular das plantas, fazem-se aplicações diretamente no solo e em concentrações relativamente altas.

Os compostos sistêmicos apresentam-se, também, na forma de grânulos, facilitando, assim, a sua aplicação diretamente no solo. A utilização cada vez mais expressiva desses compostos pode acarretar a contaminação dos solos e conseqüentemente dos rios, açudes e lençóis freáticos. Segundo PIFFER (1989), os defensivos movimentam-se no solo, juntamente com a água, e essa movimentação pode-se dar de duas formas: (a) na superfície, juntamente com a água das enxurradas; e (b) através do perfil do solo, onde os compostos são arrastados pela água que percola.

A forma com que a movimentação ocorrerá depende de fatores como o relevo da região, o tipo de solo e a natureza do pesticida. Os teores de matéria orgânica e de argila presentes no solo alteram a mobilidade dos pesticidas. Dentre os componentes presentes no solo, a matéria orgânica e a argila são os componentes com maior capacidade de adsorção (CHIOU et al., 1986, CARTER e SUFFET, 1982). A quantidade de resíduos que atinge certa profundidade em determinado solo depende da taxa de movimentação da água e da taxa de degradação dos resíduos (BARBOSA e RIGITANO, 1994).

Segundo MAQUEDA et al. (1990), a adsorção dos pesticidas pela matéria orgânica ocorre através dos sítios específicos, como os cátions-trocáveis, sendo esse um dos principais mecanismos de adsorção de pesticidas nos solos. A adsorção por cátions-trocáveis influencia grandemente na liberação do pesticida, na degradação e na sua disponibilidade como um poluente do solo.

A matéria orgânica, além de promover os sítios de adsorção para os pesticidas, reduzindo a mobilidade, aumenta a possibilidade de degradação por microrganismos presentes no solo (HOMSBY et al., 1995).

2.2. Controle de doenças e pragas na cafeicultura

O café é um dos principais produtos de exportação do Brasil, sendo que o país participa com cerca de 28% da produção mundial, seguindo-se a Colômbia com 14%. No Brasil, o Estado de Minas Gerais contribui com 38% de todo o café em coco, sendo 13% desse montante produzido na Zona da Mata mineira. Juntos,

Minas Gerais, São Paulo, Espírito Santo e Paraná produzem 88% do café brasileiro (TAGLIALEGNA, 1996).

A proteção de plantas contra pragas agrícolas muitas vezes é realizada com a utilização de compostos químicos com ação sistêmica. Essa proteção é caracterizada pela aplicação do princípio ativo nos solos, seguido da absorção e translocação do produto químico pela planta para, a partir daí, produzir sua ação protetora. Segundo KRAUS (1981), a atividade sistêmica do princípio ativo presente nos pesticidas depende de uma série de fatores, como:

1. estrutura, polaridade, grupos lipofílicos e, ou, hidrofílicos;
2. condições da planta, como estrutura da superfície, camada de cera, epiderme, idade da planta e grau de lignificação; e
3. condições ambientais, como temperatura, umidade e razão de transpiração.

A cultura do café, assim como tantas outras culturas, também faz uso intensivo de defensivos agrícolas. Dentre as principais pragas que atingem a cafeicultura destacam-se as pragas das raízes, que são causadas principalmente por nematóides, cochonilhas da raiz e cigarras. Existem, ainda, as pragas da parte aérea das plantas, como o bicho mineiro, o ácaro vermelho e a broca do café.

O bicho mineiro, atualmente, é uma das principais pragas do cafeeiro, pelos enormes prejuízos que vem causando às lavouras. O adulto é uma pequena mariposa que, quando no estágio de lagarta, mina as folhas do cafeeiro, causando, como consequência, o desfolhamento das plantas e a queda da produção. O combate é feito por pulverização, pela incorporação de pesticida sistêmico ao solo e por pulverizações de pesticidas, à base de piretróides sintéticos (SÃO PAULO, 1985).

Outra doença que ataca a cafeicultura provocando grandes perdas é a ferrugem do cafeeiro. Essa doença surgiu, no Brasil, a partir de 1970, oriunda provavelmente do Continente Africano. Dependendo da intensidade do ataque, pode haver grande desfolhamento da planta, afetando sensivelmente a produção (SÃO PAULO, 1984).

O controle da ferrugem do cafeeiro pode ser realizado, usando-se fungicidas cúpricos, por via foliar ou com aplicações de fungicidas sistêmicos do grupo dos triazóis. Para essa opção, existem no mercado as formulações comerciais de triadimenol. Outra opção para o controle da ferrugem, que na prática tem-se mostrado como a mais eficiente, consiste no emprego de fungicidas sistêmicos granulados aplicados no solo, isoladamente ou em mistura com o inseticida dissulfoton. Nesse caso, o objetivo é controlar ao mesmo tempo a ferrugem e o bicho mineiro.

Um dos pesticidas amplamente empregado é o Baysiston[®], um pesticida sistêmico, que apresenta como princípios ativos, tanto o dissulfoton [O,O-dietil S-[2-(etil) etil] fosforoditioato] (Figura 1), como o triadimenol 1-(4- clorofenoxi) -3,3-dimetil-1-(1H-1,2,4-triazol-1-e)-2-butanol) (Figura 2).

O dissulfoton é um pesticida sistêmico muito utilizado para o controle de insetos que se alimentam de seiva (SZETO et al., 1983). O composto é ainda utilizado no combate ao bicho mineiro (*Perileuoptera coffeella*), praga comum nos cafezais, reduzindo o número de larvas, apresentando alta mortalidade até duas a quatro semanas após a aplicação (WANJALA, 1976). O dissulfoton apresenta-se na forma de um óleo, cujo ponto de ebulição é 128°C e a pressão de vapor é de $3,47 \times 10^{-5}$ Pa, a 20°C. Sua solubilidade em água é de 2,0 g L⁻¹, sendo ainda mais solúvel em solventes orgânicos (MARTIN e WORTHING, 1968).

Por sua atuação no sistema nervoso, como inibidor da acetilcolinesterase, os organofosforados provocam sintomas de intoxicação em aves e em mamíferos, inclusive no homem, provocando diminuição nítida dos movimentos (peresias) ou mesmo a paralisia completa (GRAZIANO NETO, 1982).

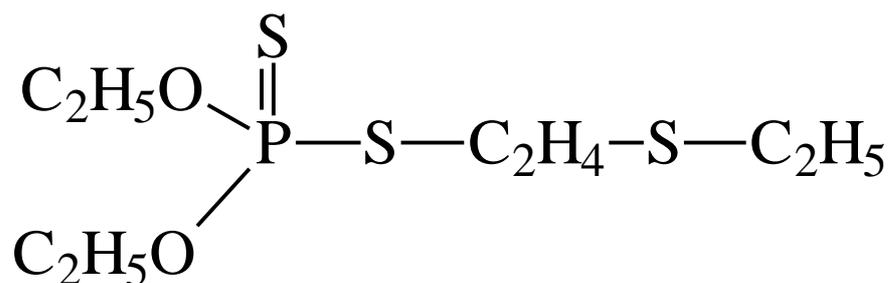


Figura 1 - Fórmula estrutural [O,O- dietil S- [2 (etiltio) etil] fosforoditioato] (dissulfoton).

O derivado triazólico triadimenol [1-(4-clorofenoxi)-3,3-dimetil-1-(1H-1,2,4-triazol-1-e)-2-butanol] (Figura 2) é de grande importância econômica, por ser um fungicida de grande atividade contra diversas doenças causadas por fungos fitopatogênicos. Sua massa molar é de 293,7 g mol⁻¹, apresentando-se como cristais incolores, com ponto de fusão de 82,3°C e pressão de vapor a 20°C inferior a 10⁻⁴ kPa (CRUZ FILHO e CHAVES, 1979; MARTIN e WORTHING, 1968).

O triadimenol é um fungicida inibidor da síntese do esterol, mais especificamente bloqueador da biossíntese do ergosterol nos fungos (FLETCHER e HOFSTRA, 1985).

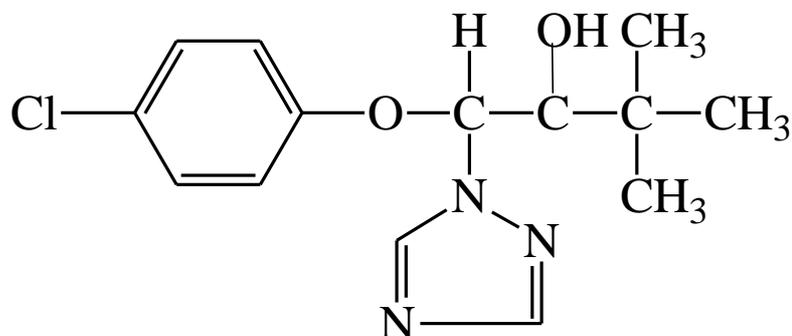


Figura 2 - Fórmula estrutural do 1-(4-clorofenoxi)-3,3-dimetil-1-(1H-1,2,4-triazol-1-e) butan-2-ol (triadimenol).

2.3. Degradação dos princípios ativos do dissulfoton e do triadimenol

O dissulfoton, um dos princípios ativos do Baysiston, é normalmente utilizado na forma de concentrados emulsificáveis, para o tratamento foliar, ou na forma de grânulos, para aplicação direta no solo, visando ao combate a insetos que atacam as plantas (SZETO e BROWN, 1982). A degradação dos pesticidas se dá, principalmente, pela atuação de microrganismos presentes no solo. Essa degradação é dependente de fatores climáticos e físico-químicos, tais como temperatura e umidade do solo, que são fundamentais para uma ótima atuação dos microrganismos.

SZETO et al. (1983) sugerem que a rota de degradação do dissulfoton no solo ocorre por oxidação, formando inicialmente compostos como o sulfóxido e a sulfona, seguidos da degradação desses intermediários. IBRAHIM et al. (1969) determinaram um possível processo de degradação, a partir do dissulfoton (Figura 3). Segundo THORNTON e 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, sulfóxido oxigênio análogo e de sulfona oxigênio análogo, conforme mostrado na Figura 3.

O outro princípio ativo presente no Baysiston é o triadimenol, que existe na forma de dois isômeros (forma A e forma B), sendo que um participa com 70% e o outro com os 30% restantes (GARCIA, 1991).

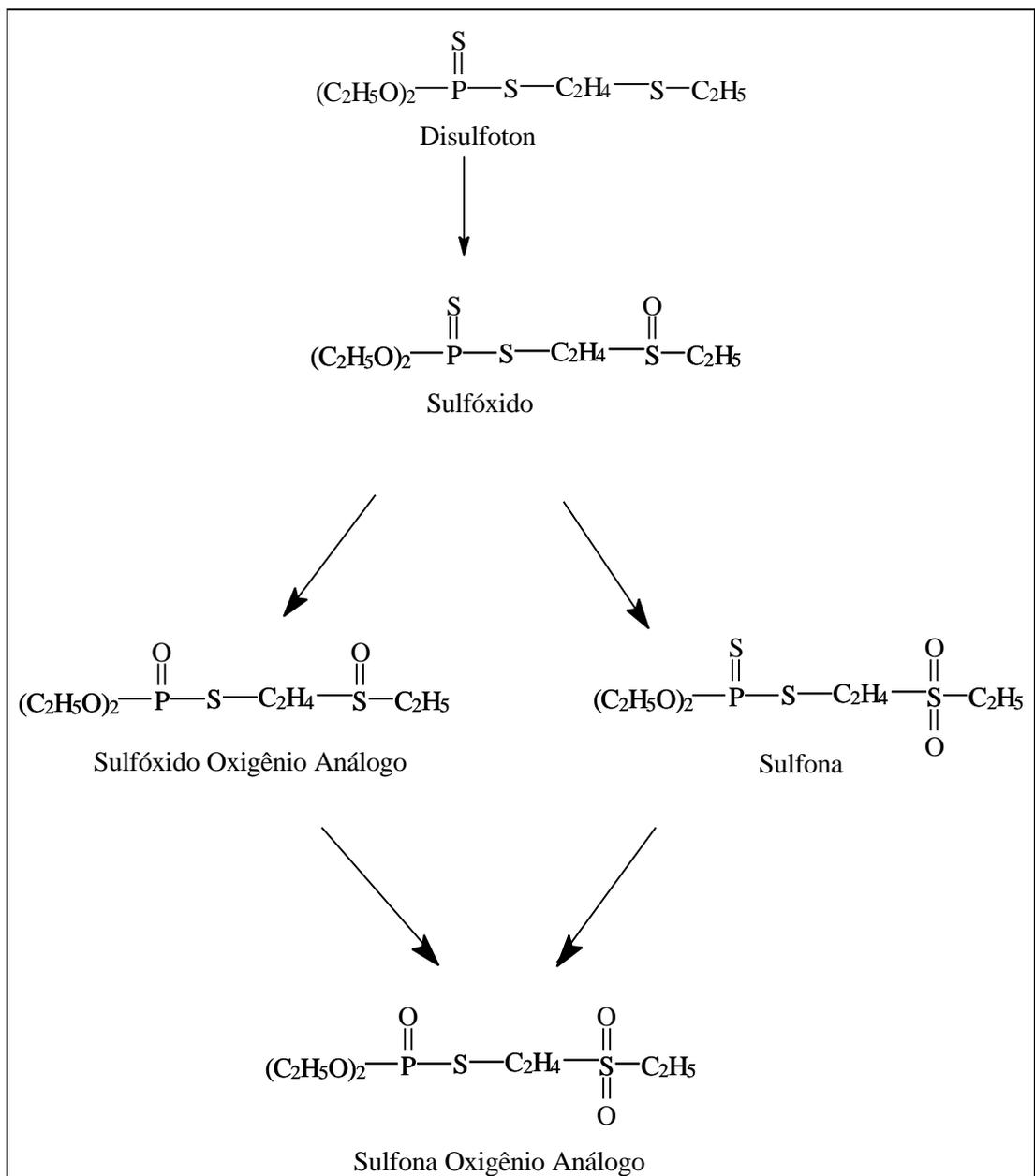


Figura 3 - Processo de degradação do dissulfoton [O,O- dietil S- [2(etiltio) etil] fosforoditioato] e seus metabólitos.

Originalmente, o triadimefon era utilizado como princípio ativo no produto comercial Baysiston[®], sendo, posteriormente, substituído pelo triadimenol, um dos produtos de degradação, por apresentar maior poder fungistático. A Figura 4 apresenta os produtos de degradação, o triadimenol e o p-clorofenol, a partir do triadimefon.

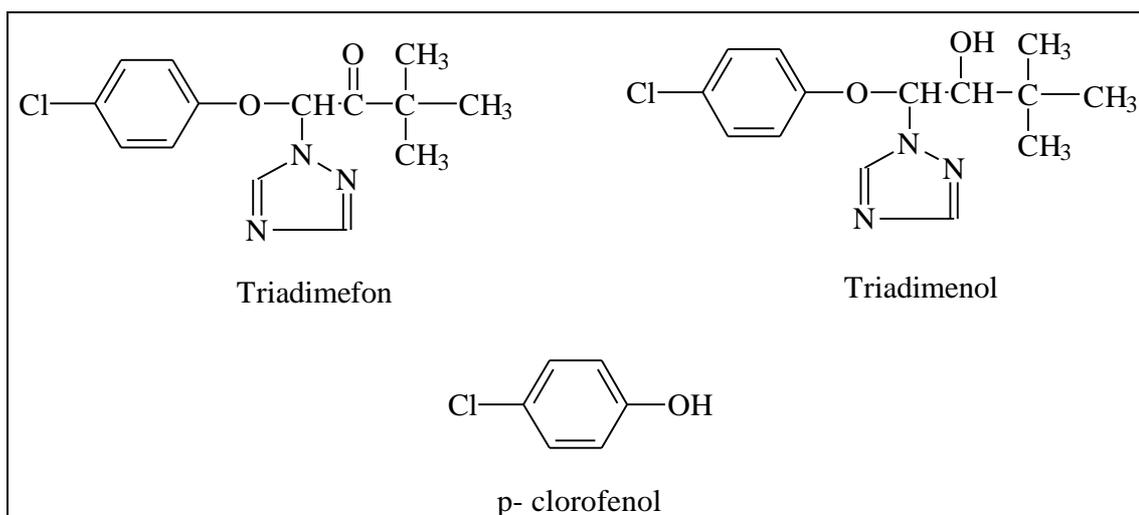


Figura 4 - Triadimefon e seus produtos de degradação, triadimenol e p-clorofenol.

2.4. Métodos de quantificação do triadimenol e do dissulfoton

Atualmente, diversas técnicas vêm sendo utilizadas para quantificação e identificação de resíduos de dissulfoton e triadimenol, em diferentes amostras, como material vegetal e solos. A extração desses compostos é normalmente realizada com solventes orgânicos, ou em misturas com água, seguindo-se extração líquido-líquido. A quantificação é realizada por cromatografia, sendo mais comum o uso da cromatografia gasosa, com o emprego de detectores específicos para nitrogênio-fósforo (NPD).

Para o triadimenol, além das técnicas de cromatografia gasosa, existe a possibilidade do uso da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), na sua determinação, utilizando-se detector UV.

SPECHT (1977), na determinação de resíduos de triadimenol em solos, propõe a extração, utilizando a mistura água-acetona (1:2,5), seguindo-se agitação por três minutos. O extrato obtido é submetido a uma extração líquido-líquido com diclorometano. Os interferentes são removidos por meio de uma coluna cromatográfica recheada com Florisil (*clean up*). A detecção do princípio ativo é realizada por cromatografia gasosa (CG), utilizando-se um detector de ionização de chama FID, do inglês “*flame ionization detector*”.

ALLMENDINGER (1991), na extração do triadimenol em amostras de solo, utiliza como solução extratora uma mistura de metanol e água, a qual é submetida a aquecimento e refluxo por quatro horas. O extrato obtido, após redução do volume, é passado por uma coluna cromatográfica para remoção de interferentes (*clean up*), sendo analisado por cromatografia gasosa (CG), utilizando-se detector específico para nitrogênio-fósforo (NPD), do inglês “*nitrogen and phosphorous detector*”.

Paralelamente às determinações por cromatografia gasosa (CG), alguns autores (SLAHCK, 1985; BASKARAN et al., 1997; PAPANTONI e MATHIASSEN, 1995) propõem a utilização da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Apesar de essa apresentar um custo mais elevado que a cromatografia gasosa, apresenta baixos limites de detecção, da mesma forma que a cromatografia gasosa.

SLAHCK (1985), na determinação do triadimenol em produtos comerciais, utilizou a cromatografia líquida de fase normal, empregando como fase móvel uma mistura de cloreto de butila:etanol (99:1), coluna recheada com sílica, fluxo da fase móvel de 1,5 mL min⁻¹ e detector UV a 275 nm.

2.5. Legislação

Algumas denúncias recentes levantaram suspeitas de contaminação de agricultores, da Zona da Mata mineira, que utilizaram-se do agrotóxico Baysiston[®] (SANTOS, 1998). No Brasil, não há monitoramento eficiente e contínuo para determinar o nível de resíduos de agrotóxicos que possam estar contaminando os solos, as águas e principalmente os alimentos.

O princípio ativo triadimenol apresenta moderada toxicidade oral em animais de laboratório e baixa toxicidade dermal. Apesar de o triadimenol ser o componente menos tóxico contido no produto comercial Baysiston[®], quando comparado ao dissulfoton (organofosforado), ele é absorvido pela pele e, mediante a superexposição, causa hiperatividade seguida de sedação em seres humanos (MORGAN, 1989).

Segundo dados fornecidos pelo Instituto Mineiro de Agropecuária (IMA), o triadimenol possui persistência média no meio ambiente e apresenta pequeno deslocamento para as regiões vizinhas.

Por ser um fungicida de amplo espectro, o triadimenol, além de ser utilizado na cafeicultura, é também utilizado em outras culturas. A tolerância varia dependendo da cultura, sendo de $0,5 \mu\text{g g}^{-1}$, para a cultura do café.

Segundo a legislação nos Estados Unidos, normatizada pela *Environmental Pollution Agency* (EPA), o nível máximo permitido de contaminação de águas pelo triadimenol é de 200 ng mL^{-1} (HOMSBY et al., 1995).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Amostras

3.1.1. Coleta e preparo das amostras de solo

As amostras de solo foram coletadas na microrregião de Viçosa. A amostra de solo 1 foi coletada na Estação Experimental do Viveiro de Café da Universidade Federal de Viçosa, e a amostra de solo 2 coletada no município de Ervália, em um sítio produtor de café. Esses locais foram escolhidos, pois tinha-se a informação de que o Baysiston[®] não era utilizado naquelas lavouras.

As amostras de solo foram coletadas em diferentes pontos, retirando-se a cobertura vegetal do solo, em duas profundidade, 0 a 5 e 5 a 20 cm, e as diversas frações do solo foram homogeneizadas.

O solo coletado foi colocado sobre uma lona plástica, à sombra, durante uma semana, sendo revirado diariamente, para uma secagem homogênea. Após a secagem, o solo foi passado por uma peneira de 2,0 a 4,0 mm de espessura. Após ser peneirado, o solo foi embalado em sacos plásticos de 100 L e mantido ao abrigo de umidade.

O solo coletado, assim como grande parte do solo da microrregião de Viçosa, é classificado como sendo um Latossolo Vermelho-Amarelo.

3.1.2. Análise físico-química das amostras

Foram realizadas análises físicas (densidade e análise textural) e químicas (pH em H₂O, acidez, bases-trocáveis e capacidade de troca-catiônica - CTC) nas amostras coletadas, segundo as técnicas propostas pelo Manual de Métodos de Análise de Solos da EMBRAPA (EMPRESA..., 1979).

3.1.3. Amostra do fungicida

Na condução deste trabalho, foram utilizados o produto comercial Baysiston[®] (1,5 + 7,5) GR e os padrões de triadimenol, ambos fornecidos pela Bayer[®] do Brasil.

3.2. Extração do princípio ativo

A metodologia utilizada para a extração do princípio ativo triadimenol das amostras de água, que foram coletadas após a passagem pelas colunas de PVC recheadas com o solo, baseou-se na metodologia proposta por SPECHT (1977), com algumas alterações, conforme descrito a seguir.

3.2.1. Extração líquido - líquido

Na otimização da extração líquido-líquido do triadimenol, nas amostras de água, utilizou-se água deionizada fortificada com $2 \mu\text{g mL}^{-1}$ do padrão. Uma alíquota de 100 mL de água fortificada foi adicionada a um funil de separação contendo 50 mL de diclorometano, sendo agitada vigorosamente por dois minutos. Para evitar a formação de emulsão, foram adicionados cerca de 2,0 mL de uma solução saturada de cloreto de sódio (NaCl). Após a separação das fases, a fase orgânica foi coletada e o procedimento repetido por mais duas vezes.

As frações orgânicas foram reunidas e o excesso de água retirado pela adição de cerca de 3,0 g de sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4), em contato por no mínimo 30 min e no máximo 60 min. O sulfato de sódio foi retirado por filtração, e a fase orgânica coletada quantitativamente em um balão de fundo redondo. Na fase orgânica, foram adicionados 3,0 mL de n-hexano, e o volume reduzido em rotavapor, tomando-se o cuidado de não evaporar, até a secura.

O extrato hexânico foi passado por uma coluna cromatográfica (*clean up*) para eliminação dos interferentes.

3.2.2. Extração sólido-líquido

Na otimização da extração sólido-líquido do triadimenol dos grânulos do produto comercial, utilizou-se 0,500 g de Baysiston. A essa massa foi adicionada a solução extratora, composta de 4,0 mL de água deionizada e 10 mL de acetona, agitando-se por 10 min, em agitador horizontal. O extrato obtido foi adicionado em um funil de separação contendo 5,0 mL de diclorometano, que foi agitado vigorosamente por dois minutos. Para evitar a formação de emulsão, foram adicionados cerca de 0,5 mL de uma solução saturada de cloreto de sódio (NaCl).

Após a separação das fases, a fase orgânica foi coletada e o procedimento repetido por mais duas vezes.

As frações orgânicas foram reunidas, e o excesso de água retirado pela adição de cerca de 0,5 g de sulfato de sódio anidro (Na_2SO_4), em contato por no mínimo 30 min e no máximo 60 min. O sulfato de sódio foi retirado por filtração, e a fase orgânica coletada quantitativamente em um balão de fundo redondo. Na fase orgânica, foram adicionados 3,0 mL de n-hexano e o volume foi reduzido em rotavapor, tomando-se o cuidado de não evaporar, até a secura.

O extrato hexânico foi passado por uma coluna cromatográfica (*clean up*) para eliminação dos interferentes.

3.2.3. Clean up

Para realizar o *clean up* das amostras, utilizou-se uma coluna cromatográfica com 2,5 cm de diâmetro interno, recheada com 10 g de Florisil (ou sílica para cromatografia) em éter de petróleo. No topo da coluna, foram adicionados cerca de 2,0 cm de Na_2SO_4 anidro e o solvente em excesso foi drenado até a altura da coluna empacotada.

A amostra em extrato hexânico foi adicionada ao topo da coluna com o auxílio de uma pipeta e drenada até ultrapassar o sulfato de sódio. O frasco onde estava armazenada a amostra foi lavado com alguns mililitros de éter de petróleo:éter etílico (94:6), primeira solução eluidora, e o volume transferido para a coluna. O procedimento foi repetido três vezes. A coluna foi eluída com 200 mL da primeira solução eluidora e o eluato obtido foi descartado.

Em seguida, eluiu-se a coluna com 300 mL de éter de petróleo:acetato de etila (60:40), segunda solução eluidora. O eluato obtido foi concentrado para um volume próximo de 2,0 mL, e o volume final aferido para 5,0 mL com acetato de etila. O extrato obtido foi analisado por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e, ou, CG.

3.3. Análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

A análise do princípio ativo triadimenol baseou-se na metodologia proposta por SLAHCK (1985). Essa metodologia propõe a utilização de uma fase móvel composta de 1-clorobutano:etanol (99:1), com fluxo de $1,5 \text{ mL min}^{-1}$. No entanto, pelo elevado custo da fase móvel, houve a necessidade de se desenvolver uma nova fase móvel, objetivando-se resultados expressivos, porém a um custo menos elevado. Para tal, foram realizados testes preliminares, empregando-se Cromatografia em Camada Delgada (CCD).

3.3.1. Testes preliminares em Cromatografia em Camada Delgada (CCD)

Iniciaram-se testes de solventes, na tentativa de se obter um solvente, ou mistura de solventes, apresentando um valor de R_f (fator de retenção) para o composto que viabilizasse sua utilização como fase móvel em CLAE. Para isso, foram utilizadas como suporte placas de vidro recobertas de sílica gel com 0,5 mm de espessura, e o anisaldeído (10% em etanol acidificado com H_2SO_4 concentrado) como revelador.

Uma série de solventes de diferentes polaridades (diclorometano, acetato de etila, éter etílico, éter de petróleo e água) foi utilizada como fase móvel, estando os solventes puros ou misturados, e em diferentes proporções.

Sobre as placas recobertas com sílica gel, foram aplicados, com auxílio de um tubo capilar, pequenos volumes de uma solução-padrão de triadimenol $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$. As placas foram colocadas em sistemas fechados, com o solvente ou a mistura de solventes a serem avaliados. Após o término da corrida cromatográfica, borrifou-se o revelador anisaldeído, e a placa cromatográfica foi aquecida, com auxílio de uma chapa aquecedora, para o desenvolvimento da coloração.

Os valores de Rf determinados ficaram abaixo de 0,3 ou muito próximos a 1,0, tendo sido considerados insatisfatórios e não foram utilizados como fase móvel em CLAE (MEYER, 1993).

3.3.2. Determinação do comprimento de onda máximo (λ_{\max}) de absorção para o princípio ativo

Para se determinar o comprimento de onda de máxima absorção (λ_{\max}) do triadimenol, utilizou-se uma solução-padrão do composto de concentração de $100 \mu\text{g mL}^{-1}$, em acetato de etila. Procedeu-se à varredura do espectro no intervalo de comprimento de onda de 200 a 400 nm, em um espectrofotômetro Shimadzu U 2000.

3.3.3. Testes preliminares em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

A mistura de solventes que apresentou melhores valores de Rf foi testada como fase móvel em CLAE, e otimizada para que o tempo de cada análise ficasse em torno de 10 min.

3.3.3.1. Condições analíticas

As condições analíticas utilizadas na análise do padrão de triadimenol e das amostras foram as seguintes:

Cromatógrafo a líquido Shimadzu modelo SPD 10-AV

Volume de injeção: 20 μL .

Fase móvel: diclorometano:acetato de etila (3:7).

Fase estacionária: sílica (Nucleosil-5-Silica-100 A).

Fluxo da fase móvel: 0,6 mL min^{-1} .

Detector: UV ($\lambda = 276 \text{ nm}$).

Temperatura: ambiente.

3.3.3.2. Determinação do limite de detecção

Para a determinação do limite de detecção, fizeram-se injeções sucessivas de soluções-padrão de triadimenol em acetato de etila, utilizando-se concentrações decrescentes, nas condições otimizadas para o método. Considerou-se a resposta do detector, que se apresentou duas vezes maior que o nível de ruído, marcando o limite de concentração detectável pelo instrumento nas condições empregadas na análise (COLLINS et al., 1990).

3.3.3.3. Determinação da linearidade de resposta

A linearidade de resposta foi determinada pelas injeções sucessivas de soluções-padrão de triadimenol, em concentrações crescentes, a partir da menor concentração, detectada até a concentração de 1.000 $\mu\text{g mL}^{-1}$.

3.4. Análise por Cromatografia Gasosa (CG)

Foram analisados os mesmos extratos obtidos para a análise por CLAE. A cromatografia gasosa foi utilizada para comparar os resultados obtidos, a fim de se verificar a eficiência do método proposto. Foi utilizado um cromatógrafo equipado com detector específico para nitrogênio e fósforo (NPD).

Condições analíticas

Cromatógrafo a gás Shimadzu CG-17A

Volume de injeção: 1,0 μL .

Temperatura inicial da coluna: 70°C.

Programação de temperatura: 15°C/min até 200°C, 10°C/min até 250°C e 5°C/min até 280°C.

Temperatura do injetor: 250°C.

Temperatura do detector: 300°C.

Gás de arraste: N_2 .

Fluxo: 0,9 mL min^{-1} .

Coluna: BP5, diâmetro interno de 0,25 mm e 30 m de comprimento.

Fase estacionária: 95% dimetilpolisiloxano e 5% fenil-metilpolisiloxano.

Detector: Específico para nitrogênio-fósforo (NPD).

3.5. Estudo da percolação do triadimenol no solo

Para a realização do estudo da percolação do triadimenol em água, foram utilizados tubos de PVC de 10 cm de diâmetro interno, cortados em anéis de 5,0 e

de 7,0 cm. As simulações de chuva foram realizadas em um simulador cedido pelo Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa.

3.5.1. Montagem dos sistemas de percolação

Tubos de PVC de 10 cm de diâmetro interno foram cortados em anéis de 7,0 e 5,0 cm de comprimento. Na superfície interna dos anéis de 7,0 cm, foram feitas marcações, indicando a altura de 5,0 cm e, em seguida, recobriu-se toda a superfície interna com parafina derretida (Figura 5). Na base do tubo, foi colada uma folha de papel-filtro de filtração rápida e sobre o papel-filtro foi fixada uma faixa de gaze (suporte) com um anel de borracha.

A partir da densidade dos solos, calculou-se a massa necessária para preencher os tubos até a marca de 5,0 cm (APÊNDICE A). Após a montagem dos sistemas, os tubos foram mantidos em uma bandeja com água, para que todo o solo fosse encharcado, atingindo sua saturação de água (capacidade de campo). Em seguida, os sistemas foram transferidos para outra bandeja para a retirada do excesso de água.

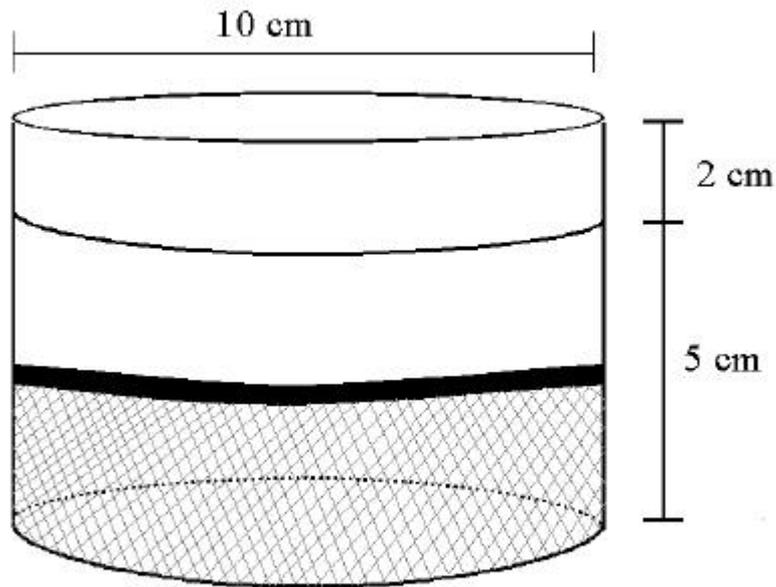


Figura 5 - Representação esquemática do sistema de percolação utilizado no estudo da percolação do triadimenol através de uma coluna de solo.

3.5.2. Ensaio de simulação de chuva

Os ensaios de simulação de chuva foram conduzidos na casa de vegetação do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa. Os sistemas foram colocados sobre frascos tipo PET (frascos descartáveis de refrigerantes), previamente lavados, utilizados como frascos coletores, dispostos sobre a bandeja circular do simulador (Figura 6). O volume de chuva simulada correspondeu a uma precipitação pluviométrica de 60 mm, sendo que o volume aplicado, para cada sistema, foi de aproximadamente 468 mL (APÊNDICE B). O tempo de cada experimento variou de acordo com a vazão obtida pelo simulador.



Figura 6 - Simulação de chuva para o estudo da percolação do triadimenol.

3.5.3. Concentração da solução-padrão de triadimenol aplicada a cada sistema de percolação

As dosagens recomendadas pelos fabricantes do Baysiston[®] (dados obtidos no rótulo do produto comercial) variam de acordo com o número de covas por hectare. Quando o número de covas for inferior a 1.600 por hectare, a dosagem recomendada é de 40 kg/ha⁻¹, sendo que, superior a 5.000 covas ha⁻¹ (adensado), a dosagem recomendada é de 70 kg/ha⁻¹. O teor do princípio ativo triadimenol no produto comercial é de 15.000 mg kg⁻¹. Considerando-se as dosagens de 40 kg/ha⁻¹ e de 70 kg/ha⁻¹, as dosagens mínima e máxima, respectivamente, as quantidades de princípio ativo aplicadas em cada sistema de percolação foi de 500 µg e de 1.000 µg.

Foram montados sistemas de percolação de 5,0 cm, Figura 5, onde foram aplicados padrão de triadimenol nas dosagens máxima e mínima recomendadas pelo fabricante, para os dois solos a serem estudados, sempre em triplicata.

A água que percolou cada um dos sistemas foi levada para o laboratório, seus volumes medidos e armazenada em freezer até análise.

3.6. Determinação do teor de princípio ativo no produto comercial

Na determinação do teor de triadimenol nas amostras do produto comercial, procederam-se as extrações de acordo com os itens 3.2.2 e 3.2.3, sendo que a massa da amostra foi de 0,500 g, realizadas em triplicatas.

3.7. Extração do princípio ativo das amostras

Para a extração do princípio ativo das amostras de água coletadas nos sistemas de percolação, utilizaram-se alíquotas de 100 mL e procedeu-se à extração conforme descrito anteriormente (itens 3.2.1 e 3.2.3).

3.8. Limpeza do material

Toda a vidraria, frascos PET e tubos de PVC utilizados foram deixados por uma noite em Extran Neutro (detergente), lavados em água de torneira e em água destilada. As vidrarias não-volumétricas foram descontaminadas com acetona destilada e secas em estufa a $\pm 40^{\circ}\text{C}$.

3.9. Quantificação do princípio ativo das amostras

A quantificação foi realizada por meio da comparação da área do pico do triadimenol obtido nas amostras, com a área do pico de padrões do princípio ativo de concentração conhecida. Foram realizadas injeções de quatro soluções-padrão de concentração conhecidas e próximas àquela esperada para as amostras. Com o auxílio de um programa de computador, obtiveram-se uma equação da reta e os valores de área do pico das amostras convertidos para concentração.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Análise dos resíduos de triadimenol

As análises de resíduos de pesticidas são, na sua grande maioria, realizadas por métodos cromatográficos. Destes métodos, os mais utilizados são a Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e a Cromatografia Gasosa (CG), muito utilizados na análise de resíduos de triadimenol.

4.1.1. Análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

SLAHCK (1985) determinou resíduos de triadimenol, utilizando cromatografia líquida de fase normal, tendo como fase móvel uma mistura de cloreto de butila:etanol (99:1), coluna de sílica, fluxo da fase móvel de $1,5 \text{ mL min}^{-1}$ e detector UV a 275 nm.

Pelo elevado custo da fase móvel, realizaram-se testes preliminares por Cromatografia em Camada Delgada (CCD), para determinar o solvente ou a mistura de solvente a ser utilizada como fase móvel nas análises por CLAE.

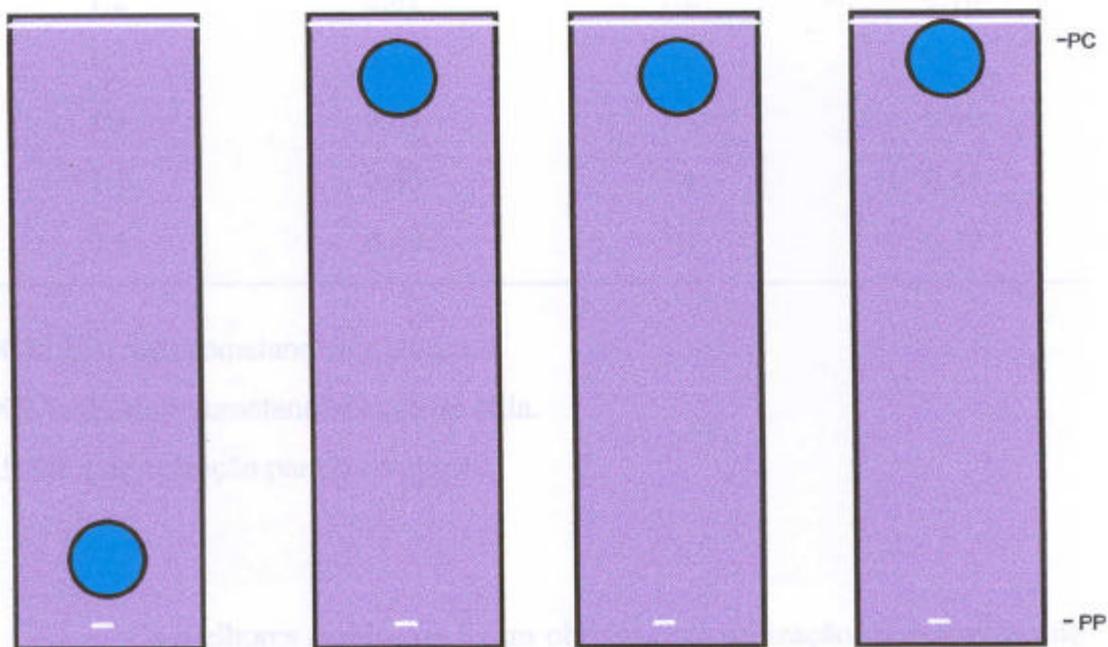
4.1.1.1. Determinação da fase móvel por CCD para a análise do triadimenol por CLAE

Segundo MEYER (1993), a cromatografia em camada delgada (CCD) pode ser utilizada para a determinação de uma fase móvel a ser utilizada em CLAE. No entanto, o solvente ou a mistura de solvente utilizada deverá apresentar um valor de Rf (fator de retenção) próximo a 0,3 para o composto. Caso o solvente ou a mistura de solventes apresente valores inferiores a 0,3 para o composto, existe a possibilidade de esse ficar retido na fase estacionária, ou então de o tempo de análise ser muito elevado. Solventes ou misturas de solventes que proporcionem valores de Rf muito superiores a 0,3 para o composto inviabilizam a sua utilização, pois há a possibilidade de não apresentar boa separação, dificultando, assim, a sua identificação.

Na determinação de uma fase móvel que substituísse a fase proposta por SLAHCK (1985), foram preparadas placas cromatográficas de sílica e os seguintes solventes puros de polaridades variadas foram testados como fase móvel:

- diclorometano;
- éter etílico;
- acetato de etila; e
- etanol.

Os cromatogramas obtidos (Figura 7) não apresentaram Rf satisfatórios para serem utilizados como fase móvel na análise do triadimenol por CLAE.



Diclorometano

Éter Etílico

Acetato de Etila

Etanol

PP ponto de partida e PC ponto de chegada.

Figura 7 - Representação esquemática dos cromatogramas obtidos na eluição do triadimenol por Cromatografia em Camada Delgada (CCD), utilizando solventes puros.

Figura 7 - Representação esquemática dos cromatogramas obtidos na eluição do triadimenol por Cromatografia em Camada Delgada (CCD), utilizando solventes puros.

Pelos cromatogramas obtidos, observa-se que, utilizando-se diclorometano como fase móvel, o composto apresenta valor de Rf de 0,19, inviabilizando a sua utilização para a análise do triadimenol por CLAE. Já os solventes éter etílico, acetato de etila e etanol apresentaram, respectivamente, valores de Rf de 0,9, 0,9 e 1,0, inviabilizando também a utilização desses solventes como fase móvel.

Testaram-se, então, misturas de diclorometano-éter etílico e entre diclorometano-acetato de etila, ambas em diferentes proporções (Quadro 1).

Quadro 1 - Valores de Rf obtidos para misturas entre diclorometano:éter etílico e entre diclorometano:acetato de etila em diferentes proporções

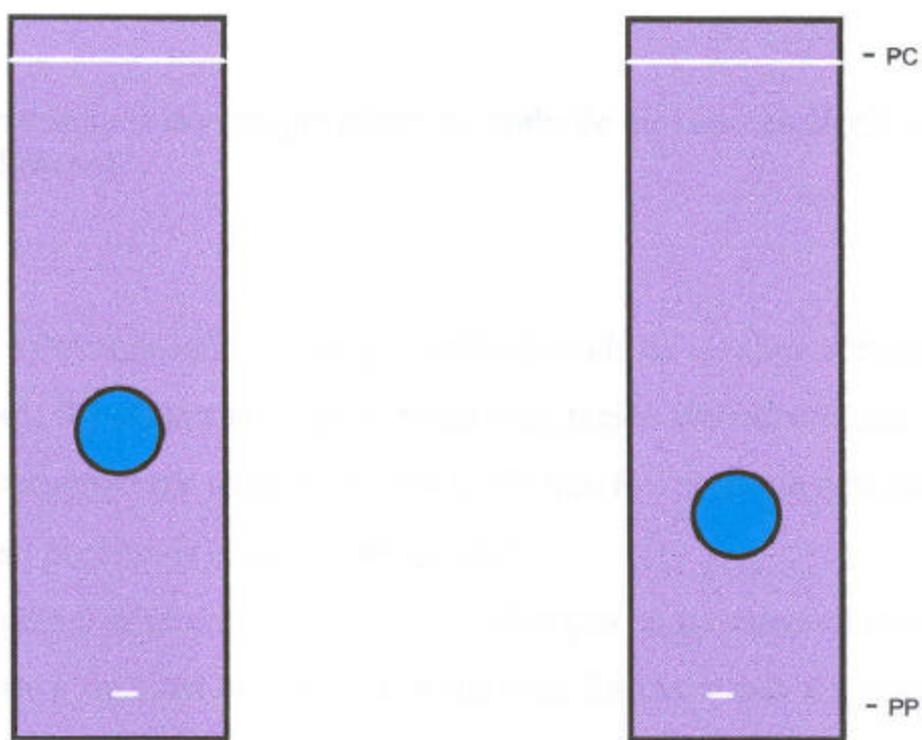
DCM:EE	Rf	DCM:AE	Rf
1:2	0,81	1:2	0,76
1:3	0,86	1:3	0,82
1:1	0,69	1:1	0,60
2:1	0,60	2:1	0,54
3:1	0,43	3:1	0,32

DCM:EE, diclorometano:éter etílico.

DCM:AE, diclorometano:acetato de etila.

Rf: fator de retenção para o composto.

Os melhores resultados foram obtidos pela utilização da proporção de três partes de diclorometano para uma parte de éter etílico ou acetato de etila, como mostra a Figura 8.



a) Diclorometano:Éter Eílico

b) Diclorometano:Acetato de Etila

PP ponto de partida e PC ponto de chegada.

Figura 8 - Representação esquemática dos cromatogramas obtidos na eluição do triadimenol por Cromatografia em Camada Delgada (CCD), utilizando-se (a) Diclorometano:Éter Eílico (3:1) e (b) Diclorometano:Acetato de Etila (3:1).

Figura 8 - Representação esquemática dos cromatogramas obtidos na eluição do triadimenol por Cromatografia em Camada Delgada (CCD), utilizando-se (a) Diclorometano:Éter Etilico (3:1) e (b) Diclorometano:Acetato de Etila (3:1).

Os valores de Rf foram de 0,43 para a mistura diclorometano:éter etílico (3:1) e de 0,32 para a mistura diclorometano:acetato de etila (3:1). A mistura entre diclorometano:acetato de etila (3:1) foi selecionada para ser utilizada como possível fase móvel na CLAE.

A mistura diclorometano:éter etílico (3:1), apesar de ter apresentado um bom valor de Rf para o composto, teve de ser descartada em virtude da alta volatilidade do éter etílico. A condução das análises seria prejudicada com o uso dessa mistura, já que a proporção entre os solventes não seria mantida no decorrer da análise, podendo assim variar o tempo de retenção do composto.

Já a mistura diclorometano:acetato de etila (3:1), por ser uma mistura menos volátil, apresenta menor variação das proporções entre os solventes durante as análises.

4.1.1.2. Determinação do comprimento de onda de máxima absorção (λ_{\max}) do triadimenol

Para a determinação do comprimento de onda de máxima absorção (λ_{\max}) do triadimenol, foi realizada uma varredura na região do ultravioleta (UV) no intervalo de comprimento de onda de 200 a 400 nm. Foi utilizada uma solução do triadimenol em acetato de etila de $100 \mu\text{g mL}^{-1}$.

A Figura 9 apresenta o espectro de absorção do triadimenol na região do UV, sendo que a máxima absorção do composto foi observada no comprimento de onda de 276 nm e uma absorvidade molar, nesse comprimento de onda, de $7.167,65 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

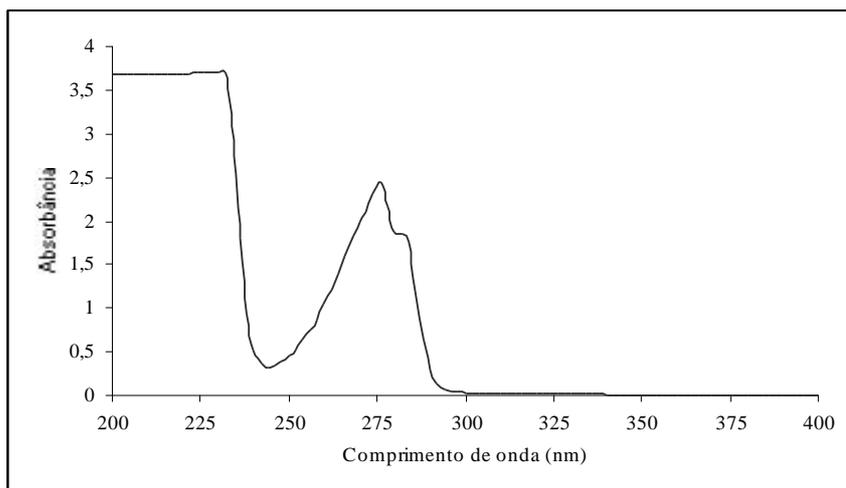


Figura 9 - Espectro de absorção, na região do UV, de uma solução-padrão de triadimenol $100 \mu\text{g mL}^{-1}$ em acetato de etila no intervalo de 200 a 400 nm.

O comprimento de onda de 276 nm foi selecionado no detector UV do cromatógrafo a líquido para a determinação do triadimenol por CLAE.

4.1.1.3. Otimização da fase móvel para CLAE

Foram realizados ensaios preliminares em CLAE, com coluna de sílica e detector UV a 276 nm, empregando-se a fase móvel, que apresentou os melhores valores de R_f nas análises por CCD, isto é, diclorometano:acetato de etila (3:1). Nessa proporção, o tempo de retenção do composto ficou próximo a 40 min.

O uso da mistura nessa proporção torna as análises inviáveis, visto que o tempo de análise seria extremamente longo, tornando o custo muito elevado e consumindo um grande volume da mistura de solventes.

Foram realizados testes com outras proporções dos solventes, e observou-se que, à medida que a proporção de acetato de etila era aumentada, havia diminuição no tempo de retenção (t_R) do composto. Optou-se por aumentar

a proporção de acetato de etila na mistura, pois foi o que apresentou maior valor de R_f dentre os solventes participantes da mistura, quando testado em CCD.

A proporção entre os solventes que apresentou melhor tempo de retenção (t_R) foi da mistura diclorometano:acetato de etila (3:7), ficando o tempo em torno de 10 min (Figura 10). Com esse tempo, as análises tornam-se mais rápidas, necessitando, assim, de menor volume de solvente, diminuindo, conseqüentemente, o custo da análise.

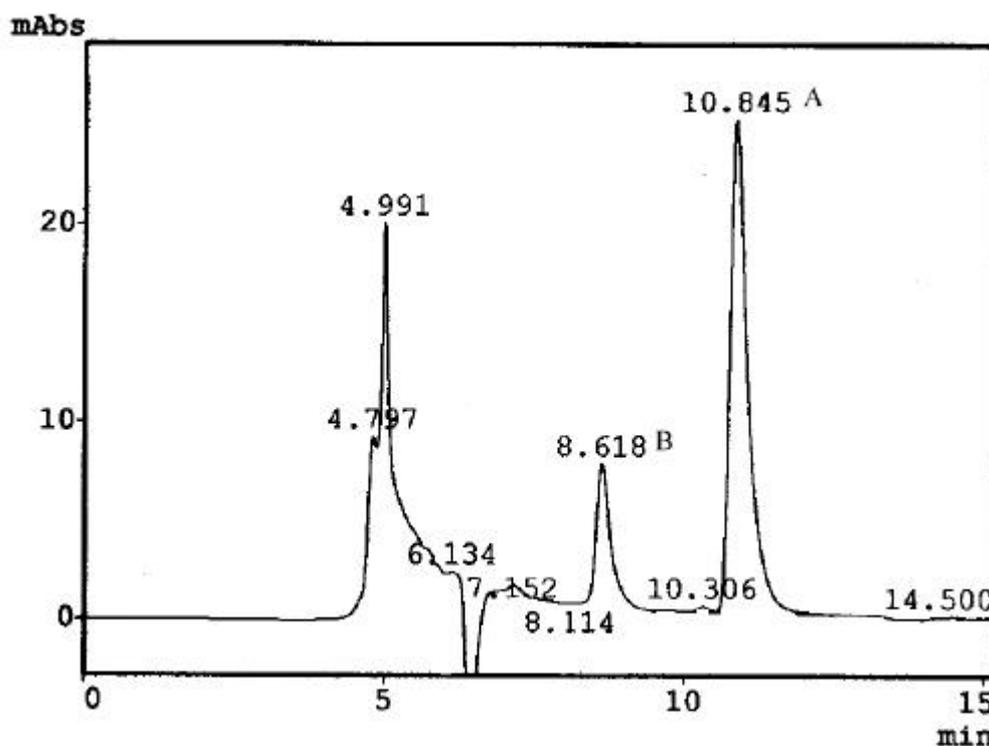


Figura 10 - Cromatograma da solução de triadimenol de $40 \mu\text{g mL}^{-1}$ obtido por CLAE, com a utilização da fase móvel diclorometano:acetato de etila (3:7), coluna de sílica, fluxo de $0,6 \text{ mL min}^{-1}$ e detector UV a 276 nm. (A) triadimenol A e (B) triadimenol B.

4.1.1.4. Condições analíticas propostas

Após a realização dos testes por CCD e da otimização da fase móvel, pelas análises por CLAE, as condições analíticas utilizadas nas análises do triadimenol por CLAE foram:

Detector: UV, comprimento de onda = 276 nm.

Fase móvel: diclorometano:acetato de etila (3:7).

Fluxo: 0,6 mL min⁻¹.

Pressão: 46 kgf cm⁻².

Coluna: Nucleosil-5-Sílica-100^a

4.1.1.5. Determinação do limite de detecção

Para se determinar o limite de detecção do composto, foram realizadas injeções sucessivas do triadimenol em concentrações decrescentes. Considerou-se a menor concentração detectável, de 0,01 ng mL⁻¹, que foi aquela que apresentou uma resposta no mínimo duas vezes maior que o nível de ruído (*back ground*).

4.1.1.6. Determinação da linearidade de resposta

A linearidade de resposta do composto foi determinada após injeções sucessivas de soluções-padrão de triadimenol em acetato de etila em concentrações decrescentes. Foram considerados os valores de R (coeficiente de correlação) para diferentes intervalos de concentração (Quadro 2).

Quadro 2 - Linearidade de respostas de soluções-padrão de triadimenol em diferentes faixas de concentração

Faixa de concentração ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Equação da Reta ($Y = A + B \cdot X$)	Linearidade de Resposta (R)
0,00001 a 1.000	$y = 67117,24 + 6393,83 x$	0,99826
0,00001 a 1	$y = 1504,26 + 11986,59 x$	0,99619
0,0001 a 1	$y = 1538,25 + 11949,21 x$	0,99605
0,001 a 1	$y = 1678,78 + 11794,68 x$	0,99650
0,01 a 1	$y = 1983,22 + 11460,66 x$	0,99872
1 a 50	$y = -4711,30 + 12231,44 x$	0,99493
1 a 100	$y = 40551,76 + 7227,29x$	0,98328
1 a 150	$y = 51808,72 + 5961,15x$	0,99073
1 a 200	$y = 47128,16 + 6138,12x$	0,99525
1 a 500	$y = 78133,49 + 6695,44 x$	0,99327
1 a 750	$y = 104098,72 + 6347,98 x$	0,99648
1 a 1.000	$y = 105361,81 + 6335,30 x$	0,99831

É possível observar que os diferentes intervalos de concentrações testados apresentaram-se com resposta linear, permitindo que se trabalhe em uma ampla faixa de concentração.

4.1.2. Análise por Cromatografia Gasosa (CG)

A cromatografia gasosa é uma das técnicas mais empregadas nas análises de resíduos de pesticidas, podendo ser aplicada para diferentes matrizes. Uma das vantagens da cromatografia gasosa é a possibilidade do uso de detectores seletivos, como detectores específicos para nitrogênio-fósforo, sendo encontrados vários exemplos na literatura.

CHEN e WANG (1996) utilizaram a cromatografia gasosa associada a CLAE e a CCD na determinação de piretróides e piretrinas em agroquímicos comerciais, alimentos, e em amostras de solo e água. MILLET et al. (1996), analisando 13 pesticidas, utilizaram a cromatografia gasosa em amostras de água e ar, obtendo rendimento de extração para amostras líquidas entre 92 e 97% e limite de detecção entre 0,1 e 0,01 $\mu\text{g mL}^{-1}$ para os 13 pesticidas estudados.

SPECHT (1977), na determinação de resíduos de triadimenol em plantas e solo, utilizou a cromatografia gasosa, com detector específico para nitrogênio, obtendo rendimento de extração de 70 a 75% em amostras de solo, os quais variaram de 70 a 100% dependendo da matriz vegetal, no caso de plantas.

Realizou-se a determinação do limite de detecção do triadimenol por cromatografia gasosa, injetando-se concentrações decrescentes do padrão, utilizando-se as condições descritas no item 3.4.1. O limite obtido foi de 0,01 ng mL^{-1} , considerando-se uma resposta do detector duas vezes maior que o nível de ruído.

Quando se trabalha com análise de resíduos de pesticidas em amostras naturais existe a necessidade de que os limites de detecção sejam baixos, a fim de

que se possa realizar um monitoramento preciso dos resíduos, quando presentes em baixas concentrações.

4.2. Rendimento de extração líquido-líquido do triadimenol em água

Para a determinação do rendimento de extração líquido-líquido do triadimenol nas amostras de água, utilizou-se água deionizada fortificada com $2 \mu\text{g mL}^{-1}$ do padrão. Três alíquotas de 100 mL foram retiradas, e o princípio ativo extraído foi analisado com diclorometano e por CLAE (Quadro 3).

Quadro 3 - Rendimento de extração líquido-líquido para o triadimenol, em alíquotas de água deionizada fortificadas com $200 \mu\text{g}$ do padrão

Amostra	Massa Recuperada (μg)	Rendimento (%)
Repetição 1	182,79	91,40
Repetição 2	182,54	91,27
Repetição 3	182,67	91,35

O rendimento médio obtido de 91,34% pode ser considerado bom, quando comparado a resultados da literatura. SPECHT (1977), na determinação de resíduos de triadimenol em plantas e solo, utilizou CG e obteve rendimento de extração de 70 a 75% em amostras de solo, e de 70 a 100% no caso de plantas, variação esta dependente da matriz vegetal. Outros exemplos de rendimentos de extração, geralmente obtidos em análise de resíduos, são descritos a seguir.

LAGANA et al. (1998), analisando resíduos dos herbicidas imidazolinona em amostras de solo e águas naturais (água de lençóis freáticos, água de lago e água de rio), utilizaram-se da CLAE de fase reversa com detector

UV em 240 nm. Após fortificação das amostras naturais, ocorreu recuperação superior a 89%, e o limite de detecção foi de 30 a 39 ng L⁻¹ para água de lençóis freáticos; de 43 a 51 ng L⁻¹ para água de lago; e de 55 a 67 ng L⁻¹ para água de rio. Para a matriz solo, o rendimento de extração variou de 87 a 95%, e o limite de detecção variou de 0,1 a 0,05 ng L⁻¹.

BASKARAN et al. (1997), durante a análise do inseticida imidaclopride, também fizeram uso da CLAE em fase reversa à análise de resíduos em amostras de solo e água. Utilizando detector UV em 270 nm e fase móvel composta por acetonitrila:água (20:80, v/v), obtiveram limite de detecção de 0,5 µg L⁻¹ para as amostras de água, e de 5 µg kg⁻¹ para as amostras de solo.

4.3. Caracterização das amostras de solo

Tanto o solo coletado na Estação Experimental da Universidade Federal de Viçosa, quanto o solo coletado no sítio de um produtor de café, são considerados Latossolos, solo característico da microrregião de Viçosa. O solo coletado na Estação Experimental foi designado LATUFV, e o solo coletado no sítio produtor de café LATSIP. Os latossolos são solos antigos e com alto grau de intemperismo tendo, por isso, a fração argila como seu maior constituinte.

A análise textural (Quadro 4) mostra que os solos utilizados são considerados argilosos, apresentando baixos teores de areia grossa, areia fina e silte, nas duas profundidades coletadas.

Foram realizadas, ainda, análises físico-químicas, verificando-se o pH em água, a acidez-trocável (H + Al), as bases-trocáveis (SB), e a capacidade de troca-catiônica dos solos (CTC) (Quadro 5).

Quadro 4 - Análise textural dos Latossolos utilizados nas profundidades de coleta de 0 a 5 e de 5 a 20 cm

Amostra	Areia Grossa (%)	Areia Fina (%)	Silte (%)	Argila (%)	Classe Textural
LATUFV 0 a 5 cm	29	16	7	48	Argiloso
LATUFV 5 a 20 cm	22	17	8	53	Argiloso
LATSIP 0 a 5 cm	25	9	14	52	Argiloso
LATSIP 5 a 20 cm	23	9	16	52	Argiloso

LATUFV: Latossolo da Estação Experimental da UFV.

LATSIP: Latossolo do sítio produtor de café.

Quadro 5 - Análise química das amostras de solo nas profundidades de 0 a 5 e de 5 a 20 cm

Amostra	pH em H ₂ O	H + Al (cmol/dm ³)	SB (cmol/dm ³)	CTC total (cmol/dm ³)
LATUFV 0 a 5 cm	6,2	2,4	5,62	8,02
LATUFV 5 a 20 cm	5,6	4,5	2,80	7,30
LATSIP 0 a 5 cm	5,6	4,2	2,51	6,71
LATSIP 5 a 20 cm	5,4	3,3	2,06	5,36

LATUFV: Latossolo da Estação Experimental da UFV.

LATSIP: Latossolo do sítio produtor de café.

H + Al: acidez-trocável. SB: bases-trocáveis. CTC: capacidade de troca catiônica.

Os solos utilizados na condução deste trabalho apresentam características texturais, físicas e químicas bastante semelhantes entre si, correspondendo à média dos solos da microrregião de Viçosa.

4.4. Estudo da percolação

Foram montados sistemas de percolação de 5,0 e de 10 cm, onde foram aplicados 1,0 mL e 0,5 mL de solução-padrão de triadimenol, nas concentrações de 1.000 $\mu\text{g g}^{-1}$, em acetato de etila, correspondendo às dosagens máxima e mínima recomendadas pelo fabricante (70 kg/ha e 40 kg/ha, respectivamente). Os ensaios de simulação de chuva, realizados em triplicata, foram realizados na casa de vegetação da Universidade Federal de Viçosa. As amostras de água coletadas foram levadas ao laboratório para extração e quantificação do princípio ativo .

Os extratos das amostras foram quantificados por CLAE e por CG, para se comparar a eficiência das duas técnicas na quantificação do triadimenol.

4.4.1. Análises por CLAE

Os extratos obtidos foram analisados por CLAE, utilizando-se uma curva de calibração para a quantificação do princípio ativo. Para a eliminação de possíveis picos interferentes, utilizaram-se amostras em branco, ou seja, amostras que sofreram os mesmos processos de simulação de chuva, extração e *clean up*, sem que fossem aplicadas as dosagens padrão. Os resultados obtidos com os sistemas de percolação com colunas de 5,0 cm constam no Quadro 6, e os sistemas de percolação com colunas de solo de 10 cm no Quadro 7.

Quadro 6 - Quantidades de triadimenol analisadas por CLAE, aplicadas e percoladas através de colunas de 5,0 cm de solo, após simulação de chuva

Amostra	Dosagem aplicada (μg)	Massa de triadimenol detectada na água percolada (μg)	Triadimenol detectado na água percolada (%)
LATUFV	1.000	7,55	0,755
LATUFV	500	ND	ND
LATSIP	1.000	6,40	0,640
LATSIP	500	1,93	0,386

LATUFV: Latossolo da Estação Experimental da UFV.

LATSIP: Latossolo do sítio produtor de café.

ND: não-detectado.

Quadro 7 - Quantidades de triadimenol analisadas por CLAE, aplicadas e percoladas através de colunas de 10 cm de solo, após simulação de chuva

Amostra	Dosagem aplicada (μg)	Massa de triadimenol detectada na água (μg)	Triadimenol detectado na água (%)
LATUFV	1.000	ND	ND
LATUFV	500	ND	ND
LATSIP	1.000	ND	ND
LATSIP	500	ND	ND

LATUFV: Latossolo da Estação Experimental da UFV.

LATSIP: Latossolo do sítio produtor de café.

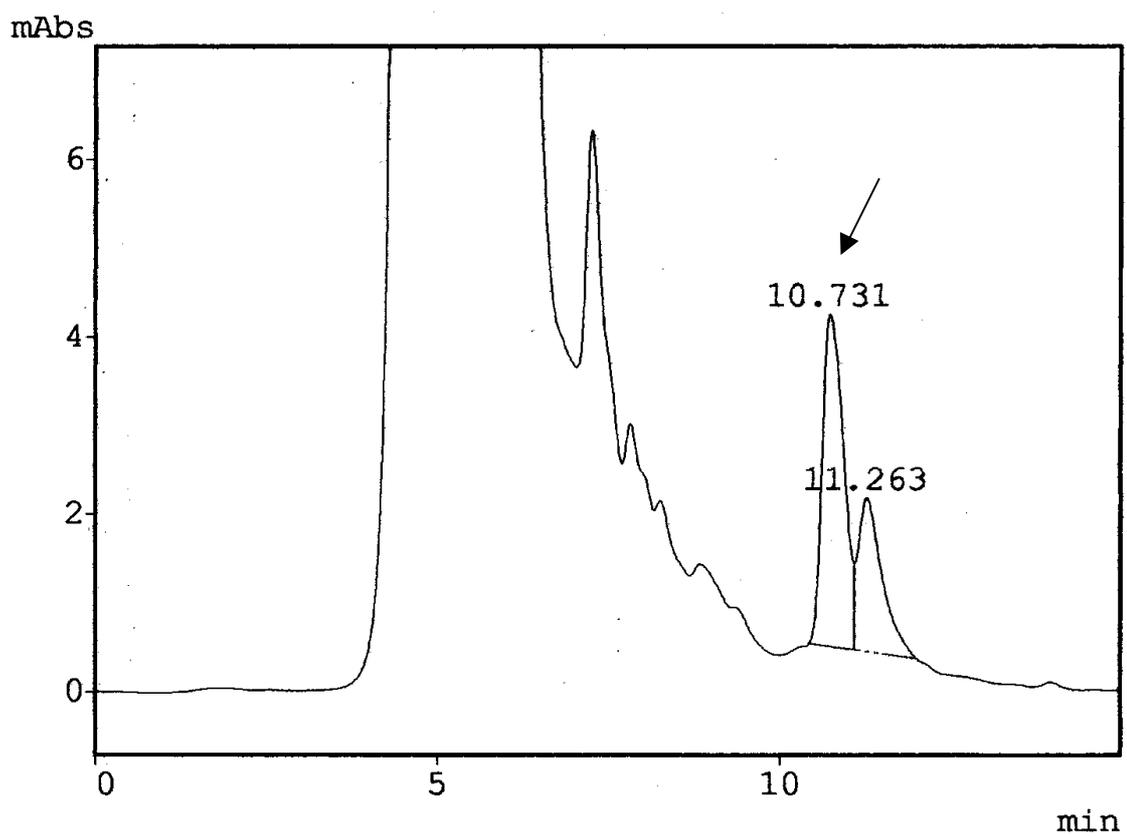
ND: não-detectado.

Observa-se pelo Quadro 6 que a massa de triadimenol encontrada nas amostras de água que percolaram o sistema de tubos com 5,0 cm é inferior a 1%. Nas amostras onde foram aplicados 1.000 µg de padrão de triadimenol (dosagem máxima) encontraram-se os maiores níveis de resíduos, sendo 7,55 µg para o solo LATUFV, e 6,40 µg para o solo LATSIP. Na análise das amostras, onde foi aplicada a dosagem mínima do padrão (500 µg), somente na amostra de solo LATSIP foi detectada a presença do princípio ativo (1,93 µg), também inferior a 1%.

A Figura 11 constitui exemplo de um cromatograma obtido de uma amostra de água que percolou um sistema de 5,0 cm, onde foi aplicado 1,0 mL do padrão de triadimenol a 1.000 µg mL⁻¹, analisado por cromatografia líquida de alta eficiência.

É possível observar na Figura 11 um pico em 11,263, ao lado do pico assinalado como sendo o do triadimenol. Esse pico aparece também nas amostras em branco, podendo ser considerado um interferente.

Em decorrência dos baixos teores de triadimenol, detectados nas colunas de 5,0 cm, tanto para as dosagens máximas como para as dosagens mínimas aplicadas, era esperada a não-deteção do princípio ativo para as colunas de 10 cm, como demonstrado no Quadro 7. O maior comprimento da coluna de solo juntamente com a baixa mobilidade do pesticida foram fatores essenciais para a sua total retenção.



O pico assinalado é correspondente ao triadimenol.

Figura 11 - Cromatograma do extrato de uma amostra de água percolada através de uma coluna de 5,0 cm de solo tratado com 1,0 mL do padrão de triadimenol a $1.000 \mu\text{g mL}^{-1}$, analisada por CLAE.

4.4.2. Análises por CG

Os mesmos extratos analisados anteriormente por CLAE foram analisados por CG. A quantificação do triadimenol nos extratos foi feita em comparação às soluções-padrão injetadas nas mesmas condições (Figura 12).

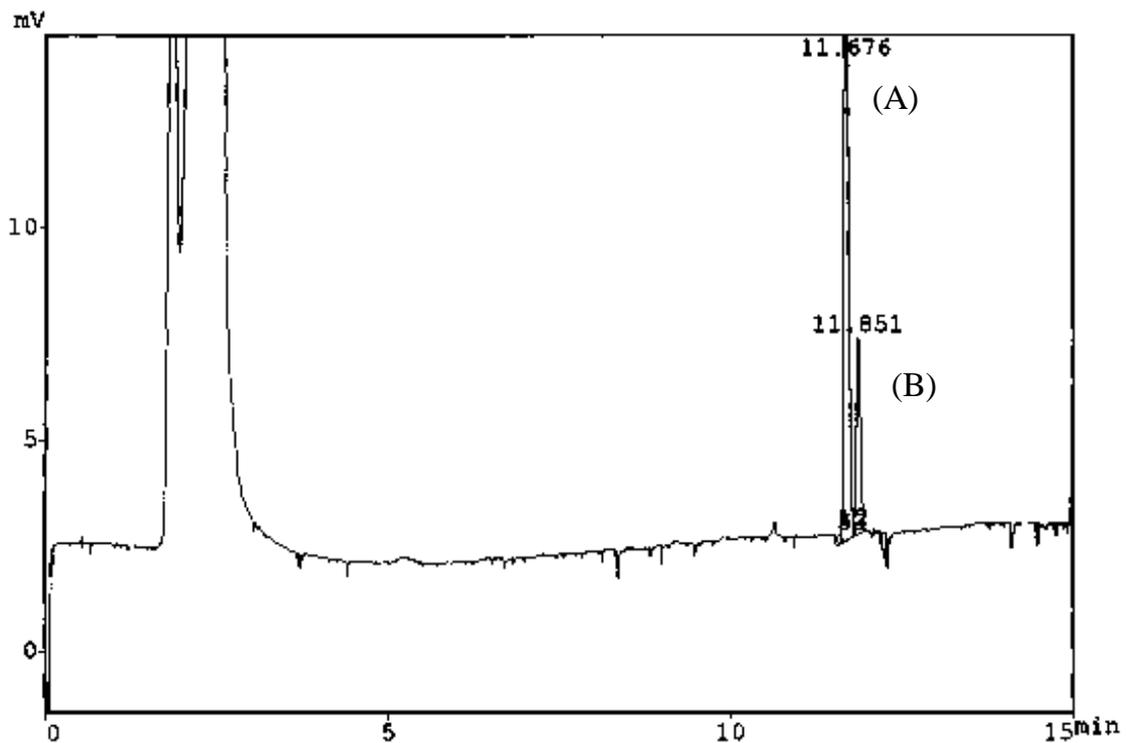


Figura 12 - Cromatograma obtido por CG após a injeção de 1 μ L de padrão de triadimenol 1,0 μ g g⁻¹. (A) Triadimenol A e (B) triadimenol B.

Os resultados obtidos para as amostras de água que percolaram as colunas de 5,0 cm estão expressos no Quadro 8, e para as colunas de 10 cm no Quadro 9.

Quadro 8 - Quantidades de triadimenol aplicadas e percoladas através de colunas de 5,0 cm de solo, após simulação de chuva, e analisadas por CG

Amostra	Dosagem aplicada (μg)	Massa de triadimenol detectada na água (μg)	Triadimenol detectado na água após simulação (%)
LATUFV	1.000	5,23	0,523
LATUFV	500	1,46	0,292
LATSIP	1.000	6,93	0,693
LATSIP	500	0,67	0,134

LATUFV: Latossolo da Estação Experimental da UFV.

LATSIP: Latossolo do sítio produtor de café.

Quadro 9 - Quantidades de triadimenol aplicadas e percoladas através de colunas de 10 cm de solo, após simulação de chuva, e analisadas por CG

Amostra	Dosagem aplicada (μg)	Massa de triadimenol detectada na água (μg)	Triadimenol detectado na água após simulação (%)
LATUFV	1.000	0,59	0,059
LATUFV	500	ND	ND
LATSIP	1.000	ND	ND
LATSIP	500	ND	ND

LATUFV: Latossolo da Estação Experimental da UFV.

LATSIP: Latossolo do sítio produtor de café.

ND: não-detectado.

Assim como os resultados obtidos por CLAE, os resultados por CG também apresentaram-se inferiores a 1% quando as amostras de água percolaram os sistemas de 5,0 cm (Figura 13). Nas amostras de água que percolaram os sistemas com a dosagem máxima recomendada pelo fabricante (1.000 μg), encontram-se somente 5,23 μg e 6,93 μg para os solos LATUFV e LATSIP, respectivamente.

Com relação às amostras de água que percolaram os sistemas com a dosagem mínima recomendada (500 μg), encontraram-se 1,46 e 0,67 μg para os solos LATUFV e LATSIP, respectivamente.

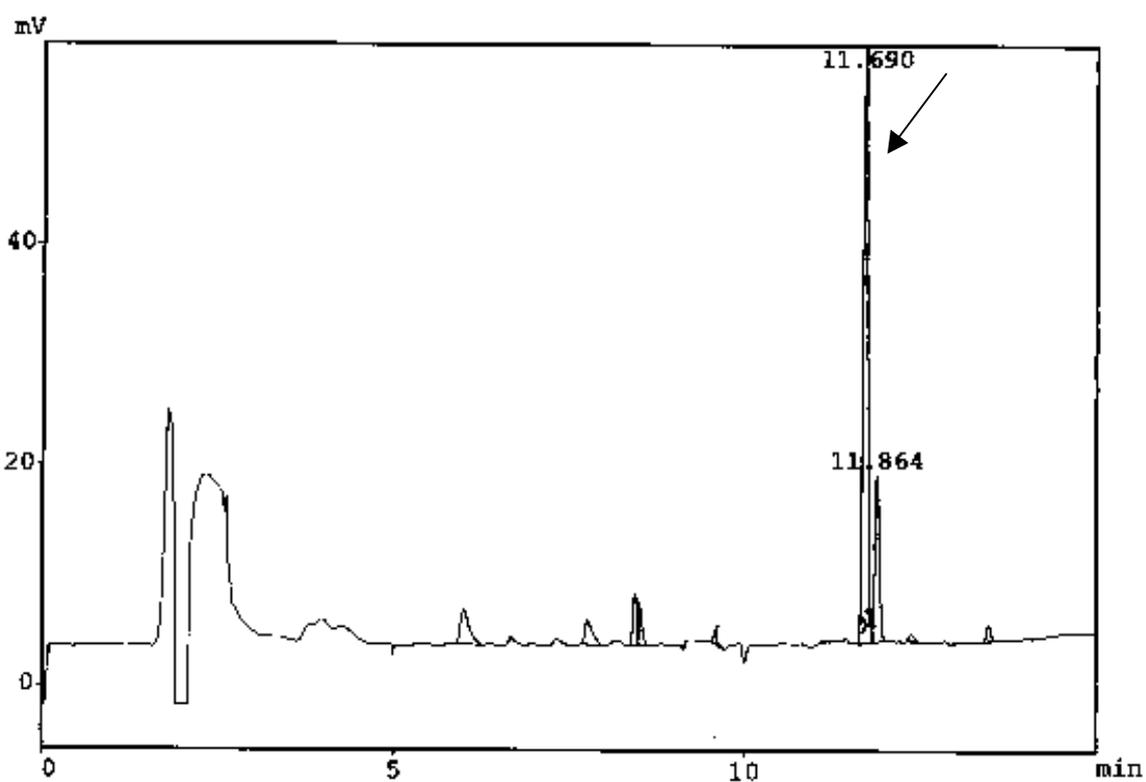
Para as amostras de água que percolaram os sistemas de 10 cm, à exceção da amostra LATUFV com 1.000 μg , não foi detectada a presença do princípio ativo.

Os resultados obtidos por CG mostram-se similares àqueles obtidos por CLAE, permitindo também observar a baixa mobilidade do princípio ativo no solo, principalmente quando se empregaram colunas de solo de 10 cm.

Vários fatores podem afetar a mobilidade de pesticidas no solo, sendo os principais fatores o teor de argila e a interação das partículas da argila com a matéria orgânica presente nos solos (TAVARES et al., 1996).

Os solos utilizados para a realização deste trabalho são considerados latossolos e possuem a caulinita como principal constituinte da fração argila. A caulinita é um mineral do tipo 1:1 (uma lâmina de tetraedros de silício e uma lâmina de octaedros de alumínio ou magnésio) (LINDSAY, 1979). Dos argilo-minerais presentes no solo, a caulinita é a que apresenta o menor valor de capacidade de troca-catiônica. Segundo STEVENSON (1982), a caulinita apresenta uma CTC no intervalo de 3 a 15 meq/ 100g.

Apesar de apresentar baixos valores de CTC, a caulinita tem a capacidade de adsorver moléculas orgânicas, em virtude da camada de grupamentos OH provenientes da lâmina de octaedros de alumínio ou dos valores de pH mais baixos, pela protonação dos grupamentos OH (FONTES, 1990).



O pico assinalado é correspondente ao triadimenol.

Figura 13 - Cromatograma do extrato de uma amostra de água percolada através de uma coluna de 5,0 cm de solo tratado com 1,0 mL do padrão de triadimenol a $1.000 \mu\text{g mL}^{-1}$, analisada por CG.

Os principais mecanismos envolvidos na adsorção de moléculas orgânicas são: adsorção física (forças de van der Waals), atração eletrostática ou adsorção física e ligações (pontes) de hidrogênio (STEVENSON, 1982).

No caso da adsorção do triadimenol, uma possível explicação para a sua adsorção pelas partículas de argila seria pelas formas que não envolvem a formação de cargas, visto que o triadimenol não apresenta a formação de cargas durante a sua degradação. Portanto, as possíveis formas de adsorção do triadimenol pelas partículas de argila seriam as forças de van der Waals e as ligações de hidrogênio.

Os pesticidas podem interagir, basicamente, de duas formas com a matéria orgânica presente no solo: ligando-se aos sítios de adsorção dos colóides orgânicos ou sendo incorporados às novas estruturas de ácidos húmicos e fúlvicos durante o processo de humificação (CHIOU et al., 1986 e STEVENSON, 1982).

4.5. Verificação de perdas durante o processo de simulação de chuva

Foram determinadas perdas decorrentes de uma possível retenção do princípio ativo pela parafina, que reveste o tubo de PVC, e também da retenção de princípio ativo pelo frasco coletor de água (frasco PET).

Aplicou-se 1,0 mL de solução-padrão $1.000 \mu\text{g mL}^{-1}$ de triadimenol em uma coluna de solo, e foi feita uma simulação de chuva correspondente a 60 mm^3 . Após o término da simulação, foi retirada a coluna de solo do interior do tubo, e raspou-se a parafina com o auxílio de uma espátula, até completa remoção. As análises por CLAE não indicaram a presença do triadimenol na parafina.

Para a determinação da retenção do princípio ativo pelo frasco coletor, foram adicionados 500 mL de água destilada fortificados com 1,0 mL do padrão $1.000 \mu\text{g mL}^{-1}$ no frasco coletor, em triplicata. Foram retiradas alíquotas, em

triplicata, de 100 mL com 0, 1, e 2 h, obtendo-se 74,10; 91,40; e 91,27% de recuperação, respectivamente (Quadro 10).

Quadro 10 - Retenção do princípio ativo triadimenol nos frascos coletores (PET) (média de três repetições)

Amostra	Rendimento (%)
0 h	74,10
1 h	91,40
2 h	91,27

Os resultados obtidos não indicaram retenção do princípio ativo pelos frascos coletores. À exceção da alíquota coletada com 0 (zero) hora, onde possivelmente ocorreu um erro experimental, os resultados ficaram próximos aos valores obtidos no rendimento de extração do fungicida nas amostras de água fortificada.

No caso das amostras analisadas com zero hora de contato, pode-se observar que ocorreu um erro experimental ou que não houve tempo suficiente para uma completa difusão do padrão de triadimenol na solução aquosa.

4.6. Extração do princípio ativo do solo

Foram realizadas extrações do princípio ativo triadimenol das amostras de solo, seguindo-se a técnica descrita por SPECHT (1977). Segundo o autor, a extração do triadimenol em amostras de solo deve ser conduzida com uma mistura de água:acetona (1:2,5), seguida de uma extração líquido-líquido com

diclorometano. A solução extraída teve o seu volume final reduzido para 2,0 mL, sendo realizado nesse volume o processo de *clean up*.

No entanto, quando analisados por CLAE, os rendimentos das extrações não apresentaram reprodutibilidade, ocorrendo grandes variações dentro das mesmas repetições. Uma possível explicação para essas variações é a grande quantidade de compostos que são extraídos do solo e que são absorventes na mesma faixa de detecção do composto.

Testes realizados após a condução deste trabalho indicaram que esse problema é contornado, quando as análises são conduzidas por CG, utilizando-se detector específico para nitrogênio-fósforo, com rendimentos de extração superiores a 90% para as amostras de solo.

5. RESUMO E CONCLUSÕES

A análise de resíduos de pesticidas vem se mostrando fundamental no controle do uso de agrotóxicos na agricultura. A utilização abusiva dos agrotóxicos, além de causar sérios danos à saúde do homem do campo, que os manipula diretamente, causa sérios impactos ao meio ambiente, através da contaminação dos solos, das águas, do ar e dos alimentos produzidos.

Um produto amplamente utilizado pelos produtores rurais na Zona da Mata mineira, para controle do bicho mineiro e da ferrugem do cafeeiro, é o Baysiston[®], que tem como princípios ativos um inseticida organofosforado (dissulfoton) e um fungicida do grupo dos triazóis (triadimenol).

A imprensa mineira denunciou vários casos de intoxicação e até de óbitos nessa região, possivelmente causados pelo uso abusivo e inadequado do pesticida Baysiston[®].

Visando verificar a possibilidade de contaminação de lençóis freáticos pela lixiviação dos princípios ativos do Baysiston, estudou-se a percolação do fungicida sistêmico, triadimenol, em duas amostras de solo da microrregião de Viçosa.

Para quantificar os resíduos de triadimenol em água, foram empregadas a cromatografia gasosa com detector termiônico e a cromatografia líquida de alta eficiência com detector UV, as quais foram otimizadas neste trabalho.

Para viabilizar a análise do triadimenol por CLAE, houve a necessidade de investigar uma fase móvel que apresentasse um menor custo por análise. A fase móvel diclorometano:acetato de etila 3:7 mostrou-se eficiente na análise do princípio ativo, apresentando um tempo de retenção próximo de 10 min para o composto. O limite de detecção obtido por essa técnica, para o triadimenol, foi de $0,01 \text{ ng mL}^{-1}$, observando-se boa linearidade de resposta para diferentes intervalos de concentração, como, por exemplo, no intervalo de $0,00001 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ a $1.000 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$, que apresentou um coeficiente de linearidade (R) de 0,99826.

Estes resultados são equivalentes aos obtidos por CG, cujo limite de detecção encontrado foi $0,01 \text{ ng mL}^{-1}$. Esses dados mostram que as duas técnicas podem ser empregadas para quantificar o triadimenol.

Testes de recuperação foram realizados para avaliar a eficiência da extração do triadimenol de amostras de água fortificada com $2 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ do padrão, obtendo-se rendimento de extração médio de 91,34%.

Para avaliar a percolação do triadimenol, duas amostras de solo fortificadas com o padrão do triadimenol, em triplicatas, foram submetidas a uma simulação de chuva equivalente a 60 mm. O princípio ativo foi extraído da água percolada com diclorometano e os extratos obtidos foram analisados por CLAE e por CG.

Os resultados mostraram que os solos fortificados com 0,5 mL de solução-padrão de $1.000 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ do princípio ativo apresentaram percolação no sistema de percolação de 5,0 cm de 0,5%, e de 1% para os solos fortificados com 1 mL da mesma solução-padrão. No entanto, a presença do triadimenol não foi detectada nas águas que percolaram no sistema de percolação de 10 cm, em nenhuma das dosagens testadas.

Os resultados indicam uma baixa movimentação vertical do triadimenol no solo, mostrando que o produto é grandemente adsorvido, visto que apenas uma pequena parte foi detectada nas amostras de água coletadas no sistema de percolação. Isso mostra que dificilmente os lençóis freáticos das regiões que empregam o Baysiston[®], na cultura de café, serão contaminados pelo triadimenol.

No entanto, devem ser conduzidos estudos futuros com relação à forma como ocorre a adsorção do triadimenol pelo solo, a fim de se evidenciar quais componentes do solo contribuem para o fenômeno de adsorção.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACUÑA, R. S., ZAMBOLIM, L., RIBEIRO DO VALE, F. X., CHAVES, G. M., PEREIRA, A. A. Época da primeira aplicação de fungicida baseado no nível inicial da incidência para o controle da ferrugem do cafeeiro. **Fitopatologia Brasileira**, v.17, n.1, p.36-41, 1992.
- ALLMENDINGER, H. A method for determining residues of the fungicide Folicur[®] and Bayfidan[®] in plant material and soil by gas chromatography. **Pflanzenschutz Nachrichten Bayer**, v.44, n.1, p.5-66, 1991.
- BARBOSA, T. M. L., RIGITANO, R. L. O. Influência da classe e da profundidade do solo na degradação do inseticida - nematicida aldicarbe. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.29, n.6, p.955-960, 1994.
- BASKARAN, S., KOOKANA, R. S., NAIDUL, R. Determination of the insecticide imidacloprid in water and soil using high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography**, v.787, n.1/2), p.271-275, 1997.
- BERNARDE, M. A. **Corrida contra a fome**. São Paulo, Atlas, 1971. 120p.
- CARTER, C. W., SUFFET, I. H. Binding of DDT to dissolved humic materials. **Environmental Science Technology**, v.18, n.11, p.735-740, 1982.

- CHEN, Z. M., WANG, Y. H. Chromatographic methods for the determination of pyrethrin na pyrethroid pesticide residues in crops, foods and environmental samples. **Journal of Chromatography**, v.754, n.1/2, p.367-395, 1996.
- CHIOU, C. T., MALCOLM, R. L., BRINTON, T. I., KILE, D. E. Water Solubility enhancement of some organic pollutants and pesticides by dissolved humic and fulvic acids. **Environmental Science Technology**, v.20, n.5, p.502-508, 1986.
- COLLINS, C. H., BRAGA, G. L., BONATO, P. S. **Introdução a métodos cromatográficos**, Campinas: UNICAMP, 1990. 279p.
- CREMLYN, R. J. **Agrochemicals preparation and mode of action**. Guilford: John Wiley & Sons, 1990. 396p.
- CRUZ FILHO, J., CHAVES, G. M., **Antibióticos, fungicidas e nematocidas empregados no controle de doenças de plantas**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1979. 257p.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA– EMBRAPA Serviço nacional de levantamento e conservação dos solos. **Manual de métodos de análise de solo**. Rio de Janeiro. 1979.
- ETO, M. **Organophosphorus pesticides organic and biological chemistry**, N. York: CRC Press, 1974.
- FEST, C., SCHMIDT, K. J. **The chemistry of organophosphorous pesticides, reactivity, synthesis, mode of action, toxicology**. Berlin: Springer-Verlag, 1973. 339p.
- FLETCHER, R. A., HOFSTRA, G. Triadimefon a plant multi-protectant. **Plant Cell Physiology**, v.26, n.4, p.775-780, 1985.
- FONTES, M. P. F. **Troca iônica**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1990, 72p. (Notas de aula de SOL 650- Química do Solo).
- GALLO, D. Manual de entomologia agrícola. 2 ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 1988. p.187-202.

- GARCIA, G. Improved method for the determination of triadimefon, triadimenol-A and triadimenol-B in wheat plants (*triticum aestivum L.*) and soil samples by gas chromatography. **Fresenius' Journal of Analytical Chemistry**, v.339, p.402-404,1991.
- GRAZIANO NETO, F. **Uso de agrotóxicos e receituário agrônômico**, São Paulo: Agroedições, 1982. p.194.
- HOMSBY, A. G., BUTTLER, T. M., COLVIN, D. L., SPRENKEL, R. E. DUNN, R. A., KUCHAREK, T. A. **Wheat: Managing pesticides of crop production and water quality protection**. University of Florida- Florida Cooperative Extension Service, 1995. 8p. (Circular 1015).
- IBGE. **Brasil- Desempenho da Agricultura**. 1996. (Relatório).
- IBRAHIM, F. B., GILBERT, J. M., EVANS, R. T., CAVAGNOL, J. C. Decomposition of Di-Syston (O,O-diethyl S-[2-(ethylthio)ethyl] phosphorodithioate) on fertilizers by infrared, gas-liquid chromatography, and thin-layer chromatography. **Journal of Agricultural Food and Chemistry**, v.17, n.2, p.300-305, 1969.
- KRAUS, P. Studies on uptake translocation of Bayleton® in grape plants. **Pflanzenschutz Nachrichten Bayer**, v.34, n.3, p.197-212, 1981.
- LAGANA, A., FAGO, G., MARINO, A. Simultaneous determination of imidazoline herbicides from soil and natural water using soil column extraction and off-line solid-phase extraction followed by liquid chromatography with UV detection or liquid chromatography electrospray mass spectroscopy. **Analytical Chemistry**, v. 70, n.1, p.121-130, 1998.
- LINDSAY, W. L. **Chemical equilibria in soil**. New York: John Wiley & Sons, 1979. 449p.
- MAQUEDA, C., MORILLO, E., PÉREZ, J. L., JUSTO, A. Adsorption of chlordimeform by humic substances from different soils. **Soil Science**, v.150, n.1, p.431-437. 1990.
- MARTIN, H., WORTHING, C. R. **Pesticide manual, basic information on the chemicals used as active components of pesticides**, 5. ed., British Crop Protection Council, 1968.

- METCALF, R. L. Development of selective and biodegradable pesticides in pest control. **In: Pest Control- Strategies for the Future**, National Academy of Science, Agricultural Board Division of Biology and Agriculture National Research Council, 1972. 376p.
- MILLET, M., WORTHAM, H., SANUSI, A., MIRABEL, P. A multiresidue method for determination of trace levels of pesticides in air and water. **Archive of Environmental of Contamination Toxicology**. v.31 n.4, p.543-556, 1996.
- MEYER, V. **Practical high-performance liquid chromatography**, 2 ed., New York: John Wiley & Sons, 1993, p.123-143.
- MORGAN, D. P. **Fungicides**. University of Florida- Florida Cooperative Extension Service, 1989. 14p.
- PAPANTONI, M., MATHIASSEN, L. Long-term studies of fungicide concentration in greenhouses. 1- Technique for determining surficial foliar residues of fungicides with vinclozolin and triadimefon as model compounds. **Journal of Agricultural Food and Chemistry**, v.43, n.1, 1995, p.157-164.
- PIFFER, R., Movimento e degradação de Aldicarbe e Sulfona de Aldicarbe em dois diferentes solos. Lavras: Escola Superior de Agricultura de Lavras, 1989. (Mestrado em Química). 99p.
- ROAN, C. C. **Inseticides, fungicides and herbicides**, In: in Handbook of Food and Agriculture, New York: Reinhold Publishing Corporation,, 1955. 145p.
- ROBINSON, J., RICHARDSON, A., CRABTREE, A. N. Organochlorine residue in marine organisms. **Nature**, v.214, n.5088-5095, p.1307-1311,1967.
- RÜEGG, E. F., PUGA, F. R., SOUZA, M. C. M., ÚNGARARO, M. T. S., FERREIRA, M. da S., YOKOMIZO, Y., ALMEIDA, W. F. O impacto dos agrotóxicos - sobre o ambiente, a saúde e a sociedade, 2. ed., São Paulo: Icone, 1991. 96p.
- SANTOS, A. S. R. Agroambiental, será assim a nova agricultura mundial, *Estado de Minas*, Belo Horizonte, 11 mar. 1998. Suplemento Agropecuário, p. 2.

- SÃO PAULO. Secretaria de Agricultura e Abastecimento. Comissão Técnica Permanente de Café da S.A.A. **Controle químico da ferrugem do cafeeiro**. Campinas, 1984, 3p.(Informativo Técnico, 1).
- SÃO PAULO. Secretaria de Agricultura e Abastecimento. Comissão Técnica Permanente de Café da S.A.A. **Controle do bicho-mineiro do cafeeiro**. Campinas, CATI, 1985. 3p. (Informativo técnico, 4).
- SLAHCK, S. C. Liquid chromatographic determination of triadimefon in technical and formulated products: collaborative study. **Journal of Associated Analytical Chemistry**. v.68, n.3, p.586-589, 1985.
- SPECHT, W. Gas-chromatographic method for determining residues of the fungicide fuberidazol, fluotrimazole and triadimefon in plant and soil. **Pflanzenschutz Nachrichten Bayer**, v.30, n.1, 55-71, 1977.
- STAVINOHA, W. B. Effects of Chronic Poisoning by an Organophosphorus Cholinesterase Inhibitor on Acetylcholine and Norepinephrine Content of the Brain. In: **Organic Pesticides in the Environment, American Chemical Society Publications**, 1966. 309p.
- STEVENSON, F. J. **Humus Chemistry**, New York: John Wiley & Sons, 1982, 443p.
- SZETO, S. Y., BROWN, M. J. Gas-liquid chromatographic methods of the determination of disulfoton, phorate, oxidemeton-methyl, and their toxic metabolites in asparagus tissue and soil. **Journal of Agricultural Food and Chemistry**, v.30, n.6, p.1082-1086, 1982.
- SZETO, S. Y., VERNON, R. S., BROWN, M. J. Degradation of disulfoton in soil and its translocation into asparagus. **Journal of Agricultural Food and Chemistry**, v.31, n.2, p.217-220, 1983.
- TAVARES, M. C. H., LANDGRAF, M. D., VIEIRA, E. M., REZENDE, M. O. O. Estudo da adsorção-desorção da trifluralina em solo e em ácido húmico. **Química Nova**, v.19, n.6, p.605-608, 1996.
- TAGLIALEGNA, G. H. F. **Estudo sobre o comportamento do mercado internacional de café nos últimos 50 anos: 1946 – 1995**, Universidade de São Paulo Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. 1996.

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, n.16, p.895-898, 1968.

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

APÊNDICES

APÊNDICE A

A densidade dos solos utilizados na condução do experimento foi determinada, utilizando-se um anel de metal de volume conhecido. O anel foi introduzido no perfil do solo (Figuras 1A e 2A) e, em seguida, retirado e levado ao **laboratório**, para a determinação da massa de solo, após secagem em estufa a $\pm 105^{\circ}\text{C}$, para a retirada da água.



Figura 1A - Introdução do anel de metal, no perfil de um dos solos utilizados, para a determinação da densidade.

O volume do anel de metal utilizado (Figura 2A) foi de $83,12 \text{ cm}^3$, e as massas de solo determinadas após a secagem foi de 97,09 g para o solo LATUFV e de 97,93 g para o solo LATSIP. Dessa forma, as densidades obtidas foram de $1,17 \text{ g cm}^{-3}$ para o solo LATUFV e de $1,20 \text{ g cm}^{-3}$ para o solo LATSIP.

A partir da densidade do solo, e sabendo-se o volume dos anéis de PVC (393 cm^3) utilizados no sistema de percolação, calcularam-se as massas de solo, para cada tubo, chegando-se aos valores de 460 g para o solo LATUFV e de 472 g para o solo LATSIP.

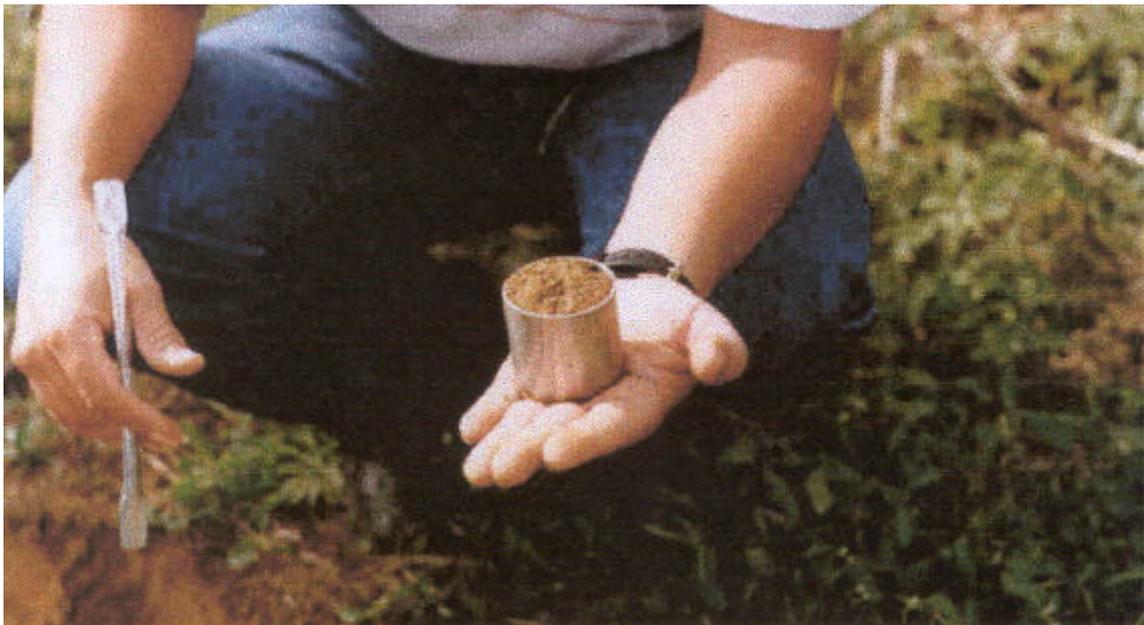


Figura 2A - Detalhe do anel de metal após a retirada do mesmo do perfil do solo.

APÊNDICE B

Os cálculos para se determinar o volume de chuva a ser aplicado em cada um dos sistemas de percolação foram feitos, tomando-se por base uma chuva de 60 mm, ou seja, 60 L/m². Sabendo-se que a área do tubo utilizado no sistema de percolação era de 0,078 m², chegou-se então a um volume de água de 468 mL por sistema de percolação.