

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA AMBIENTAL

ESTÉFANO NAKAMURA

**AVALIAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE PESTICIDAS
ORGANOCLORADOS EM ÁGUAS SUPERFICIAIS PELA
OTIMIZAÇÃO DA TÉCNICA USAEME**

DISSERTAÇÃO

2015
LONDRINA

ESTÉFANO NAKAMURA

**AVALIAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE PESTICIDAS
ORGANOCLORADOS EM ÁGUAS SUPERFICIAIS PELA
OTIMIZAÇÃO DA TÉCNICA USAEME**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental da Universidade Tecnológica Federal do Paraná como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Engenharia Ambiental. Área de concentração: Engenharia Ambiental.

Orientadora: Prof^a. Dra. Ana Cláudia Ueda

2015
LONDRINA

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca UTFPR - Câmpus Londrina

N163a Nakamura, Estéfano

Avaliação das concentrações de pesticidas organoclorados em águas superficiais pela otimização da técnica USAEME / Estéfano Nakamura – Londrina: [s.n.], 2015.
87 f.: il.; 30 cm.

Orientador: Prof.^a Dr.^a Ana Cláudia Ueda
Dissertação (Mestrado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná.
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental. Londrina, 2015.
Bibliografia: f. 75-79.

1. Pesticidas. 2. Águas Superficiais. 3. Água – Teor de Pesticidas. I. Ueda, Ana Cláudia, oriet. II. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. III. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental. IV. Título.

CDD: 628



Ministério da Educação
Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Pró-reitora de Pesquisa e Pós Graduação
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental
Campus Apucarana/Londrina



TERMO DE APROVAÇÃO

**AVALIAÇÃO DAS CONCENTRAÇÕES DE PESTICIDAS
ORGANOCLORADOS EM ÁGUAS SUPERFICIAIS PELA
OTIMIZAÇÃO DA TÉCNICA USAEME**

por

Estéfano Nakamura

Dissertação de mestrado apresentada no dia 07 de Dezembro de 2015 como requisito parcial para a obtenção do título de MESTRE EM ENGENHARIA AMBIENTAL pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Câmpus Apucarana/Londrina, Universidade Tecnológica Federal do Paraná. O Candidato foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho Aprovado. (Aprovado ou Reprovado)

Prof. Dr (ª)- Ana Claudia Ueda
(UTFPR)

Prof. Dr(ª)- Suzana Lucy Nixdorf
(UEL)

Prof. Dr - Edson Fontes de Oliveira
(UTFPR)

Prof. Dr Edson Fontes de Oliveira
Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental

A Folha de Aprovação assinada encontra-se na Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental

Dedico este trabalho a minha
mãe, a meu pai (In Memoriam) e
a minha esposa Patrícia.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Apucarana/Londrina.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental.

À minha orientadora Profa. Dra. Ana Cláudia Ueda pela orientação e amizade durante esse período.

Ao Prof. Dr. Edson Fontes de Oliveira pela grande ajuda neste trabalho.

Aos integrantes do Laboratório de Ecologia Teórica e Aplicada – LETA da UTFPR de Londrina: Nathália, Bruno, Victor, Gabriel, Loueverton, Thiego, Luiza e Letícia, pela grande ajuda nas coletas.

À CAPES pela concessão da bolsa de estudo.

À Alexandra Beal pela força na coleta e à Flavianny com a ajuda na parte experimental.

Às novas amizades adquiridas ao longo do curso.

RESUMO

NAKAMURA, Estéfano. Avaliação das concentrações de pesticidas organoclorados em águas superficiais pela otimização da técnica USAEME. 2015. 87 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Apucarana – Londrina. Londrina, 2015.

O presente estudo objetivou a determinação de pesticidas organoclorados (OCP, do inglês *Organochlorine Pesticides*) em águas superficiais do rio Taquara por meio da otimização da técnica de extração USAEME (do inglês *Ultrasound - Assisted Emulsification Microextraction*) e análise por Cromatografia Gasosa Acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM). A extração foi otimizada para determinação 16 pesticidas organoclorados simultaneamente (α -BHC, γ -BHC, β -HC, δ -BHC, heptacloro, aldrin, heptacloro epóxido, γ -clordano, endosulfan I, α -clordano, 4,4'-DDE, dieldrin, endrin, endosulfan II, 4,4'-DDD, endrin aldeído, endosulfan sulfato, 4,4'-DDT, endrin cetona e metoxicloro). Para isso, foi proposto um planejamento experimental do tipo DCCR (Delineamento Composto Central Rotacional), no qual foram avaliados os seguintes fatores: volume de solvente extrator (clorofórmio), tempo de agitação manual e tempo de exposição ao ultrassom, no total de 20 ensaios. Dentre as variáveis, o volume de clorofórmio foi o mais significativo para todos os 16 pesticidas, principalmente pelo fato que seu volume influencia diretamente o fator diluição do extrato, sendo o valor ótimo de 122 μ L. Para a agitação manual, tempos maiores que 1 segundo, não se apresentaram significativos para o processo de extração. Na etapa do ultrassom, tempos maiores que 14 minutos influenciaram negativamente para a extração, principalmente devido à elevação da temperatura do sistema. O aumento da temperatura acabava provocando uma maior solubilização do clorofórmio na fase aquosa, com isso diminuindo a eficiência da extração. Já o percentual de recuperação, realizada a partir de amostras reais com adição de padrão em três níveis (0,5, 1,0 e 2,0 μ g L⁻¹), variaram entre 65,35 a 127,14%, valores considerados adequados por se tratarem de análises ambientais. Os valores dos limites de detecção, LOD (*Limit of Detection*) e de quantificação, LOQ (*Limit of Quantification*) variaram de 0,13 à 0,50 e 0,39 à 1,52 μ g L⁻¹ respectivamente. Quanto a presença dos OCP nas águas superficiais, verificou-se a presença da série do endosulfan em 78% dos pontos amostrados. Foi apontado a presença do DDT e seus metabólitos DDD e metoxicloro exclusivamente no ponto 3, e nas coletas de maio, junho e novembro apenas. Fatos que reforçam o rótulo de poluentes persistentes, principalmente em relação ao DDT, que mesmo após décadas da sua proibição, ainda são encontrados no ambiente.

Palavras-chave: Pesticidas Organoclorados, USAEME, CG-EM, Águas Superficiais.

ABSTRACT

NAKAMURA, Estéfano. Assessment of organochlorine pesticide concentrations in water and analysis by optimized USAEME. 2015. 87 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Apucarana – Londrina. Londrina, 2015.

The main goal of this study was to determine organochlorine pesticides (OCP) concentrations from Taquara River using optimized USAEME extraction technique ((Ultrasound - Assisted Emulsification Microextraction) and analysis by GC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectrometry). The extraction process was optimized on the determination of 16 organochlorine pesticides simultaneously (α -BHC, γ -BHC, β -HC, δ -BHC, heptachloro, aldrin, heptachloro epóxido, γ -clordano, endosulfan I, α -clordano, 4,4'-DDE, dieldrin, endrin, endosulfan II, 4,4'-DDD, endrin aldeído, endosulfan sulfato, 4,4'-DDT, endrin cetona e metoxicloro). Therefore, the influence a DCCR design (Delineation Central Composite Rotational) with 20 experiments was proposed, in which the following factors were evaluated: extractor solvent volume (chloroform), manual agitation time and time of ultrasound exposure. Among the factors, solvent volume was the most significant parameter to all 20 pesticides, mainly for the fact that its volume influenced directly the extract dilution factor, with the optimum value 122 μ L. For manual agitation, time superior to 1 second were not significant to enhance extraction. For ultrasound assisted phase, time superior to 14 minutes negatively influenced the extraction due to elevation on system temperature. Higher temperatures promote higher solubilization of chloroform in the aqueous phase, diminishing extraction efficiency. Percentage of recovery of the compounds in real samples fortified in three different levels (0.5, 1.0 and 2.0 μ g L⁻¹) varied from 65,35 to 127,14%, which can be considered adequate for environmental analysis. Limit of Detection (LOD) and Limit of Quantification (LOQ) varied from 0.13 to 0.50 and 0.39 to 1.52 μ g L⁻¹, respectively. As for the presence of the OCP in real samples, it was detected the endosulfan family in 78% of the samples. DDT and its metabolites, DDD and metoxiclor, were found, exclusively on site 3, and for May, June and November samples only. Those facts reinforce that even after decades of the prohibition of use of these pesticides, mostly for DDT, they are still found in the environment.

Keywords: organochlorine pesticides, USAEME, GC-MS, surface waters.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Tendência de biomagnificação de PCB ao longo da cadeia alimentar na região dos Grandes Lagos na América do Norte	20
Figura 2 – Esquema da dinâmica dos pesticidas no meio ambiente	21
Figura 3 – Localização da bacia hidrográfica do Taquara	32
Figura 4 – Pontos de amostragem do rio Taquara (Bacia do rio Tibagi, Londrina – PR)	33
Figura 5 – Superfície de resposta da desejabilidade global do primeiro DCCR	39
Figura 6 – Variação do volume de clorofórmio recuperado da extração sob as mesmas condições no ponto central do DCCR	41
Figura 7 – Programação de temperatura para o forno da coluna	44
Figura 8 – Gráfico comparativo da (a) variação da turbidez em relação a precipitação e (b) condutividade pela temperatura para cada um dos pontos durante as coletas das amostras no Rio Taquara	46
Figura 9 – Cromatogramas obtidos a partir fortificação da (a) água ultrapura e (b) amostra real com padrão, com uma concentração final de $10 \mu\text{g L}^{-1}$ de cada OCP avaliados, submetidos a extração USAEME (1: heptacloro; 2 : aldrin; 3: heptacloro epóxido; 4: γ -clordano; 5: endosulfan I; 6: α -clordano; 7: 4,4'-DDE; 8: dieldrin; 9: endrin; 10: endosulfan II; 11: 4,4'-DDD; 12: endrin aldeído; 13: endosulfan sulfato; 14: 4,4'-DDT; 15: endrin cetona; 16: metoxicloro)	49
Figura 10 – Superfície de resposta (a) tempo de agitação manual por volume de solvente, (b) tempo de ultrassom por volume de solvente e (c) tempo de ultrassom por agitação manual	58
Figura 11 – Gráfico de recuperação (%) para três níveis de fortificação: 0,5, 1,0 e 2,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, que correspondem respectivamente aos pontos de baixa, média e alta concentração adicionados a amostra, para cada um dos pesticidas organoclorados	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Propriedades físico-químicas como peso molecular, solubilidade em água, coeficiente de partição octanol-água, pressão de vapor e tempo de meia vida estimado no solo ($t_{1/2}$), e suas respectivas estruturas químicas.....	19
Tabela 2 – Publicações empregando USAEME como técnica de extração de OCP em amostras de água	27
Tabela 3 – Coordenadas geográficas dos três pontos de amostragem no rio Taquara	33
Tabela 4 – Relação de reagentes utilizados na análise dos OCP e suas respectivas purezas	35
Tabela 5 – Matriz do DCCR com as variáveis codificadas e as variáveis reais	43
Tabela 6 – Parâmetros de temperatura do forno da coluna do CG-EM: taxa de aquecimento, temperatura final e tempo de permanência	44
Tabela 7 – Valores dos parâmetros físicos e químicos avaliados para as amostras de água coletadas nos 3 pontos do Rio Taquara	47
Tabela 8 – Parâmetros do modo SIM do espectrômetro de massa: tempo inicial e final de leitura e os valores de massa dos íons monitorados para os 16 pesticidas organoclorados avaliados	48
Tabela 9 – Valores das variáveis do DCCR para o primeiro estudo	50
Tabela 10 – Valores dos níveis dos fatores do DCCR do segundo estudo	51
Tabela 11 – Análise de variância (ANOVA) para o planejamento DCCR para extração USAEME para cada OCP avaliado	53
Tabela 12 – Equações dos modelos quadráticos e os valores dos coeficientes de determinação (R^2) e do coeficiente de variação (CV) para cada pesticida organoclorado	55
Tabela 13 – Valores preditos para cada uma das variáveis de resposta avaliados pela aplicação da desejabilidade global e os valores observados experimentalmente obtidos a partir das condições otimizadas dadas pela função desejabilidade.....	60
Tabela 14 – Valores de Recuperação e seus respectivos coeficientes de variação (CV) para 3 níveis de fortificação (0,5, 1,0 e 2,0 $\mu\text{g L}^{-1}$)	63
Tabela 15 – Parâmetros da curva de calibração (equação da reta e coeficiente de correlação) e os limites de detecção e quantificação (LOD e LOQ respectivamente) obtidos a partir da metodologia de extração USAEME e analisado por CG-EM.....	67
Tabela 16 – Resultado das coletas para os 16 OCP avaliados	73

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. OBJETIVOS	14
2.1. OBJETIVO GERAL.....	14
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	14
3. REVISÃO DE LITERATURA.....	15
3.1. PESTICIDAS	15
3.1.1. Pesticidas Organoclorados.....	18
3.2. DISPERSÃO NO MEIO.....	21
3.3. MÉTODOS DE ANÁLISES DE PESTICIDAS.....	23
3.3.1. Extração de Pesticidas	23
3.3.2. Cromatografia Gasosa Acoplado à espectrometria de massas - CG-EM.....	28
3.4. PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL	29
3.4.1. Desejabilidade.....	30
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	31
4.1. LOCAL DE AMOSTRAGEM	31
4.2. PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS DAS AMOSTRAS.....	34
4.2.1. pH, Turbidez, Condutividade e Temperatura.....	34
4.2.2. Dureza.....	34
4.2.3. Cloreto.....	34
4.2.4. Amônia	35
4.2.5. Nitrito	35
4.2.6. Nitrato.....	35
4.3. DETERMINAÇÃO DE PESTIDICAS ORGANOCLORADOS	35
4.3.1. Reagentes Utilizados.....	35
4.3.2. Instrumentação.....	36
4.3.3. Delineamento Composto Central Rotacional.....	36
4.3.3.1. Escolha do solvente extrator.....	36
4.3.3.2. Volume de solvente extrator.....	37
4.3.3.3. Tempo de exposição ao ultrassom.....	38
4.3.3.4. Tempo de agitação manual pré-sonicação.....	39
4.3.3.5. Demais parâmetros da extração: força iônica, tempo de centrifugação, volume de amostra e temperatura.....	40

4.3.3.6.	Matriz do planejamento experimental.....	42
4.3.4.	Cromatografia Gasosa Acoplado à espectrometria de massas	44
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
5.1.	ANÁLISES FÍSICAS E QUÍMICAS DAS AMOSTRAS DE ÁGUA	45
5.2.	CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADO À ESPECTROMETRIA DE MASSAS	48
5.3.	PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL.....	49
5.3.1.	Desejabilidade.....	57
5.4.	ENSAIO DE RECUPERAÇÃO	61
5.5.	CURVA ANALÍTICA	66
5.6.	DETERMINAÇÃO DE OCP NO RIO TAQUARA.....	71
6.	CONCLUSÃO	74
	REFERÊNCIAS.....	75
	ANEXO I.....	79

1. INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de pesticidas orgânicos sintéticos, juntamente com o aprimoramento das técnicas agrícolas e melhoramento genético das culturas, foram primordiais para o aumento da produtividade no campo. Devido ao seu caráter lipofílico e alta estabilidade dos pesticidas frente à degradação química, física e biológica, foram considerados ótimos agentes para controle de pragas, porém, essas mesmas características desejáveis para a agricultura, tornaram-se fatores negativos para o ambiente. Alta persistência no ambiente e facilidade de se incorporar em tecidos adiposos, proporcionam condições favoráveis para a sua dispersão no ambiente e, conseqüentemente, para a sua bioacumulação e biomagnificação ao longo da cadeia alimentar. Independente da via de dispersão desses compostos (percolação para camadas inferiores do solo, escoamento superficial devido à chuva, deposição úmida ou seca promovida pelo transporte atmosférico), os recursos hídricos constituem, na maioria das vezes, os seus principais destinos. Estes poluentes podem atingir importantes mananciais de abastecimento, o que compromete a integridade não somente do ecossistema aquático, mas também coloca em risco a saúde daqueles que consomem essa água contaminada, já que o sistema convencional de tratamento de água para abastecimento público não apresenta eficiência para remoção desse tipo de composto.

Com foco nessa problemática, há uma crescente preocupação em monitorar a presença desses pesticidas nos corpos d'água. Mas, uma das dificuldades encontradas é desenvolver metodologias de baixo custo que permitam determinar esses compostos com eficiência, pois trata-se de uma matriz de alta complexidade onde está inserido um poluente que muitas vezes se encontra a nível de traço. Portanto, a escolha do método de extração e pré-concentração acaba tornando-se a parte mais crítica nesse tipo de análise.

Para determinação de pesticidas em matrizes ambientais aquosas, existem basicamente dois métodos de extração: a tradicional líquido-líquido e a extração em fase sólida, ambas dependentes do emprego de um volume alto de solventes, muitas vezes tóxicos, além de adicionarem uma etapa a mais no processo para concentração do analito. No intuito de melhoramento desses dois métodos tradicionais, sugeriram suas variações miniaturizadas. A microextração em fase sólida

permite, de acordo com o tipo de análise, eliminar o emprego de solvente, porém seu emprego acaba sendo restritivo, devido ao elevado custo dessas fibras. Com isso, a microextração líquido-líquido torna-se uma opção viável, pois faz uso de uma quantidade mínima de solvente, além de diminuir o tempo de análise, pois agrega em uma única etapa a extração e pré-concentração.

No presente trabalho optou-se pela microextração líquido-líquido com o diferencial de ser assistida por ultrassom. Com intuito de maximizar todos os parâmetros relevantes para extração, realizando o mínimo de ensaios possíveis, foi empregado o Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR). Trata-se de uma ferramenta estatística que proporciona ao pesquisador observar o comportamento das variáveis, de modo a estudar todas as interações possíveis, porém, sem a necessidade de executar um número muito grande de ensaios para isso.

Após otimizados os parâmetros da extração, a mesma foi aplicada para amostras reais coletados ao longo de três pontos do rio Taquara, na determinação simultânea de 16 pesticidas organoclorados por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas.

2. OBJETIVOS

2.1.OBJETIVO GERAL

Aplicar a técnica de microextração por emulsificação assistida por ultrassom (USAEME) na extração de pesticidas organoclorados em amostras reais coletados do rio Taquara (bacia do Rio Tibagi, Londrina – PR).

2.2.OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Otimizar os parâmetros da extração empregando o planejamento DCCR (Delineamento Composto Central Rotacional), para as variáveis: volume de solvente extrator, tempo de agitação manual pré-ultrassom e tempo de ultrassom;
- Definir os valores ótimos a partir do emprego da função Desejabilidade Global;
- Determinar a presença de pesticidas organoclorados em amostras coletadas do rio Taquara através da USAEME/CG-EM.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1. PESTICIDAS

De acordo com a *International Union of Pure and Applied Chemistry* – IUPAC (2012), os pesticidas são substâncias pertencentes a uma ampla classe de compostos bioativos empregados principalmente na produção de alimentos, na qual possui funções básicas de prevenir, controlar e destruir pragas de origem animal, vegetal ou microbiológica que, de um modo ou outro, afetam a produção e o armazenamento de alimentos.

No Brasil, a legislação em vigor emprega o termo agrotóxico que, de acordo com o Decreto 4.074/2002 que regulamenta a Lei 7.082/1989, define agrotóxicos e afins como produtos e agentes de processos físicos, químicos ou biológicos, destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e no beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas, nativas ou plantadas, e de outros ecossistemas e de ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos, bem como as substâncias e produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores de crescimento (BRASIL, 1989; BRASIL, 2002).

Além de pesticidas e agrotóxicos, vários outros termos são empregados para designar esse tipo de compostos, como, por exemplo, defensivo agrícola, veneno, praguicidas, entre outros, porém, será adotado nesse trabalho o termo pesticida que é termo mais difundido no meio científico.

Historicamente, o homem sempre buscou maneiras de combater ou controlar as pragas que atacavam suas plantações e os estoques da produção agrícola. Relatos bíblicos já apontavam a devastação das plantações por causa de ataque de pragas, porém, nessa época esses episódios eram tratados como castigo enviado pelos deuses e, conseqüentemente, o tratamento dado a esses ataques era restrito apenas a rituais religiosos como forma de prevenção ou aniquilação de pragas. O emprego de substâncias químicas para remediar ou prevenir as perdas no campo

só foram possíveis devido a observações realizadas ao longo dos anos. Os sumérios já empregavam enxofre para combater insetos, isso em 2500 a.C. Em 400 a.C. se tinha conhecimento que o piretro, extraído das flores secas de plantas do gênero *Chrysanthemum cinerariaefolium*, tinha efeito positivo no controle de piolho. Os chineses já faziam uso no século XIV de arsênio, mercúrio, ervas, óleos e cinzas no controle de pragas. Com o desenvolvimento das técnicas agrícolas durante o século XVII, vários compostos inorgânicos passaram a ser utilizados com o propósito de prevenir ou erradicar as pragas. Muitos desses compostos empregados apresentavam alta toxicidade e era comum, em um primeiro momento, apresentarem resultados positivos, mas com o tempo as pragas acabavam adquirindo resistência. Um exemplo disso foi o ácido cianídrico, amplamente utilizado nos Estados Unidos no final do século XIX como inseticida de aplicação doméstica, com uma eficiência satisfatória inicialmente, porém, no decorrer do tempo os insetos acabaram adquirindo certa resistência ao produto (BRAIBANTE; ZAPPE, 2012).

Os compostos orgânicos extraídos de fontes vegetais também foram empregados, mas sua eficácia era dependente principalmente da sua estabilidade após a aplicação, pois muitos eram fotossensíveis, o que demandava aplicações mais constantes, elevando o custo de produção. Foi a partir da 2ª Guerra Mundial que se iniciou o desenvolvimento e aplicação em grande escala dos pesticidas orgânicos sintéticos, com destaque para a descoberta das propriedades como pesticida do, 1,1-tricloro-2,2-di(p-clorofenil)etano, mais conhecido como DDT, em 1939 por Paul Müller. Inicialmente, o DDT foi empregado durante a guerra para proteger as tropas da infestação de piolhos, vetores da tifo endêmica. Por causa da sua eficácia acabou sendo adotado também em campanhas públicas de saúde no controle de outros vetores de doença no pós-guerra, principalmente no combate à malária, fato que rendeu a Müller o prêmio Nobel em medicina no ano de 1948 (BRAIBANTE; ZAPPE, 2012; D'AMATO; TORRES; MALM, 2002).

Devido à sua alta estabilidade química, baixo preço aliado à alta toxicidade, baixa solubilidade em água e, conseqüentemente, alta lipofilicidade, o que propicia o acúmulo nos tecidos adiposos dos seres vivos, o DDT foi amplamente utilizado na agricultura como pesticida durante mais de 25 anos. Isso provocou a pesquisa e a formulação de vários outros compostos orgânicos clorados sintéticos, como, por exemplo, o aldrin, o dieldrin e o heptacloro, os quais apresentavam os

mesmos atributos do DDT, sendo então classificados como pesticidas organoclorados (D'AMATO, TORRES e MALM, 2002; BRAIBANTE; ZAPPE, 2012).

De fato, é incontestável a importância desses compostos para o desenvolvimento da agricultura, pois a partir do surgimento e aplicação dessas substâncias no campo, juntamente com as pesquisas de melhoramento genético e a intensificação da mecanização, foi possível um grande salto na produtividade agrícola. O seu papel na história permitiu a minimização das perdas devido ao ataque de pragas e doenças tanto no campo como no pós-colheita (transporte e armazenagem da safra) (BRAIBANTE; ZAPPE, 2012; NUNES; TAJARA, 1998).

Porém, esse avanço significativo no desenvolvimento da agricultura teve um custo para o ambiente, pois uso desses pesticidas, muitas vezes de forma indiscriminada e principalmente da classe dos organoclorados, trouxeram consequências graves ao meio ambiente. Rachel Carson em seu livro intitulado *Silent Spring* (1962 apud JARDIM et al., 2009), foi a primeira a fazer uma denúncia pública sobre os efeitos negativos do uso do DDT, ao descrever uma queda no crescimento da população de pássaros ao perceberem que houve um enfraquecimento da casca do ovo dessas aves. Ainda em sua obra, ela destaca os efeitos de toxicidade e alerta sobre seu potencial carcinogênico ao homem.

A partir desse relato negativo, vários debates e questionamentos surgiram sobre uso de pesticidas e sua real segurança para o homem e o ambiente. Toda essa pressão, principalmente sobre os pesticidas pertencentes à classe dos organoclorados, acabou resultando na criação de Leis em vários países que restringiam ou simplesmente proibiam o seu uso. Os Estados Unidos, por exemplo, baniram o uso do DDT e mais outros três pesticidas organoclorados (aldrin, heptacloro e clordano) em seu território na década de 70. Já no Brasil, essas medidas vieram tardiamente, em 2 de setembro de 1985, com a publicação da Portaria nº 329 pelo Ministério da Agricultura quando o uso de alguns pesticidas organoclorados passou a ter restrições quanto à comercialização, distribuição e uso em território nacional, com destaque para o DDT, aldrin, endrin, pentaclorofenol (PCP), hexaclorocicloexano (HCH), heptacloro e lindano. Porém, seu uso ainda foi liberado para fins de campanhas públicas de controle de vetores etiológicos de moléstias como no caso de malária e leishmaniose, ou a critério emergencial para uso na agricultura com prévia

autorização do Ministério da Agricultura (JARDIM, 2009; FLORES et al., 2004; TODOIR; van SITTERT, 1994; BRASIL, 1985).

3.1.1. Pesticidas Organoclorados

No geral, os pesticidas organoclorados (OCP, do inglês *organochlorine pesticides*), são uma classe de compostos orgânicos que possuem pelo menos uma estrutura cíclica em sua composição, seja ela aromática ou não, onde vários átomos de hidrogênio são substituídos por átomos de cloro.

Esses tipos de estrutura química acabam conferindo a essa classe de compostos características marcantes, tais como: elevada toxicidade e baixa solubilidade em água e, conseqüentemente, forte caráter lipofílico, observado pelos altos coeficientes de partição octanol-água. Esse caráter lipofílico já evidenciam a preferência desses compostos de se acumularem nos tecidos adiposos dos seres vivos, promovendo a bioacumulação e posterior biomagnificação ao longo da cadeia alimentar. Outro fator preocupante diz respeito ao seu alto grau de estabilidade frente às degradações física, química e biológica, conferindo um elevado tempo de meia vida no ambiente (Tabela 1), sendo então classificados também como poluentes orgânicos persistentes (POP). Esses atributos estão evidentes no relato feito no livro de Baird e Cann (2011), onde os autores destacam o relatório publicado pela agência ambiental do Canadá em 1996 sobre a biomagnificação de compostos da classe das bifenilas policloradas (PCB, do inglês *polychlorinated biphenyls*), que também são classificadas como POP, na região dos Grandes Lagos. O relatório salienta que ao longo da cadeia alimentar analisada (do fitoplâncton até as gaivotas) foi observado aumento de aproximadamente 50 mil vezes na concentração desse composto desde o nível trófico mais baixo da cadeia alimentar até o mais alto (Figura 1; BAIRD; CANN, 2011).

Tabela 1 – Propriedades físico-químicas de pesticidas organoclorados como peso molecular, solubilidade em água, coeficiente de partição octanol-água, pressão de vapor e tempo de meia vida estimado no solo ($t_{1/2}$), e suas respectivas estruturas químicas.

	Massa Molecular (g mol ⁻¹)	Solubilidade em água (µg L ⁻¹)	Log K _{ow} (pH7)	Pressão de vapor (mm Hg)	t _{1/2} (anos)	Estrutura química
Aldrin	364,91	27 (25 °C)	5,17 – 7,4	2,31x10 ⁻⁵ (20 °C)	5 – 10	
p,p'-DDT	354,49	1,2 – 5,5 (25 °C)	6,19	0,02x10 ⁻⁵ (20 °C)	2 – 15	
Dieldrin	380,91	140 (20 °C)	3,69 – 6,2	1,78x10 ⁻⁷ (20 °C)	7	
Endosulfan	406,93	320 (25 °C)	2,23 – 3,62	0,17x10 ⁻⁴ (25 °C)	5 – 7	
Endrin	380,90	220 – 260 (25 °C)	3,21 – 5,34	7x10 ⁻⁷ (25 °C)	12	
Heptacloro	369,82	180 (25 °C)	4,4 – 5,5	0,3x10 ⁻⁵ (20 °C)	2 – 5	
Metoxi-cloro	345,65	100 (25 °C)	4,58	9,98x10 ⁻⁷ (25 °C)	0,5 – 1	
Clordano	409,78	50 (20 °C)	6,32	9,75x10 ⁻⁶ (25 °C)	6	

Log K_{ow} – coeficiente de partição octanol-água; t_{1/2} – tempo de meia vida

Fonte: Adaptado de Mackay (2006)

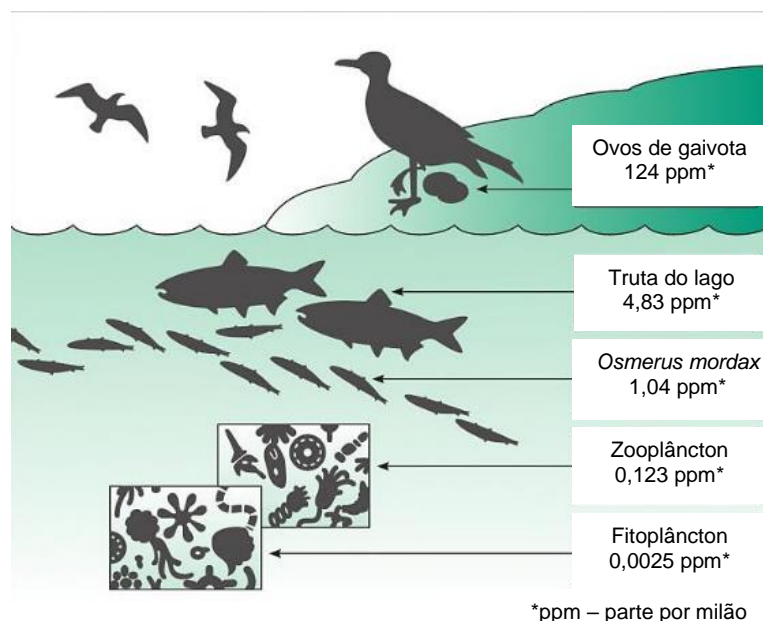


Figura 1 – Tendência de biomagnificação de PCB ao longo da cadeia alimentar na região dos Grandes Lagos na América do Norte
 Fonte: BAIRD; CANN, 2011

Ruus et al. (1999) avaliaram o potencial de bioacumulação e biomagnificação de cinco grupos de compostos organoclorados (PCB, DDT, clordano, HCH e BHC) em duas espécies de peixes e duas de focas, nas quais verificaram que o padrão de bioacumulação no nível trófico inferior era dependente principalmente das propriedades físico-químicas dos poluentes (solubilidade em água e caráter lipofílico). Já a biomagnificação observada para o nível trófico superior, era influenciada principalmente por fatores bioquímicos (capacidade metabólica do organismo). Observaram ainda que o padrão de concentração dos poluentes no organismo também é influenciado pela preferência alimentar de cada espécie. Analisando esses dois exemplos anteriores, fica evidente que os fenômenos de bioacumulação e biomagnificação ao longo da cadeia ocorrem na natureza, em parte devido à característica de serem compostos altamente lipofílicos (Tabela 1).

Ainda de acordo com sua estrutura química, os OCP podem ser agrupado em 4 classes: os ciclodienos, que incluem os chamados “drins” (aldrin, dieldrin, endrin) além de clordano, heptacloro e seu metabólito heptacloro epóxido; os diclorodifeniletanos no qual englobam o DDT e seus metabólitos DDE, DDD e o metoxicloro; o grupo dos hexaclorocicloexanos correspondendo aos isômeros α , β , δ e γ -HCH; e por fim o hexaclorobenzeno como por exemplo o BHC (D’AMATO; TORRES; MALM, 2002).

3.2. DISPERSÃO NO MEIO

A introdução de qualquer pesticida em um ambiente e sua dinâmica com o meio configura uma complexa relação. O estudo do comportamento vai depender de vários fatores tanto ambientais (temperatura, radiação solar, volume de chuva, intensidade dos ventos, tipo de vegetação e solo) como do próprio pesticida aplicado (propriedades físico-químicas, como solubilidade, tempo de meia vida, pressão de vapor). Outro agravante diz respeito à eficácia da aplicação dos pesticidas sobre a cultura, pois, de acordo com van den Berg et al. (1999), apenas uma fração do que é aplicado realmente irá atingir o alvo esperado, enquanto a maior parte sofrerá dispersão no ambiente (Figura 2).



Figura 2 – Esquema dos processos dinâmicos dos pesticidas no meio ambiente
Fonte: NOGUEIRA, 2011

A fração que se perde durante a aplicação, que volatiliza do solo e das plantas, entra no compartimento atmosférico sobre três formas: gasosa, adsorvidos sobre material particulado atmosférico ou dissolvidos em gotículas de água. Porém, independentemente disso, acaba retornando para superfície ou sobre corpos d'água por duas vias: deposição seca e/ou úmida. Outro processo que pode ocorrer com essa fração dispersa no compartimento atmosférico é transporte dessas substâncias por longas distância quando as mesmas se encontram adsorvidas em material

particulado. Esse transporte pode dar-se localmente ou regionalmente, e como essa abrangência é influenciada pelo tamanho das partículas, encontrar traços desses compostos mesmo em regiões remotas, distantes de qualquer atividade antrópica, não é improvável. Este processo foi comprovado pelo estudo de Wilson et al. (1995), que encontraram teores consideráveis de OCP em tecido muscular de espécies de peixe de um lago na região do Alasca. Hargrave et al. (1988) avaliaram material particulado atmosférico, neve e água do mar na região do Oceano Ártico, onde também detectaram presença dessas substâncias nas amostras coletadas, mas, o que chamou a atenção foi a presença desses compostos no material particulado, evidenciando que a presença desses OCP naquela região remota do planeta era basicamente devido ao fenômeno de transporte de longas distâncias ao qual esses compostos foram submetidos.

Estudos realizados no Brasil evidenciam também esse fenômeno de dispersão no ambiente. Maraschin (2003) analisou a água de rios que compõem a região do Pantanal e cortavam regiões de intensa atividade agrícola. Para 52% das amostras coletadas durante o mês de fevereiro de 2002 houve resposta positiva para a presença de p-p' DDT com concentrações que variaram de 0,10 a 0,24 $\mu\text{g L}^{-1}$. Também foi detectado, em nível traço, o diedrin, um metabólito oriundo da degradação do aldrin. Santos et al. (2012) fizeram coletas em cursos d'água adjacentes a regiões agrícolas na zona rural da ilha de São Luís (MA), onde também detectaram a presença de DDT e aldrin em algumas das amostras coletadas. Outro estudo, na região sul do país, mais precisamente na bacia hidrográfica do rio Pato Branco (PR), apontou a presença dos pesticidas organoclorados aldrin, lindano e heptacloro em um dos seus afluentes, em concentrações que variaram de 0,3 a 0,5 $\mu\text{g L}^{-1}$ (WATTHIER; SILVA; RODRIGUES, 2007; WATTHIER, 2006).

Como é possível observar, ao final do processo de dispersão dos pesticidas no ambiente, os recursos hídricos constituem como principal destino dessas substâncias. Com isso, a preocupação aumenta, visto que os mesmos podem vir a atingir importantes recursos hídricos utilizados para abastecimento, como foi o caso do estudo de Watthier, Silva e Rodrigues (2007) da bacia do rio Pato Branco um importante manancial de abastecimento da cidade de Pato Branco – PR. Além dessa contaminação dos recursos hídricos provocar a depreciação desse ambiente e toda a biota local, acaba também colocando em risco a saúde da população que faz uso dessa água para consumo (TARDIVO; REZENDE, 2005)

Dessa forma, toda a problemática em torno da dependência da agricultura em relação ao uso dos pesticidas, da falta de uma fiscalização mais rígida sobre a comercialização, utilização e o contrabando através das fronteiras, principalmente do Paraguai e Uruguai de produtos sem controle (FREITAS, SPITZ; OLIVEIRA, 2014), reforçam a necessidade de monitoramento mais presente dos recursos hídricos, principalmente aqueles que tem contato direto com regiões agrícolas.

Porém, um agravante encontrado quando se analisa esse tipo de composto em matriz ambiental é sua concentração, muitas vezes a nível de traço. Isso, porém, é um fato comum quando se trata desse tipo análise, onde tem-se esse baixo teor do analito alvo inserido em uma matriz complexa. Essas características acabam dificultando a escolha de um método adequado de análise, pois praticamente condicionam o processo de extração e pré-concentração como as etapas mais críticas nesse tipo de análise (Pinto et al., 2010).

3.3. MÉTODOS DE ANÁLISE DE PESTICIDAS

3.3.1. Extração de Pesticidas

Existem vários métodos de extração de OCP aplicadas para matrizes ambientais aquosas, os quais podem ser divididos em: extração líquido-líquido (LLE, do inglês *Liquid-Liquid Extraction*) e extração em fase sólida (SPE - *Solid Phase Extraction*), bem como suas variações miniaturizadas, microextração em fase sólida (SPME - *Solid Phase Microextraction*) e microextração líquido-líquido (MLLE - *Micro Liquid-Liquid Extraction Phase*).

As tradicionais extrações LLE e a SPE, apesar de serem de simples execução, apresentam a desvantagem quanto ao grande volume de solvente empregado, comparativamente às suas variações miniaturizadas, principalmente por se tratarem muitas vezes de solventes tóxicos. Além de ainda necessitarem, muitas vezes, de uma etapa de concentração pós-extração, especialmente a LLE. Já a SPME faz uso de fibras recobertas com material apropriado que conferem boa capacidade de concentrar o analito e, dependendo da técnica empregada, acaba dispensando o uso de qualquer tipo de solvente, pois a fibra pode ser inserida diretamente no injetor

do cromatógrafo a gás, por exemplo, onde irá sofrer a dessorção por aquecimento. Porém, tal praticidade tem um custo muitas vezes restritivos, pois dependendo da aplicação, como por exemplo uma matriz com elevada presença de compostos não voláteis, faz com que seu ciclo de vida útil seja reduzido, além de comprometer a repetibilidade do método. Diante do apresentado, a microextração líquido-líquido acaba se tornando uma alternativa de baixo custo, pois, além de utilizar um pequeno volume de solvente, une em uma só etapa a extração e a pré-concentração do analito. Em geral, todos esses métodos empregam o mesmo princípio básico: a partição do analito entre a fase orgânica e aquosa (JEANNOT; CANTWELL, 1996; NOVOTNÝ, 2009).

Dentro do método MLE existem diversas variações de técnicas, com destaque para a microextração líquido-líquido dispersiva (DLLME, do inglês *Dispersive Liquid-Liquid Micro Extraction*) desenvolvido por Rezaee et al. (2006). A técnica se baseia na formação de um sistema ternário de solventes, onde além do solvente extrator e a água da matriz aquosa, é empregado um terceiro solvente, denominado solvente dispersor, que tem a propriedade de ser miscível tanto na fase aquosa quanto na fase orgânica do sistema. A injeção da mistura dos dois solventes, dispersor e extrator, faz com que esse último seja disperso na forma de microgotas na fase aquosa, favorecendo o contato entre as fases orgânica e aquosa devido ao aumento da área superficial do solvente extrator. Porém, de acordo com Regueiro et al. (2008), o uso do solvente dispersor causa uma diminuição do coeficiente de partição do analito, interferindo no percentual de sua recuperação. Outro ponto negativo é a inserção de mais variáveis no processo: a escolha desse solvente dispersor e o volume ideal a ser aplicado.

Outra variação do método MLE foi apresentada por Jeannot e Cantwel (1996), que consiste na imersão de uma microgota de solvente orgânico formada na ponta da agulha de uma microsseringa na fase aquosa, o qual fica exposta sobre agitação constante. O destaque dessa técnica é em relação ao baixíssimo volume de solvente orgânico utilizado, porém, ao mesmo tempo isso setorna também uma desvantagem, pois, durante o processo de extração é necessário imprimir uma agitação ao sistema para que toda a amostra entre em contato com a microgota. Isso acaba promovendo uma variação do volume da microgota devido o processo de solubilização na fase aquosa, o que se agrava à medida que se aumenta o tempo de

extração. Outra dificuldade fica por conta do operador, pois a repetibilidade do volume da microgota fica dependendo da sua habilidade (PINHEIRO; ROCHA e ANDRADE, 2011).

Ainda dentre as variações de técnicas na linha de microextração líquido-líquido, Regueiro et al. (2008) propuseram recentemente o uso de ultrassom como um coadjuvante durante o processo de extração, denominando de Microextração por Emulsificação Assistida por Ultrassom ou USAEME (do inglês *Ultrasound-Assisted Emulsification-Microextraction*). Basicamente, o emprego da radiação de ultrassom vem para melhorar a taxa de transferência de massa entre as fases orgânicas e aquosa, isso porque as gotículas do solvente dispersas na fase aquosa, juntamente com a ação da radiação de ultrassom, permitem que ocorra uma extração praticamente em fase contínua, graças ao processo de cavitação acústica promovida pela radiação. A radiação de ultrassom promove a criação de núcleos de gás e vapor (bolhas) na fase líquida, os quais oscilam em um processo de expansão e contração, porém, o processo de expansão é maior que a contração, com isso esses núcleos crescem até um certo limite e colapsam. Com o colapso da bolha ocorre a liberação de uma grande quantidade de energia no local, energia essa na forma de calor (de 2000 a 10000 K). É essa energia que promove a diminuição da tensão interfacial que acaba favorecendo a formação de emulsão e impede o processo de coalescência da fase dispersa (ASHOKKUMAR, 2011).

No trabalho de Regueiro et al. (2008), foi aplicado a técnica USAEME em amostras de águas diversas para analisar fragrâncias de almíscar, ésteres de ftalatos e lindano. Para amostras reais foram obtidos percentuais de recuperação que variaram de 78 a 114% e o método apresentou um limite de detecção na faixa de 0,006 a 0,133 $\mu\text{g L}^{-1}$, enquanto o limite de quantificação variou entre 0,02 e 0,442 $\mu\text{g L}^{-1}$. Segundo os autores, a técnica se mostrou eficiente, simples e com um custo relativamente baixo, quando comparada às demais técnicas de extração como a SPE, SPME e LLE, além de ser ecologicamente sustentável devido ao baixo consumo de solvente. Ainda salientam que os bons resultados de recuperação obtidos mesmo se tratando de uma matriz complexa, só foram possíveis depois de aplicarem as condições otimizadas determinadas após um estudo quimiométrico preliminar.

De acordo com Andruch et al. (2013), o sucesso no emprego da USAEME demanda a observação e otimização de vários parâmetros, dos quais destacam-se:

- Amostra – pH, força iônica e volume de amostra;
- Solvente de extração – tipo e volume utilizado;
- Parâmetros de processo – temperatura, tempo e amplitude da sonicação, e tempo e taxa de centrifugação;
- Interferentes – possibilidade de derivatização do analito, presença de substâncias quelantes ou surfactantes na matriz.

No geral ainda existem poucos estudos que empregam a USAEME para extrair OCP, os quais estão descritos resumidamente na Tabela 2.

Tabela 2 – Publicações empregando USAEME como técnica de extração de OCP em amostras de água

Autores	Tipo de amostra	Instrumentação analítica	Parâmetros avaliados	Nº de OCPs avaliados	Recuperação	LOD ⁴ (µg L ⁻¹)	LOQ ⁵ (µg L ⁻¹)
Regueiro et al. (2008)	Rio, região portuária, abastecimento público, mineral, piscina pública, manancial de abastecimento e efluente doméstico,	CG-MS ¹	Solvente extrator: tipo de solvente; Processo: tempo de extração; Amostra: volume e força iônica.	01 (γ-HCH)	103 – 109% (água do abastecimento público) 83 – 101% (demais amostras) Amostras fortificadas com 0,1 à 1,0 µg L ⁻¹ de OCP	0,0021	0,071
Ozcan, Tor e Aydin (2009)	Abastecimento público, subterrânea, lago, efluente doméstico e industrial	CG - µECD ²	Solvente extrator: tipo e volume; Processo: tempo de extração e centrifugação; Amostra: força iônica.	18 (α, β, γ e δ-HCH; heptacloro; aldrin; heptacloro-epóxido; endosulfan I; DDE; dieldrin; endrin, endosulfan II; DDD; endrin aldeído; endosulfan sulfato; DDT; endrin cetona e metoxicloro)	75 – 107% (água destilada fortificada com 0,5, 2 e 5 µg L ⁻¹) 68 – 102% (amostras reais fortificadas com 2 µg L ⁻¹ de OCP)	0,002 – 0,016	-
Wei et al. (2011)	Água do mar Água doce	CG – ECD ³	Processo: banho ultrassom e agitador tipo vórtex, posição e orientação, tempo de sonicação, agitação manual prévia; Solvente extrator: tipo e volume; Amostra: força iônica.	8 (Lindano, aldrin; DDE; DDD; heptacloro; endosulfan; dieldrin e endrin)	75 – 107% (água do mar) 70 – 99% (água doce) Amostras enriquecidas com OCP em concentrações de 10 – 500 ng L ⁻¹	0,6 – 2,9	1,9 – 9,8
Zhang e Lee (2012)	Água de rio Água de abastecimento público	CG – MS ¹	Solvente extrator: tipo e volume; Parâmetro de processo: tempo de ultrassom e centrifugação; Amostra: força iônica, temperatura	6 (HCB; heptacloro; DDE; dieldrin; endrin e DDD)	79 – 120,3% (água do rio) 77,7 – 118,1% (abastecimento público) Amostras enriquecidas com OCP em concentrações de 0,1 e 1,0 µg L ⁻¹	0,8 – 10	-

¹CG-MS: Cromatografia gasosa acoplado à espectrometria de massas; ²CG-µECD: Cromatografia gasosa com detector de captura de micro-elétrons; ³CG-ECD: Cromatografia gasosa com detector por captura de elétrons; ⁴LOD: Limite de detecção; ⁵LOQ: Limite de quantificação

3.3.2. Cromatografia Gasosa Acoplado à espectrometria de massas – CG-EM

A cromatografia consiste em um método de separação aplicado em amostras contendo dois ou mais componentes, onde seu princípio básico consiste no equilíbrio desses componentes entre uma fase móvel e outra estacionária. Como cada componente presente na amostra sofrerá uma interação distinta entre as duas fases, isso resultará em tempos diferentes de equilíbrio. Conseqüentemente, ao final se observa tempos de retenções que são específicos para cada componente, permitindo assim promover a separação dos mesmos. Por conta disso, a existência de uma grande variedade de combinações para escolha das fases estacionária e móvel permite ao pesquisador escolher dentre elas qual a melhor opção para suas necessidades, possibilitando uma versatilidade única para esse tipo de análise.

A partir do tipo de fase móvel empregado, é possível classificar a cromatografia em três grandes grupos: cromatografia com fluido supercrítico, que utiliza como fase móvel uma substância que é mantido sobre condições de temperatura e pressão acima dos seus respectivos parâmetros críticos (nessas condições descritas, o composto apresenta propriedades físico-químicas intermediárias entre gás e líquido), a cromatografia líquida (onde a fase móvel é um líquido que irá promover o arraste da amostra) e, por fim, a cromatografia gasosa (onde a fase móvel é composta por um gás inerte de alta pureza) (COLLINS, BRAGA e BONATO, 2006).

Um diferencial da cromatografia é a possibilidade de acoplar ao sistema de separação diversos tipos de detectores que atendam às necessidades específicas. No caso do estudo de OCP, a cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (CG-EM) é a técnica mais empregada para esse tipo de análise, pois fornece alta sensibilidade e possibilidade de identificação do composto através do espectro de massa gerado. Além de proporcionar análises de vários OCP ao mesmo tempo, o emprego do espectrômetro de massa também permite analisar outras classes de compostos simultaneamente (ZACHARIS et al., 2010).

O espectrômetro de massa é classificado como um detector universal e o princípio do método consiste basicamente no bombardeio da molécula por um feixe de elétrons com energia suficiente para promover a molécula para um estado excitado

(formação do íon molecular com mesma massa da molécula original), onde a partir do processo de relaxação, ocorre a fragmentação desse íon molecular formado em frações de íons de menor massa. Esses íons produzidos são então atraídos pela fenda do espectrômetro e sofrem separação pela razão massa/carga a partir de um campo elétrico e/ou magnético e atingem o detector, gerando um espectro de massa a partir desses fragmentos separados (SKOOG, HOLLER e NIEMAN, 2002).

3.4. PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

No estudo do planejamento de experimentos, o objetivo é avaliar quais as variáveis que mais influenciam os processos de modo simultâneo (multivariado). Isso proporciona um ganho de tempo na execução e redução dos custos com materiais, pois permite em poucos ensaios laboratoriais otimizar todas as variáveis, além de possibilitar a identificação de possíveis interações entre os fatores estudados, o que é impossível de verificar quando se realiza os ensaios de uma variável por vez (PAIVA et al., 2012).

Basicamente, quando o pesquisador se depara com vários fatores (ou variáveis) a serem estudados, existem três caminhos a seguir: um simples, que consiste na análise univariada, a qual estuda um fator de cada vez, fixando o valor das demais variáveis. Com esta metodologia não é possível avaliar a existência de interações entre os fatores que podem muitas vezes negligenciar efeitos sinérgicos ou antagônicos significantes na resposta do sistema. Outra forma seria o emprego de uma matriz, onde se faz o estudo de todas as combinações possíveis, permitindo ao pesquisador explorar todo espaço experimental, porém, com a desvantagem de necessitar de um grande número de ensaios, inviabilizando sua execução devido ao tempo gasto e, em alguns casos, elevando os custos de operação, de modo a tornar sua execução impraticável. O terceiro caminho consiste no emprego de ferramentas estatísticas, como o planejamento experimental fatorial, que alia a possibilidade de explorar todo o espaço experimental com a realização do menor número possível de ensaios (RODRIGUES; IEMMA, 2005).

Ainda de acordo com Rodrigues e Iemma (2005), quando se trabalha com duas ou três variáveis independentes em dois níveis, é recomendado aplicar um

Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR). Genericamente, um DCCR estudado em dois níveis é composto por uma parte fatorial 2^k , uma parte axial e mais um número arbitrário de pontos centrais. Comparativamente com o planejamento fatorial completo, o DCCR requer um número menor de tratamentos para determinação dos parâmetros ótimos do experimento, podendo ser realizado de forma sequencial. Essa peculiaridade torna sua aplicação flexível, ou seja, caso a região da curvatura da superfície de resposta não apresente importância ao estudo, basta apenas fazer o ajuste do modelo linear a partir da parte cúbica, sem a necessidade de obter um modelo quadrático mais complexo. Porém, caso haja a necessidade de testar a significância da curvatura, basta aplicar os ensaios dos pontos centrais e, caso haja significância da curvatura no modelo, a aplicação dos pontos axiais completam o planejamento, delineando os termos quadráticos do modelo (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2001).

3.4.1. Desejabilidade

Quando se trabalha com modelos que possuem múltiplas respostas e deseja-se otimizá-las simultaneamente para obter um único valor de variável que satisfaçam o objetivo, é comum aplicar o método da desejabilidade proposto por Derringer e Suich (1980). Trata-se de um algoritmo no qual são atribuídos valores entre zero e um para cada resposta do sistema, onde zero representa um valor de resposta inaceitável e, conseqüentemente, um, o valor desejável. Atribuído tais valores para cada resposta, que deve ser feito de acordo com as necessidades de cada sistema, é feito então uma combinação para obter a desejabilidade global a partir das médias geométricas de cada desejabilidade individual. A partir dessa otimização simultânea, chega-se a um único valor, a desejabilidade global (D), com o qual se pode obter os valores para todas os fatores que otimizem a resposta simultaneamente. O uso das médias geométricas torna-se uma vantagem pois propicia que a desejabilidade global se anule sempre que uma das respostas apresentem valor indesejável, independentemente se as demais respostas estejam em uma faixa aceitável (BARROS NETO; SCARMINIO; BRUNS, 2010).

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. LOCAL DE AMOSTRAGEM

O rio Taquara, pertencente a bacia do rio Tibagi, está localizado ao sul do município de Londrina (PR) e possui aproximadamente 107 km de extensão. Sua bacia engloba ainda os municípios de Arapongas, Apucarana, Califórnia e Marilândia do Sul, com limites ao sul com a bacia do Rio Apucarantina e ao norte com a bacia do Ribeirão dos Apertados. Sua bacia possui uma área aproximada de 894 km² e é resultado da junção de dois rios, o Taquara e Cerne. Ao longo de sua bacia de drenagem há um predomínio de atividade agrícola e de pastagem (STIPP; CAMPOS; CAVIGLIONE, 2010).

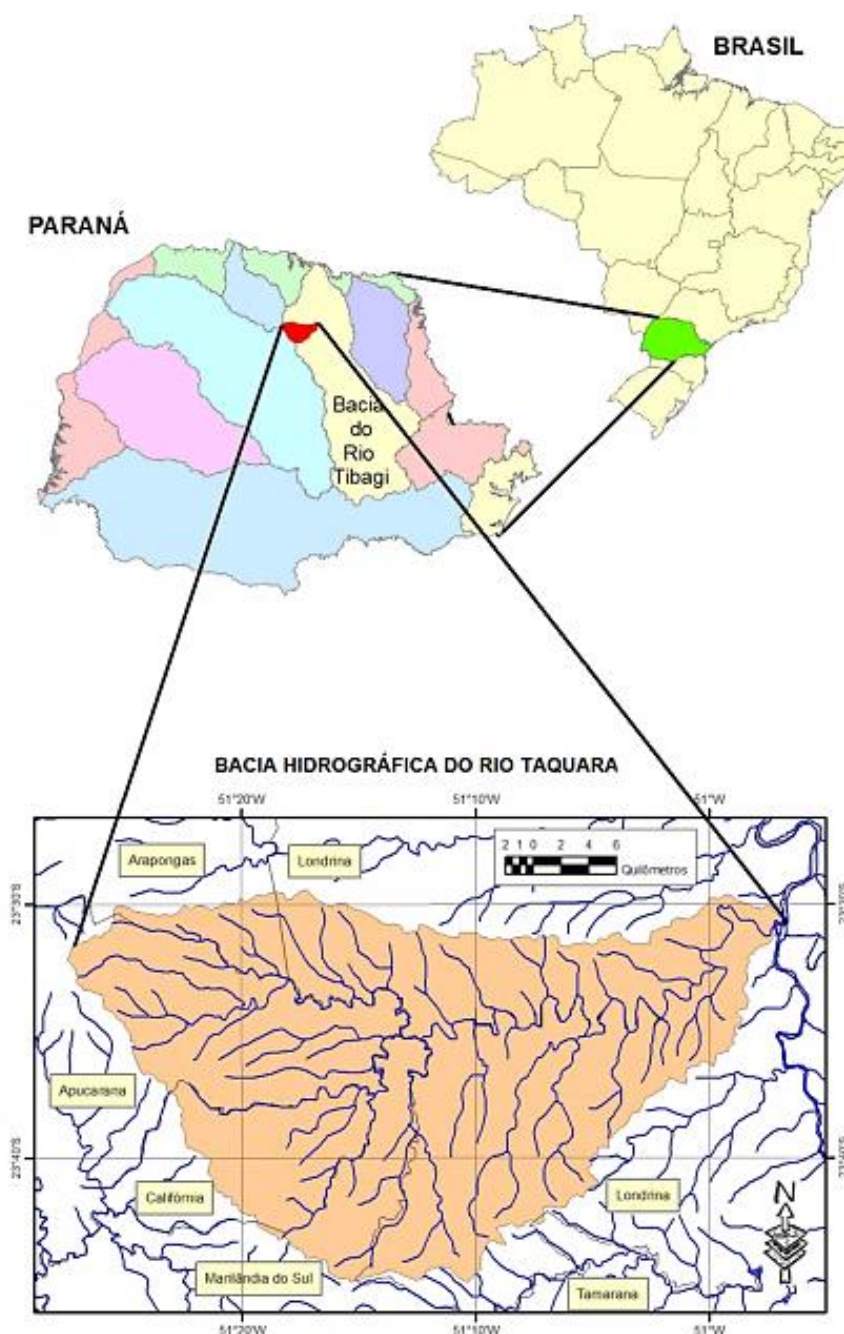


Figura 3 – Localização da bacia hidrográfica do Taquara

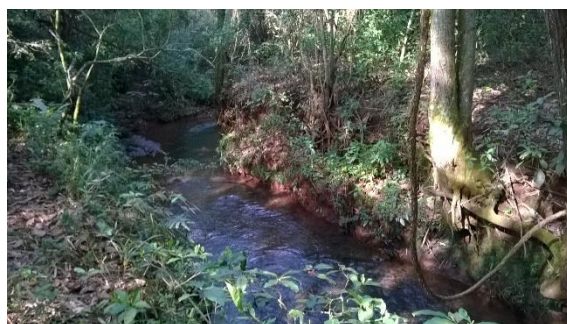
Fonte: STIPP; CAMPOS; CAVIGLIONE, 2010

De acordo com o relatório do Instituto das Águas do Paraná (PARANÁ, 2013), o rio Taquara se enquadra na classe 2, com base nos critérios de classificação relativos as águas doces da Resolução CONAMA 357/2005 (BRASIL, 2005), ou seja, as águas desse rio podem ser destinadas ao abastecimento humano após um tratamento convencional, liberado para contato primário em atividades recreativas e de pesca e aquicultura, bem como para irrigação de culturas de hortaliças, frutas além de parques e jardins onde há possibilidade de contato humano direto.

Os três pontos de coleta estão situados ao longo de um gradiente longitudinal do trecho de primeira ordem do rio Taquara, no município de Londrina – PR, a uma distância de aproximadamente 5 km entre os pontos. As características predominantes são de relevos planos, suaves ondulações e superfícies topográficas com algumas colinas e declives suaves ao longo desse trecho (STIPP; CAMPOS; CAVIGLIONE, 2010).

Tabela 3 – Coordenadas geográficas dos três pontos de amostragem no rio Taquara

Ponto	Coordenadas geográficas
1	23°36'33.8" S 51°18'23.4" W
2	23°36'45.3" S 51°16'24.3" W
3	23°36'30.4" S 51°14'52.0" W



P1



P2



P3

Figura 4 – Pontos de amostragem do rio Taquara (Bacia do rio Tibagi, Londrina – PR)
 Fonte: Autoria própria

4.2. PARÂMETROS FÍSICOS E QUÍMICOS DAS AMOSTRAS

4.2.1. pH, Turbidez, Condutividade Elétrica e Temperatura *in loco*

As amostras de água foram coletadas em frasco de polipropileno com tampa. A fração coletada corresponde à água da parte sub-superficial, na porção mais central em relação às margens do rio. O transporte e a armazenagem foram feitos sob refrigeração (+4 °C a +6 °C).

Imediatamente após a amostragem, ainda no local de coleta, foram mensurados os valores de pH, turbidez, condutividade elétrica e temperatura das amostras por meio de equipamentos portáteis (medidor de pH da Tecnopon modelo mPA-210P; turbidímetro da PoliControl modelo AP-2000 e condutivímetro da Instrutherm modelo CD-860).

Os demais parâmetros, dureza da água e os teores de cloreto, amônia, nitrato e nitrito foram realizadas em laboratório, no prazo máximo de um dia após as coletas. Para extração e determinação dos pesticidas organoclorados, as amostras permaneceram sob refrigeração até o momento das análises.

4.2.2. Dureza

A dureza foi determinada seguindo a metodologia EPA 130.2 proposto pela Agência Americana de Proteção Ambiental (EPA – Environmental *Protection Agency*), por meio da volumetria de complexação com uma solução padronizada de EDTA (ácido etilenodiaminotetracético) (EPA, 2003).

Nas águas, a dureza é resultado do teor de cátions presentes, principalmente os íons de cálcio e magnésio, e o resultado da determinação desses cátions é expresso em termos de concentração de carbonato de cálcio.

4.2.3. Cloreto

A determinação de cloretos em água seguiu a metodologia proposta por Eaton e Frason (2005). Método baseado em volumetria de precipitação com uma

solução padrão de nitrato de prata, onde os íons cloretos precipitam em presença de íons prata.

4.2.4. Amônia

A amônia foi determinada por espectrometria pelo método de nesslerização (método 350.2 da EPA), onde a amostra tamponada (pH 9,5) foi destilada em ácido bórico e, posteriormente, adicionada reativo de Nessler para então ser realizada a leitura em 425 nm (EPA, 2003).

4.2.5. Nitrito

O teor de nitrito nas amostras de água foi determinado também por espectrofotometria, seguindo o preconizado pelo método EPA 354.1 (EPA, 2003), baseado na reação do nitrito com a sulfanilamida em meio ácido. O resultado é a produção de um diazo composto de coloração avermelhada, cor essa que pode ser mensurado em 540 nm.

4.2.6. Nitrato

O método 352.1 da EPA foi empregado para determinar a concentração de nitrato presente em cada ponto de coleta. O princípio do método baseia-se na reação do nitrato com o sulfato de brucina em meio ácido em banho à 100 °C. A cor resultante devido ao complexo formado pode ser mensurada por meio de método espectrofotométrico com leitura em 410 nm (EPA, 2003).

4.3. DETERMINAÇÃO DE PESTIDICAS ORGANOCORADOS

4.3.1. Reagentes Utilizados

Tabela 4 – Relação de reagentes utilizados na análise dos OCP e suas respectivas purezas.

Reagente	Pureza	Marca
Mix de pesticidas organoclorados 2000 µg mL	96,0 – 99,9%	Sigma-Aldrich, EUA
Metanol grau HPLC	99,9%	J. T. Baker, México
Gás Hélio	99,999%	White Martins, EUA

4.3.2. Instrumentação

- Centrífuga para tubos modelo Q222T da Quimis, Brasil;
- Banho de ultrassom modelo SoniClean da Sanders Medical, Brasil;
- Cromatógrafo gasoso acoplado à espectrometria de massas modelo GCMS-QP2010 Ultra da Shimadzu, Japão;
- Coluna cromatográfica modelo Rtx-5MS com fase estacionária 5% difenil e 95% dimetil polisiloxano, 30 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro interno e filme de 0,25 µm, da Restek, EUA.
- Microseringa de 10 µL da Hamilton, EUA.

4.3.3. Delineamento Composto Central Rotacional

4.3.3.1. Escolha do solvente extrator

De acordo com Regueiro et al. (2008) e Ozcan, Tor e Aydin (2009), o uso do processo USAEME requer a observação de algumas peculiaridades quanto à escolha do solvente: formação de emulsão, baixa solubilidade, maior densidade que água e ter afinidade com o analito. É importante também que o solvente seja compatível com as técnicas de separação e quantificação posteriores à extração. Em seu estudo, Regueiro et al. (2008) testaram preliminarmente cinco solventes: clorofórmio, diclorometano, tetracloretileno, 1,1,1-tricloroetano e tetraclorometano para extração de fragrâncias de almíscar, ésteres de ftalatos e lindano em amostras de água. Quanto à emulsificação, os autores relataram que só com diclorometano não foi observada a formação de emulsão durante a sonicação, provavelmente, segundo os autores, devido à maior solubilidade e volatilidade do solvente. Analisando os cromatogramas após a injeção no CG-MS, observaram que somente a extração com clorofórmio e o 1,1,1-tricloroetano apresentaram boa separação dos picos e ausência de interferentes.

Já Ozcan, Tor e Aydin (2009) avaliaram cinco solventes: clorofórmio, diclorometano, dissulfeto de carbono, 1,2-diclorobenzeno e 1,2,4-triclorobenzeno para extração de 18 OCP de amostras de água. Dentre os cinco solventes analisados, o diclorometano também não foi favorável a formação de emulsão, fato similar ao encontrado por Regueiro et al. (2008). Na avaliação de eficiência de extração, o

clorofórmio foi o que obteve maiores taxas de recuperação, sendo o escolhido pelos autores para a etapa de otimização.

Portanto, a escolha do solvente para o presente trabalho foi pelo clorofórmio, principalmente por apresentar bons resultados nas taxas de recuperação no estudo feito por Ozcan, Tor e Aydin (2009), que se assemelha bastante com o proposto no presente estudo, que se trata de extração de multicomponentes.

4.3.3.2. Volume do solvente extrator

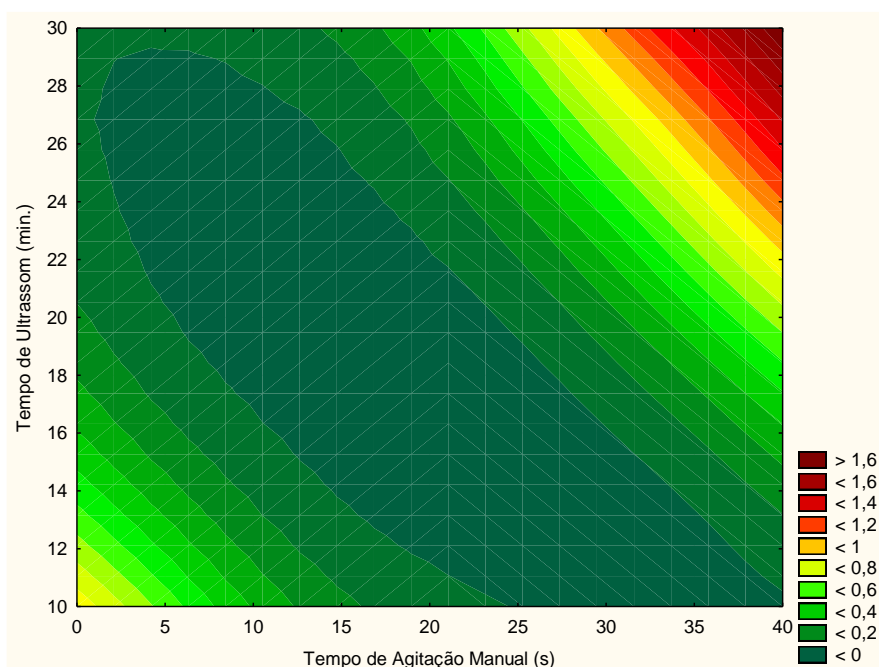
Como descrito anteriormente, vários fatores influenciam o processo de USAEME, e sua aplicação ao OCP em água foi descrito somente em quatro estudos (Tabela 2), da qual serviram como base para escolha das variáveis que serão otimizados nesse trabalho.

No trabalho de Ozcan, Tor e Aydin (2009), foi realizado uma otimização do volume de solvente extrator empregado (50, 100, 200 e 300 μL de clorofórmio). Observaram que o menor volume era completamente dissolvido durante a extração, e a variação de 100 para 200 μL havia um aumento significativo no valor da taxa de recuperação dos OCP. Porém, quando se caminhava para o volume de solvente mais alto, 300 μL ocorria um decréscimo nessa taxa. Em sua argumentação, os autores comentam que situações semelhantes já haviam sido reportadas anteriormente. Regueiro et al. (2008), ao avaliar o método USAEME para extração, notaram que a partir da adição de um certo volume de solvente, o sinal analítico diminuía significativamente. Segundo os autores, isso ocorria porque o aumento do volume de solvente extrator acentuava o efeito de diluição do analito na fase orgânica. Com base nessas observações, foi proposto inicialmente para este estudo uma análise de otimização do volume de clorofórmio com uso de quantias de 150, 200 e 250 μL . Porém, durante a realização dos ensaios, o fator temperatura acabou influenciando no resultado, de modo que o menor volume de clorofórmio empregado praticamente se encontrava solubilizado na fase aquosa após a extração. Com isso foi necessário alterar esse planejamento inicial para uma faixa diferente, trabalhando com valores que variaram de 170 à 310 μL de clorofórmio no planejamento, com intuito de minimizar esse efeito de solubilização.

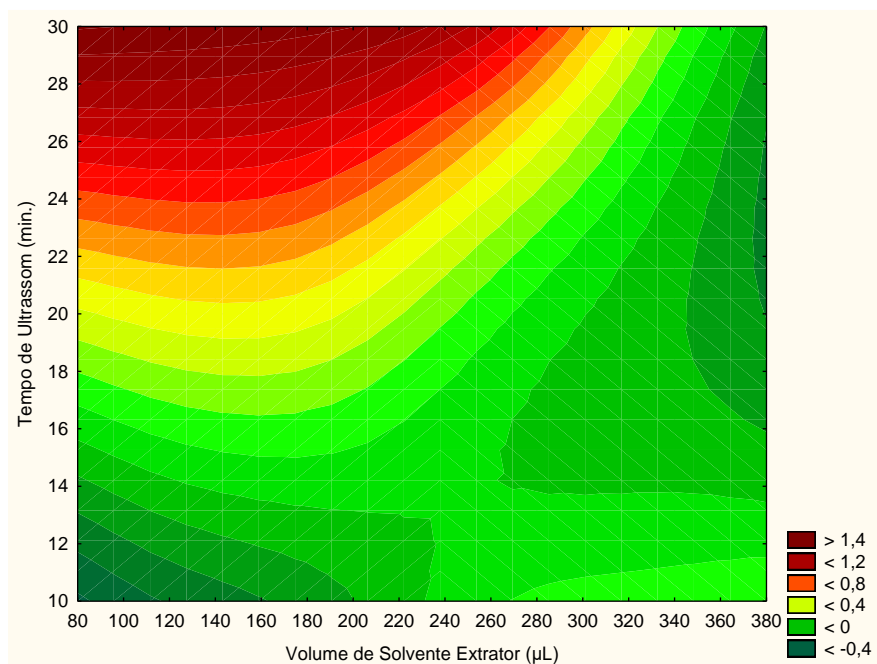
4.3.3.3. Tempo de exposição ao ultrassom

Ainda com base no estudo de Ozcan, Tor e Aydin (2009), o tempo de banho de ultrassom foi um dos fatores otimizado no trabalho deles por meio da aplicação de um planejamento fatorial 2^3 . As outras duas variáveis incluídas no planejamento foram o tempo de centrifugação e a força iônica da amostra.

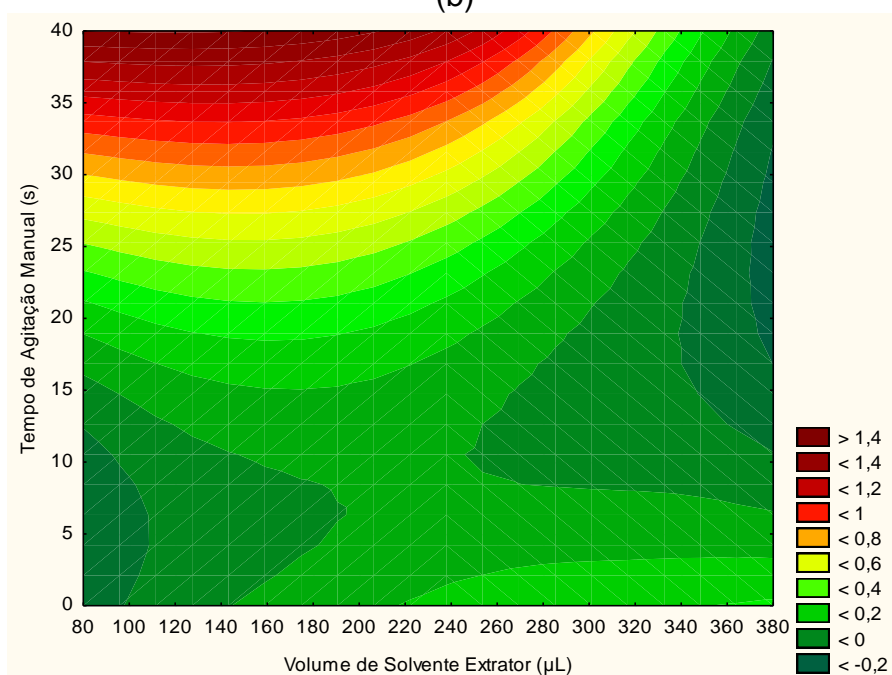
Quanto ao tempo que o sistema deveria permanecer no banho de ultrassom, foi avaliado os tempos entre 5 e 15 minutos. Os autores observaram que o valor de recuperação aumentava quando se passava do tempo de 5 para 15 minutos de extração no ultrassom. Com base nisso, nesse presente estudo foi proposto inicialmente a avaliação do tempo de sonicação entre 10 e 20 minutos para avaliar qual o valor máximo de recuperação era possível obter. Entretanto, ao se avaliar a superfície de resposta da desejabilidade global, observou-se que o valor de tempo que maximizava a extração tendia para valores mais altos, fora da área experimental (Figura 5 (a) e (b)). Com isso, aumentou-se o tempo proposto inicialmente, que passou a ser de 10 à 38 minutos no novo planejamento, com intenção que o ponto ótimo ficasse delimitado à área experimental delineada.



(a)



(b)



(c)

Figura 5 – Superfície de resposta da desejabilidade global do primeiro DCCR, (a): tempo de ultrassom (min.) por tempo de agitação manual (s); (b): tempo de ultrassom (min.) por volume de solvente extrator (μL) e (c): tempo de agitação manual (s) por volume de solvente extrator (μL).

4.3.3.4. Tempo de agitação manual pré-sonicação

Em outro estudo envolvendo extração de OCP por USAEME, porém, desta vez empregando solventes de extração com densidade menores que da água, Wei et al. (2011) testaram o efeito da agitação manual antes do processo de sonicação

como forma de auxiliar a formação da emulsão entre as fases. Observaram os resultados aplicando os tempos de 0, 10 e 20 segundos de agitação, após o qual descreveram um aumento de mais de 100% na área dos picos quando fizeram a comparação de uma amostra sem agitação com outra agitada por 10 segundos. Já no tempo de 10 para 20 segundos, o efeito não foi observado, não havendo uma variação significativa nas áreas dos picos. Seguindo as observações de Wei et al. (2011), foi proposto no primeiro DCCR, aplicação de agitação de 0 a 10 s, porém, observa-se pela Figura 5-a e 5-c, que o tempo ótimo tende para valores maiores, extrapolando a área experimental. Com isso ajustou-se o tempo para o intervalo de 9 à 33 segundos para o segundo planejamento.

4.3.3.5. Demais parâmetros da extração: força iônica, tempo de centrifugação, volume de amostra e temperatura

Quanto a força iônica do meio, tempo de centrifugação e a velocidade de rotação foram fixados para as seguintes condições: sem correção da força iônica, 5 minutos de centrifugação a 3400 rpm (rotações por minutos).

Zhang e Lee (2012), verificaram qual era a influência do tempo de centrifugação sobre a eficiência de extração. Os autores trabalharam numa faixa de tempo que variou de 1 a 15 minutos de centrifugação, no qual observaram que para os seis OCP avaliados, houve um ganho na eficiência da extração até o tempo de 5 minutos, de modo que o tempo acima disso não apresentou ganhos de eficiência significativos para a extração. Com isso fixou-se o tempo de 5 minutos para o presente estudo.

Já a correção da força iônica foi negligenciada, pois ainda de acordo com o estudo de Zhang e Lee (2012), eles verificaram que a adição de quantidade de NaCl ($0 - 200 \text{ g L}^{-1}$) não produzia mudanças significativas na eficácia do método de extração. Por outro lado, Ozcan, Tor e Aydin (2009), verificaram que o efeito da alteração da força iônica sobre o meio resultou em efeito contrário, com a diminuição do sinal analítico. Segundo os autores, esses resultados contrariam a teoria, já que o aumento da força iônica no meio favoreceria o fenômeno de emulsificação, que, por conseguinte, favoreceria a transferência de massa entre a fase aquosa e orgânica. Porém, essa resposta contrária, de acordo com os autores, pode ser atribuída a dois processos: com o aumento da força iônica, a viscosidade e a densidade da solução

também alteram, de forma que diminui a eficiência do processo de transferência de massa. Esse aumento da viscosidade pode acarretar absorção da radiação de ultrassom, que é então dispersa na forma de calor para o meio, calor esse que desfavorece o processo de cavitação e, conseqüentemente, contribui para diminuir o fenômeno de emulsificação. Com base nisso, optou-se em não corrigir a força iônica das amostras.

O fator temperatura se mostrou bastante influente durante a extração, provavelmente devido ao aumento decorrente da conversão de parte da energia da radiação de ultrassom em energia térmica. Esse aumento da temperatura proporcionou maior solubilização do clorofórmio na fase aquosa, resultando em variações nos volumes recuperados ao final da centrifugação (Figura 6). Conseqüentemente, essa oscilação na recuperação do volume de clorofórmio acarretou, para esse primeiro planejamento, um alto coeficiente de variação e com isso gerou modelos não preditivos.

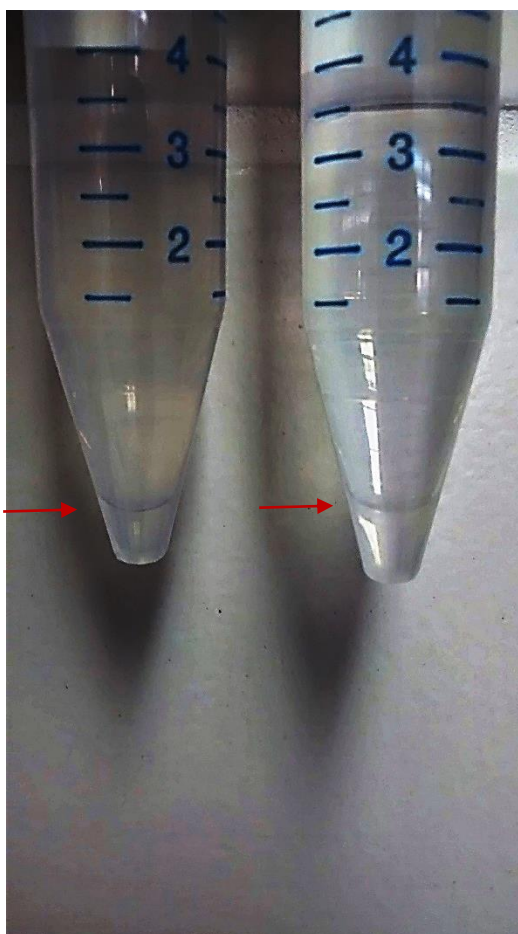


Figura 6 – Variação do volume de clorofórmio recuperado da extração sob as mesmas condições no ponto central do primeiro DCCR.

Para contornar essa situação foi realizado um controle de temperatura durante o banho de ultrassom, com acompanhamento por meio de termômetro para evitar que o sistema atingisse temperatura mais elevadas. A correção dessa temperatura foi realizada com a adição de cubos de gelo, de forma a manter a temperatura sempre próxima a temperatura ambiente (23 à 25 °C). Logo após a etapa de ultrassom, o tubo Falcon era submerso em um banho de gelo por 5 minutos com intuito de baixar a temperatura e favorecer a separação das fases durante a etapa de centrifugação, devido a diminuição da solubilidade do clorofórmio.

4.3.3.6. Matriz do planejamento experimental

O DCCR foi proposto para três fatores ($k=3$): volume de clorofórmio, tempo de agitação manual antes da sonicação e tempo de exposição ao ultrassom, com seis repetições no ponto central, totalizando 20 ensaios experimentais (Tabela 5). As repetições no ponto central têm o intuito de estimar o erro puro e estabilizar a variância da resposta prevista. Segundo Barros Neto, Scarminio e Bruns (2001), para estabilizar a variância é necessário realizar de 3 à 5 repetições no ponto central para quando valor de α (1,68 neste caso) se aproxima de \sqrt{k} , Enquanto que para o erro puro, ainda segundo os autores, quanto maior o número de repetições, melhor.

Tabela 5 – Matriz do DCCR com as variáveis codificadas e as variáveis reais

Ensaio	Variáveis Codificadas			Variáveis Reais		
	Volume de Clorofórmio	Tempo de Agitação Manual	Tempo de Ultrassom	Volume de Solvente (µL)	Tempo de Agitação Manual (s)	Tempo de Ultrassom (min.)
1	-1,00000	-1,00000	-1,00000	170,0000	9,00000	10,00000
2	-1,00000	-1,00000	1,00000	170,0000	9,00000	38,00000
3	-1,00000	1,00000	-1,00000	170,0000	33,00000	10,00000
4	-1,00000	1,00000	1,00000	170,0000	33,00000	38,00000
5	1,00000	-1,00000	-1,00000	310,0000	9,00000	10,00000
6	1,00000	-1,00000	1,00000	310,0000	9,00000	38,00000
7	1,00000	1,00000	-1,00000	310,0000	33,00000	10,00000
8	1,00000	1,00000	1,00000	310,0000	33,00000	38,00000
9	-1,68179	0,00000	0,00000	122,2745	21,00000	24,00000
10	1,68179	0,00000	0,00000	357,7255	21,00000	24,00000
11	0,00000	-1,68179	0,00000	240,0000	0,81849	24,00000
12	0,00000	1,68179	0,00000	240,0000	41,18151	24,00000
13	0,00000	0,00000	-1,68179	240,0000	21,00000	0,45490
14	0,00000	0,00000	1,68179	240,0000	21,00000	47,54510
15	0,00000	0,00000	0,00000	240,0000	21,00000	24,00000
16	0,00000	0,00000	0,00000	240,0000	21,00000	24,00000
17	0,00000	0,00000	0,00000	240,0000	21,00000	24,00000
18	0,00000	0,00000	0,00000	240,0000	21,00000	24,00000
19	0,00000	0,00000	0,00000	240,0000	21,00000	24,00000
20	0,00000	0,00000	0,00000	240,0000	21,00000	24,00000

4.3.4. Cromatografia Gasosa Acoplado à espectrometria de massas

A injeção foi realizada no modo *splitless* com volume de 1 μL , a temperatura do injetor foi fixada em 280 $^{\circ}\text{C}$. O gás de arraste utilizado foi o Hélio com pureza de 99,999% com fluxo de 1 mL min^{-1} . Já a programação de temperatura do forno da coluna seguiu o descrito na Tabela 6 e Figura 7.

Tabela 6 – Parâmetros de temperatura do forno da coluna do CG-EM: taxa de aquecimento, temperatura final e tempo de permanência.

Taxa de aquecimento ($^{\circ}\text{C min}^{-1}$)	Temperatura Final ($^{\circ}\text{C}$)	Tempo de Permanência (min.)
-	80	1
25	190	0
4	225	0
2	240	0
25	280	1

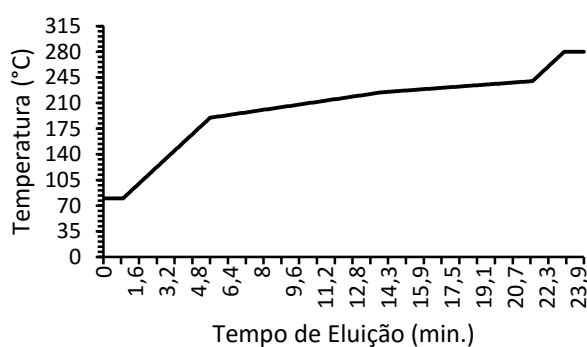


Figura 7 – Programação de temperatura para o forno da coluna.

A aquisição dos dados no espectrômetro de massas foi no modo de varredura SIM (do inglês, *Select Ion Monitoring*).

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. ANÁLISES FÍSICAS E QUÍMICAS DAS AMOSTRAS DE ÁGUA

Na Tabela 7 constam os valores referentes as análises físicas e químicas das amostras de água coletadas nos três pontos ao longo do Rio Taquara. Observa-se que os valores de pH variaram de 6,0 a 9,0 para todas as coletas realizadas nos três pontos, ficando dentro da faixa preconizada pelo CONAMA 357/2005 (BRASIL, 2005) para água doce classe 2, na qual o Rio Taquara é enquadrado segundo o Instituto das Águas do Paraná (PARANÁ, 2013).

Os valores de turbidez observados também ficaram em níveis aceitáveis para um corpo d'água classe 2, observando-se uma elevação apenas para as coletas realizadas em períodos de maior precipitação (Figura 8-a), o que já era esperado devido ao carreamento de solo e outros materiais particulados (orgânicos e inorgânicos) oriundos do escoamento superficial da área no entorno da bacia de drenagem, além da ressuspensão de sedimento do fundo do leito devido ao aumento do volume e da turbulência do rio.

Dentre as coletas, os valores mais altos de condutividade elétrica foram observados principalmente durante o verão (mês de fevereiro tanto de 2014 como de 2015), como pode ser observado na Figura 8-b. Isso se deve a temperaturas mais altas do período, pois segundo Esteves (2011), a atividade iônica de uma solução é fortemente dependente da temperatura, na qual o aumento de 1 °C acarreta uma elevação de aproximadamente 2% na condutividade de uma solução.

Já para os teores de cloreto, amônia, nitrito e nitrato (Tabela 7), os níveis estão bem abaixo dos valores máximos permitidos para esse tipo de classe de água doce, indicando que não há, pelo menos ao longo desses três locais de amostragem, indícios de lançamento, principalmente de esgoto doméstico.

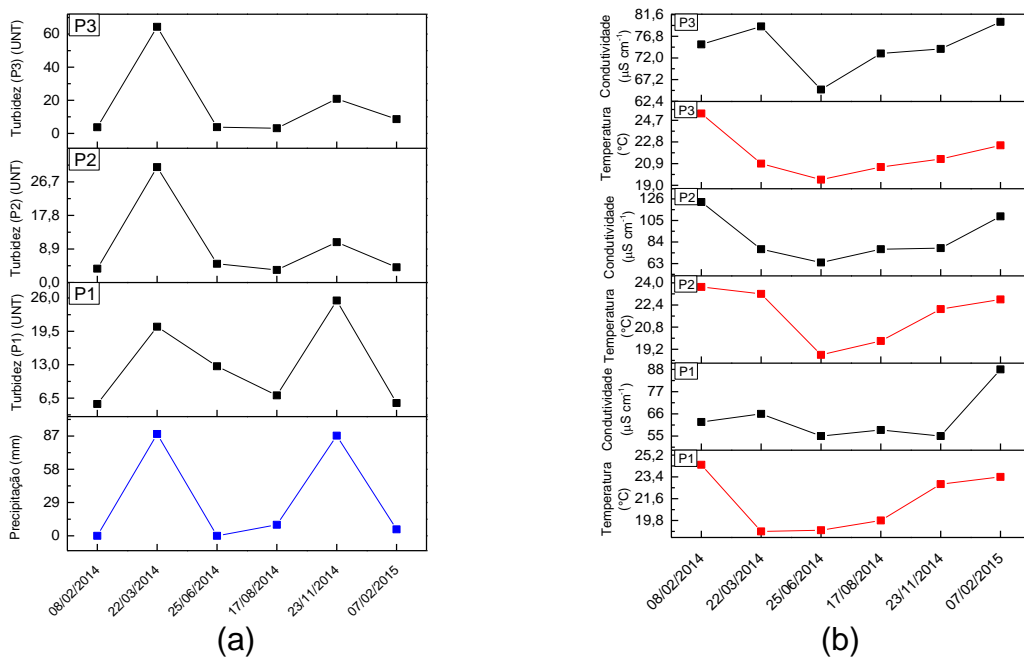


Figura 8 – Gráfico comparativo da (a) variação da turbidez em relação a precipitação e (b) condutividade pela temperatura da água para cada um dos pontos durante as coletas das amostras no Rio Taquara.

Tabela 7 - Valores médios e desvio-padrão dos parâmetros físicos e químicos avaliados para as amostras de água coletadas nos 3 pontos do Rio Taquara

Coleta	CONAMA 357 Classe 2	Ponto 1						Ponto 2						Ponto 3					
		08/02/14	22/03/14	25/06/14	17/08/14	23/11/14	07/02/15	08/02/14	22/03/14	25/06/14	17/08/14	23/11/14	07/02/15	08/02/14	22/03/14	25/06/14	17/08/14	23/11/14	07/02/15
Horário	-	11:20	16:30	7:25	11:30	13:40	11:40	13:40	13:00	09:00	09:40	11:50	09:55	15:40	09:30	10:20	08:10	09:20	08:10
Temp. (°C)	-	24,4	18,9	19,0	19,8	22,8	23,4	23,7	23,2	18,8	19,8	22,1	22,8	25,3	20,9	19,5	20,6	21,3	22,5
pH	6,0 – 9,0	5,97	8,43	6,51	7,39	n.d.*	8,4	9,07	8,81	7,68	7,18	n.d.*	8,1	8,58	8,7	7,44	7,15	n.d.*	8,3
Cond. (µS cm ⁻¹)	-	62	66	55	57,61	55	88	123	77	64	76,8	78	109	75	79	65	72,67	74	80
Turbidez (UNT)	≤100	5,35	20,4	12,7	7,02	25,5	5,55	3,69	30,6	4,97	3,33	10,7	4,04	3,68	64,4	3,78	3,13	20,9	8,6
Cloreto (mg L ⁻¹)	≤250	2,32	2,02	3,02	3,53	2,15	2,81	2,02	2,52	3,33	3,63	1,98	3,05	2,52	2,52	3,93	3,33	2,78	4,08
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
		0,17	0,17	0,30	0,17	0,20	0,28	0,17	0,17	0,00	0,30	0,30	0,14	0,17	0,46	0,30	0,00	0,20	0,32
Dureza (mg CaCO ₃ L ⁻¹)	-	28,47	27,01	24,46	27,3	27,7	29,1	33,22	32,12	30,30	33,22	33,35	31,82	32,49	31,76	29,20	30,66	27,12	33,18
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
		0,00	0,63	0,63	1,10	0,90	1,0	0,63	0,63	1,26	0,63	0,25	1,02	0,63	0,00	0,63	1,10	0,90	0,10
Amônia (mg L ⁻¹)	3,7** 2,0** 1,0** 0,5**	n.d.*	0,057	0,072	0,06	0,1	0,07	n.d.*	0,054	0,076	0,062	0,083	0,057	n.d.*	0,081	0,081	0,066	0,119	0,092
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
		0,000	0,026	0,01	0,02	0,02	0,05	0,022	0,041	0,020	0,036	0,046	0,013	0,073	0,073	0,014	0,044	0,065	
Nitrito (mg L ⁻¹)	≤1	0,006	0,035	0,035	0,014	0,05	0,03	0,022	0,049	0,050	0,011	0,037	0,021	0,013	0,073	0,073	0,014	0,044	0,065
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
		0,003	0,002	0,002	0,003	0,00	0,003	0,005	0,001	0,001	0,003	0,006	0,004	0,002	0,003	0,003	0,004	0,011	0,007
						1													
Nitrato (mg L ⁻¹)	≤10	0,184	0,283	0,283	0,34	0,27	0,31	0,159	0,243	0,243	0,409	0,336	0,291	0,171	0,286	0,286	0,576	0,231	0,384
		±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
		0,002	0,061	0,061	0,01	0,02	0,07	0,017	0,01	0,021	0,006	0,011	0,062	0,065	0,040	0,040	0,011	0,044	0,027

*n.d.: não disponível; **Valores de nitrogênio amoniacal variam de acordo com o pH mensurado: 3,7 mg L⁻¹ N, para pH ≤ 7,5; 2,0 mg L⁻¹ N, para 7,5 < pH ≤ 8,0; 1,0 mg L⁻¹ N, para 8,0 < pH ≤ 8,5 e 0,5 mg L⁻¹ N, para pH > 8,5

5.2. CROMATOGRAFIA GASOSA ACOPLADO À ESPECTROMETRIA DE MASSAS

Para a determinação do tempo de retenção (t_r) foi realizada uma leitura de um padrão $10 \mu\text{g L}^{-1}$ dos compostos heptacloro, aldrin, heptacloro epóxido, γ -clordano, endosulfan I, α -clordano, 4,4'-DDE, dieldrin, endrin, endosulfan II, 4,4'-DDD, endrin aldeído, endosulfan sulfato, 4,4'-DDT, endrin cetona e metoxicloro. A aquisição de dados do espectrômetro de massas foi por meio do modo monitoramento seletivo de íons (SIM, do inglês *Selected Ion Monitoring*).

Tabela 8 – Parâmetros do modo SIM do espectrômetro de massa: tempo inicial e final de leitura e os valores de massa dos íons monitorados para os 16 pesticidas organoclorados avaliados

Compostos	Tempo Inicial (min.)	Tempo Final (min.)	Íons (m/z)
Heptacloro	10,15	11,25	270, 272, 274
Aldrin	11,25	12,25	66, 91, 263
Heptacloro Epóxido	12,25	13,35	351, 353, 355
γ -Clordano	13,35	14,10	371, 373, 375
Endosulfan I A-Clordano	14,10	14,55	160, 239, 274, 371, 373, 375, 377
4,4'-DDE Dieldrin	14,55	15,55	79, 246, 248, 263, 279, 316
Endrin	15,55	16,27	263, 265
Endosulfan II	16,27	16,60	160, 193, 205, 206, 229, 235, 243, 265, 269
4,4'-DDD	16,60	16,95	165, 235, 237
Endrin Aldeído	16,95	17,55	243, 281, 343, 345
Endosulfan Sulfato 4,4'-DDT	17,55	19,25	165, 235, 237, 387, 388, 422
Endrin Cetona	19,25	21,00	281, 315, 343
Metoxicloro	21,00	22,00	227

A escolha do modo SIM foi realizada com intuito de aumentar a sensibilidade e seletividade do método, com base no trabalho de Amaral *et al.* (2011), no qual foram avaliadas diferentes técnicas de varredura e identificação de cinco

pesticidas organoclorados por CG-EM. Os modos testados foram: o modo SCAN (promove uma varredura completa para uma faixa de íons predeterminado), modo SIM e o modo MIC (neste caso não se trata de uma técnica de varredura, mas de artifícios de *software* que filtram apenas os íons de interesse pós varredura). Foi determinado que o modo de varredura SIM, por ser mais seletivo quanto aos íons que devem ser monitorados, apresentou maior sensibilidade na detecção, com uma melhora considerável na precisão da análise.

Na Figura 9 estão apresentados os cromatogramas obtidos nestas condições estabelecidas, no qual se pode observar ausência de picos interferentes e uma linha de base mais estável. Tal padrão pode ser observado tanto na Figura 9-a (água ultrapura com adição padrão) como na Figura 9-b (amostra real acrescida de padrão na mesma proporção da água ultrapura).

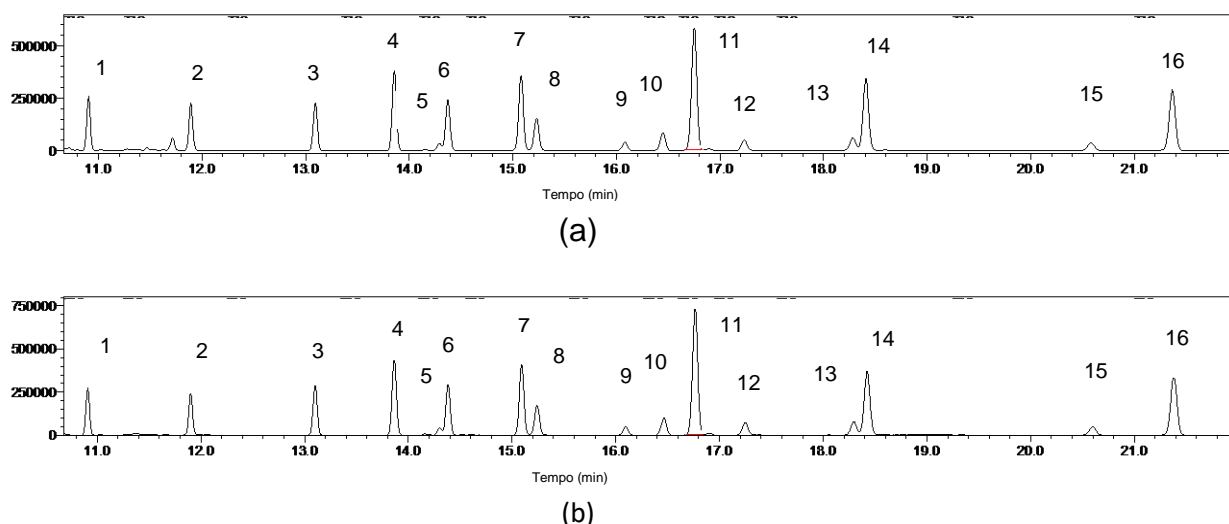


Figura 9 – Cromatogramas obtidos a partir da adição de padrão em (a) água ultrapura e (b) amostra real com padrão, com uma concentração final de $10,0 \mu\text{g L}^{-1}$ de cada OCP avaliados, submetidos a extração USAEME (1: heptacloro; 2 : aldrin; 3: heptacloro epóxido; 4: γ -clordano; 5: endosulfan I; 6: α -clordano; 7: 4,4'-DDE; 8: dieldrin; 9: endrin; 10: endosulfan II; 11: 4,4'-DDD; 12: endrin aldeído; 13: endosulfan sulfato; 14: 4,4'-DDT; 15: endrin cetona; 16: metoxicloro)

5.3. PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

Em uma primeira bateria de ensaios, foi proposto um DCCR como descrito na Tabela 9:

Tabela 9 – Valores das variáveis do DCCR para o primeiro estudo

Fatores	Níveis				
	- α	-1	0	+1	+ α
Volume de Solvente Extrator (μL)	99	150	225	300	351
Tempo de Agitação Manual (s)	3	10	20	30	37
Tempo de Ultrassom (min.)	11,58	15	20	25	28,42

Para esta configuração proposto, o modelo quadrático, que foi o que melhor se ajustou aos resultados, porém apresentou um coeficiente de determinação abaixo de 0,6 para todos os pesticidas organoclorados avaliados. Ao analisar a repetição do ponto central (seis ensaios ao todo), verificou-se um coeficiente de variação alto também (>16%). Segundo Perázio (2010), o baixo coeficiente de determinação do modelo e a alta variação das repetições denotam a existência de variáveis de processo que carecem de um maior controle das condições experimentais. Isso fica evidente ao analisar o ponto axial $-\alpha$ para o volume de solvente (99 μL), quando se observou que esse volume de solvente adicionado foi totalmente dissolvido, fato que contribui para os baixos valores de R^2 do modelo. É relevante comentar o ocorrido quanto a oscilação de volume de solvente recuperado (Figura 6), já descrito na seção 4.3.3.5, onde nota-se a nítida diferença de volume do clorofórmio recuperado após a centrifugação. Isso responde pelo alto coeficiente de variação verificado para a repetição do ponto central.

A partir dessa constatação e realizando observações nas etapas de extração, notou-se que um fator que pode ter interferido de forma contundente durante o procedimento experimental era a temperatura (descrito anteriormente), principalmente quando se caminhava para tempos maiores de exposição ao ultrassom (acima de 5 minutos). Isso se deve porque parte da energia fornecida para auxiliar no processo de cavitação também é convertida em energia térmica devido a agitação das moléculas e, com isso, há uma elevação da temperatura do sistema. Com o aumento da temperatura pode ter havido a elevação da solubilidade do clorofórmio em água, que de certa forma também influenciou negativamente na recuperação do solvente após a exposição ao ultrassom.

Como medida corretiva, foi determinado um controle de temperatura do banho de ultrassom a partir da adição de cubos de gelo quando se observava a elevação da temperatura da água, objetivando manter a temperatura o mais próximo

da temperatura ambiente. Outra medida foi condicionar os tubos Falcon em um banho de gelo antes de serem centrifugados, com intuito de baixar a temperatura, contribuindo para que a temperatura durante a centrifugação não altere a solubilidade do clorofórmio em água, promovendo uma maior recuperação do solvente e de forma mais uniforme para todos os ensaios.

Aplicando essas medidas, realizaram-se então testes para determinar qual seria o volume mínimo de solvente que era passível de recuperação, de forma que não houvesse novamente um ponto do planejamento em que houvesse a solubilização total do clorofórmio. Observou-se que volumes de solvente extrator muito baixos, $\leq 100 \mu\text{L}$, não apresentavam recuperação de um volume expressivo, ficando praticamente solubilizado na fase aquosa, fato também observado nos trabalhos de Regueiro *et al.* (2008) e Ozcan, Tor e Aydin (2009), que também trabalharam com o mesmo tipo de solvente. Com base nisso, foi feito um novo planejamento, agora delimitando o ponto axial mais baixo ($-\alpha$) a um volume de solvente que apresentasse recuperação após a centrifugação. A nova configuração do DCCR está apresentada na Tabela 10:

Tabela 10 – Valores dos níveis dos fatores do DCCR do segundo estudo

Fatores	Níveis				
	$-\alpha$	-1	0	+1	$+\alpha$
Volume de Solvente Extrator (μL)	122	170	240	310	358
Tempo de Agitação Manual (s)	1	9	21	33	41
Tempo de Ultrassom (min.)	0,47	10	24	38	47,5

Os dados obtidos a partir dos 20 ensaios propostos pelo novo DCCR foram tabulados e processados no *software Statistica 10.0*, no qual obteve-se a análise de variância (ANOVA) (Tabela 11).

Considerando o alto número de resposta pretendidas, 20 pesticidas organoclorados, o modelo quadrático foi o que melhor se ajustou aos resultados obtidos para extração de todos esses pesticidas simultaneamente, explicando uma porcentagem que variou de 88,2 a 97% dos resultados, como observado na Tabela 12

De acordo com a Tabela 11, para todos os OCP avaliados, a regressão foi estatisticamente significativa de acordo com o teste F ($F_{\text{calc}} > F_{\text{tab}}$). Embora a regressão tenha se mostrado significativo, segundo Barros Neto, Scarminio e Bruns

(2001), para que o modelo também seja útil para fins preditivos é necessário que a razão entre o F_{calc} e F_{tab} seja no mínimo 4. Neste caso, somente a regressão para os modelos do γ -BHC e β -BHC não apresentaram essa razão superior a 4, porém, a falta de ajuste não foi significativa para estes dois OCP, podendo ser aceito como preditivo.

Já para o teste F para falta de ajuste do modelo em relação ao erro puro, somente os modelos para os compostos α -BHC, γ -BHC, β -BHC, δ -BHC, α -clordano, DDE, endrin aldeído, DDT e DDD mostraram falta de ajuste significativo. Segundo Barros Neto, Scarminio e Bruns (2001), para que modelo não apresente falta de ajuste significativa aos dados, o F_{calc} deve ser menor F_{tab} . Analisando as médias relativas aos pontos centrais do planejamento para esses compostos que apresentaram falta de ajuste, observou que os mesmos não tiveram grande variação (coeficiente de variação, CV, entre 7,8 e 15,9%), e o erro puro verificado foi relativamente baixo. Ainda de acordo com Barros Neto, Scarminio e Bruns (2001), essa combinação entre médias dos pontos centrais próximas, juntamente com um erro puro relativamente baixo, o modelo, neste caso, pode ser considerado preditivo.

As equações e seus respectivos coeficientes de determinação dos modelos quadráticos para cada pesticida organoclorado avaliado estão apresentadas na Tabela 12, onde os termos em **negrito** correspondem os coeficientes que se apresentaram estatisticamente significativos para o modelo proposto.

Tabela 11 – Análise de variância (ANOVA) para o planejamento DCCR para extração USAEME para cada OCP avaliado

Fonte de Variação	α -BHC						γ -BHC					
	SQ	GL	MQ	F _{calc}	F _{tab}	F _{calc} /F _{tab}	SQ	GL	MQ	F _{calc}	F _{tab}	F _{calc} /F _{tab}
Regressão	18916914093	9	2101879344	13,64	3,02	4,52	74074851944	9	8230539105	8,40	3,02	2,78
Resíduo	1540713220	10	154071322				9802244479	10	980224448			
Falta de Ajuste	630330224	5	126066045	0,69	5,05		6773916978	5	1354783396	2,24	5,05	
Erro Puro	910382996	5	182076599	-			3028327501	5	605665500			
Total	20457627313	19					83877096423					

Fonte de Variação	β -BHC						δ -BHC					
	SQ	GL	MQ	F _{calc}	F _{tab}	F _{calc} /F _{tab}	SQ	GL	MQ	F _{calc}	F _{tab}	F _{calc} /F _{tab}
Regressão	61734620191	9	6859402243	8,28	3,02	2,74	13428938890	9	1492104321	12,14	3,02	4,02
Resíduo	8279814914	10	827981491				1229468777	10	122946878			
Falta de Ajuste	5660211443	5	1132042289	2,16	5,05		1112044348	5	222408870	9,47	5,05	
Erro Puro	2619603471	5	523920694				117424430	5	23484886			
Total	70014435105	19					14658407667	19				

Fonte de Variação	Heptacloro						Aldrin					
	SQ	GL	MQ	F _{calc}	F _{tab}	F _{calc} /F _{tab}	SQ	GL	MQ	F _{calc}	F _{tab}	F _{calc} /F _{tab}
Regressão	1,60750E+11	9	17861115402	16,65	3,02	5,51	1,23575E+11	9	13730549171	17,18	3,02	5,69
Resíduo	10727331637	10	1072733164				7993213933	10	799321393			
Falta de Ajuste	10099372316	5	2019874463	16,08	5,05		7197697431	5	1439539486	9,05	5,05	
Erro Puro	627959322	5	125591864				795516502	5	159103300			
Total	1,71477E+11	19					1,31568E+11	19				

Fonte de Variação	Heptacloro Epóxido						γ -Clordano					
	SQ	GL	MQ	F _{calc}	F _{tab}	F _{calc} /F _{tab}	SQ	GL	MQ	F _{calc}	F _{tab}	F _{calc} /F _{tab}
Regressão	2,78357E+11	9	30928607254	23,19	3,02	7,69	7,19795E+11	9	79977251895	28,37	3,02	9,39
Resíduo	13337198333	10	1333719833				28191329920	10	2819132992			
Falta de Ajuste	11758186246	5	2351637249	7,45	5,05		23839815055	5	4767963011	5,48	5,05	
Erro Puro	1579012087	5	315802417				4351514865	5	870302973			
Total	2,91695E+11	19					7,47987E+11	19				

Fonte de Variação	Endosulfan I						α -Clordano					
	SQ	GL	MQ	F _{calc}	F _{tab}	F _{calc} /F _{tab}	SQ	GL	MQ	F _{calc}	F _{tab}	F _{calc} /F _{tab}
Regressão	5614959450	9	623884383	15,85	3,02	5,23	2,76242E+11	9	30693592586	35,24	3,02	11,67
Resíduo	393534531	10	39353453				8710435916	10	871043592			
Falta de Ajuste	369220213	5	73844043	15,19	5,05		6363769545	5	1272753909	2,71	5,05	
Erro Puro	24314318	5	4862864				2346666371	5	469333274			
Total	6008493981	19					2,84953E+11	19				

SQ – Soma quadrática; GL – Graus de liberdade; MQ – Média quadrática

Tabela 11 - Continuação

Fonte de Variação	4,4'-DDE						Dieldrin					
	SQ	GL	MQ	F _{calc}	F _{tab}	F _{calc} /F _{tab}	SQ	GL	MQ	F _{calc}	F _{tab}	F _{calc} /F _{tab}
Regressão	6,14111E+11	9	68234576064	31,64	3,02	10,48	1,20145E+11	9	13349493163	27,42	3,02	9,08
Resíduo	21565253365	10	2156525337				4869201962	10	486920196			
Falta de Ajuste	17834129160	5	3566825832	4,78	5,05		4249830834	5	849966167	6,86	5,05	
Erro Puro	3731124205	5	746224841				619371128	5	123874226			
Total	6,35676E+11	19					1,25015E+11	19				

Fonte de Variação	Endrin						Endosulfan II					
	SQ	GL	MQ	F _{calc}	F _{tab}	F _{calc} /F _{tab}	SQ	GL	MQ	F _{calc}	F _{tab}	F _{calc} /F _{tab}
Regressão	10927184795	9	1214131644	19,22	3,02	6,36	59626797844	9	6625199760	20,94	3,02	6,93
Resíduo	631762513	10	63176251				3163614228	10	316361423			
Falta de Ajuste	555713234	5	111142647	7,31	5,05		2913969929	5	582793986	11,67	5,05	
Erro Puro	76049279	5	15209856				249644299	5	49928860			
Total	11558947308	19					62790412072	19				

Fonte de Variação	4,4'-DDD						Endrin Aldeído					
	SQ	GL	MQ	F _{calc}	F _{tab}	F _{calc} /F _{tab}	SQ	GL	MQ	F _{calc}	F _{tab}	F _{calc} /F _{tab}
Regressão	2,34855E+12	9	2,60950E+11	28,32	3,02	9,38	33843560444	9	3760395605	25,24	3,02	8,36
Resíduo	92151453626	10	9215145363				1489625623	10	148962562			
Falta de Ajuste	73913468208	5	14782693642	4,05			1208063948	5	241612790	4,29	5,05	
Erro Puro	18237985418	5	3647597084				281561675	5	56312335			
Total	2,44070E+12	19					35333186067	19				

Fonte de Variação	Endosulfan Sulfato						4,4'-DDT					
	SQ	GL	MQ	F _{calc}	F _{tab}	F _{calc} /F _{tab}	SQ	GL	MQ	F _{calc}	F _{tab}	F _{calc} /F _{tab}
Regressão	46426570923	9	5158507880	15,77	3,02	5,22	7,91645E+11	9	87960589871	29,52	3,02	9,77
Resíduo	3271558044	10	327155804				29796403878	10	2979640388			
Falta de Ajuste	2966348560	5	593269712	9,72	5,05		24498092209	5	4899618442	4,62	5,05	
Erro Puro	305209484	5	61041897				5298311670	5	1059662334			
Total	49698128967	19					8,21442E+11	19				

Fonte de Variação	Endrin Cetona						Metoxicloro					
	SQ	GL	MQ	F _{calc}	F _{tab}	F _{calc} /F _{tab}	SQ	GL	MQ	F _{calc}	F _{tab}	F _{calc} /F _{tab}
Regressão	24268789293	9	2696532144	25,77	3,02	8,53	9,54055E+11	9	1,06006E+11	27,37	3,02	9,06
Resíduo	1046333086	10	104633309				38736952132	10	3873695213			
Falta de Ajuste	936675532	5	187335106	8,54	5,05		32620652298	5	6524130460	5,33	5,05	
Erro Puro	109657554	5	21931511				6116299833	5	1223259967			
Total	25315122379	19					9,92792E+11	19				

SQ – Soma quadrática; GL – Graus de liberdade; MQ – Média quadrática

Tabela 12 – Equações dos modelos quadrático, valores dos coeficientes de determinação (R²) e do coeficiente de variação (CV) para cada pesticida organoclorado

Pesticida	Equação	R ²	CV
α-BHC	$\alpha - BHC = 65149 - 32762,1S + 12077,4S^2 - 4214,4A - 882,2A^2 + 7770,9U - 6106U^2 + 5356,5SA + 1203SU + 2275,2AU$	0,925	20,73
γ-BHC	$\gamma - BHC = 131284,8 - 62303,8S + 31736,7S^2 - 5223,2A - 1768,7A^2 + 12387,4U - 9837,1U^2 + 12244,4A + 640,9SU + 4108,1AU$	0,883	23,40
β-BHC	$\beta - BHC = 95768,8 - 56823,8S + 28099,3S^2 - 18449,6A - 1811,5A^2 + 13168U - 9805,9U^2 + 9327,5SA + 2468,3SU + 2450,8AU$	0,882	24,00
δ-BHC	$\delta - BHC = 37778,2 - 26554,4S + 14157,1S^2 - 2282,8A - 2620,8A^2 + 1277U - 3875,2U^2 + 4250,9SA + 1349,4SU + 2899,4AU$	0,916	12,89
Heptacloro	$Heptacloro = 142400 - 94102,7S + 43934S^2 - 5368,7A - 13593,7A^2 + 54,1U - 15096,7U^2 + 11324,4SA + 6260,4SU + 10622,6AU$	0,937	7,90
Aldrin	$Aldrin = 129896,7 - 82285,8S + 38470,9S^2 - 6159A - 10718,8A^2 + 1388,3U - 15111,7U^2 + 9896SA + 6031,5SU + 8105,5AU$	0,94	9,74
Heptacloro Epóxido	$Heptacloro Epóxido = 138484 - 119611S + 68695S^2 - 13642A - 9252A^2 - 1597U - 12653U^2 + 17028SA + 7908SU + 11410AU$	0,954	12,82
γ-Clordano	$\gamma - Clordano = 234004 - 194072S + 102663S^2 - 29461A - 9356A^2 - 9605U - 15767U^2 + 40602SA + 25489SU + 31388AU$	0,962	12,55
Endossulfan I	$Endossulfan I = 25344,5 - 17444,5S + 8777,8S^2 - 1527,4A - 1755,4A^2 - 635,7U - 2032,6U^2 + 2961SA + 670,5SU + 2022,5AU$	0,935	8,73
α-Clordano	$\alpha - Clordano = 221315 - 125752S + 56509S^2 - 12029A - 7980A^2 - 6504U - 13734U^2 + 13877SA + 16718SU + 7280AU$	0,97	9,77
4,4'-DDE	$4,4' - DDE = 284631 - 184965S + 87927S^2 - 21374A - 10028A^2 - 6870U - 19872U^2 + 25161SA + 24600SU + 19130AU$	0,966	9,57
Dieldrin	$Dieldrin = 121740,4 - 81307,9S + 38779,2S^2 - 7969,2A - 7083,7A^2 - 769,1U - 12095,1U^2 + 12453,1SA + 5883,9SU + 10221,1AU$	0,961	9,14
Endrin	$Endrin = 27494,1 - 24112,8S + 11935,9S^2 - 2590,1A - 3001,4A^2 + 124U - 4245,4U^2 + 4279,8SA + 1416SU + 2487,3AU$	0,945	14,22
Endossulfan II	$Endossulfan II = 76161 - 56870,4S + 28275,8S^2 - 5594,7A - 5632,4A^2 - 1274,5U - 7905,4U^2 + 8616,9SA + 3946,6SU + 5884,1AU$	0,95	9,29
4,4'-DDD	$4,4' - DDD = 472421 - 358206S + 179624S^2 - 40842A - 18817A^2 + 3620U - 43205U^2 + 52675SA + 22033SU + 41450AU$	0,962	12,75
Endrin Aldeído	$Endrin Aldeído = 48794,7 - 41686,2S + 25343,1S^2 - 2935,4A - 754,1A^2 + 256,7U - 927,9U^2 + 4655,2SA + 1182,3SU + 5603,5AU$	0,958	15,28
Sulfato de Endossulfan	$Endossulfan Sulfato = 55923,6 - 49208,3S + 26722,6S^2 - 4393,5A - 5276,1A^2 + 402,1U - 7215,2U^2 + 7364SA + 2668SU + 4542,3AU$	0,934	14,00
4,4'-DDT	$4,4' - DDT = 265641 - 209337S + 100391S^2 - 19479A - 11617A^2 - 1328U - 28927U^2 + 31549SA + 17943SU + 25929AU$	0,964	12,23
Endrin Cetona	$Endrin Cetona = 39853,3 - 35524,9S + 20083,7S^2 - 3512A - 2016,3A^2 - 668,2U - 4094,6U^2 + 4642,1SA + 2426,9SU + 3731,6AU$	0,959	11,73
Metoxicloro	$Metoxicloro = 218290 - 223159S + 124418S^2 - 25706A - 6542A^2 - 332U - 26499U^2 + 34399SA + 15100SU + 25232AU$	0,961	15,96

S: volume de solvente extrator; A: tempo de agitação manual; U: tempo no banho de ultrassom; as sentenças em negrito correspondem aos coeficientes que se mostraram estatisticamente significativos para o modelo

Além dos modelos serem significativos e preditivos, explicando mais de 88% dos resultados, os mesmos apresentaram coeficientes de variação para as repetições do ponto central relativamente baixos, um percentual de 7 a 24%, apresentado uma média de, aproximadamente, 13%. De acordo com Cavalcante et al. (2007), pode-se considerar que o conjunto de dados apresentou uma homogeneidade adequada quando o CV for menor que 35%.

Verificou-se também que o volume do solvente de extração (S) foi significativo para todos os pesticidas extraídos, para os quais todos coeficientes lineares apresentaram efeito negativo enquanto os quadráticos exibiram um efeito positivo, Este resultado encontrado vem ao encontro com os apresentados por Regueiro *et al.* (2008), Fontana *et al.* (2009) e Ozcan, Tor e Aydin (2009), no qual, segundo os autores, o volume de solvente extrator adicionado afeta diretamente a questão da concentração do analito, e em se tratando de análises a nível traço, isso se torna fator preponderante para o sucesso da análise.

Já para a variável agitação manual (A) que antecede a etapa de ultrassom, observa-se que os coeficientes das equações, tanto lineares como os quadráticos, exercem efeitos negativos para o processo de extração para todos os pesticidas avaliados. Porém, este resultado é contraditório com o que descreve Wei *et al.* (2011), que ao avaliarem a extração de pesticidas organoclorados em água assistido por ultrassom, observaram que o sinal analítico tinha um aumento de mais de 100% quando se agitava manualmente por 10 segundos em relação a outro ensaio na qual não era aplicada essa agitação. Também relataram que tempos maiores não apresentavam ganhos significativos no sinal analítico. Porém, vale ressaltar que nesse trabalho de Wei et al. foi empregado solvente de baixa densidade em relação à água (1-decanol), que, comparativamente ao solvente utilizado neste trabalho (clorofórmio), apresenta uma solubilidade em água muito inferior, cerca de 216 vezes menor (0,037 e 8,0 g L⁻¹ respectivamente). Fato esse que pode explicar esses resultados antagônicos, já que a baixa solubilidade do 1-decanol significa que o mesmo apresenta maior tensão interfacial com a água, o que torna a formação de emulsão mais difícil, já que devido a essa maior tensão interfacial, a fase orgânica tenderá a formar a menor área possível. Com isso, somente a radiação de ultrassom não seria o suficiente para promover a formação da emulsão, sendo necessária a agitação manual para vencer essa tensão interfacial.

Quanto ao tempo de ultrassom (U), todos os coeficientes quadráticos apresentaram efeitos negativos sobre a extração e na sua grande maioria se mostraram estatisticamente significativos para o modelo. Ozcan, Tor e Aydin (2009) em seus estudos utilizando planejamento fatorial e clorofórmio como solvente extrator, notaram que passando de 5 para 15 minutos de agitação em banho de ultrassom, havia um aumento significativo do sinal analítico. Regueiro et al. (2008), também utilizando o mesmo solvente extrator, otimizaram a extração de diversos contaminantes em amostras de água utilizando planejamento fatorial, trabalhando com tempo de extração em ultrassom de 1 a 10 minutos, no qual obteve um máximo de rendimento com tempo de 10 minutos. Uma provável explicação do efeito negativo para esse coeficiente seja devido aos tempos elevados adotados nesse trabalho, pois como foi comentando anteriormente, a exposição prolongada ao ultrassom promove um aumento da temperatura do sistema, o que acaba alterando a solubilidade do solvente extrator, conseqüentemente interferindo na recuperação desse solvente.

Todas as interações entre as variáveis apontaram efeito positivo sobre a extração, e, em sua maioria, se mostraram estatisticamente significativas para o modelo. Tais resultados corroboram o que foi descrito por Regueiro et al. (2008) e ratificado por Andruch et al. (2013), que defendem que em processos que envolvem n variáveis, a otimização por métodos quimiométricos é de fato a melhor opção quando comparado a otimização univariada.

5.3.1. Desejabilidade

Após ajustado o modelo para os 20 ensaios proposto pelo DCCR e da análise dos resultados pelo *software* Statistica10.0, aplicou-se a função desejabilidade com intuito de obter os valores dos parâmetros que otimizassem a extração simultânea dos 20 OCP. Nessa etapa, segundo Barros et al. (2010), é necessário atribuir um peso para a os parâmetros da desejabilidade (LI – limite inferior; A – valor médio e LS – limite superior), que deve estar dentro de um intervalo de zero e um, onde zero representa valor não aceitável e um refere-se ao resultado mais desejável. Ainda, segundo os autores, a atribuição desses valores está condicionada com o objetivo do estudo. Como neste caso da extração, o intuito é maximizar, atribuiu-se valor um para LS, e zero para A e LI. A partir disso, foram obtidos os gráficos de superfície de resposta (Figura 10) e de desejabilidade global (Anexo 1).

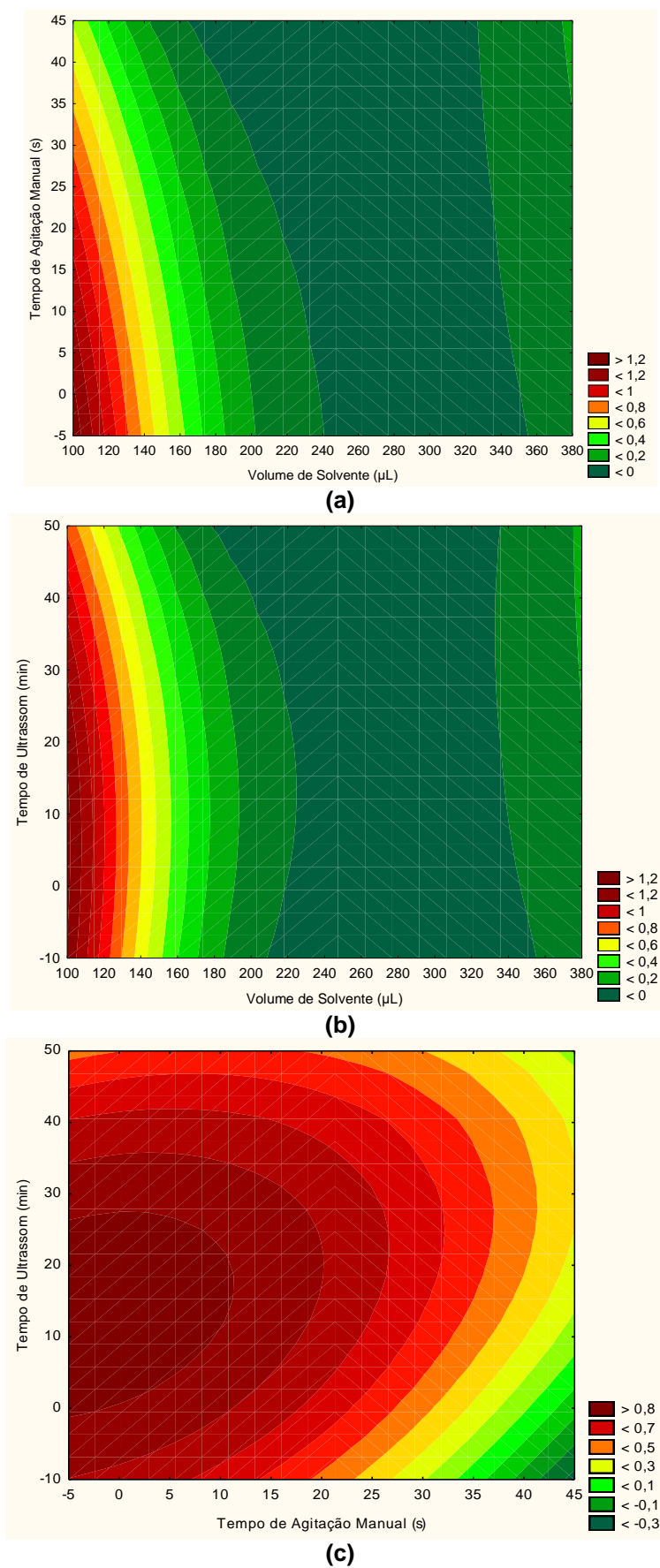


Figura 10 – Superfície de resposta para a função desejabilidade para: (a) tempo de agitação manual por volume de solvente, (b) tempo de ultrassom por volume de solvente e (c) tempo de ultrassom por agitação manual

Acompanhando as superfícies de resposta para a função desejabilidade global (Figura 10), é possível observar que os máximos caminham para baixos volume de clorofórmio, com um curto tempo de agitação manual e uma faixa intermediária para agitação em banho de ultrassom.

Observando o Anexo 1, os valores que maximizam a extração simultânea dos pesticidas são: 122 μL de clorofórmio, 1 segundo de agitação manual e 14,34 minutos de agitação no banho de ultrassom. Tais condições fornecem uma desejabilidade global (D) de 0,945.

Foram realizados então ensaios experimentais com base nesses parâmetros otimizados para fins de comparação com os valores preditos pela função desejabilidade, os resultados se encontram descritos na Tabela 13.

Tabela 13 – Valores preditos para cada uma das variáveis de resposta avaliados pela aplicação da desejabilidade global e os valores observados experimentalmente obtidos a partir das condições otimizadas dadas pela função desejabilidade.

	Valor Predito pela Desejabilidade Global*	Valor Observado Experimentalmente*	Diferença entre o valor predito e o experimental (%)
α-BHC	170100	162430 ± 8852	-4,51
γ-BHC	332200	322419 ± 36314	-2,94
β-BHC	295600	298275 ± 25341	0,90
δ-BHC	133100	133635 ± 12695	0,40
Heptacloro	439800	510245 ± 36572	16,02
Aldrin	395200	460089 ± 46841	16,42
Hetpacloro Epóxido	596100	580277 ± 55413	-2,65
γ-Clordano	1052000	960535 ± 120549	-8,69
Endosulfan I	88043	92602 ± 6179	5,18
α-clordano	654900	648087 ± 72011	-1,04
4,4'-DDE	968200	1030646 ± 127067	6,45
Dieldrin	409500	439523 ± 47390	7,33
Endrin	112200	128176 ± 19716	14,24
Endosulfan II	278000	286513 ± 13835	3,06
4,4'-DDD	1797000	1804734 ± 203458	0,43
Endrin aldeído	213600	192852 ± 9021	-9,71
Endosulfan Sulfato	232200	223282 ± 28390	-3,84
4,4'-DDT	1028000	1059019 ± 131677	3,02
Endrin cetona	175300	171305 ± 826	-2,28
Metoxicloro	1101000	1104296 ± 121415	0,30

*Valores relativos às áreas de integração no cromatograma

Pelo fato da desejabilidade global (D) não ser igual a 1 (que corresponderia a 100%), isso implica que pode ocorrer uma variação entre os valores preditos e os observados na prática, como pode ser visto na Tabela 13. Com exceção do heptacloro, aldrin e endrin, que tiveram uma diferença superior a 10%, os demais apresentaram uma variação muito pequena comparado aos valores preditos pela desejabilidade global condizentes com o alto valor dos coeficientes de determinação do modelo proposto.

5.4. ENSAIO DE RECUPERAÇÃO

Os ensaios de recuperação foram conduzidos em três faixas de fortificação de amostras reais: baixa, média e alta, correspondendo a uma concentração final de 0,5, 1,0 e 2,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectivamente. Os dados obtidos são apresentados na Tabela 14.

Com exceção dos organoclorados da série BHC (α , β , δ e γ), os valores de recuperação para os demais 16 pesticidas variaram de 65,35 a 127,14%. De acordo com *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC, 2002), quando o analito encontra-se na faixa de concentração de nível traço (ppb), há um intervalo de valores críticos aceitáveis de recuperação, que no geral está situado entre 70 a 125%. Portanto, com exceção do dieldrin, endrin, endosulfan sulfato e endrin cetona, os demais pesticidas apresentaram valores de recuperação dentro do aceitável para os três níveis de fortificação propostos.

No caso dos isômeros de BHC, constatou-se que os mesmos apresentaram um alto coeficiente de variação entre as repetições, que pode ser devido a coextração de outros compostos presentes na matriz e que coeluem no mesmo tempo dos isômeros. Na tentativa de eliminar ou amenizar este efeito, foi selecionado apenas um íon para o monitoramento nessa faixa de tempo m/z 109, que dentre todos que apresentam intensidade significativa, foi o que menos demonstrou os efeitos de interferência. Porém, mesmo assim ainda foi possível observar a persistência das discrepâncias entre as replicatas. Por esses motivos a série de BHC foi excluída como um poluente alvo deste estudo.

Ao se analisar entre os diferentes níveis de fortificação, heptaclor epóxido, endosulfan I, α -clordano, dieldrin, endrin, endosulfan II, endrin aldeído, endosulfan sulfato, endrin cetona e metoxicloro, o percentual de recuperação apresentou diferença significativa, principalmente entre as concentrações de 1,0 e 2,0 $\mu\text{g L}^{-1}$. Nota-se que para o nível intermediário de fortificação (1,0 $\mu\text{g L}^{-1}$), com exceção do endrin cetona, todos os demais organoclorados ficaram dentro da faixa de recuperação aceitável, além de também ser o nível que apresentou o menor coeficiente de variação e desvio-padrão (Tabela 14 e Figura 11).

Numa visão geral, a média de recuperação do método foi de aproximadamente 88,7%. De acordo com a literatura, o fato de não se observar ensaios com percentuais de recuperação extremos (valores muito baixos ou elevados) denotam que o emprego da USAEME se mostrou adequada para aplicação em águas superficiais, principalmente por não apresentar interferência significativas de outros compostos que geralmente estão presentes nesse tipo de matriz, tais como material particulado em suspensão, compostos húmicos e inorgânicos (PRATES; GEBARA e RÉ-POPPI, 2011; RISSATO et al., 2004).

Tabela 14 – Valores de Recuperação e seus respectivos coeficientes de variação (CV) para 3 níveis de fortificação (0,5, 1,0 e 2,0 µg L⁻¹)

Fortificação (µg L ⁻¹)	Heptacloro		Aldrin		Heptacloro Epóxido		γ-Clordano		Endosulfan I		α-Clordano		4,4'-DDE		Dieldrin	
	Recuperação (%)	CV (%)	Recuperação (%)	CV (%)	Recuperação (%)	CV (%)	Recuperação (%)	CV (%)	Recuperação (%)	CV (%)	Recuperação (%)	CV (%)	Recuperação (%)	CV (%)	Recuperação (%)	CV (%)
0,5	92,9	15,88	89,98	19,3	92,87	17,33	92,26	17,34	95,99	0,12	96,85	0,09	91,48	18,94	92,19	15,76
1	80,95	3,29	80,37	0,55	107,7	0,98	93,15	0,97	89,56	0,01	90,38	0,03	91,93	0,93	102,49	1,57
2	83,14	6,49	70,18	13,33	72,32	3,61	73,52	8,22	76,07	0,04	75,95	0,08	74,88	14,38	68,1	5,02

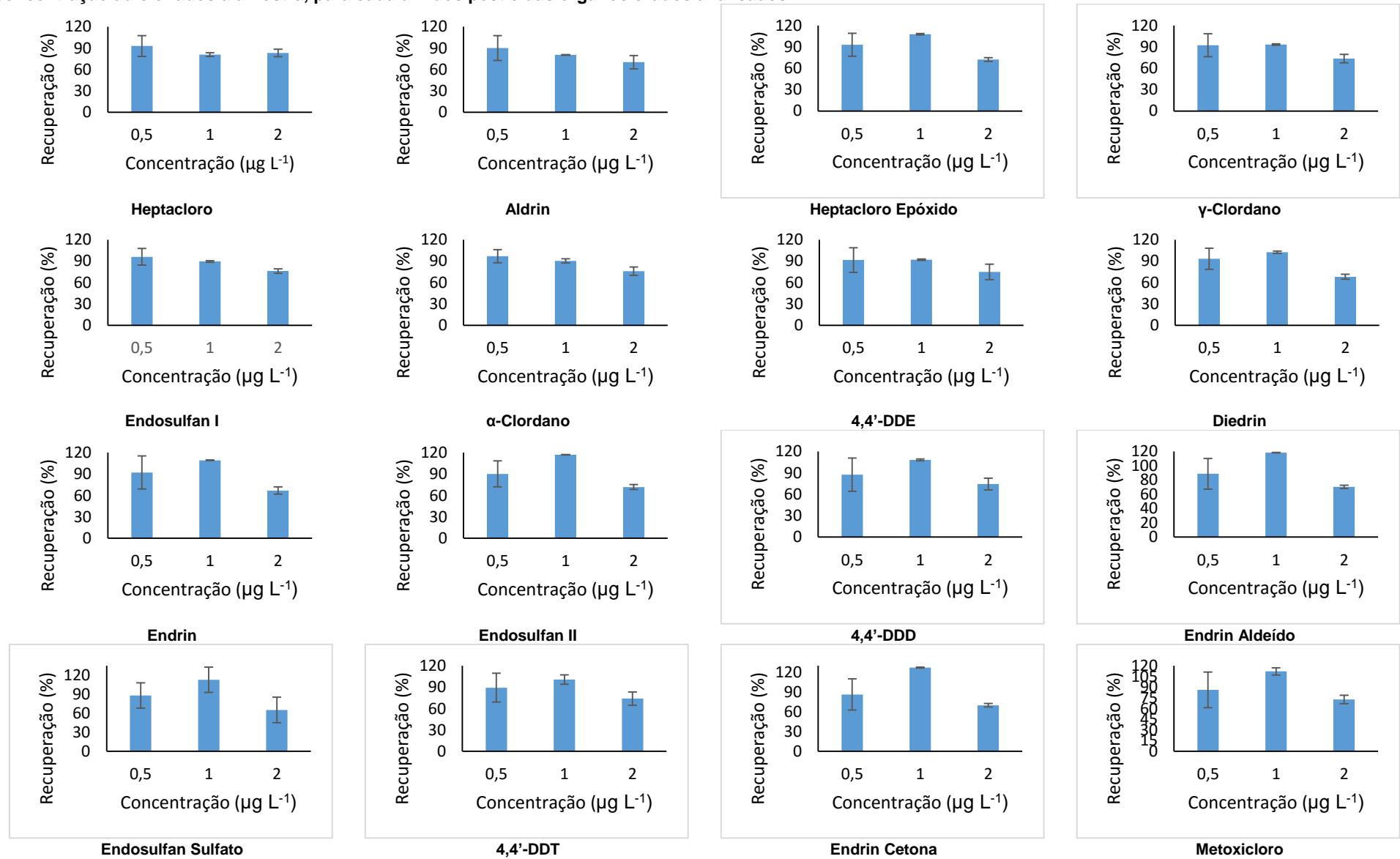
Fortificação (µg L ⁻¹)	Endrin		Endosulfan II		4,4'-DDD		Endrin Aldeído		Endosulfan Sulfato		4,4'-DDT		Endrin Cetona		Metoxicloro	
	Recuperação (%)	CV (%)	Recuperação (%)	CV (%)	Recuperação (%)	CV (%)	Recuperação (%)	CV (%)	Recuperação (%)	CV (%)	Recuperação (%)	CV (%)	Recuperação (%)	CV (%)	Recuperação (%)	CV (%)
0,5	92,36	24,96	90,35	20,22	87,61	26,65	88,73	24,31	88,02	24,23	89,25	22,71	86,35	27,41	86,13	29
1	109,42	0,38	117,14	0,37	108,19	1,11	118,33	0,2	112,92	4,67	100,72	6,46	127,15	0,6	112,15	4,56
2	66,98	7,64	71,95	4,61	74,19	11,11	70,43	3,37	65,35	4,56	73,92	12,55	69,99	3,85	75,57	8,16

Comparativamente, Ozcan et al. (2009), também fazendo uso da mesma técnica de extração (USAEME) e solvente (clorofórmio) para 18 pesticidas organoclorados, chegaram, após aplicarem um planejamento fatorial para otimizar as condições, a percentuais de recuperação que variaram de 81 a 101% em amostras reais de um lago. Já Wei et al. (2011), aplicando a USAEME na etapa de extração e empregando um solvente extrator de baixa densidade em relação à água (1-decanol), alcançou níveis de recuperação entre 70 a 99% para amostras de água de baixa salinidade previamente fortificadas.

Zhang e Lee (2012) em sua publicação relataram que o emprego da USAEME proporcionou níveis de recuperação na faixa de 79,1 a 120,3%, isso aplicado em amostras reais de água de rio fortificadas em dois níveis de concentração para 7 organoclorados avaliados.

O emprego da USAEME se mostra satisfatória até mesmo quando é aplicada em amostra proveniente de matrizes mais complexa que águas superficiais de rios. Um exemplo pode ser visto no mesmo trabalho de Ozcan *et al.* (2009), onde os autores conseguem níveis de recuperação que variaram de 78 a 102% para amostras de esgoto doméstico e industrial que foram previamente fortificadas. Wei et al. (2011) também atingiram faixa de recuperação dentro dos limites aceitáveis para amostras de água do mar fortificadas em três níveis de concentração (76 a 107%).

Figura 11 – Gráfico de recuperação (%) para três níveis de fortificação: 0,5, 1,0 e 2,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, que correspondem respectivamente aos pontos de baixa, média e alta concentração adicionados a amostra, para cada um dos pesticidas organoclorados analisados.



5.5. CURVA ANALÍTICA

Uma curva analítica foi construída a partir da fortificação da água ultrapura, no qual foram submetidos à extração USAEME já com os parâmetros otimizados anteriormente pelo planejamento fatorial. Os extratos foram então analisados por CG-EM.

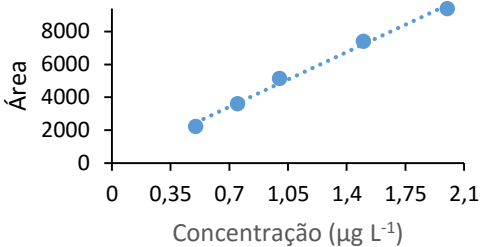
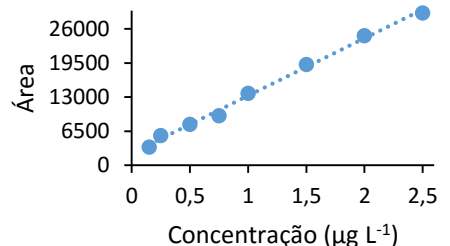
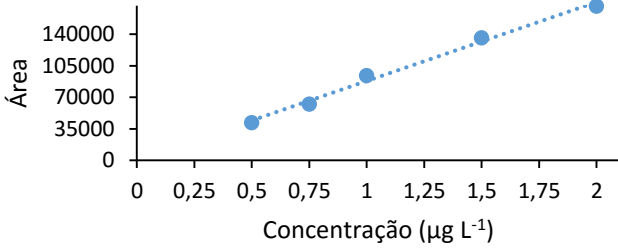
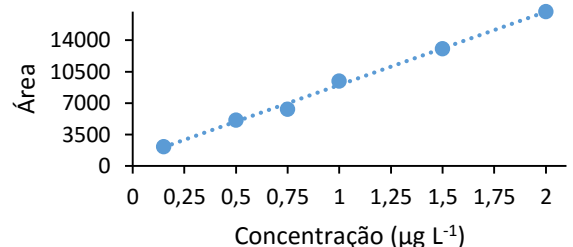
No geral, as curvas analíticas de cada um dos pesticidas organoclorados, apresentaram coeficiente de determinação que variaram de 0,9853 a 0,9992. Já os limites de detecção (LOD) se mantiveram entre $0,13 \mu\text{g L}^{-1}$ à $0,50 \mu\text{g L}^{-1}$, enquanto os limites de quantificação (LOQ) atingiram valores entre 0,39 a $1,52 \mu\text{g L}^{-1}$ (Tabela 15).

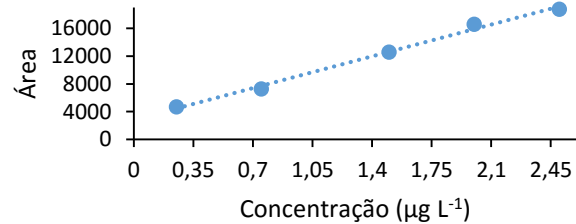
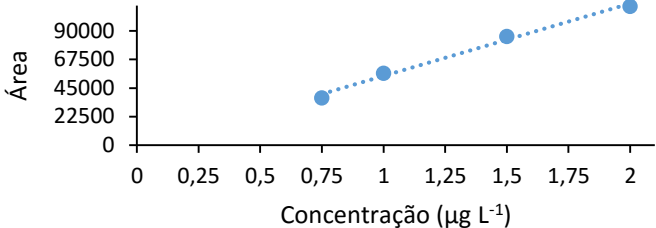
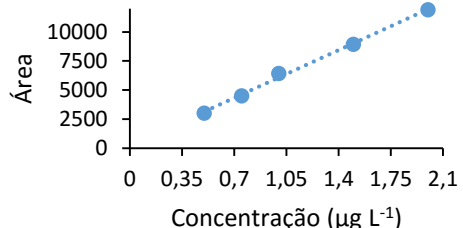
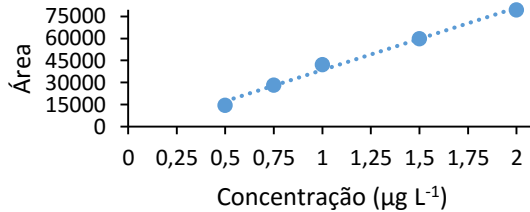
Durante a construção da curva analítica, foi necessário excluir os pontos pertencentes à série dos BHC (α , β , δ e γ), por não apresentarem uma faixa linear dentro das condições predeterminadas para os demais pesticidas. A construção da curva analítica não foi feita somente empregando padrões preparados em solvente orgânico de grau HPLC, mas sim, fazendo-se o processo de extração, utilizando o método USAEME otimizado, a partir de água ultrapura previamente fortificada. Para que esse tipo de curva analítica apresente correlação linear satisfatória, é imprescindível que o percentual de recuperação do analito seja adequado, ficando dentro de uma faixa. Porém, como já comentando anteriormente no item teste de recuperação, esses isômeros de BHC apresentaram problemas durante a extração e por isso não apresentaram percentuais de recuperação satisfatórias para determiná-los.

Tabela 15 – Parâmetros da curva de calibração (equação da reta e coeficiente de correlação) e os limites de detecção e quantificação (LOD e LOQ respectivamente) obtidos a partir da metodologia de extração USAEME e analisado por CG-EM.

	Equação da reta	R ²	LOD (µg L ⁻¹)	LOQ (µg L ⁻¹)	
Heptacloro	$y = 24507x + 3434,9$	0,9980	0,34	1,02	
Aldrin	$y = 37782x - 3802,3$	0,9992	0,26	0,78	
Heptacloro Epóxido	$y = 26013x + 1436,2$	0,9910	0,29	0,87	
γ-Clordano	$y = 49855x - 208,4$	0,9934	0,23	0,69	

	Equação da reta	R ²	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	
Endosulfan I	$y = 4045,6x + 1219,1$	0,9932	0,32	0,97	
α-Clordano	$y = 46208x + 6299,2$	0,9853	0,13	0,39	
4,4'-DDE	$y = 87670x - 21910$	0,9956	0,15	0,44	
Dieldrin	$y = 20265x + 2887,9$	0,9934	0,31	0,93	

	Equação da reta	R ²	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOQ ($\mu\text{g L}^{-1}$)	
Endrin	$y = 4767,2x + 80,6$	0,9931	0,39	1,17	
Endosulfan II	$y = 10966x + 2297,5$	0,9953	0,48	1,44	
4,4'-DDD	$y = 87603x + 621,7$	0,9916	0,42	1,28	
Endrin Aldeído	$y = 8147,6x + 863,5$	0,9955	0,50	1,52	

	Equação da reta	R ²	LOD (µg L ⁻¹)	LOQ (µg L ⁻¹)	
Endosulfan Sulfato	$y = 6529,7x + 2843,2$	0,9936	0,43	1,32	 <p>Gráfico de calibração para Endosulfan Sulfato. O eixo X representa a Concentração (µg L⁻¹) com valores de 0,35, 0,7, 1,05, 1,4, 1,75, 2,1 e 2,45. O eixo Y representa a Área com valores de 0, 4000, 8000, 12000 e 16000. Cinco pontos de dados são plotados, mostrando uma forte correlação linear positiva.</p>
4,4'-DDT	$y = 57107x - 2580,3$	0,9915	0,21	0,63	 <p>Gráfico de calibração para 4,4'-DDT. O eixo X representa a Concentração (µg L⁻¹) com valores de 0,25, 0,5, 0,75, 1, 1,25, 1,5, 1,75 e 2. O eixo Y representa a Área com valores de 0, 22500, 45000, 67500 e 90000. Cinco pontos de dados são plotados, mostrando uma forte correlação linear positiva.</p>
Endrin Cetona	$y = 5873,2x + 214,1$	0,9968	0,47	1,41	 <p>Gráfico de calibração para Endrin Cetona. O eixo X representa a Concentração (µg L⁻¹) com valores de 0,35, 0,7, 1,05, 1,4, 1,75 e 2,1. O eixo Y representa a Área com valores de 0, 2500, 5000, 7500 e 10000. Cinco pontos de dados são plotados, mostrando uma forte correlação linear positiva.</p>
Metoxicloro	$y = 42382x - 3831,2$	0,9906	0,33	0,99	 <p>Gráfico de calibração para Metoxicloro. O eixo X representa a Concentração (µg L⁻¹) com valores de 0,25, 0,5, 0,75, 1, 1,25, 1,5, 1,75 e 2. O eixo Y representa a Área com valores de 0, 15000, 30000, 45000, 60000 e 75000. Cinco pontos de dados são plotados, mostrando uma forte correlação linear positiva.</p>

5.6. DETERMINAÇÃO DE OCP NO RIO TAQUARA

Na Tabela 16 estão apresentados os resultados encontrados para os três pontos de coleta durante as 6 campanhas de coleta no Rio Taquara. Nota-se que em todas as coletas foi detectada a presença de algum dos organoclorados estudados em pelo menos um dos pontos amostrados. Uma peculiaridade observada foi a presença de 4,4'-DDT e seus metabólitos, 4,4'-DDD e metoxicloro, somente no 3º ponto de coleta (P3) nos meses de maio, junho e novembro. O mesmo aconteceu com o grupo dos ciclodienos: γ -clordano, dieldrin e endrin, onde suas ocorrências também coincidiram para o mesmo ponto de amostragem e período.

A presença do DDT e seus metabólitos, mesmo 30 anos depois da sua proibição de comercialização no país, reforça o seu alto potencial como poluente orgânico persistente (POP). Outro fato relevante é a sua recorrência somente no ponto 3 nas coletas de março, junho e novembro, quando março e novembro foram as coletas sucederam um período de grande volume de chuva.

Já o endosulfan e, principalmente seu metabólito, endosulfan sulfato, foram detectados em quase 78% dos pontos amostrados, com destaque para as coletas dos meses de junho e novembro, onde o mesmo esteve presente nos três pontos analisados.

O endosulfan é empregado para o controle de pragas principalmente em culturas de soja, café, algodão e cana-de-açúcar por meio de aplicação na região foliar ou uso direto no solo (BRASIL, 2009). Sua presença em quase 78% dos pontos monitorados pode ser explicada pelas características da região onde a bacia do Rio Taquara está inserida, com predomínio de área rural, na qual se observam áreas consideráveis de plantio de soja (Stipp et al., 2010).

A maior fração encontrada foi do metabólito endosulfan sulfato. Segundo Júnior, Franco e Moraes (2013), a sua conversão a partir do endosulfan para endossulfan sulfato no solo atinge as concentrações mais altas por volta de 43 dias após a aplicação na lavoura. Ainda de acordo com os pesquisadores, devido às suas características lipofílicas, o endosulfan apresenta maior tendência de permanecer em frações do solo de menor profundidade por causa da alta afinidade com as partículas do solo, o que desfavorece sua lixiviação para perfis mais profundos.

Concomitantemente, essa propriedade o torna mais passível de sofrer dissipação por meio da volatilização, podendo atingir outras regiões dependendo dos processos de transporte atmosféricos envolvidos, ou sofrer escoamento superficial podendo contaminar corpos d'água superficiais. É pertinente observar que mesmo seu uso sendo proibido desde 31 de julho de 2013, sua persistência no ambiente ainda é notória, principalmente sua forma endossulfan sulfato como se observa na Tabela 16, o que fortalece a necessidade de um monitoramento sobre sua dissipação e degradação no ambiente.

Mesmo que as análises tenham apontado que os OCP se encontram em nível traço, vale ressaltar, que devido ao alto caráter lipofílico desses compostos, os mesmos acabam representando um grande risco para o meio ambiente por oferecerem grande potencial de bioacumulação e biomagnificação.

Tabela 16 – Resultado das coletas para os 16 OCP avaliados

Coleta		Heptacloro	Aldrin	Heptacloro Epóxido	γ-Clordano	Endosulfan	α-clordano	4,4'-DDE	Dieldrin	Endrin	Endosulfan II	4,4'-DDD	Endrin aldeido	Endosulfan Sulfato	4,4'-DDT	Endrin cetona	Metoxicloro
08/02/14	P1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	< LOQ	-	< LOQ	< LOQ	-	< LOQ	-
	P2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	< LOQ	-	< LOQ	-
	P3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	< LOQ	-	< LOQ	< LOQ	-	-	-
22/03/14	P1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	P2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	P3	-	-	-	-	-	-	-	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
25/06/14	P1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	< LOQ	-	-	-
	P2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	< LOQ	-	-	-
	P3	-	-	-	-	-	-	-	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
17/08/14	P1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	< LOQ	-	-	< LOQ	-	-	-
	P2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	P3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	< LOQ	-	< LOQ	-
23/11/14	P1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	< LOQ	< LOQ	-	-	-
	P2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	< LOQ	-	< LOQ	-
	P3	-	-	-	< LOQ	-	-	-	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOQ
07/02/15	P1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	< LOQ	-	< LOQ	< LOQ	-	< LOQ	-
	P2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	< LOQ	-	-	-
	P3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

<LOQ – abaixo do limite de quantificação

6. CONCLUSÃO

O emprego da técnica USEME para a extração de simultânea de 20 pesticidas organoclorados se mostrou eficiente, de forma a agregar várias características importantes como: baixo custo operacional, simplicidade de aplicação e, principalmente, conseguiu proporcionar uma redução no uso de solvente, além de unir em uma única etapa a extração e pré-concentração. A aplicação de um planejamento experimental (DCCR) também foi um ponto importante para o sucesso da técnica, permitindo encontrar os valores ótimos dos fatores volume de solvente extrator, tempo de agitação manual e tempo de ultrassom com o mínimo de ensaios possíveis.

A aplicação da USAEME para amostras do rio Taquara, principalmente no ponto 3, evidenciaram a presença à nível traço de DDT, DDD, metoxicloro, γ -clordano, endrin e dieldrin, principalmente nos meses de março e novembro. É pertinente ressaltar que o respectivo período mencionado coincidiu com um maior volume de precipitação na região durante a coleta, o que pode explicar a presença desses pesticidas no ponto 3 devido ao transporte e dispersão por conta da chuva.

Outra observação foi a presença de endosulfan e seu metabolito em 78% as coletas realizadas ao longo do período, com destaque ao predomínio do endosulfan sulfato. Isso demonstra seu grau de persistência no ambiente, mesmo depois de sua comercialização ser proibida em 2013.

Portanto, devido a alta estabilidade química, física e biológica desses compostos, além da facilidade de dispersão no meio e, por isso podendo atingir os recursos hídricos causando sua depreciação, ressalta-se a importância cada vez maior em monitorar, principalmente os mananciais de abastecimento.

REFERÊNCIAS

- AMARAL, Priscila O.; OLIVEIRA, Justine P. R.; BUSTILLOS, José O. V. Diferentes técnicas de varredura de íons no espectrômetro de massas aplicada à análise de organoclorados via GC/MS. In: INTERNATIONAL NUCLEAR ATLANTIC CONFERENCE. 2011, Belo Horizonte. Disponível em: <https://www.ipen.br/biblioteca/2011/inac/16830>>. Acesso em: 31 jul. 2015.
- ANDRUCH, Vasil; BURDEL, Martin; KOCÚROVÁ, Livia; SANDREJOVÁ, Jana; BALOGH, Ioseph S. Application of ultrasonic irradiation and vortex agitation in solvent microextraction. **Trends in analytical chemistry**. v. 49, p. 1-19, 2013.
- AOAC. Guidelines for single laboratory validation of chemical methods for dietary supplements and botanicals. 2002. Disponível em: <http://www.aoac.org/imis15_prod/AOAC_Docs/StandardsDevelopment/SLV_Guidelines_Dietary_Supplements.pdf>. Acesso em: 15 fev. 2014.
- ASHOKKUMAR, M. The characterization of acoustic cavitation bubbles – an overview. *Ultrasonics Sonochemistry*. v. 18, p. 864-874, 2011.
- BAIRD, Colin; CANN, Michael. **Química Ambiental**. 4. ed. Porto Alegre: Bookman, 2011.
- BARROS NETO, Benício.; SCARMINIO, Ieda S.; BRUNS, Roy E. **Planejamento e otimização de experimentos**. 2. ed. Campinas: Editora da Unicamp, 2001.
- BRAIBANTE, Maria E. F.; ZAPPE, Janessa A. A química dos agrotóxicos. **Química Nova na Escola**. v. 34, n. 1, p. 10-15, 2012.
- BRASIL. Decreto Nº 4.074, de 4 de janeiro de 2002. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/2002/d4074.htm>. Acesso em: 5 fev. 2014.
- BRASIL. Lei Federal nº 7802, de 11 de julho de 1989. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l7802.htm>. Acesso em: 20 jan. 2014.
- BRASIL. Nota técnica: reavaliação toxicológica do ingrediente ativo endossulfam. Disponível em: <<http://www4.anvisa.gov.br/base/visadoc/CP/CP%5B27695-1-0%5D.PDF>>. Acesso em: 14 fev. 2014.
- BRASIL. Portaria nº 329, de 2 de setembro de 1985. Disponível em: <<http://portal.anvisa.gov.br/wps/content/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Agrotoxicos+e+Toxicologia/Assuntos+de+Interesse/Legislacao/Legislacao+de+Agrotoxicos+Componentes+e+Afins/Portarias>>. Acesso em: 12 fev. 2014.
- BRASIL. Resolução nº 357, de 17 de março de 2005. Disponível em: <<http://www.mma.gov.br/port/conama/legiabre.cfm?codlegi=459>>. Acesso em: 15 fev. 2014.

CAVALCANTE, Eloiza G. S.; ALVES, Marlene C.; SOUZA, Zigomar M.; PEREIRA, Gener T. Variabilidade espacial de atributos químicos do solo sob diferentes usos e manejos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. v. 31, p. 1329-1339, 2007.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Fundamentos de cromatografia**. Campinas: Editora UNICAMP, 2006.

D'AMATO, C.; TORRES, J. P. M.; MALM, O. DDT (dicloro difenil tricloroetano): toxicidade e contaminação ambiental – uma revisão. **Química Nova**. v. 25, n. 06, p. 995-1002, 2002.

DERRINGER, George; SUICH, Ronald. Simultaneous optimization of several response variables. **Journal of Quality Technology**. v.12, n. 4, p. 214-219, 1980.

EATON, A.D., FRANSON, M.A.H. **Standard Methods for the Examination of Water & Wastewater**. 21 ed. American Public Health Association, 2005.

ESTEVES, Francisco A. **Fundamentos de Limnologia**. 3. ed. Rio de Janeiro: Interciências, 2011.

FLORES, Araceli V.; RIBEIRO, Joselito N.; NEVES, Antonio A.; QUEIROZ, Eliana. L. R. Organoclorados: um problema de saúde pública. **Ambiente e Sociedade**. v. 7, n. 2, 2004.

FREITAS, A.; SPITZ, C.; OLIVEIRA, E. Brasil fiscaliza agrotóxico só em 13 alimentos, enquanto EUA e Europa analisam 300. O Globo, Rio de Janeiro, 11 de Jan. 2014. Disponível em: < <http://oglobo.globo.com/economia/defesa-do-consumidor/brasil-fiscaliza-agrotoxico-so-em-13-alimentos-enquanto-eua-europa-analisam-300-11446519>>. Acesso em: 07 Nov. 2015.

HARGRAVE, B. T.; VASS, W. P.; ERICKSON, P. E.; FOWLER, B. R. Atmospheric transport of organochlorines to the Arctic Ocean. **Tellus**. v. 40B, p. 480-493, 1988.

INTERNETIONAL UNION OF PURE AND APPLIED CHEMISTRY. **Compendium of Chemical Terminology**. 2012. Disponível em: <<http://goldbook.iupac.org/PDF/goldbook.pdf>>. Acesso em: 5 fev. 2014.

JARDIM, Isabel C. S. F.; ANDRADE, Juliano A.; QUEIROZ, Sonia C. N. Resíduos de agrotóxicos em alimentos: uma preocupação ambiental global – um enfoque às maçãs. **Química Nova**. v.32, n.4, p. 996-1012, 2009.

JEANNOT, Michael. A.; CANTWELL, Frederick F. Solvent microextraction into a single drop. **Analytical Chemistry**. v. 68, p. 2236-2240, 1996.

MARASCHIN, Leandro. **Avaliação do grau de contaminação por pesticidas na água dos principais rios formadores do Pantanal mato-grossense**. 2003. 90 f. Dissertação (Mestrado em Saúde e Ambiente) – Instituto de Saúde Coletiva, Universidade Federal do Mato Grosso, Cuiabá, 2009. Disponível em: < <http://www.cpap.embrapa.br/teses/online/DST23.pdf>>. Acesso em 20 jan. 2014.

NOVOTNÝ, T. S. **Implementação de método rápido e de baixo custo no LACEN/RJ para avaliação de organoclorados em água de solução alternativa de abastecimento**. 2009. 83 f. Dissertação (Mestrado em Vigilância Sanitária) – Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2009. Disponível em: < <http://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/4021>>. Acesso em: 20 jan. 2014.

NUNES, Monica V.; TAJARA, Eloiza H. Efeitos tardios dos praguicidas organoclorados no homem. **Revista de Saúde Pública**. v. 32, n. 4, p. 372-382, 1998.

OZCAN, Senar; TOR, Ali; AYDIN, Mehmet E. Application of ultrasound-assisted emulsification-microextraction for the analysis of organochlorine pesticides in waters. **Water Research**. v. 43, p. 4269-4277, 2009.

PAIVA, Vassula B.; SCARMINIO, Ieda S.; PEREIRA, Evelyn D.; MARÇO, Paulo H.; VALDERRAMA, Patrícia. Proposta experimental para ensino de planejamento fatorial completo em instituições de ensino superior. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE ENSINO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA, 3., 2012, Ponta Grossa. Disponível em: < <http://www.sinect.com.br/2012/down.php?id=2698&q=1>>. Acesso em: 30 jul. 2014.

PARANÁ. Instituto das águas do paraná. Plano da Bacia do Rio Tibagi. Disponível em: < http://www.aguasparana.pr.gov.br/arquivos/File/TIBAGI/Cenarios_Alternativos_Revisao_tibagi.pdf>. Acesso em: 15 fev. 2014.

PINHEIRO, A. S.; ROCHA, G. O.; ANDRADE, J. B. A SDME/GC-MS methodology for determination of organophosphate and pyrethroid pesticides in water. **Microchemical Journal**. v. 99, p. 303-308, 2011.

PINTO, Maria I.; SONTAG, Gerhard; BERNARDINHO, R. J.; NORONHA, J. P. Pesticides in water and the performance of the liquid-phase microextraction based techniques. A review. **Microchemical Journal**. v. 96, p. 225-237, 2010.

PRATES, Crislaine B.; GEBARA, Sâmya S.; RÉ-POPPI, Nilva. Análise de pesticidas organoclorados em água usando microextração em fase sólida por *headspace* com cromatografia gasosa e espectrometria de massas. **Química Nova**. v. 34, n. 7, p. 1260-1264, 2011.

REGUEIRO, Jorge; LLOMPART, Maria; GARCIA-JARES, Carmen; GARCIA-MONTEAGUDO, Juan C.; CELA, Rafael. Ultrasound-assisted emulsification-microextraction of emergente contaminants and pesticides in environmental waters. **Journal of chromatography A**. v. 1190, p. 27-38, 2008.

REZAEI, M.; ASSADI, Y.; HOSSEINI, M. R. M.; AGHAEI, E.; AHMADI, F.; BERIJANI, S. Determination of organic compounds in water using dispersive liquid-liquid microextraction. **Journal of Chromatography A**. v. 1116, p. 1-9, 2006.

RISSATO, Sandra R.; LIBÂNIO, Marcelo; GIAFFERIS, Giselda P.; GERENUTTI, Marli. Determinação de pesticidas organoclorados em água de manancial, água

potável e solo na região de Bauru (SP). **Química Nova**. v. 27, n. 5, p. 739-743, 2004.

RODRIGUES, MARIA I.; IEMMA, ANTONIO F. **Planejamento de experimentos e otimização de processos: uma estratégia sequencial de planejamento**. 1. ed. Campinas: Casa do Pão, 2005.

RUUS, A.; UGLAND, K. I.; ESPELAND, O.; SKAARE, J. U. Organochlorine contaminants in a local marine food chain from Jarfjord, Northern Norway. *Marine Environmental Research*. v. 48, p. 131-146, 1999.

SANTOS, Clarenice L.; SILVA, Hamanda S. V. P.; ANDRADE, Gilda V.; NUNDES, Gilvanda S. Avaliação da contaminação de corpos d'água adjacentes a áreas agrícolas da Ilha de São Luís (MA) por agrotóxicos. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**. v. 22, p. 85-95, 2012.

SCORZA JÚNIOR, Rômulo P.; FRANCO, André A.; MORAES, Leila C. K. Persistência de endossulfam e seu metabólito sulfato de endossulfam em condições de campo e laboratório. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**. v. 17, p. 756-762, 2013.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Princípios de análise instrumental**. 5. ed. Porto Alegre: Bookman, 2002.

STATISTICA. Version 10.0. EUA: Stat Soft, 2010.

STIPP, Nilza A. F.; CAMPOS, Ricardo A.; CAVIGLIONE, João H. Análise morfométrica da bacia hidrográfica do Rio Taquara – uma contribuição para o estudo das ciências ambientais. **Portal da Cartografia**. v. 3, n. 1, p. 105-124, 2010.

TARDIVO, Mauricio; REZENDE, Maria O. O. Determinação de compostos organoclorados em peixes da bacia do Betari, Vale do Ribeira (SP). **Revista Analytica**. v. 16, 2005.

TODOIR, William F.; van SITTEERT, Nico J. Chapter 7: Organochlorines. **Toxicology**. v.91, p. 51-57, 1994.

VAN DEN BERG, F.; KUBIAK, R.; BENJEY, W. G.; MAJEWSKI, M. S.; YATES, S. R.; REEVES, G. L.; SMELT, J. H.; VAN DER LINDEN, A. M. A. Emission of pesticides into the air. **Water, Air, and Soil Pollution**. v. 115, p. 195-218, 1999.

WATTHIER, Elizabeth K.; SILVA, Marcos R.; RODRIGUES, Marcio B. Análise e extração de agroquímicos organoclorados em águas, utilizando microextração líquido-líquido. **Synergismus Scientifica UTFPR**. v. 2, 2007.

WEI, Shuo-Yang; LEONG, Mei-I; LI, Yee; HUANG, Shang-Da. Development of liquid phase microextraction based on manual shaking and ultrasound-assisted emulsification method for analysis of organochlorine pesticides in aqueous samples. **Journa of chromatography A**. v. 1218, p. 9142-9148, 2011.

WHATTHIER, Elizabeth A. K. Método de pré-concentração e extração de agroquímicos organoclorados em águas superficiais utilizando a técnica de microextração líquido-líquido. 2006. 97 f. Dissertação (Mestrado em Química) – Departamento de Química, Universidade Regional de Blumenau, 2006. Disponível em: < http://proxy.furb.br/tede/tde_busca/arquivo.php?codArquivo=293>. Acesso em: 20 jan. 2014.

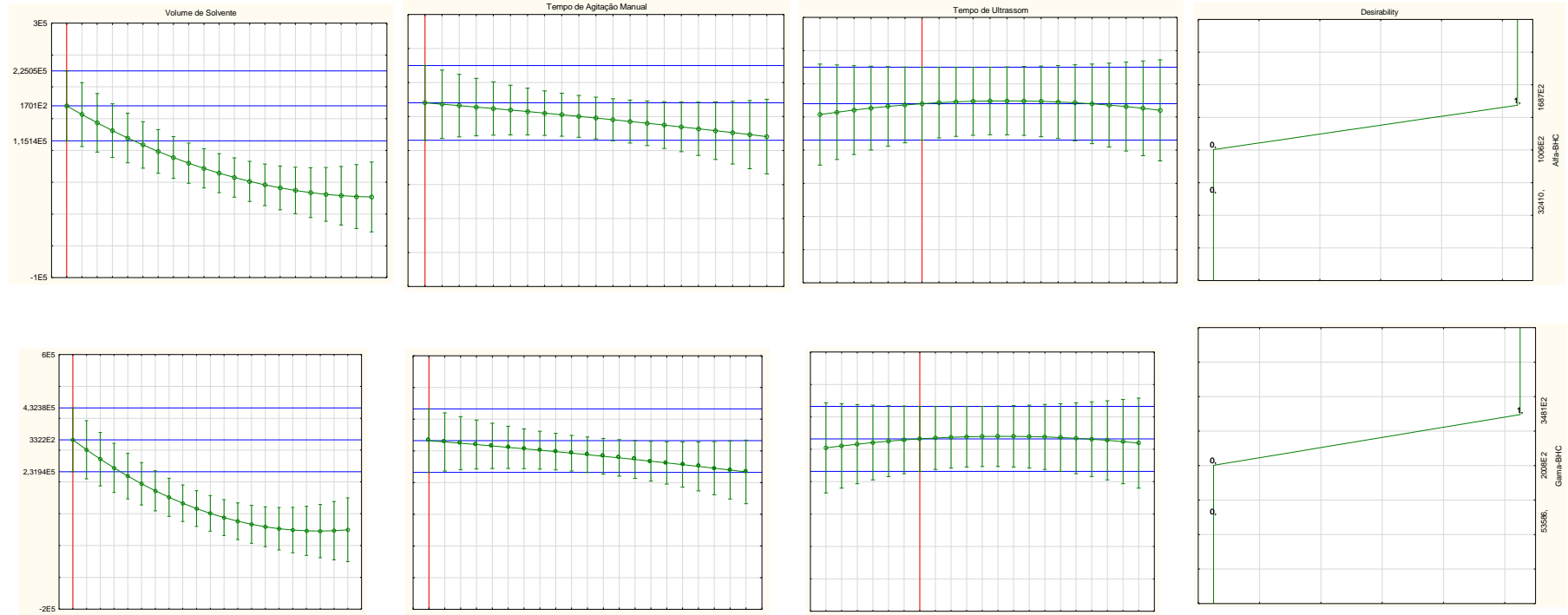
WILSON, R.; ALLEN-GIL, S.; GRIFFIN, D.; LANDERS, D. Organochlorine contaminants in fish from na Arctic lake in Alaska, USA. **The Science of the Total Environment**. v. 160/161, p. 511-519, 1995.

ZACHARIS, C. K.; TZANAVARAS, P. D.; ROUBOS, K.; DHIMA, K. Solvent-based de-emulsification dispersive liquid-liquid microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry for determination of trace organochlorine pesticides in environmental water samples. **Journal of Chromatography A**. v. 1217, p. 5896-5900, 2010.

ZHANG, Yufeng; LEE, Hian K. Application of ultrasound-assisted emulsification microextraction based on applying low-density organic solvent for the determination of organochlorine pesticides in water samples. **Journal of Chromatography A**. v. 1252, p. 67-73, 2012.

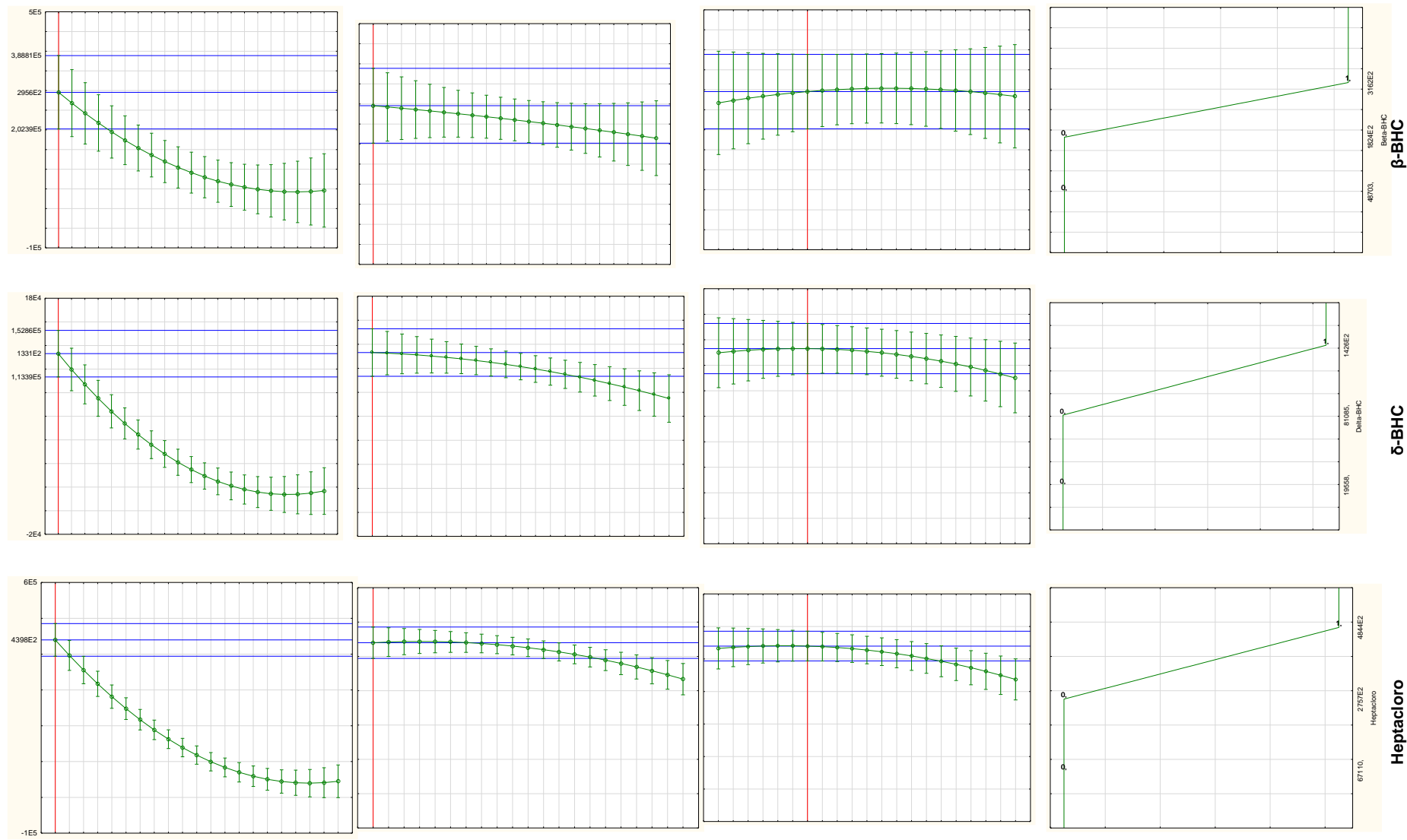
ANEXO I

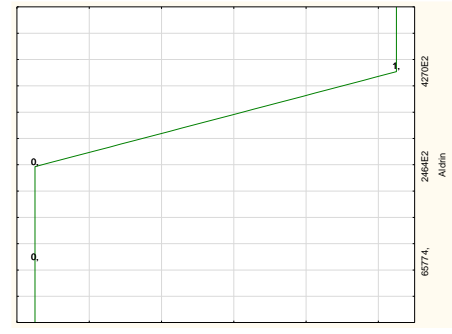
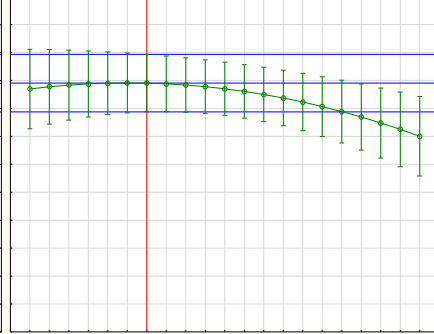
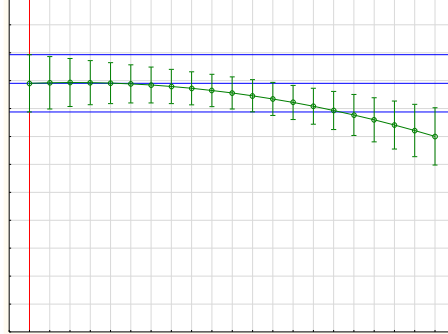
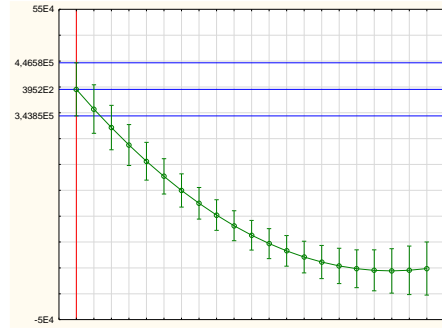
Gráfico do Perfil dos Valores Preditos e da Desejabilidade Global



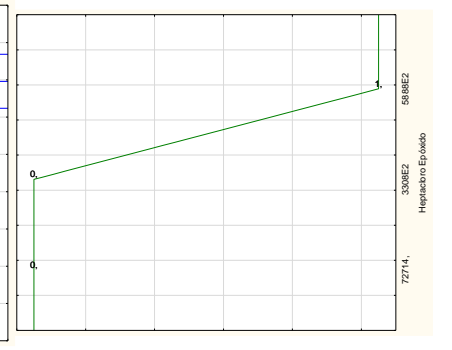
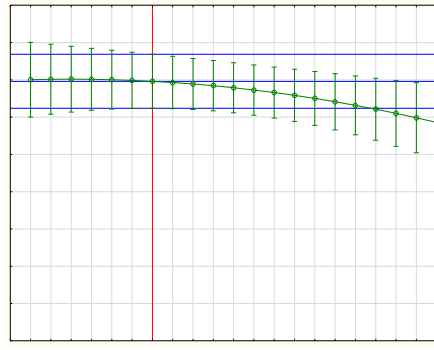
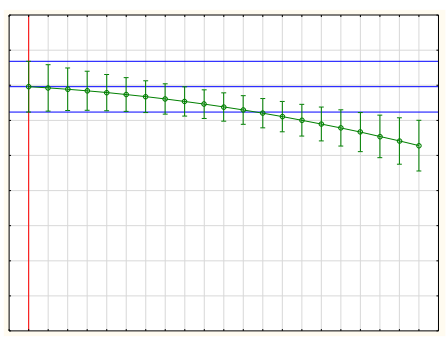
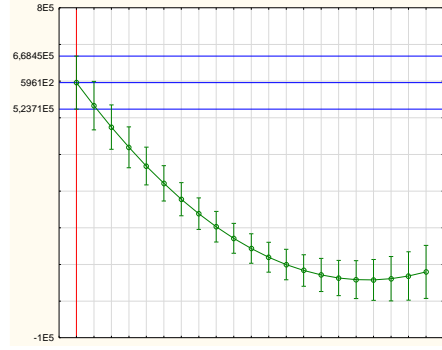
α -BHC

γ -BHC

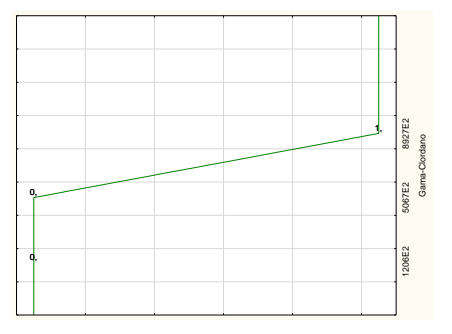
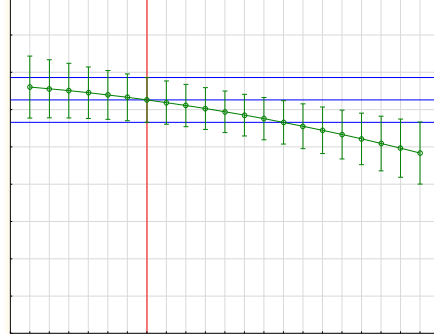
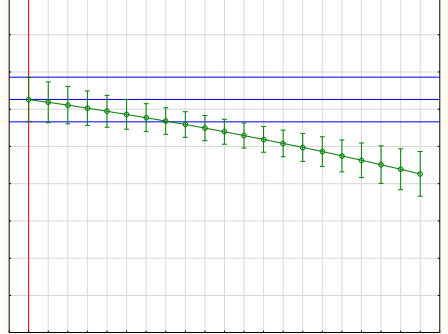
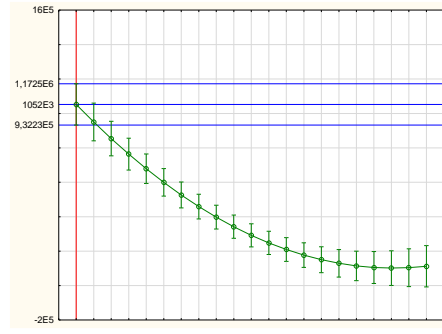




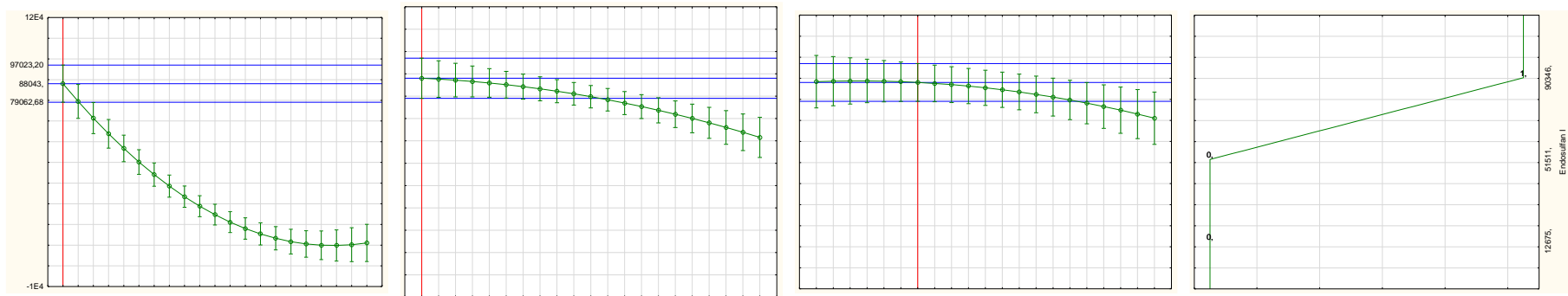
Aldrin



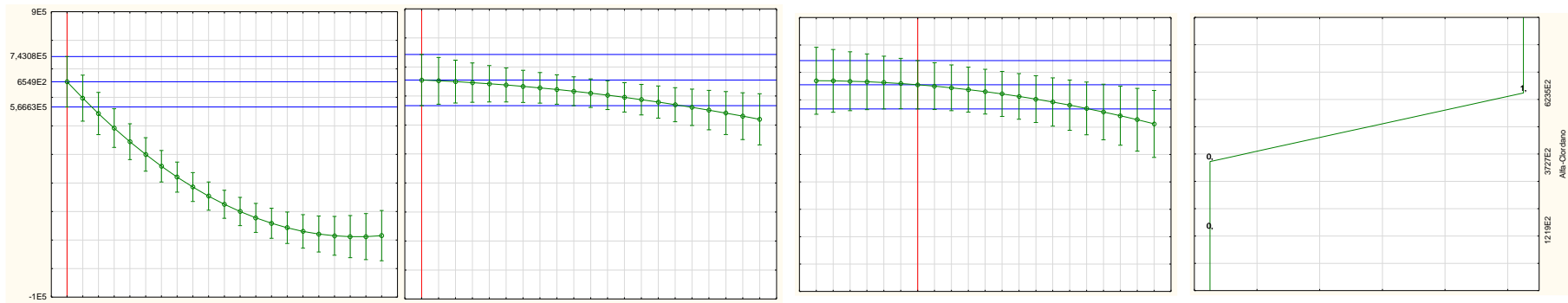
Heptacloro Epóxido



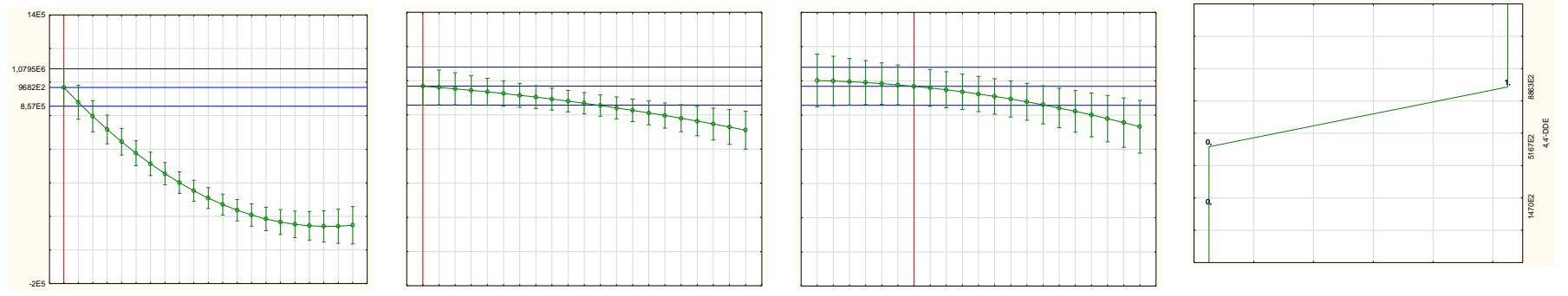
γ-Clordano



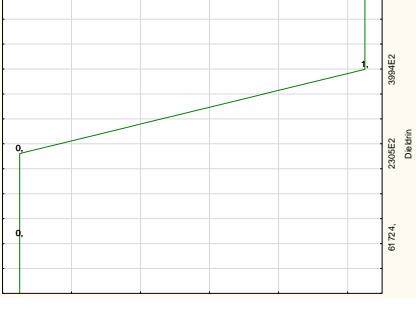
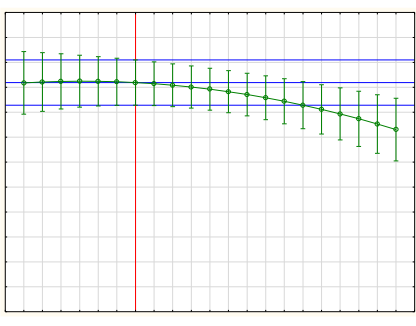
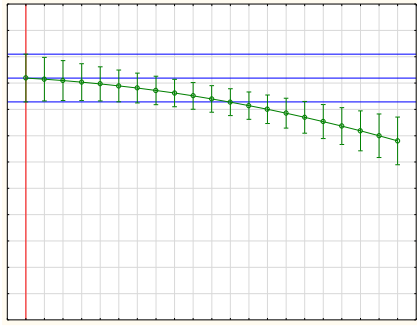
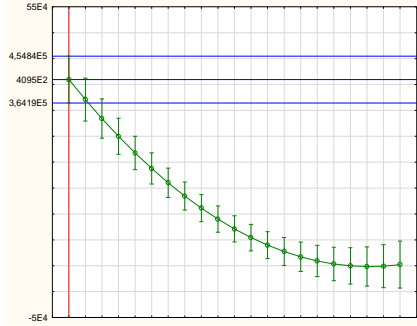
Endosulfan I



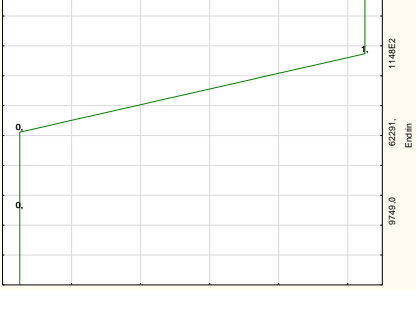
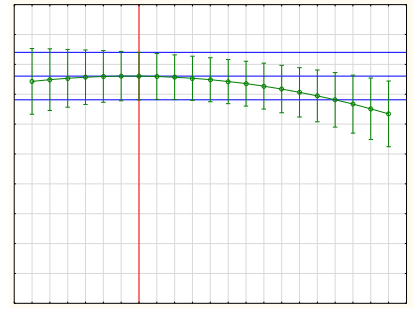
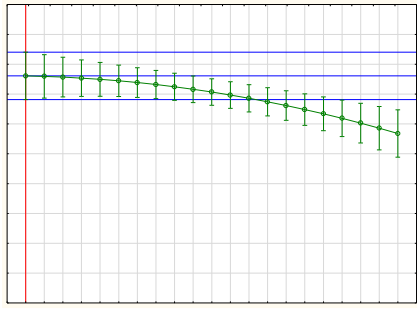
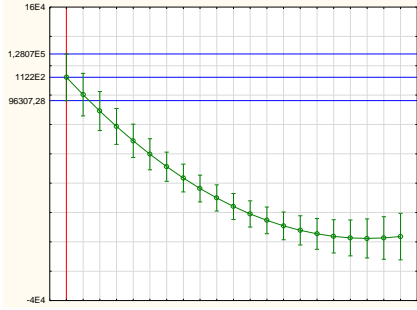
α -Chlordane



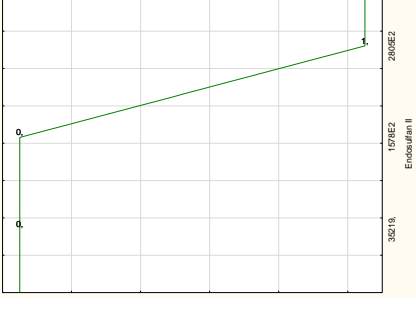
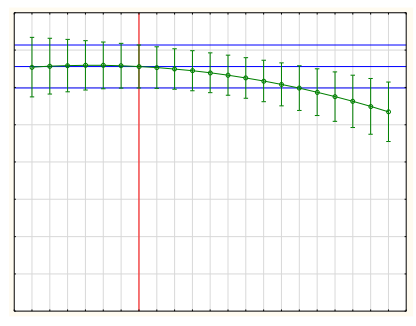
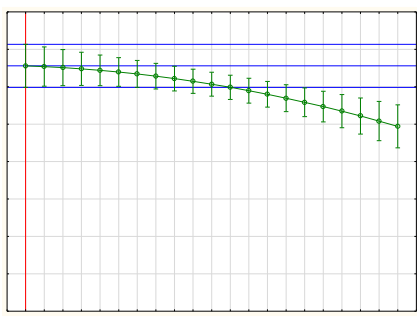
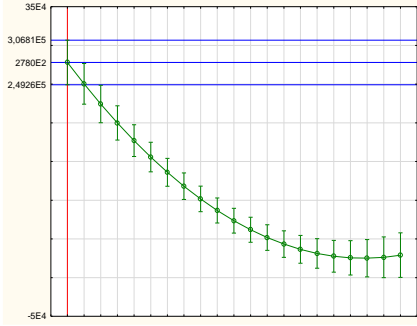
4,4'-DDE



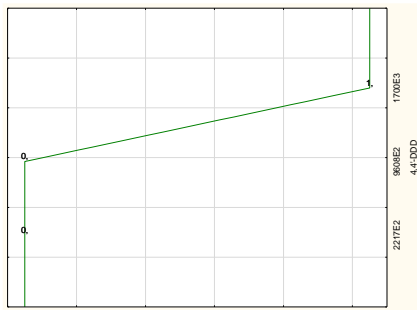
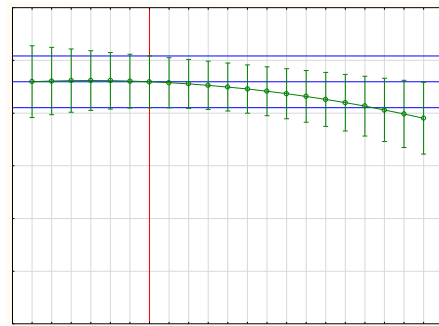
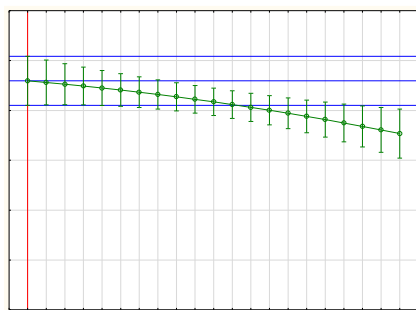
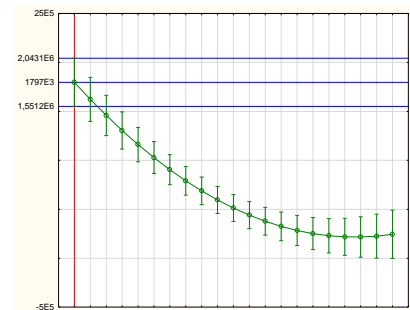
Dieldrin



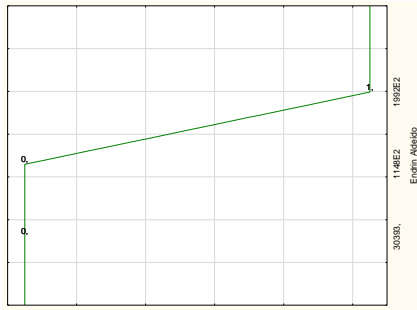
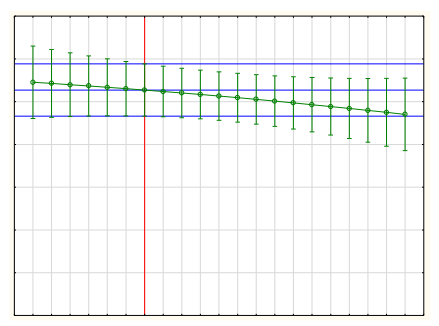
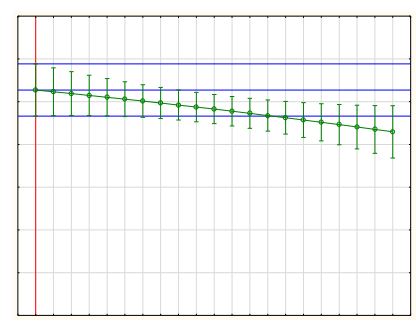
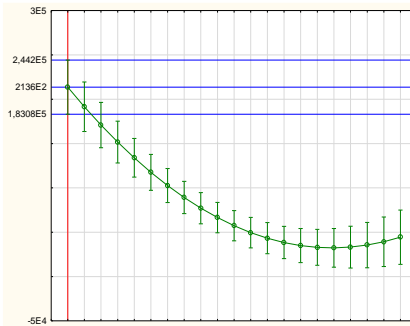
Endrin



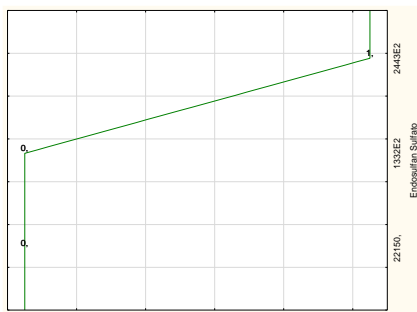
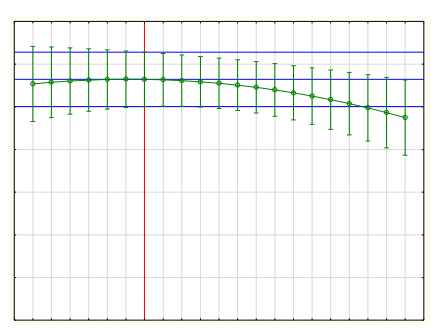
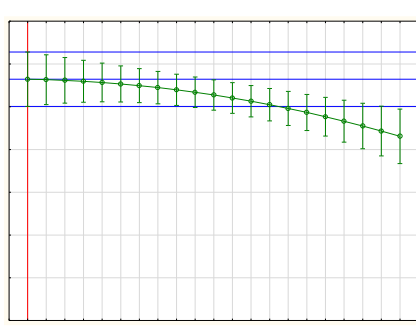
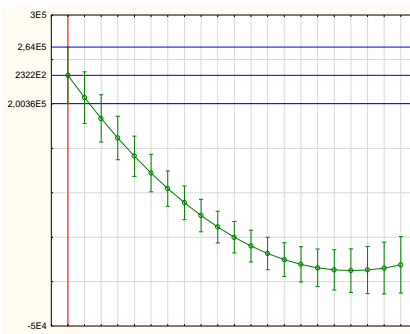
Endosulfan II



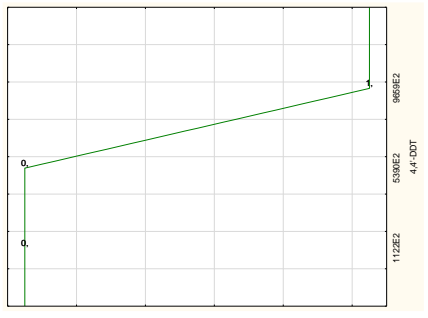
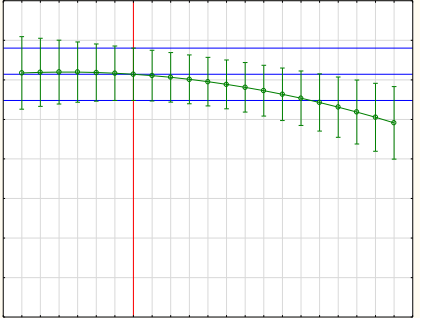
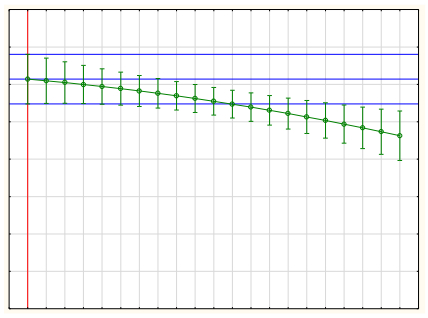
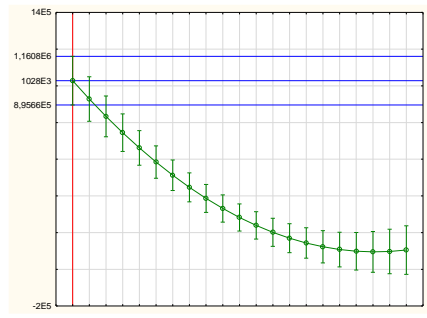
4,4'- DDD



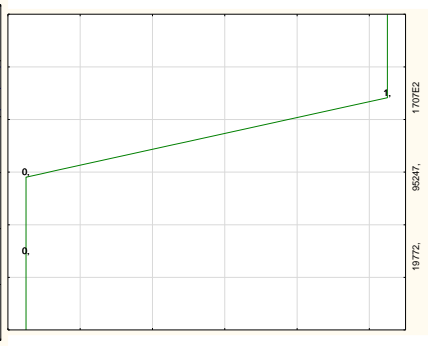
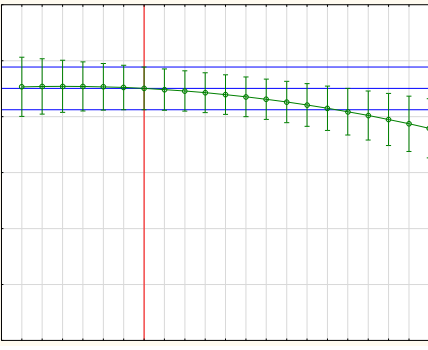
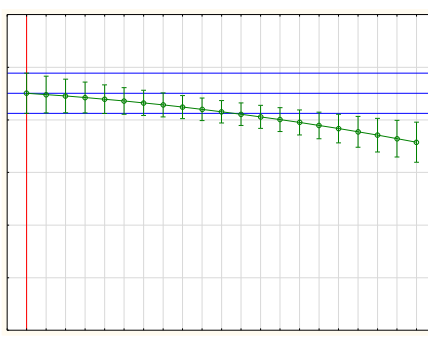
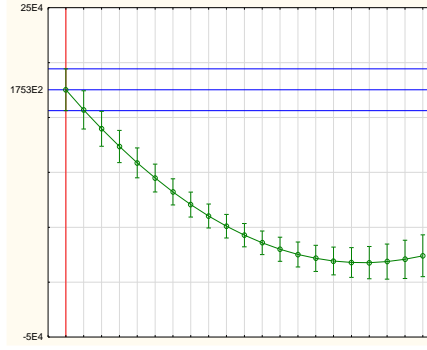
Endrin Aldeído



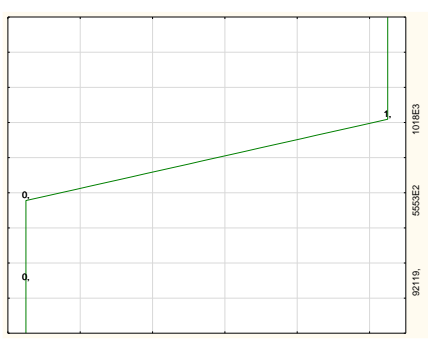
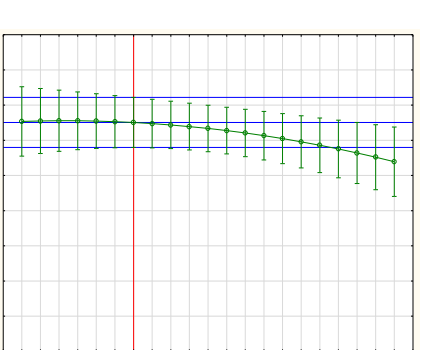
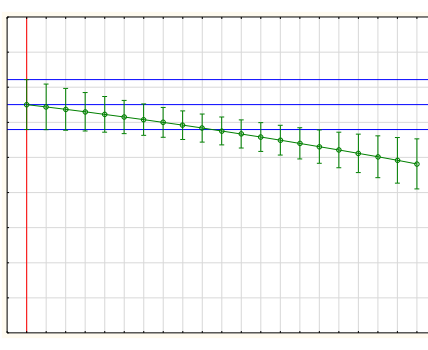
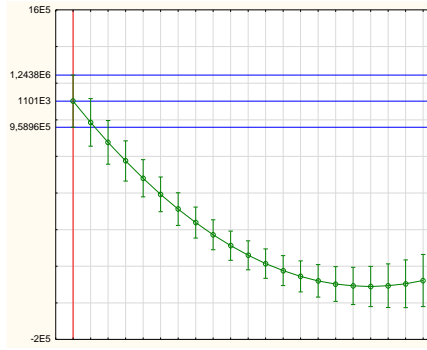
Endosulfan Sulfato



4,4'- DDT



Endrin Cetona



Metoxicloro

