Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento

Boletim de Pesquisa
e Desenvolvimento

ISSN 1678-0892
Dezembro, 2010

174

Validação de método espectrofotométrico para avaliação e monitoramento de paraquat em solo e água no município de Bom Jardim-RJ

Embrapa
Solos

ISSN 1678-0892
Dezembro, 2010

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Solos
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento *174*

Validação de Método Espectrofotométrico para Avaliação e Monitoramento de Paraquat em Solo e Água no Município de Bom Jardim-RJ

Raquel Andrade Donagemma
Guilherme Kangussu Donagemma
Rachel Bardy Prado
Tácio Mauro Pereira de Campos

Embrapa Solos
Rio de Janeiro, RJ
2010

Embrapa Solos
Rua Jardim Botânico, 1.024 - Jardim Botânico. Rio de Janeiro, RJ
Fone: (21) 2179-4500
Fax: (21) 2274-5291
Home page: www.cnps.embrapa.br
E-mail (sac): sac@cnps.embrapa.br

Comitê Local de Publicações

Presidente: *Daniel Vidal Pérez*
Secretário-Executivo: *Jacqueline Silva Rezende Mattos*
Membros: Ademar Barros da Silva, Cláudia Regina Delaia, Maurício Rizzato Coelho, Elaine Cristina Cardoso Fidalgo, Joyce Maria Guimarães Monteiro, Ana Paula Dias Turetta, Fabiano de Carvalho Balieiro, Quitéria Sônia Cordeiro dos Santos.

Supervisor editorial: *Jacqueline Silva Rezende Mattos*
Normalização bibliográfica: *Ricardo Arcanjo de Lima*
Revisão de texto: *André Luiz da Silva Lopes*
Editoração eletrônica: *Jacqueline Silva Rezende Mattos*

1ª edição
1ª impressão (2010): online

Todos os direitos reservados.
A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

D682v Donagemma, Raquel Andrade.

Validação de método espectrofotométrico para avaliação e monitoramento de Paraquat em solo e água no município de Bom Jardim-RJ / Raquel Andrade Donagemma ... [et al.]. — Dados eletrônicos. — Rio de Janeiro : Embrapa Solos, 2010.

39 p. - (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Solos, ISSN 1678-0892 ; 174).

Sistema requerido: Adobe Acrobat Reader.
Modo de acesso: < http://www.cnps.embrapa.br/publicacoes>.
Título da página da Web (acesso em 21 dez. 2010).

1. Pesticida. 2. Colorimetria 3. Extração em fase sólida. I. Donagemma, Guilherme Kangussu. II. Prado, Rachel Bardy. III. Campos, Tácio Mauro Pereira de. IV. Título. V. Série.

CDD (21.ed.) 631.417

© Embrapa 2010

Sumário

Resumo **5**
Abstract **7**
Introdução **9**
Objetivos **9**
Revisão Bibliográfica **10**
Aspectos gerais e históricos do Paraquat 10
Aspectos toxicológicos 11
Aspectos de legislação 12
Aspectos analíticos na determinação do Paraquat 12
Material e Métodos **16**
Descrição da área de estudo 16
Materiais 18
Procedimentos para extração em fase sólida 22
Reação colorimétrica 24
Validação do método espectrofotométrico 24
Análise das amostras de água e solo 26
Resultados e Discussão **27**
Validação da metodologia 27
Análise das amostras de água 30
Análises das amostras de solo coletadas em diferentes profundidades no final do período chuvoso 31
Considerações Finais **33**
Referências **34**

Validação de método espectrofotométrico para avaliação e monitoramento de paraquat em solo e água no município de Bom Jardim-RJ

Raquel Andrade Donagemma[1]
Guilherme Kangussu Donagemma[2]
Rachel Bardy Prado[2]
Tácio Mauro Pereira de Campos[3]

Resumo

No Brasil, o Paraquat é amplamente utilizado em várias culturas e o grande problema ambiental é devido a sua alta persistência e elevada solubilidade levando a contaminação dos lençóis freáticos. Vários métodos são utilizados na quantificação do Paraquat, porém o método mais simples que é o espectrofotométrico apresenta a limitação de se aplicar apenas a concentrações elevadas, ou seja, apresenta baixa sensibilidade. Desta forma, o presente trabalho tem como objetivo validar um método de extração e quantificação via espectrofotometria visando à obtenção de limites de quantificação adequados a determinação de Paraquat em amostras de água e solo. Esta otimização visa subsidiar o monitoramento do Paraquat na microbacia do córrego Pito Aceso, no município de Bom Jardim – RJ, onde este produto é bastante utilizado em culturas perenes e anuais. A extração e pré-concentração do paraquat da matriz solo (Cambissolo Háplico textura média) foram realizadas por meio de extração com solvente seguida de extração em fase sólida (cartuchos C18). Para a matriz água foi realizada

[1] Professora Adjunta, Universidade Federal Fluminenense. E-mail: andrade345@yahoo.com.br
[2] Pesquisador, D.s. Embrapa Solos, Jardim botânico, 1024, Rio de Janeiro, CEP:22 460-000. E-mail: donagemma@cnps.embrapa.br, rachel@cnps.embrapa.br
[3] Professor P.h.D, Potifícia Universidade Católica. Rua Marquês de São Vicente, 225, Gávea - Rio de Janeiro, RJ - Brasil - 22451-900. Cx. Postal: 38097. E-mail: tacio@puc-rio.br

somente extração em fase sólida (cartuchos C18). Os parâmetros de validação para o método proposto apresentaram sensibilidade 0,0097 unidades de absorvância L μg^{-1}, limites de detecção 1,30 $\mu g\ L^{-1}$ e limite de quantificação do instrumento 4,33 $\mu g\ L^{-1}$. A precisão do método variou de 0,58% a 2,84% e 1,38% a 3,52% para água e solo respectivamente. O teste de recuperação apresentou resultados satisfatórios variando de 93% a 98% para água e 80% a 83% para solo. Após a otimização e validação do método, quatro parcelas de perda de solo, já implantadas na região de Bom Jardim – RJ foram monitoradas quanto ao teor de Paraquat no solo e na água de escoamento.

Palavras-chave: pesticida, colorimetria, extração em fase sólida.

Validation of espectrophotometric method for evaluation and monitoring of paraquat in soil and water in Bom Jardim-RJ

Abstract

In Brazil, the Paraquat is amply used in various cultures and the main environmental problem is due to its high persistence and elevated solubility therefore leading to contamination of groundwater. Various methods are utilized in the quantification of Paraquat, however the simplest method is the espectrophotometric presenting a limitation that applies only to elevated concentrations and in other words it presents low sensibility. The objective of this study is to validate a method of extraction and quantification thru espectrophotometric aiming to obtain the limits of adequate quantification to determine the Paraquat in samples of water and soil. This optimization aims to subsidize the monitoring of Paraquat in the microbasin of the stream Pito Aceso, in the city of Bom Jardim in the state of Rio de Janeiro, where this product is used a lot in perennial and annual crops. The extraction and pre-concentration of Paraquat of in the soil matrix (Inceptsoil) were done thru the extraction with solvent followed by extraction in a solid phase (cartridge C18). For the water matrix was done only extraction in a solid phase (cartridge C18). The parameters of validation for the purpose method presented sensibility 0.0097 units of absorption L μg^{-1}, limits of detection 1,30 $\mu g\ L^{-1}$ and limit of quantification of instrument 4,33 $\mu g\ L^{-1}$. The precision of the method varied from 0.58% to 2.84% and 1.38% to 3.52% for water and soil. The test of recovery presented satisfactory results varying from 93% to 98% for water and 80% to 83% for soil. After the optimization and

validation of the method, four plots of soil loss already implanted in the region of Bom Jardim in Rio de Janeiro, were monitored the content of Paraquat in soil and runoff water.

Key words: Pesticide, Colorimetric Method, Solid phase extraction.

INTRODUÇÃO

O 1,1'-dimetil-4,4'-bipiridina-dicloreto foi descoberto na década de 30, porém, suas propriedades como pesticida foram avaliadas em 1958 e alguns anos depois foi introduzido comercialmente com o nome de Paraquat (KLAASSEN, 1989). Na forma de um sal de cloreto, ele é um herbicida não seletivo largamente utilizado e conhecido comercialmente como Laredo®, Tocha®, Paraquat 200 SL Sinon® (BRASIL, 2011).

O Paraquat tem sido determinado por diversas técnicas analíticas como espectrofotometria, análise em fluxo, cromatografia líquida com detector de massa, polarografia e imunoensaios (RAI et al., 1997; SAAD et al., 1998; TAGUCHI et al., 1998; WALCARIUS; LAMBERTS, 1996; NUWER et al., 1998).

Métodos colorimétricos são utilizados em análises qualitativas apresentando rapidez e facilidade. O Paraquat pode ser identificado através de reações rápidas utilizando ditionito de sódio 1% em meio alcalino. Esta mesma reação realizada via espectrofotometria pode ser utilizada na quantificação de Paraquat, porém apresenta baixa sensibilidade (AOAC, 2000).

De acordo com as considerações acima, o objetivo deste trabalho foi otimizar e validar o método espectrofotométrico e avaliar a técnica de extração adequando-se o método ao monitoramento de Paraquat em amostras de água e solo da região de Bom Jardim – RJ.

OBJETIVOS

Objetivo geral:

• Propor condições analíticas para o monitoramento ambiental do Paraquat em solo e água em diferentes usos, no município de Bom Jardim - RJ.

Objetivos específicos:

• Otimizar e validar um método espectrofotométrico na quantificação de

Paraquat em solo e água coletados na microbacia do córrego Pito Aceso, município de Bom Jardim - RJ;

• Avaliar técnicas de extração e pré-concentração do Paraquat em amostras de solo;

• Avaliar a concentração de Paraquat na água de escoamento superficial e no solo das parcelas de perda de solos.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Aspectos gerais e históricos do Paraquat

O Paraquat (1,1'-dimetil-4,4'-bipiridina-dicloreto) é um sólido cristalino, branco higroscópico e deliquescente. Na Figura 1 é apresentada a sua fórmula estrutural.

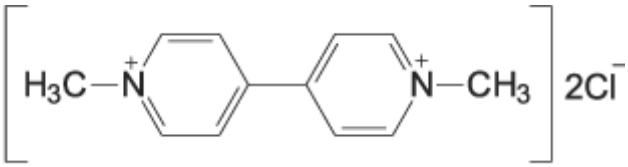

Figura 1. Fórmula estrutural do pesticida Paraquat PM = 257,18.
Fonte: Draoui et al., 1999.

O Paraquat não existe em estado natural. Sua síntese deve-se a Widel e Russo, que publicaram seus trabalhos em 1882. No entanto, as propriedades herbicidas do produto só foram descobertas em 1955, e sua utilização começou em 1962 (SERRA et al., 2003). Os primeiros casos fatais foram acidentais e ocorreram em 1964, mas só foram relatados em 1966. Desde então, têm sido reportadas várias mortes resultantes de intoxicações ocupacionais, acidentais ou suicidas (RIVERO GONZÁLES, 2001; SITTIPUNT, 2005).

Quanto à solubilidade, é solúvel em água (620 $g.L^{-1}$ a 25 ºC), pouco solúvel em metanol e insolúvel em solventes orgânicos não polares. É corrosivo para metais e estável em solução ácida ou neutra, mas se hidrolisa facilmente em meio alcalino. Os seus sais são eletrólitos fortes que se dissociam totalmente

em solução (SERRA et al., 2003). Além disso, sofre decomposição fotoquímica e microbiológica, promovendo fragmentação molecular, formando diversos compostos como o ácido hidroxi-4-picolínico, a N-formilglicina, o 4,4'-bipiridil, o íon 4-carboxi-1-metilpiridona, oxalato e succinato (ROBERTS et al., 2002).

O Paraquat é amplamente utilizado em mais de cem países em culturas de fumo, algodão, arroz, café, cana-de-açúcar, feijão, maçã, soja e uva, entre outras. O maior problema causado pelo uso abusivo e descontrolado do Paraquat é devido a sua alta persistência no meio ambiente e ao alto potencial de contaminação das águas pela sua alta solubilidade neste meio (ERICKSON et al., 1997).

Aspectos toxicológicos

O Paraquat é extremamente tóxico, podendo causar intoxicações fatais em humanos e animais. No homem, ele pode ser reduzido pela enzima NADPH (fosfato de nicotinamida adenina dinucleotídeo)-citocromo P450 redutase, com a transferência de um elétron, formando o radical Paraquat. Este, por sua vez, em presença de oxigênio oxida-se rapidamente produzindo um ânion radical superóxido e regenerando o Paraquat. Desta maneira, ciclos repetidos de redução e re-oxidação do herbicida podem ocorrer gerando uma grande quantidade de espécies de oxigênio reduzido que levam o organismo ao stress oxidativo ou à peroxidação de gorduras (BROMILOW, 2003; TAMPO et al., 1999).

Em animais, a dose letal média (LD50) oral varia de 22 a 262 mg/kg, de acordo com a espécie. Em humanos, não existe consenso, mas sabe-se que a ingestão de 10 a 15 mL de uma solução a 20%, concentração na qual o produto normalmente é comercializado, seria suficiente para provocar intoxicações fatais, embora existam relatos de fatalidades provocadas pela ingestão de apenas 1 mL dessa solução (SCHMITT et al., 2006).

A distribuição do Paraquat no organismo humano ocorre de maneira uniforme por todos os tecidos, com maior concentração especialmente nos rins, fígado, pulmões, baço, pâncreas, cérebro e músculos (SCHMITT et al., 2006).

Aspectos de legislação

De acordo com a Portaria 329 do Ministério da Saúde de 02/09/85 (BRASIL, 1985) o Paraquat só pode ser aplicado por pessoal especializado, contratado por firma prestadora de serviços, cadastrada no Ministério da Agricultura. Porém, não estão estabelecidos na legislação brasileira os limites aceitáveis deste produto na água e no solo. O nível máximo que o EPA estabelece para o Paraquat em água é de 20 $\mu g.L^{-1}$ (EPA, 2010) e em alimentos de 0,2 $mg.kg^{-1}$ (COA, 2007).

Aspectos analíticos na determinação do Paraquat

São inúmeros os métodos analíticos desenvolvidos para a determinação e monitoramento de Paraquat em água, solos, alimentos, material biológico e plantas.

A técnica analítica mais amplamente empregada na determinação de Paraquat é a espectrofotometria, por sua simplicidade, rapidez e menor custo. Porém, várias outras técnicas têm sido empregadas na determinação deste produto em diversas matrizes (Tabela 1).

Os métodos como a cromatografia em camada delgada e o imunoensaio são mais utilizados como métodos de triagem, pois são rápidos e de baixo custo, permitindo identificar facilmente a presença do Paraquat. Porém, a quantificação do Paraquat constitui um procedimento fundamental quando se querem mensurar contaminações.

Tabela 1 - Técnicas analíticas empregadas na determinação de Paraquat.

Técnica	Referência
Espectrofotometria	AOAC, 2000; ROBERTS et al., 2002; RAI et al., 1997
Espectrofotometria/FIA	INFANTE; MASINI, 2007; SAAD et al., 1998
HPLC-UV	EPA, 1997; PAIXÃO et al., 2002
HPLC-fluorescência	BACIGALUPO et al., 2005
HPLC-MS	ARAMENDÍA et al., 2006 TAGUCHI et al., 1998
Cromatografia em camada delgada	RAVANEL et al., 1999
Cromatografia eletrocinética micelar	NÚÑEZ et al., 2002
Voltametria	SOUZA; MACHADO, 2005; SOUZA et al., 2006
Polarografia	WALCARIUS; LAMBERTS, 1996
Imunoensaio	NUWER et al., 1998

A cromatografia líquida de alta eficiência e a eletroforese capilar apresentam alta sensibilidade na quantificação do Paraquat, sendo as técnicas mais adequadas quando as concentrações são em níveis de $\mu g\ L^{-1}$ e $ng\ L^{-1}$, porém são técnicas de custo elevado. Já a espectrofotometria que é uma técnica simples e de menor custo, podendo ser utilizada na quantificação, desde que se desenvolvam formas de pré-concentração dos extratos, uma vez que sua sensibilidade é baixa, em nível de $mg\ L^{-1}$ (PAIXÃO, 2002).

A maioria dos artigos publicados envolve a quantificação de Paraquat em amostras biológicas e alimentos e poucos são os que apresentam a determinação de Paraquat em amostras de solos.

Preparo da amostra

Muitos contaminantes estão presentes na água e em solos em nível de traços. Devido a este fato, nos últimos anos tem crescido o interesse em se desenvolver técnicas de preparo de amostra que possibilitem pré-concentrar os analitos da matriz para adequação ao sistema de detecção.

A etapa de preparo da amostra geralmente é necessária para isolar os componentes de interesse de uma matriz, para uma forma apropriada à aplicação do método de determinação escolhido (ANDERSON, 1991).

Em geral, as técnicas de preparo da amostra incluem procedimentos como extração, limpeza do extrato e pré-concentração, visando basicamente a eliminação dos interferentes e o ajuste da concentração do analito, acima do limite detectável (BUTZKE et al., 2000).

Uma técnica ideal de preparo de amostra deve apresentar: facilidade no manuseio, rapidez, baixo custo, ser compatível com a faixa de instrumento de análise e apresentar boa eficiência analítica, incluindo seletividade e aplicabilidade para determinações simultâneas (PAWLISZYN, 1997).

O método mais utilizado na extração do Paraquat em amostras de solos envolve a extração por refluxo utilizando ácido sulfúrico 6 $mol.L^{-1}$, seguida de filtração em resina de troca catiônica (ROBERTS et al., 2002). No entanto,

este método apresenta algumas limitações como o elevado consumo de tempo, pequena possibilidade de mecanização, perda do analito durante o processo de concentração e emprego de solventes.

Com a implantação do programa da Agência de Proteção Ambiental dos EUA, EPA - *Environmental Protection Agency* (EPA, 2010), que apresenta alternativa visando à redução do uso de solventes tóxicos e eliminação de clorofluorcarbonos (CFC), percebe-se uma preocupação da comunidade científica no desenvolvimento de técnicas que utilizem pouca quantidade de solvente ou, ainda, de técnicas que dispensem o uso dos mesmos. Assim sendo, técnicas alternativas como a extração em fase sólida (SPE) (PENSABENE et al., 1992; TAKATSUKI e KIKUCHI, 1990; RAOUL et al., 1997) e, mais recentemente, a microextração em fase sólida (SPME) (SEN et al., 1997) têm sido recomendadas como procedimentos para o preparo de amostra.

Extração com solvente

As extrações com solventes, seguidas pelas etapas de partição líquido-líquido para os procedimentos de purificação, têm sido por muito tempo os métodos padrões em análise de resíduos e ainda são comumente utilizados.

O emprego da técnica de extração com solventes vai depender do estado físico da amostra (sólida ou líquida). Várias técnicas de extração com solventes foram desenvolvidas, com o intuito de melhorar sua performance na determinação de resíduos. Algumas técnicas são baseadas em extração sólido-líquido, como o uso do extrator de Soxhlet (QUACH et al., 1999).

Baseada na extração líquido-líquido, temos a extração contínua e descontínua. Na extração descontínua, utiliza-se um funil de separação, onde é adicionado a amostra e o solvente de extração. Já na extração contínua, o solvente passa continuamente sobre a solução contendo o soluto, levando parte deste consigo, até o balão de aquecimento (PRZYBYLKO et al., 1996).

As técnicas tradicionais de preparo de amostras baseadas no uso de solventes, apesar de apresentarem boa aplicabilidade para vários compostos, apresentam algumas limitações como o elevado consumo de tempo, trabalho

intensivo, pequena possibilidade de automação, possibilidade de contaminação e problemas ambientais relacionados com o descarte de solventes devido ao elevado consumo.

Extração em fase sólida

A extração em fase sólida (SPE) é uma técnica usada tanto para extração de componentes de uma amostra como para limpeza e pré-concentração, e surgiu como uma alternativa para a extração líquido-líquido (ELL), apresentando algumas vantagens segundo Hennion (1999).

A SPE é uma técnica interessante em relação à LLE por reduzir a quantidade de solvente, o custo, e o tempo de extração para a etapa de preparo da amostra. Os cartuchos de SPE podem ser mais seletivos do que a extração líquido-líquido, podendo eliminar outros problemas da LLE, como formação de emulsões e variáveis de extração (HENNION, 1999).

O princípio desta técnica, em geral, pode ser dividida em 4 etapas de acordo com Fritz e Macka (2000):

- Condicionamento: É realizado antes da extração do analito, preparando o cartucho para interações repetitíveis com a amostra. O condicionamento é realizado pela passagem de um pequeno volume de solvente pelo cartucho capaz de ativar o sorvente, permitindo que os sítios ativos fiquem disponíveis e eluir algumas impurezas orgânicas presentes nesta fase.

- Aplicação da amostra: a amostra líquida é passada através do cartucho de SPE, com auxílio de vácuo suave (aplicado em direção ao fim da coluna), que pode ser realizado com auxílio de uma bomba de vácuo. Nesta etapa há retenção do analito e de constituintes indesejáveis presentes na amostra-matriz.

- Lavagem: É a passagem de um solvente através do cartucho SPE para remoção de constituintes indesejáveis retidos no cartucho.

- Eluição e coleta do analito: Passagem de um solvente apropriado,

selecionado especialmente para quebrar a interação analito-sorvente, através do cartucho resultando na eluição seletiva do analito.

Para Fritz e Macka (2000), um considerável número de solventes e muitas vezes uma mistura de dois ou mais solventes podem ser usados na etapa de eluição.

O uso da automação no preparo de amostras por SPE tem aumentado significativamente nos últimos anos, oferecendo algumas vantagens como economia de tempo, melhor precisão e exatidão nos resultados e segurança, devido a exposição a amostras de risco (ROSSI; ZHANG, 2000).

MATERIAL E MÉTODOS

Descrição da área de estudo

A área de estudo refere-se a uma propriedade rural, localizada no 4º Distrito de Barra Alegre, pertencente ao Município de Bom Jardim, na região serrana fluminense. A propriedade, denominada "Sítio da Cachoeira", fica na região da cabeceira do córrego do Pito Aceso, inserido na bacia do rio Paraíba do Sul, com coordenadas geográficas 22º 09' 62'' S e 42º 17' 14'' W, possuindo altitudes em torno de 900 m (Figura 2). Nesta propriedade, há mais de 50 anos vem sendo praticado um sistema de agricultura migratória (sistema agroflorestal), onde as terras são divididas em glebas com diferentes tipos de cultivos e diferentes estágios de pousios (PRADO et al., 2004).

Na área de estudo, os principais tipos de uso e cobertura do solo são os cultivos anuais rotacionados de inhame, batata, mandioca, milho e feijão, além do cultivo de perenes como a banana e o café, da pastagem para subsistência e do pousio florestal com 3 a 5 anos (talhões onde ocorrem a regeneração natural da Mata Atlântica). São bastante frequentes fragmentos florestais em estágios de sucessão diversificados, havendo relatos de fragmentos com mais de 70 anos de idade (MENDES, 2006). Segundo Prado et al. (2009), 63,22% da microbacia do córrego Pito Aceso encontram-se cobertos por estes fragmentos. Por outro lado, de acordo com a EMATER (Empresa de Extensão Rural do Estado do Rio de Janeiro), a região se caracte-

riza por ser uma das mais importantes consumidoras de agrotóxicos do país. Outro fato que também deve ser citado é que nessa região de Mata Atlântica, denominada Serra do Mar, ocorrem as principais fontes dos mananciais que abastecem a cidade do Rio de Janeiro, trecho do vale do rio Paraíba do Sul e outras áreas do Estado nas baixadas próximas à Serra, como Macaé, Campos e a Região dos Lagos. Portanto, atenção deve ser direcionada à manutenção da boa qualidade das águas da área de estudo.

Nesta área, assim como em toda região serrana, a agricultura é praticada nas encostas dos estreitos vales, até as cabeceiras de drenagem. A característica topográfica de relevo montanhoso nas bacias hidrográficas e o intenso regime pluviométrico potencializam os processos erosivos, intensificando as perdas de solo, além do carreamento de agrotóxicos e de fertilizantes para os rios, causando poluição e contaminação ambiental (ROSS,1996).

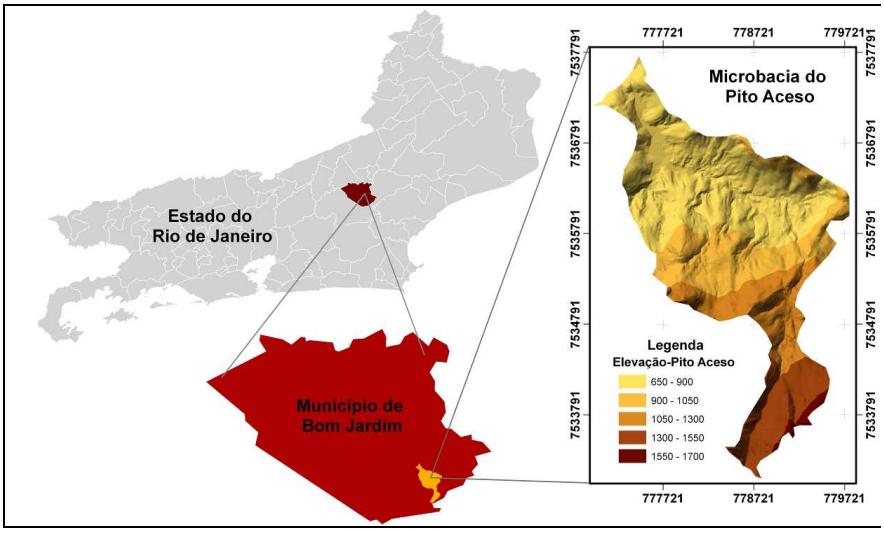

Figura 2. Localização da área de estudo (PRADO et al., 2009).

Materiais

Equipamentos

• Espectrofotômetro Genesys 2 da Spectronic Instruments;

• Agitador horizontal com aquecimento, com capacidade para nove amostras Nova Ética;

• Balança Analítica Ohaus;

• Sistema a vácuo para extração em fase sólida (Agilent) com capacidade para 10 cartuchos acoplado a uma bomba de vácuo Modelo 13 da Prismatec;

• Cartuchos C_{18} de 500 mg (3 mL) da Agilent;

• HPLC Series 200 UV-Vis Perkin Elmer com amostrador automático.

Reagentes

Todos os reagentes utilizados no método espectrofotométrico foram de grau p.a. As soluções foram preparadas com água deionizada.

Todos os reagentes utilizados no método cromatográfico foram de grau HPLC. As soluções foram preparadas com água ultra-pura.

A solução padrão de Paraquat, de concentração 1.000 mg L^{-1}, foi preparada a partir da dissolução de 0,1770 g de Paraquat (Sigma-Aldrich 99,9%), previamente seco a 110 ºC por 3 horas, em 100 mL de água ultra-pura. A partir da solução de 1.000 mg L^{-1}, foi preparada uma solução-trabalho de concentração 50 mg L^{-1}.

Aplicação do Paraquat

O produto comercial utilizado na área experimental foi o Gramoxone 200 da Syngenta Brazil.

O paraquat foi aplicado utilizando aplicador costal nas parcelas experimentais em dose equivalente para o hactare conforme a recomendação do fabricante de 2,0 L/ha.

Coleta das amostras

• Água

As amostras de água foram coletadas em dois períodos: durante o período chuvoso (179 mm) e após o período chuvoso (87,3 mm) e nos seguintes locais, de acordo com a Tabela 2.

Tabela 2. Locais de coleta de água.

Identificação	Locais de Coleta
A1	Caixa coletora de escoamento superficial da parcela de Café
A2	Caixa coletora de escoamento superficial da parcela de banana
A3	Caixa coletora de escoamento superficial da parcela de pousio
A4	Caixa coletora de escoamento superficial de cultivo anual: feijão/mandioca
A5	Próximo à nascente do córrego do Pito Aceso e à montante de um pasto
A6	Abaixo dos cultivos
A7	Estação hidrosedimentológica (exutório da propriedade)
A8	Abaixo de área com predomínio de fragmentos em pousio

As amostras foram coletadas em duplicata, acondicionadas em frascos plásticos apropriados para prevenir a adsorção do Paraquat na superfície do vidro e mantidas sob refrigeração até a análise. Todas as amostras coletadas foram filtradas antes de serem analisadas.

• Solos

As amostras de solos caracterizadas por Cambissolo Háplico textura média foram coletadas em 4 parcelas (22 x 4 m) instaladas na região de Bom Jardim - RJ e utilizadas em experimentos de perda de solo e de escoamento superficial (Figura 3). O atual uso da terra nestas parcelas é representativo dos usos predominantes na região, e está descrito na Tabela 3.

Em cada parcela foram coletadas amostras em duplicatas nas profundidades de 0-10, 10-20, 20-40 e 40-60 cm. As amostras de solos foram secas à temperatura ambiente, desagregadas e passadas por peneira de 2 mm de malha, obtendo-se a terra fina seca ao ar (TFSA).

Tabela 3. Uso da terra nas parcelas de perda de erosão.

Parcela	*Uso da terra*
1	Café
2	Banana
3	Pousio (2º ano)
4	Feijão (1º ano cultivo) Mandioca (2º ano cultivo)

As amostras de solo coletadas na parcela sob pousio foram usadas como referência (branco) por não ter sido aplicado Paraquat.

As análises de carbono no solo, umidade atual e textura foram realizadas de acordo com o Manual de Métodos da Embrapa (EMBRAPA, 1997).

Os resultados das análises de carbono orgânico, umidade e textura encontram-se nas Tabelas 4, 5 e 6, respectivamente e foram realizadas para verificar sua influência na adsorção do Paraquat pelo solo e consequentemente no escoamento superficial deste herbicida.

Figura 3. Parcelas onde foram obtidas as amostras de solo e água.

Tabela 4. Carbono orgânico nas amostras de solo em diferentes profundidades.

Amostras de Solo	Carbono orgânico (g kg^{-1})
Parcela Café	
0-10 cm	16
10-20 cm	15
20-40 cm	15
Parcela Banana	
0-10 cm	13
10-20 cm	13
20-40 cm	9
Parcela Cultivo Anual	
0-10 cm	14
10-20 cm	13
20-40 cm	14

Tabela 5. Resultados Umidade Atual (% p/p) para as amostras de solo.

Amostras de Solo	Umidade Atual (% m/m)
Parcela Café	
0-10 cm	20,3
10-20 cm	21,0
20-40 cm	17,8
40-60 cm	16,2
Parcela Banana	
0-10 cm	26,4
10-20 cm	23,6
20-40 cm	20,0
40-60 cm	14,7
Parcela Cultivo Anual	
0-10 cm	24,9
10-20 cm	23,5
20-40 cm	20,4
40-60 cm	18,7

Tabela 6. Textura para as amostras de solo em diferentes profundidades.

Amostras de Solo	Argila	Silte	Areia Grossa	Areia Fina
	g kg^{-1}			
Parcela Café				
0-10 cm	125	235	475	165
10-20 cm	146	217	490	147
20-40 cm	120	250	475	155
Parcela Banana				
0-10 cm	103	270	477	150
10-20 cm	125	265	470	140
20-40 cm	140	250	480	130
Parcela Cultivo Anual				
0-10 cm	130	280	450	140
10-20 cm	155	215	470	160
20-40 cm	119	290	460	131

Procedimentos para extração em fase sólida

Extração do Paraquat na amostra de água

O procedimento experimental para a extração e pré-concentração do Paraquat das amostras de água foi baseado no método 549.2 do EPA (1997).

Para o preparo de amostra empregando a extração em fase sólida (SPE) foi usado cartucho contendo C_{18}, acoplado ao sistema a vácuo para extrações de até 10 amostras simultâneas. O sistema foi ajustado quanto à vazão de acordo com as condições necessárias preconizadas pela metodologia.

Antes da extração das amostras, os cartuchos foram condicionados de acordo com a sequência de eluição a seguir, a uma vazão de 10 mL/min:

a) 5 mL de água deionizada;

b) 5 mL de metanol;

c) 5 mL de água deionizada;

d) 5 mL de solução de condicionamento A ($C_{19}H_{42}BrN + NH_4OH$);

e) 5 mL de água deionizada;

f) 10 mL de metanol;

g) 5 mL de água deionizada;

h) 20 mL de solução de condicionamento B ($C_6H_{13}O_3S + NH_4OH$).

Após o condicionamento dos cartuchos, 50 mL da amostra (pH entre 7,0 e 9,0) foram eluídos pelo cartucho a uma vazão de 5,0 mL/min. O pH das amostras foram ajustados com NaOH 10% ou HCl 10%.

Após a eluição da amostra, o cartucho foi eluído com 5 mL de metanol para lavagem do mesmo, sendo este seco pela passagem de um fluxo de ar por alguns segundos e, a seguir, o Paraquat foi eluído pela passagem de 4,5 mL de solução de eluição ($H_3PO_4 + NH(C_2H_5)_2$) a um fluxo de 2 mL/min. Ajustou-se o volume do eluato para 5 mL para posterior análise colorimétrica.

Extração do Paraquat na amostra de solo

O procedimento de extração do Paraquat por SPE em amostras de solos foi dividido em duas etapas: (i) extração do Paraquat da matriz por extração líquido-líquido e (ii) limpeza e pré-concentração do extrato no cartucho SPE.

A extração do Paraquat em amostra de solo foi avaliada mediante a fortificação da amostra com uso de pousio (m = 5 g) com solução padrão de Paraquat em três níveis de concentração final (5,0; 25,0 e 50,0 $\mu g\ L^{-1}$). Para incorporação do padrão de Paraquat nas amostras de solos, estas permaneceram em agitação constante por 24 horas em 25 mL de água ultra-pura e, posteriormente, foram novamente secas à temperatura ambiente, desagregadas e passadas por peneira de 2 mm de malha, obtendo-se terra fina seca ao ar (TFSA).

Ensaios preliminares foram realizados para se determinar a melhor condição de extração. Foi avaliada a concentração de ácido sulfúrico (12, 24 e 36 $mol.L^{-1}$) em um volume de 10 mL como solução extratora, tempo de extração (4, 8 e 12 horas) e temperatura (0 °C e 50 °C).

Após a extração do Paraquat da matriz solo, foi realizada a pré-concentração do extrato (50 mL), de acordo com o item 4.3.1, onde está descrito o procedimento realizado para análise de água.

Reação colorimétrica

O procedimento de quantificação do Paraquat foi baseado na reação colorimétrica descrita no Método AOAC 969.09, (2000), através da reação entre ditionito de sódio 1%, preparado em solução de hidróxido de sódio 0,1 mol L^{-1} e soluções contendo Paraquat. As leituras foram realizadas em um espectrofotômetro a 600 nm, usando-se água deionizada como o branco.

Validação do método espectrofotométrico

Para garantir a confiabilidade do método analítico proposto para quantificar o Paraquat por espectrofotometria foram construídas três curvas analíticas (com seis pontos de concentração). Para tanto, foram determinados alguns parâmetros de validação do método como: faixa linear, linearidade, sensibilidade, limite de detecção e limite de quantificação do equipamento.

Faixa linear: foram construídas curvas analíticas para o Paraquat no intervalo de concentração de 1,00 a 200,00 μg L^{-1}, e quando a reta começou a sofrer um desvio de linearidade, este valor de concentração foi tomado como sendo o valor máximo a ser determinado. O valor mínimo da faixa corresponde ao limite de quantificação do método.

Linearidade (r): foi calculada a partir da regressão linear de três curvas analíticas, obtidas em um mesmo dia, empregando soluções padrão de Paraquat, no intervalo de concentração de 5,0 a 50,00 μg L^{-1}.

Sensibilidade: calculada a partir do coeficiente angular médio das curvas analíticas obtidas para o Paraquat.

Limite de detecção (LOD): calculado a partir de três curvas analíticas pela seguinte expressão:

$$LOD = \frac{3s_{y/x}}{m}$$

onde: $s_{y/x}$ é a estimativa do desvio padrão das curvas analíticas e "m" o coeficiente angular médios das curvas analíticas.

Limite de quantificação (LOQ): calculado a partir de três curvas analíticas pela seguinte expressão:

$$LOQ = \frac{10s_{y/x}}{m}$$

onde: $s_{y/x}$ é a estimativa do desvio padrão das curvas analíticas e "m" o coeficiente angular médios das curvas analíticas.

Uma vez otimizada as condições analíticas para a extração e a quantificação do Paraquat por espectrofotometria, o método foi avaliado com o objetivo de garantir a exatidão e a precisão dentro da faixa na qual o Paraquat será analisado.

Recuperação:

• **Água:** amostras de água fortificadas em dois níveis de concentração foram submetidas ao procedimento de extração juntamente com o seu branco, e os valores de recuperação foram obtidos pelo método da padronização externa. A fortificação das amostras (triplicata) foram realizadas através da adição de 0,25 e 0,5 mL de uma solução padrão, contendo Paraquat na concentração de 0,5 mg L^{-1} sobre 50 mL de amostra de água. As amostras fortificadas apresentavam concentrações de 2,5 e 5,0 μg L^{-1}.

• **Solo:** amostras de solo com o uso pousio foram fortificadas em três níveis de concentração e submetidas ao procedimento de extração, juntamente com o seu branco. Os valores de recuperação foram obtidos pelo método da padronização externa. A fortificação das amostras (triplicata) foram realizadas através da adição de 0,25, 1,25 e 2,5 mL de uma solução padrão contendo Paraquat na concentração de 0,1 mg L^{-1} sobre 5 g de amostra de solo.

A recuperação para as amostras de água e solo foi calculada através da equação:

$$R = \text{massa obtida x } 100 \text{ / massa esperada}$$

Precisão intra-ensaio (Repetibilidade): foi avaliada mediante análise consecutiva (n = 3) em um mesmo dia de amostras de água e solo, fortificadas com Paraquat nas concentrações finais do extrato de 5,0; 20,0 e 50,0 μg.L^{-1}. A precisão foi expressa pela estimativa do desvio padrão relativo (RSD), obtido pela equação:

$$RSD\ (\%) = \frac{s}{\overline{X}} 100$$

Onde:

s: estimativa do desvio padrão absoluto

$\overline{X}$: média dos resultados

Precisão inter-ensaio: foi avaliada mediante análise de amostras de água e solo fortificadas com Paraquat na concentração final do extrato de 20,00 μg L^{-1}, em cinco dias diferentes. Todas as determinações foram realizadas em triplicata. A precisão foi expressa pela estimativa do desvio padrão relativo (RSD).

Análise das amostras de água e solo

O método espectrofotométrico proposto foi aplicado no monitoramento do escoamento do Paraquat na área estudada em dois períodos: durante o período chuvoso e no final do período chuvoso. Pretendia-se analisar a concentração de Paraquat também no sedimento depositado nas caixas de coleta, mas nos dois períodos de coleta não havia sedimento depositado nas caixas, uma vez que o escoamento superficial não foi suficiente para o carreamento do solo até as caixas.

Para esta avaliação foi aplicado Paraquat na concentração de 300 mg.L^{-1} (concentração recomendada pelo fabricante) nas parcelas com cultivo, em um dia anterior à coleta.

As condições de análise para amostras de água estão descritas nos itens 4.3.1 (extração por SPE) e 4.4 (análise espectrofotométrica) e as determinadas para análises de solo, nos itens 4.3.2 (extração líquido-líquido e SPE) e 4.4 (análise espectrofotométrica).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Validação da metodologia

As figuras de mérito: faixa linear, linearidade e sensibilidade foram estabelecidas a partir da curva analítica (Figuras 4 e 5):

- Faixa linear dinâmica: 1,00 a 100,00 μg Paraquat L^{-1}
- Linearidade: 0,9983
- Sensibilidade: 0,0097 unidades de absorvância L μg^{-1}

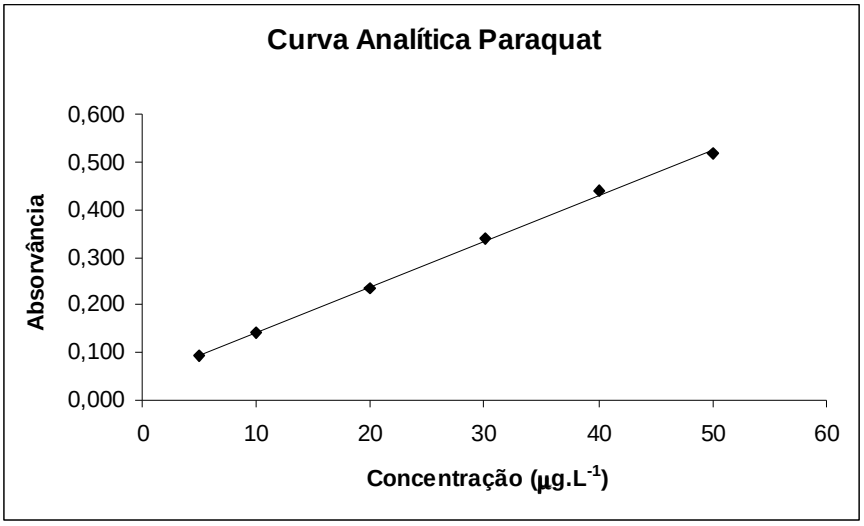

Figura 4. Curva analítica de Paraquat determinada pelo método SPE-espectrofotometria.

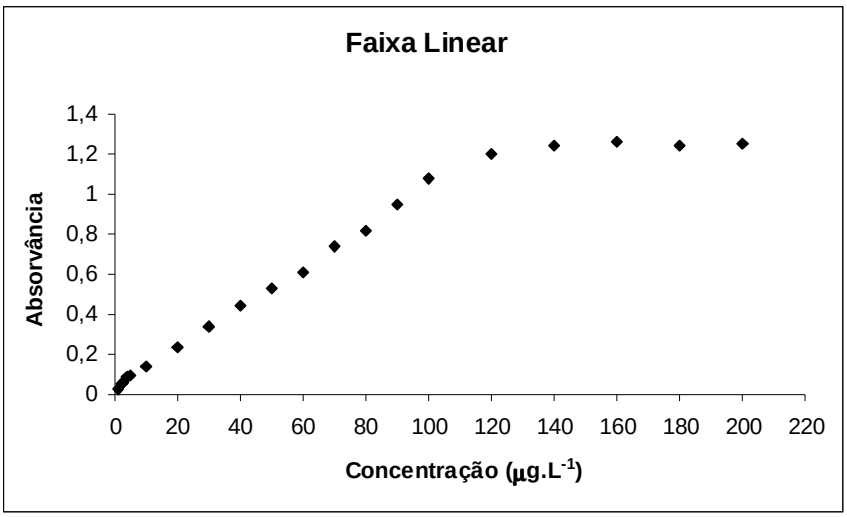

Figura 5. Concentração de Paraquat x Absorvância para verificação da faixa linear do método SPE-Espectrofotometria.

Os limites de detecção e quantificação do método espectrofotométrico foram 1,30 e 4,33 μg L^{-1}, respectivamente.

Os resultados da recuperação e precisão estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7. Recuperação e Precisão para amostra fortificada e pré-concentrada em cartuchos C_{18}.

Parâmetros	Resultados	
	Água	**Solo**
Recuperação (%)	93 – 98	80 - 83
Precisão intra-ensaio (% RSD, n = 3)		
(1) 5,0 μg L^{-1}	2,84	3,52
(2) 20,0 μg L^{-1}	0,89	2,46
(3) 50,0 μg L^{-1}	0,58	1,38
Precisão Inter-ensaio (% RSD, n = 3)	4,34	6,52

A pré-concentração com a utilização da extração em fase sólida nas amostras foi de cerca de 10 vezes. Este resultado foi satisfatório, pois permitiu a utilização do método espectrofotométrico, que a princípio apresentava baixa sensibilidade para determinação de Paraquat. Os intervalos aceitáveis de recuperação, para análise de resíduos, geralmente estão entre 70 e 120%, apresentando precisão de até ± 20% (GARP, 1999).

A repetibilidade do método foi avaliada através da precisão intra-ensaio (n = 3) e o resultado expresso como estimativa do desvio padrão (RSD). Obteve-se uma variação de no máximo 3,52%, dentro da variação máxima considerada, pois em análise de traços ou impurezas, são aceitos RSD de até 20%, dependendo da complexidade da amostra (HUBER, 1998). Portanto, todos os parâmetros de validação apresentaram resultados aceitáveis, de acordo com as normas estabelecidas para este tipo de análise.

Os resultados obtidos pelo método espectrofotométrico estão descritos na Tabela 8.

Tabela 8. Resultados do método do espectrofotométrico.

Amostras	Concentração de Paraquat ± S ($\mu g.L^{-1}$)
	Método espectrofotométrico
	Água
A1	4,26 ± 0,22
A2	5,70 ± 0,13
A3	n.d
A4	7,10 ± 0,13
A5	n.d
A6	n.d
A7	n.d
A8	n.d
	Solo / Parcela Café
0-10	42,91 ± 5,01
10-20	11,34 ± 1,81
20-40	n.d.
40-60	n.d.

Análise das amostras de água

As amostras de água coletadas foram analisadas pelo método SPE-espectrofotometria e os resultados para as duplicatas de coleta estão apresentados na Tabela 10.

Tabela 10. Média (n = 6) da concentração de Paraquat para avaliação da repetibilidade do método em amostras de água.

Amostras	Concentração de Paraquat ± S ($\mu g.L^{-1}$)	
	Época 1	Época 2
A1	4,26 ± 0,22	10,12 ± 0,16
A2	5,70± 0,13	8,73± 0,21
A3	nd	Nd
A4	7,10 ± 0,13	18,74 ± 1,32
A5	nd	Nd
A6	nd	Nd
A7	nd	Nd
A8	nd	Nd

S = Estimativa do desvio padrão absoluto da média (n=6) da concentração de Paraquat.
nd = não detectada (< 1,3 μg L-1).
Época 1: coleta das amostra no final do período chuvoso.
Época 2: coleta da amostra no meio do período chuvoso.

Observa-se na Tabela 10 que a concentração de Paraquat na água de escoamento das parcelas de perda de solo foi influenciada pelo período de coleta e pelo uso do solo.

Com relação ao período de coleta das amostras, no meio do período chuvoso a precipitação acumulada do mês (179 mm) foi bem maior do que no início do período chuvoso (87 mm), conforme dados obtidos na estação hidrossedimentológica instalada na área de estudo. Com isso houve uma maior perda de Paraquat pelo escoamento superficial, nas diferentes parcelas e respectivos usos. Já em relação ao uso do solo, observou-se a seguinte ordem de perda de Paraquat no escoamento superficial: Cultivo anual > Banana > Café > Pousio. Esta ordem ocorreu em função de no cultivo anual haver menor cobertura de solo e maior manejo do solo, e assim ocorreu maior escoamento superficial e transporte de sedimentos. Já no caso da banana, ficam resíduos culturais no solo como folhas e parte do Paraquat fica sobre

esses resíduos e quando ocorre a chuva, o Paraquat é perdido por meio do escoamento superficial. Já no café, a solução com o Paraquat infiltra mais e uma parte maior da concentração do Paraquat fica retida no solo. Ressalta-se que as diferenças de carbono e de textura entre as parcelas com diferentes usos não foram significativas para influenciar a adsorção de Paraquat, e por consequência, a perda por escoamento superficial.

No ponto abaixo dos cultivos, os resultados deram abaixo do limite detectável, o que ocorre é que o Paraquat fica retido no solo não chegando até o curso d'água, uma vez que está a uma distância razoável das parcelas onde foi aplicado o Paraquat. Nos demais pontos (nascente, estação hidrossedimentológica e ponto abaixo da área com predomínio de fragmentos e pousio) que estão imediatamente acima dos usos, o Paraquat também não foi detectado. Próximo a estes pontos o Paraquat não é aplicado, desta forma podemos dizer que o uso deste produto nas parcelas não contamina estas áreas sugerindo mais uma vez a retenção do Paraquat no solo.

Análises das amostras de solo coletadas em diferentes profundidades no final do período chuvoso

As concentrações de Paraquat encontradas para todos os usos foram baixas. Isso está relacionado ao Paraquat ficar bastante adsorvido na fase sólida, mesmo o solo apresentando baixos valores de carbono orgânico (Tabela 4) e baixa proporção de argila (Tabela 6). Assim a concentração que fica passível de extração é baixa.

Observou-se também que o Paraquat fica retido nos primeiros 20 cm, uma vez que é camada do solo que apresenta maior teor de carbono (Tabela 4), que favorece a adsorção do Paraquat. Além disso, por ser um pesticida que é fortemente adsorvido nos minerais presentes na fração argila, especialmente óxidos de ferro e alumínio, o mesmo fica pouco móvel no solo, permanecendo nos primeiros 20 cm (Tabela 5). Apesar do conteúdo de água ser intermediário, que poderia favorecer o movimento em profundidade, caso o pesticida tivesse teor elevado na solução do solo (Tabela 5). Assim, o risco de lixiviação deste pesticida nas condições estudadas é baixo, corroborando com os resultados de Abreu (2008).

Com relação ao efeito dos usos na concentração de Paraquat no solo, observou-se na Tabela 11 que a concentração de Paraquat no solo foi influenciada pelo uso do solo das parcelas. O Paraquat foi mais retido no solo na seguinte ordem: Café > Banana > Cultivo anual. O café foi o uso que reteve mais o Paraquat em função de permitir maior infiltração da solução com Paraquat e menor escoamento superficial comparado com os outros usos. Já a banana teve o escoamento superficial intermediário, e por isso a retenção foi intermediária, enquanto o cultivo anual foi o uso que reteve menos o Paraquat em função de ter tido o maior escoamento superficial, já que tem menor cobertura de solo e maior manejo do mesmo.

Tabela 11. Média (n = 6) da concentração de Paraquat para avaliação da repetibilidade do método.

Amostras de Solos	Concentração de Paraquat $\pm$ S ($\mu g.L^{-1}$)
Parcela Café	
0-10 cm	42,91 $\pm$ 5,01
10-20 cm	11,34 $\pm$ 1,81
20-40 cm	Nd
40-60 cm	Nd
Parcela Banana	
0-10 cm	30,88 $\pm$ 4,01
10-20 cm	6,87 $\pm$ 0,51
20-40 cm	Nd
40-60 cm	Nd
Parcela Cultivo Anual	
0-10 cm	25,29 $\pm$ 3,65
10-20 cm	16,95 $\pm$ 3,94
20-40 cm	Nd
40-60 cm	Nd

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O método de análise por extração em fase sólida com detecção espectrofotométrica é adequado para o monitoramento de Paraquat em água e solo.

O método proposto SPE-Espectrofotometria se destacou em relação aos métodos citados na literatura pelo baixo consumo de reagentes, principalmente solventes orgânicos, e a pré-concentração das amostras proporcionando a análise por espectrofotometria, que é um equipamento simples e comum a vários laboratórios.

As amostras analisadas se mostraram dentro do limite aceitável pela legislação (EPA) que é de 20 μg L^{-1}, porém, maior controle no uso desta substância deve ser tomado no sentido de evitar a contaminação do solo e da água nesta região.

O método espectrofotométrico foi sensível à influência do uso do solo e do período de coleta de amostras de água no teor de Paraquat, sendo adequado para monitoramento do Paraquat na água de escoamento superficial.

As maiores perdas de Paraquat ocorreram na água de escoamento superficial, porém, de baixa magnitude. Além disso, boa parte da concentração de Paraquat ficou retida no solo, e espera-se baixa perda por lixiviação.

REFERÊNCIAS

ABREU, T. C. C. **Avaliação do Transporte do Herbicida Paraquat em Solos do Campo Experimental de Bom Jardim, RJ**. 2008. Dissertação (Mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

ANDERSON, R. **Sample Pretreatment and separation**. Chichester: John Wiley, 1991, 632 p. Analytical Chemistry by Open Learning.

ARAMENDÍA, M. A.; BORAU, V.; LAFONT, F.; MARINAS, A.; MARINAS, J. M.; MORENO, J. M.; PORRAS, J. M.; URBANO, F. J.; Determination of diquat and Paraquat in olive oil by ion-pair liquid chromatography–electrospray ionization mass spectrometry (MRM). **Food Chem**. v. 97, p. 181, 2006.

AOAC. **Official Method 969.09**: Paraquat in pesticide formulations (spectrophotometric method), official methods of analysis of AOAC International. 17. ed. Arlington, USA, 2000.

BACIGALUPO, M. A.; MERONI, G.; MIRASOLI, M.; PARISI,D.; LONGHI, R. Ultrasensitive quantitative determination of Paraquat: application to river, ground, and drinking water analysis in an agricultural area **J. Agric. Food Chem**. v. 53, p. 216-219, 2005.

BRASIL. Portaria nº 10, de 08 de março de 1985. Agrotóxicos e Toxicologia. **Diário Oficial da União**, Brasília DF, 14 mar. 1985. Disponível em <http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 14 jul. 2011.

BROMILOW, R. H. Paraquat and sustainable agriculture. **Pesticide Management Sciense**, v. 60, p. 340–349, 2003.

BRUCE, P.; MINKKINEN, P.; RIEKKOLA, M. L. Practical method validation sufficient for an analysis method. **Mikrochimica Acta,** v. 128, p. 93-106, 1998.

BUTZKE, C. E.; EBELER, S. E.; TERRIEN, M. B. Analysis of brandy aroma by solid-phase microextraction and liquid-liquid extraction. **Journal of the Science of Food and Agriculture,** v. 80, p. 625-630, 2000.

COA. **Taiwan Council of Agriculture, Food Administration Act.** Disponível em: <http://www.coa.gov.tw/coa/eng/law/law02.html>. Acesso em: 05 abr. 2007.

DRAOUI, K.; DENOYEL, R.; CHGOURA, M.; ROUQUEROL, J. Adsorption of Paraquat on minerals. a thermodynamic study*.* **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry***,* v. 58, p. 597-606, 1999.

EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Solos (Rio de Janeiro, RJ). **Manual de métodos de análises do solo.** 2. ed. rev. Rio de Janeiro: EMBRAPA-CNPS, 1997. 212 p. (CNPS. Documentos, 1).

EPA. **Method 549.2**: determination of diquat and paraquat in drinking water by liquid-solid extraction and high performance liquid chromatography with ultraviolet detection**,** rev.1, 1997. (Completar dados bibliograficos cidade, editora?)

EPA. **Taiwan Environmental Protection Administration, Drinking Water Management.** Disponível em: <http://law.epa.gov.tw/search.php?type=art&sn=359367440&num=3&query=ParaquatParaquat&charset=US-ASCII.> Acesso em: 27 jan. 2010.

ERICKSON, T.; **BROWN, K. M.; WIGDER, H.; GILLESPIE, M.** A case of Paraquat poisoning and subsequent fatality presenting to an emergency department. **J. Emerg. Med**, v. 15, n. 5, p. 649-652, 1997.

FRITZ, J. S.; MACKA, M. Solid-phase trapping of solutes for further chromatographic or electrophoretic analysis. **Journal of Chromatography A**, v. 902, p.137-166, 2000.

GARP. **Manual de Resíduos de Pesticidas em Alimentos***.* São Paulo, 1999.

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

HUBER, L. Validation of analytical methods: review and strategy. **LC/GC International**, v. 11, p. 96-105,1998.

INFANTE, C. M. C.; MASINI, J. C. Development of a Spectrophotometric Sequential injection Methodology for Online Monitoring of the Adsorption of Paraquat on Clay Mineral and Soil. **Spectroscopy Letters**, v. 40, p. 3–14, 2007.

KLAASSEN, C. D.; *Toxicology - the basic science of poisons (Casartt & Doull's),* 5. ed. New York: International Ed, 1989.

MENDES, C. A. R. **Erosão Superficial em Encosta Íngreme sob Cultivo Perene e com Pousio no Município de Bom Jardim – RJ**. 237 f. 2006. Tese (Doutorado em Engenharia Civil, 2006) – COPPE, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

NÚÑEZ, O.; KIM, J. B.; MOYANO, E.; GALCERAN, M. T.; TERABE, S. Analysis of the herbicides Paraquat, diquat and difenzoquat in drinking water by micellar electrokinetic chromatography using sweeping and cation selective exhaustive injection. **Journal of Chromatography A**, v. 961, p. 65–75, 2002.

NUWER, M. J.; O'DEA, J. J.; OSTERYOUNG, J. Analytical and kinetic investigations of totally irreversible electron transfer reactions by square-wave voltammetry **Anal. Chim. Acta***.* v. 3, p.*362*, 1998.

PAIXÃO, P. Simple method for determination of Paraquat in plasma and serum of human patients by highperformance liquid chromatography*.* **J Chromatogr B**, v. 775, p. 109-113, 2002.

PAWLISZYN, J. **Solid phase microextraction: theory and practice**. New York: Wiley-VCH, 1997.

PENSABENE, J. W.; FIDDLER, W.; GATES, R. A. Solid-phase extraction method for volatile N-nitrosamines in hams processed with elastic rubber netting. **Journal of AOAC International**, v. 75, p. 438-442, 1992.

PRADO, R. B.; COUTINHO, H. L. C.; BARBOSA, J. C.; ABOIM, M. C. R.; PEREZ, P. R. N.; ANDRADE, A. G.; LEITE A. A. S. Indicadores de qualidade de solo e água na avaliação da dinâmica de nutrientes na paisagem: subsídios para gestão de bacias hidrográficas. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE RECURSOS HÍDRICOS, 16., 2004, João Pessoa. **Anais...** Porto Alegre: ABRH, 2004.

PRADO, R. B.; BARCELLOS, T. B. C.; REGO, L. F. G.; TURETTA, A. P. D.; DONAGEMMA, G. K. Utilização de imagens de alta resolução para o mapeamento do uso e cobertura do solo na microbacia do córrego Pito Aceso - região de Mata Atlântica – RJ. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA DO SOLO, 32., 2009, Fortaleza. **Anais...** Viçosa: Sociedade Brasileira de Ciência do Solo, 2009.

PRZYBYLKO, A. R. M.; THOMAS, C. L. P; FIELDEN, P. R. Residence time model for assessing liquid-liquid extraction systems**. Analytica Chimica Acta** v. 75, p.438-442, 1996.

QUACH, M. L.; CHEN, X. D.; STEVENSON, R. J. Headspace sampling of whey protein concentrate solutions using solid-phase microextraction. **Food Research International**, v.31, n.5, p.371-379, 1999.

RAI, M. K.; DAS, J. V.; GUPTA, V. K. A sensitive determination of Paraquat by spectrophotometry**. Talanta**, v. *45*, p. 343, 1997.

RAOUL, S.; GREMAUD, E.; BIAUDET H.; TURESKY R. J. Rapid solid-phase extraction method for the detection of volatile nitrosamines in food. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** , v. 45, p.4706-4713, 1997.

RAVANEL, P.; LIÉGEOIS, M. H.; CHEVALLIER, D.; TISSUT, M. Soil thin-layer chromatography and pesticide mobility through soil microstructures New technical approach. **Journal of Chromatography A**, v. 864 , p. 145–154, 1999.

RIVERO GONZÁLES, A. et al. Intoxicación por Paraquat: presentación de dos casos y revisión de la literatura. **An Med Interna,** Madrid, v. 18, n. 4, p. 208-210, 2001.

ROBERTS, T. R.; DYSON, J. S.; LANE, M. C G. Deactivation of the biological activity of Paraquat in the soil environment: a review of long-term environmental fate. **Journal of. Agricultural Food Chemistry***,* v. 50, p. 3623-3631, 2002.

ROSS, J. L. S. Geomorfologia Aplicada aos EIAs-RIMAs. In: GUERRA, A. J. T.; CUNHA, S. B. da. (Org). **Geomorfologia e meio ambiente**. Rio de Janeiro: Bertrand Brasil, 1996. p. 291-336.

ROSSI, D. T.; ZHANG, N. Automating solid-phase extraction: current aspects and future prospects, **Journal of Chromatography A,** v. 885, p. 97-113, 2000.

SAAD, B.; ARIFFIN, M.; SALEH, M. I. Flow injection potentiometric determination of Paraquat in formulations and biological samples.**Talanta***.* v. *47*, p. 1231, 1998.

SCHMITT, G. C.; PANIZ, C.; GROTTO, D.; VALENTINI, J.; SCHOTT, K. L.; POMBLUM, V.J.; GARCIA, S.C. Aspectos gerais e diagnóstico clinicolaboratorial da intoxicação por Paraquat. **J Bras Patol Med Lab**, v. 42, n. 4, p. 235-243, 2006.

SEN, N. P., SEAMAN S. W., PAGE, B. D. Rapid semi-quantitative estimation of N-nitrosodibutylamine and N-nitrosodibenzylamine in smoked hams by solid-phase microextraction followed by gas chromatography-thermal energy analysis. **Journal of Chromatography A***,* v. 788, p.131-140, 1997.

SERRA, A.; DOMINGOS, F.; MARTINS PRATA, M. Intoxicação por Paraquat. **Acta Med Port**, v. 16, p. 25-32, 2003.

SITTIPUNT, C. Paraquat poisoning. **Respir Care**, v. 50, n. 3, p. 383-385, 2005.

SOUZA, D.; MACHADO S. A. S. Electrochemical detection of the herbicide Paraquat in natural water and citric fruit juices using microelectrodes. **Analytica Chimica Acta***,* n. 546, p. 85–91, 2005.

SOUZA, D.; MACHADO, S. A. S.; PIRES, R. C. Multiple square wave voltammetry for analytical determination of Paraquat in natural water, food, and beverages using microelectrodes. **Talanta**, n. 69, p. 1200–1207, 2006.

TAKATSUKI, K.; KIKUCHI, T. Determination of N-nitrosodimethylamine in fish products using gas chromatography with nitrogen-phosphorus detection. **Journal of Chromatography A***,* v. 508, p. 357-362, 1990.

TAGUCHI, V. Y.; JENKINS, S. W. D.; CROZIER, P. W.; WANG, D. T. Determination of diquat and Paraquat in water by liquid chromatography-(electrospray ionization) mass spectrometry. **J. Am. Soc Mass Spectrom**. v. *9*, p. 830,1998.

TAMPO, Y.; TSUKAMOTO, M.; YONAHA, M. **Free Radical Biol. Med.** v. 27, n. 588, 1999.

WALCARIUS, A.; LAMBERTS, L. Square wave voltammetric determination of Paraquat and diquat in aqueous solution. **J. Electroanal. Chem**. v. *406*, p. 59-68, 1996.

Embrapa
Solos