

ANA MARIA DE OLIVEIRA

RESÍDUOS DE TRIADIMENOL E DISSULFOTON NO SOLO E EM FOLHAS E
FRUTOS DO CAFEIEIRO APÓS APLICAÇÃO DE UMA FORMULAÇÃO
GRANULADA

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

VIÇOSA
MINAS GERAIS-BRASIL
JULHO - 1999

ANA MARIA DE OLIVEIRA

RESÍDUOS DE TRIADIMENOL E DISSULFOTON NO SOLO E EM
FOLHAS E FRUTOS DO CAFEIEIRO APÓS APLICAÇÃO DE UMA
FORMULAÇÃO GRANULADA

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

APROVADA: 10 de dezembro de 1998

Prof. Laércio Zambolim
(Conselheiro)

Prof^a Carol H. Collins

Prof. Efraim Lázaro Reis

Prof. René Luís de Oliveira Rigitano

Prof^a Maria Eliana L. R. Queiroz
(Orientadora)

Ofereço mais esta etapa da minha vida a Deus.

Aos meus pais Nestor (*in memoriam*) e Dalva pelas noites de sono perdidas,
pela amizade, pelo carinho, companheirismo, amor e por acreditarem
sempre em mim.

Aos meus irmãos Jorge, Carlos e Antônio.

A minha avó, pelo amor à vida.

Ao Vander pelo incentivo, pela amizade e companheirismo em
todas as horas.

AGRADECIMENTO

À Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade de realizar este trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão da bolsa.

À professora Maria Eliana L.R. de Queiroz que acreditou na minha capacidade. A ela, também, pela amizade, pelo companheirismo e oportunidades.

Ao professor Antônio Augusto Neves que ofereceu muito mais do que debates, críticas e opiniões sobre o trabalho, mas também sua amizade.

Ao professor Laércio Zambolim, por abrir muitas vezes as portas para a execução deste trabalho.

Ao Técnico Macabeu, pela ajuda nas coletas das amostras e a todas as pessoas do Departamento de Fitopatologia que me ajudaram nesta tarefa.

Ao Grupo Heringer, em especial aos senhores Ubiratan e Cláudio, que me receberam muito bem.

A todos os amigos do Laboratório de Química Analítica e Ambiental, que ajudaram de alguma forma para que este trabalho se realizasse, em especial a Nilva, Raquel, Paulo, Elenice, Anísio e Alexandre.

Ao professor Antônio Taranto Goulart, pela amizade e confiança e por ter me despertado para a pesquisa, como meu orientador de iniciação científica.

Aos amigos Remilson, Jéferson, Ana Paula, Sandra, Nilva e Mauro, pela amizade sincera.

A todos os amigos do Departamento de Química.

A toda minha família que sempre acreditou em mim e me deu forças nos momentos mais difíceis.

Finalmente, a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

BIOGRAFIA

ANA MARIA DE OLIVEIRA, filha de Nestor Antunes de Oliveira e Dalva Amaral Machado de Oliveira, nasceu em 26 de fevereiro de 1974, na cidade de Barbacena, Minas Gerais.

Em 1992, ingressou no curso de Química da Universidade Federal de Viçosa, formando-se como bacharel e licenciada em setembro de 1996.

Em outubro de 1996, iniciou seus estudos no curso de mestrado em Agroquímica, nessa mesma Universidade, defendendo tese em 10 de dezembro de 1998.

CONTEÚDO

EXTRATO	x
ABSTRACT	xii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Histórico	3
2.2. Persistência x contaminação por agrotóxicos	4
2.2.1. Limites Permissíveis	6
2.3. Consumo de defensivos agrícolas	7
2.4. Técnicas de análise de resíduos	9
2.4.1. Extração e purificação dos extratos	9
2.4.2. Análise por cromatografia gasosa	11
2.4.2.1. Detector termiônico	13
2.4.3. Outras técnicas de análise	14
2.5. A cultura do café no Brasil	17
2.6. A Associação do triadimenol + dissulfoton	18
2.6.1. Dosagens comumente utilizadas	23
2.6.2. Análise do dissulfoton e triadimenol	25
2.6.2.1. Dissulfoton	25
2.6.2.2. Triadimenol	27

3. MATERIAL E MÉTODOS	28
3.1. Identificação das amostras	28
3.1.1. Amostras Coletadas em Manhuaçu	28
3.1.1.1. Amostras de solo	29
3.1.1.2. Amostras de folhas	30
3.1.2. Amostras coletadas em Viçosa	30
3.1.2.1. Amostras de solo	30
3.1.2.2. Amostras de folhas	31
3.1.2.3. Amostras de frutos	31
3.2. Análise dos princípios ativos da associação triadimenol + dissulfoton por cromatografia gasosa	31
3.2.1. Estabelecimento das condições de análise	32
3.2.2. Avaliação da resposta do detector para os compostos estudados	33
3.2.2.1. Determinação do limite de detecção	33
3.2.2.2. Determinação da linearidade de resposta do aparelho	33
3.2.3. Otimização da técnica de extração e análise dos princípios ativos das amostras	33
3.2.3.1. Otimização da técnica de extração e purificação dos princípios ativos	34
3.2.3.1.1. Amostras de solo	34
3.2.3.1.1.1. Escolha do solvente extrator	34
3.2.3.1.1.2. Determinação do tempo de extração	34
3.2.3.1.1.3. Agente oxidante	35
3.2.3.1.1.4. Escolha do solvente reextrator após etapa de oxidação	36
3.2.3.1.1.5. Avaliação dos solventes para a limpeza	36
3.2.3.1.2. Amostras de folhas	37
3.2.3.1.2.1. Escolha do solvente extrator dos princípios ativos da associação triadimenol + dissulfoton e de seus produtos de degradação	37
3.2.3.1.2.2. Estufo do tempo de extração dos compostos de interesse das folhas	38

3.2.3.2. Testes de recuperação dos produtos nas amostras	38
3.2.3.2.1. Amostras de solo	39
3.2.3.2.2. Amostras de folhas e grãos	40
3.2.3.3. Determinação do peso seco das amostras	41
3.2.3.4. Análise das amostras coletadas em Viçosa e Manhuaçu	41
3.2.3.4.1. Amostras de solo	41
3.2.3.4.2. Amostras de folhas	41
3.2.3.4.3. Amostras de grãos	42
3.2.3.5. Quantificação	42
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
4.1. Análise cromatográfica	45
4.1.1. Condições otimizadas	45
4.1.2. Resposta do detector para os compostos estudados	46
4.1.2.1. Limite de detecção	46
4.1.2.2. Linearidade de resposta do aparelho	47
4.2. Otimização do método de análise dos princípios ativos da formulação triadimenol + dissulfoton e seus produtos de degradação em amostras de folhas, grãos e solos	48
4.2.1. Amostras de solo	49
4.2.1.1. Solvente extrator	49
4.2.1.2. Tempo de extração	50
4.2.1.3. Escolha do agente oxidante	52
4.2.1.4. Solvente para a reextração	53
4.2.1.5. Limpeza	55
4.2.2. Amostras de folhas	56
4.2.2.1. Solvente extrator	56
4.2.2.2. Tempo de extração	58
4.3. Teste de recuperação	59
4.3.1. Amostras de solo	59
4.3.2. Amostras de folhas	61

4.3.3. Amostras de grãos	63
4.4. Amostras coletadas	64
4.4.1. Amostras de solos	64
4.4.1.1. Região de Viçosa	64
4.4.1.2. Região de Manhuaçu	77
4.4.2. Amostras de folhas	80
4.4.2.1. Região de Viçosa	80
4.4.2.2. Região de Manhuaçu	93
4.4.3. Amostras de grão	95
4.4.3.1. Região de Viçosa	95
5. RESUMO E CONCLUSÕES	100
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	103

EXTRATO

OLIVEIRA, Ana Maria de, M.S., Universidade Federal de Viçosa, julho de 1999. **Resíduos de triadimenol e dissulfoton no solo e em folhas e frutos do cafeeiro após aplicação de uma formulação granulada.** Orientadora: Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz. Conselheiros: Laércio Zambolim e José Humberto de Queiroz

Os agrotóxicos têm sido largamente utilizados na agricultura para o controle de doenças, de pragas e plantas daninhas. Entretanto, o uso abusivo tem causado alguns problemas como a contaminação do meio ambiente e a intoxicação de aplicadores. Com o objetivo de verificar a persistência da formulação triadimenol + dissulfoton no solo e em folhas de cafeeiro e sua possível presença no grão, foram otimizados métodos de análise simultânea desses produtos. As amostragens foram realizadas ao longo de 190 dias na região de Viçosa, e após 270 dias da última aplicação, na região de Manhuaçu, tradicional região produtora de café. Nesses períodos, a presença de resíduos de triadimenol, dissulfoton e seus metabólitos foi monitorada em amostras de solo, folhas e grãos de café. Os testes de recuperação mostraram a eficiência da determinação simultânea de triadimenol + dissulfoton, bem como de seus produtos de degradação em solos, folhas e grãos de café. Os resultados mostraram que tanto o triadimenol como os produtos de degradação do dissulfoton permanecem em solos e folhas de café por mais de 189 dias em

cafezais na região de Viçosa e por mais de 270 dias na região de Manhuaçu. Observou-se também que houve predominância no solo da forma dissulfoton sulfona total, enquanto que na folha houve predominância de dissulfoton sulfona oxigênio análogo total. Outro fato que foi observado é a concentração relativamente alta de triadimenol nas folhas de café coletadas em Manhuaçu. Verificou-se também a presença em baixas concentrações, de triadimenol e dissulfoton sulfona total no grão do café seco.

ABSTRACT

OLIVEIRA, Ana Maria de, M. S., Universidade Federal de Viçosa, July 1999.
Residues of triadimenol + disulfoton in soil and coffee leaves and beans after application of a granulated formulation. Adviser: Maria Eliana Lopes Ribeiro de Queiroz. Committee Members: Laércio Zambolim and José Humberto de Queiroz.

Pesticides have been widely used in agriculture to control plant diseases, pest and weeds. However, its abusive use has caused serious problems such as environmental contamination and worker intoxication. In order to verify the persistence of triadimenol + disulfoton formulation in soil and in coffee leaves as well as its possible presence in coffee beans, methods of simultaneously analyzing these compounds were optimized: samples were collected during 190 days in the region of Viçosa and during 270 days after the last application in Manhuaçu, a traditional coffee-producing region. During these periods, the presence of residues of triadimenol, disulfoton and their metabolites was monitored in soil, coffee leaf and seed samples. Recovery tests showed the effectiveness of simultaneous determination of triadimenol + disulfoton as well as of their degradation products in soil, coffee leaves and seeds. Results showed that both triadimenol and disulfoton's degradation products remained in soil and in coffee leaves for over 189 days in coffee plantations in Viçosa and over 270 days in the Manhuaçu region. It was also observed that there was a predominance of total disulfoton in soil, whereas there was a predominance of

total analogous oxygen sulphone disulfoton in the leaves. Besides, concentration of triadimenol in coffee leaves collected in the region of Manhuaçu was found to be relatively high. Triadimenol and total sulphone disulfoton were found in low concentrations in dried coffe beans.

1. INTRODUÇÃO

A utilização maciça de praguicidas em larga escala remonta de algumas décadas. Eles primeiramente foram utilizados com o objetivo de eliminar insetos pragas que atacam as lavouras e também eliminar vetores de doenças como tifo e malária, dentre outras. Com o passar do tempo, o uso indiscriminado de agrotóxicos começou a trazer vários problemas como o aparecimento de insetos pragas resistentes, a eliminação de insetos benéficos, a presença de resíduos nos solos, nas plantas, na água, nos alimentos e também a intoxicação de aplicadores.

A presença de resíduos de agrotóxicos no ambiente é um fato preocupante pois põe em risco toda a cadeia alimentar. A intoxicação de aplicadores ocorre também de maneira sistemática, pois na maioria dos casos não usam equipamentos de proteção individual. A intoxicação pode se dar tanto no momento da aplicação quanto ao longo do tempo, com a exposição continuada ao produto ou ingestão de alimentos contaminados.

A cultura do cafeeiro, onde se utiliza grandes quantidades de agrotóxicos, é cultivada em quase todas as regiões do Estado de Minas Gerais. Uma das formulações utilizadas em larga escala nesta cultura é a mistura triadimenol + dissulfoton. Essa formulação possui dois princípios ativos, um fungicida do grupo

dos triazóis, o triadimenol, usado no controle da ferrugem do cafeeiro (*Hemileia vastatrix* Berk & Br) e um inseticida organofosforado, o dissulfoton, usado no controle do bicho mineiro (*Perileuoptera coffeella* Guerin-Mèneville).

Levando-se em consideração a intoxicação de inúmeros aplicadores de agrotóxicos, durante a manipulação do triadimenol associado com o dissulfoton, e a possibilidade de contaminação do meio ambiente com essa formulação, propôs-se a verificação da persistência desses produtos no solo, nas folhas do cafeeiro e sua possível presença no grão.

Portanto, os objetivos deste trabalho foram:

- Otimizar a técnica para extração simultânea do triadimenol, do dissulfoton e de seus produtos de degradação em solo, folhas e frutos do café.
- Verificar a persistência do triadimenol e do dissulfoton em solos e folhas do cafeeiro durante 190 dias, após aplicação da formulação triadimenol + dissulfoton no solo.
- Verificar a possível presença dos princípios ativos, triadimenol e dissulfoton, ou seus produtos de degradação nos frutos, por ocasião da colheita.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Histórico

O uso dos agrotóxicos teve início há aproximadamente 200 anos e desde então a sua utilização tem sido cada vez mais intensificada. Alguns destaques na evolução do uso de agrotóxicos são o desenvolvimento em 1865 do Verde Paris, para o controle do besouro da batata no Colorado; o uso da calda bordalesa, em 1882; o desenvolvimento em 1892 do primeiro agrotóxico sintético orgânico, o dinitro-o-cresilato de potássio; a síntese do DDT, do 2,4-D, do tetraetil pirofosfato na Alemanha, em 1944, e do paration durante a segunda guerra mundial (STEVENS, 1976).

Após a segunda guerra mundial houve um grande desenvolvimento na síntese de agrotóxicos, sendo que a cada década várias classes de compostos são colocadas no mercado. Novos agrotóxicos para tratamentos de folhas ou para a aplicação via solo, como os fumigantes e os inseticidas sistêmicos, têm revolucionado as práticas agrícolas, contribuindo para o aumento das áreas cultivadas (STEVENS, 1976; PLIMMER, 1996).

As perdas ocasionadas na agricultura em decorrência do ataque de pragas e doenças remontam desde antes da era cristã, quando a humanidade já sofria com o ataque de gafanhotos. No Brasil, cerca de 30% da produção é perdida

devido ao ataque de pragas e doenças desde o preparo do solo até o armazenamento e consumo dos produtos (ZAMBOLIM & RIBEIRO do VALE, 1997).

O Brasil, por ser um país de clima tropical, é muito favorável a proliferação de pragas. Com isto, tem-se a necessidade de um constante uso de agrotóxicos, o que pode gerar um acúmulo no meio ambiente.

A utilização de agrotóxicos é amplamente difundida no mundo, sendo usado continuamente há várias décadas. Isto ocorre devido ao fato dos agrotóxicos permitirem que as plantas expressem seu potencial, evitando quebras de safras por ataque de insetos pragas ou doenças às culturas ou de atuarem na preservação de safras armazenadas (NETO, 1982). Entretanto, o uso contínuo de um mesmo produto pode trazer alguns problemas, como o aparecimento de insetos pragas resistentes e de insetos pragas secundárias, o acúmulo do produto no meio ambiente, fitotoxidez, efeitos fisiológicos, etc (RÜEGG, 1991). O agrotóxico ideal, segundo NETO (1982), seria aquele altamente seletivo, com baixa toxicidade e de fácil decomposição no ambiente.

2.2 Persistência X Contaminação por Agrotóxicos

Grande parte dos agrotóxicos usados na agricultura permanecem no solo. Alguns destes agrotóxicos são muito tóxicos e isto faz com que haja um grande interesse em se saber qual o impacto da sua presença no meio ambiente, na saúde humana e na qualidade ambiental (REDONDO *et al.*, 1996).

Além da contaminação de solos, o uso de agrotóxicos na agricultura pode levar a vários outros problemas, como a contaminação de rios, águas subterrâneas, alimentos e também das pessoas que aplicam o produto. Portanto, cuidados no manuseio dos mesmos são de extrema importância para se evitar contaminação. (PIFFER, 1989).

A persistência de agrotóxicos no meio ambiente é influenciada por fatores relacionados ao composto tais como volatilidade, propriedades químicas,

modo de aplicação do produto e a sua formulação; e também do ambiente, como tipo de solo, manejo, umidade, ação microbiológica, luz, temperatura, cultivo, vento, etc (MUSUMECI, 1992). Tais fatores influenciam também a alteração do resíduo inicial. Em temperaturas inferiores a 10 °C, por exemplo, a ação de alguns agrotóxicos é minimizada e de outros é maximizada. O aumento da temperatura diminui a persistência pelo aumento da pressão de vapor. Em geral, os organofosforados são pouco persistentes, não deixando resíduos por um longo período após a aplicação, embora tenham um grande poder de choque. Agrotóxicos persistentes permanecem nos solos, movem-se com a água, são absorvidos pelas plantas, acumulam-se em gorduras de animais e são transferidos para o leite e os ovos (STEVENS, 1976 e CHICHESTER, 1965).

O método de aplicação, que também influencia na persistência de um determinado produto, pode ser por aspersão ou aplicação direta no solo. O primeiro é utilizado no controle de ervas daninhas, insetos e microrganismos que atacam a parte aérea da planta. O segundo é utilizado para combater pragas que atacam o sistema radicular (STEVENS, 1976).

A movimentação dos agrotóxicos no ambiente pode se dar na superfície, com as enxurradas, ou através do perfil do solo, podendo atingir o lençol freático. As enxurradas deslocam partículas do solo de um lugar para outro, podendo atingir rios e açudes que são utilizados para irrigação de culturas ou para consumo da população. Além da chuva, outros fatores podem influenciar a contaminação de novos ambientes como o vento, a erosão e técnicas modernas de aplicação (avião) (GOULO, 1966).

O trabalhador rural e sua família, os rios, lagos, solo, toda a cadeia alimentar podem ficar impregnados de resíduos que podem matar rapidamente por intoxicação aguda ou lentamente, por meio do consumo de alimentos contaminados por agrotóxicos (PÉRES & PEREIRA, 1998).

A intoxicação do homem por agrotóxicos pode se dar de várias formas. Dentre elas pode-se citar a oral aguda, que ocorre através da ingestão de uma certa quantidade do produto, a dérmica, que se dá durante a aplicação do produto,

ou a crônica. Das formas de intoxicação citadas acima, a dérmica é aquela em que o aplicador corre maior risco, pois há uma constante exposição ao produto (BARBERÁ, 1967).

Para os consumidores, o maior risco está em consumir alimentos tratados com agrotóxicos, com os quais é possível ingerir quantidades apreciáveis do produto utilizado nas culturas. Toda essa preocupação com o uso de agrotóxicos está relacionada com os problemas ligados à contaminação de toda cadeia alimentar e, conseqüentemente, o homem com produtos, que têm tendência cumulativa no organismo (PÉRES & PEREIRA, 1998).

Nos últimos anos cresceu muito a utilização de agrotóxicos sistêmicos, uma vez que há a sua translocação do solo para a planta, aumentando a eficiência do produto. Entretanto, por ser um produto que é aplicado no solo, pode ocorrer lixiviação do mesmo, contaminando outras áreas. Por esta razão é cada vez maior a necessidade de estudos a respeito do acúmulo desse tipo de agrotóxico e da sua influência na planta.

Apesar do uso de inseticidas ter revolucionado a saúde humana, controlando doenças como a malária, tifo, etc. e ter permitido às plantas expressarem seu potencial pela supressão de pragas que atacam as lavouras, novos problemas surgiram, como por exemplo o aparecimento de insetos pragas resistentes (STEVENS, 1976) e, com isso, o requerimento de novos produtos para seu controle (RÜEGG *et al.*, 1991).

2.2.1 Limites Permissíveis

Vários países já estabeleceram os limites permissíveis de alguns agrotóxicos, principalmente em alimentos, mas nem sempre esses limites são respeitados. O maior problema são os agrotóxicos organoclorados que são cumulativos no meio ambiente. Entre um país e outro ocorre grandes variações entre os limites permissíveis de resíduos de agrotóxicos, de acordo com o rigor da legislação vigente. Nos Estados Unidos, por exemplo, o limite permissível do triadimenol e do dissulfoton desses compostos em produtos comercializados varia

entre 0,05 e 0,2 $\mu\text{g g}^{-1}$ e 0,1 e 5,0 $\mu\text{g g}^{-1}$ para o triadimenol e dissulfoton, respectivamente, enquanto que no Brasil os valores permissíveis para produtos comercializados variam entre 0,1 e 0,5 $\mu\text{g g}^{-1}$, para ambos os compostos, dependendo da cultura. Já o limite de contaminação máxima para águas potáveis é 300 e 0,3 ng kg^{-1} para o triadimenol e dissulfoton, respectivamente (CLIVE, 1994; PORTARIAS DO MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1996). Com estes dados verifica-se que os limites permissíveis dos agrotóxicos citados acima estão relativamente bons, especialmente para o triadimenol.

A determinação do limite máximo permissível no meio ambiente e em alimentos é baseada nas características do composto, toxicidade a animais e ao homem (cutânea, oral, de inalação, crônica, subcrônica), mutagenicidade, etc. (BAYER PFLANZENSCHULTZ LEVERKUSEN, 1984). A LD_{50} oral do triadimenol, por exemplo em ratos é de 700 mg kg^{-1} , em pássaros é maior que 2000 mg kg^{-1} ; a toxicidade aos olhos e à pele em ratos é maior que 5000 mg kg^{-1} . Já para o dissulfoton a LD_{50} oral em ratos é de 7,5 mg kg^{-1} , em cachorros de 5 mg kg^{-1} , em pássaros de 39 mg kg^{-1} ; a toxicidade aos olhos e à pele em ratos é 15,9 e 3,6 mg/kg , para machos e fêmeas, respectivamente (CLIVE, 1994).

Para manter baixos os níveis de resíduos no meio ambiente é necessário que se tomem medidas mínimas como a utilização da dosagem ótima, a aplicação do produto somente na quantidade adequada e a existência de um maior intervalo entre a aplicação e a colheita, respeitando o período de carência do produto (DEJONCKHEERE *et al.*, 1996).

2.3 Consumo de defensivos agrícolas

O consumo total de defensivos agrícolas no Brasil em 1964 era de 16 mil toneladas/ano, alcançando, em 1984, a quantidade de 61 mil toneladas, o que significa um aumento de 279 % no período de vinte anos. Com isso há uma maior

possibilidade de contaminação do meio ambiente. No ano de 1991 já eram sintetizados no país 43 princípios ativos, entre herbicidas, fungicidas, nematicidas e inseticidas para os mais diversos fins (RÜEGG *et al.*, 1991) e a cada década novas classes de compostos são colocadas no mercado (PLIMMER, 1996). Segundo dados da ANDEF (Associação Nacional de Defesa Vegetal), atualmente, o consumo anual de agrotóxicos no Brasil gira em torno de //////////////// toneladas/ano.

O estado de Minas Gerais se destaca - sempre entre os seis primeiros colocados na listagem nacional - no cultivo de lavouras que são reconhecidamente grandes usuárias de agrotóxicos: batata, café, algodão, tomate e soja. O consumo no Estado de Minas Gerais no ano de 1997 foi de US\$ 185 milhões na compra de agrotóxicos, segundo dados da Associação Nacional de Defesa Vegetal (ANDEF). Como a receita obtida pelas indústrias com a venda de agrotóxicos em Minas Gerais em 1996 também superou a de 1995, a agricultura mineira acompanha a agricultura nacional nesta estatística que destaca o Brasil no cenário mundial, como o terceiro maior comprador de agrotóxicos do planeta (PÉRES & PEREIRA, 1998).

Atualmente os inseticidas mais usados são os organofosforados e os carbamatos. Esses compostos têm a vantagem de ter um tempo de permanência menor no solo, além de não terem propriedades bioacumulativas. Apesar do tempo de permanência desses compostos ser pequeno, especial atenção deve lhes ser dada, devido a sua alta toxicidade, principalmente em animais (PIFFER, 1989).

Os inseticidas organofosforados tiveram seu uso aumentado em países desenvolvidos, onde são usados tanto na proteção de culturas em crescimento como em produtos estocados. Portanto um adequado monitoramento dos resíduos resultantes é essencial, especialmente em países que importam grandes quantidades de alimentos (WOOD & KANAGASABAPATHY, 1983).

2.4 Técnicas de análise de resíduos

A escolha do método de análise de resíduos depende de características da amostra, como natureza da matriz, teor de água, de gordura, presença ou não de pigmentos, complexidade da mesma, e também de características do resíduo como polaridade, propriedade química e estabilidade (TEKEL & HATRÍK, 1996).

A necessidade de monitoramento da presença de agrotóxicos no ambiente, nas águas e em alimentos fez com que houvesse uma grande demanda de análises dos mesmos em uma grande variedade de matrizes, buscando métodos que são sensíveis, específicos, rápidos e econômicos (PLIMMER, 1996).

As análises de resíduos passam por várias etapas até que a amostra esteja adequada para ser analisada. As etapas comumente usadas são extração, limpeza e análise.

2.4.1 Extração e purificação dos extratos

A determinação de baixas concentrações de agrotóxicos em diferentes matrizes requer, além de técnicas de detecção altamente seletivas e sensíveis, a utilização de técnicas de extração e purificação eficientes (CAIRNS & SHERMA, 1992).

De acordo com TEKEL & HATRÍK (1996) a escolha do solvente extrator é muitas vezes baseada no teor de água da amostra. Amostras com mais de 45 % de água são extraídas com acetona e amostras com menos de 45 % de água são extraídas com a mistura acetona:água.

Há várias técnicas de extração de resíduos, dentre elas pode-se citar a extração sólido-líquido, a extração em fase sólida, a extração com fluido supercrítico, etc.

Na extração sólido-líquido os solventes mais usados para amostras de folhas são acetona e acetonitrila. Ambos são miscíveis em água e conseqüentemente, o agente extrator é uma mistura do solvente com a água derivada da amostra. A acetonitrila tem a vantagem de não extrair materiais

vegetais lipofílicos, como gorduras, ceras, etc. Além da acetona e da acetonitrila, outros solventes comumente utilizados são metanol e acetato de etila (TEKEL & HATRÍK, 1996).

Além da extração sólido-líquido outras técnicas utilizadas na extração de materiais vegetais são a extração em fase sólida (EFS) e a co-destilação. A EFS é utilizada em vegetais com alto teor de água, enquanto que a segunda vem sendo muito usada na extração de organofosforados e organoclorados com baixa pressão de vapor, principalmente em amostras de carne e outras amostras frescas (TEKEL & HATRÍK, 1996).

Outra técnica eficiente de extração de agrotóxicos é a que faz uso de fluido supercrítico. Essa técnica, segundo TEKEL & HATRÍK (1996), foi utilizada por KING *et al.* (1993) no isolamento seletivo de organofosforados em cereais. Esses autores utilizaram cromatografia por exclusão na purificação dos extratos e cromatografia gasosa com detector fotométrico de chama na análise.

Na extração de amostras de solo é usada uma ampla variedade de solventes como acetona, acetona:água, diclorometano, acetato de etila, acetona:hexano 4:1 e 6:4, acetona:diclorometano 1:1, metanol:água 9:1, acetato de etila:metanol, etc. (IBRAHIM *et al.*, 1969; SZETO & BROWN, 1982; SZETO *et al.*, 1983; CHAPMAN *et al.*, 1994; SPECHT, 1977; CAIRNS & SHERMA, 1992).

Atualmente vem sendo muito usada a análise de multiresíduos. Esse tipo de análise consiste na extração, limpeza do extrato e determinação de agrotóxicos variados em uma mesma matriz, simultaneamente. Essa técnica oferece várias vantagens, dentre elas a economia de tempo e solventes (TEKEL & HATRÍK, 1996; LIAO *et al.*, 1991 e HOLSTEGE *et al.*, 1991).

Seguindo-se a extração, faz-se a etapa de limpeza, sobretudo quando se trabalha com material vegetal. A limpeza nada mais é do que a eliminação de interferentes da sua amostra, geralmente através de cromatografia em coluna, usando como recheio os mais variados adsorventes como florissil, óxido de alumínio, óxido de magnésio, sílica gel, celite, carvão ativado e misturas desses

adsorventes, além da cromatografia por exclusão. Esta última técnica tem se mostrado muito eficiente sobretudo em amostras com alto teor de gorduras, clorofila e carotenos (TEKEL & HATRÍK, 1996).

2.4.2 Análise por Cromatografia Gasosa

A Cromatografia Gasosa é uma técnica de separação e determinação amplamente utilizada em vários campos da ciência, como medicina, biologia, química, farmácia, agronomia, etc. Possui muitas variáveis que podem ser ajustadas para a obtenção de melhores resultados, como temperatura do injetor, da coluna e do detector, vazão da fase móvel, tipo de fase estacionária utilizada (COLLINS *et al.*, 1997).

Para se fazer uma análise por cromatografia gasosa tem-se a necessidade de extrair, e muitas vezes, purificar os compostos de interesse, das matrizes em estudo. Para isto, contamos com técnicas de extração e limpeza das mais diversas, como discutimos na seção anterior.

Na cromatografia gasosa podemos contar com vários tipos de detectores. A melhoria na razão sinal/ruído foi a característica que influenciou o desenvolvimento de detectores específicos para elementos, que começou com o de captura de elétrons (específico para halogênios), passando pelo detector de ionização de chama com álcali (P, N), detectores termiônicos (P, N), detectores microcoulométricos (Cl, Br, N, S) e detectores de condutividade eletrolítica (Cl, Br, N, S, P) (PLIMMER, 1996). Dentre estes detectores usados na cromatografia gasosa os mais comuns para a análise de resíduos de agrotóxicos no ambiente são: Termiônico (NPD), Captura de Elétrons (ECD), Fotométrico de Chama (FPD), Espectrômetro de Massa (MS), Condutividade Eletrolítica (ELCD, Hall), Emissão induzido por Microondas (MIPD) (conhecido comercialmente como detector por emissão atômica (AED)) e Microcoulométrico.

O detector de Emissão induzido por Microondas é muito sensível para organofosforados e amplamente utilizado na análise destes compostos em produtos alimentícios. Segundo STEVENS (1976), BACHE & LINK (1966 e

1968) usaram esse tipo de detector na determinação de dissulfoton, paration, dimetoato e ronel, dentre outros organofosforados, em amostras de leite, solo, urina e alfafa.

O Fotométrico de Chama, que é usado para compostos que possuam enxofre ou fósforo na sua estrutura, tem a vantagem de exigir uma limpeza mínima das amostras, além de não sofrer interferência de organoclorados. O detector por Captura de Elétrons é mais usado para organoclorados. Ele funciona através da ionização do gás de arraste (N_2) por partículas beta emitidas por fontes de 3H ou ^{63}Ni . Os elétrons liberados geram uma corrente que resulta na linha de base. Quando um composto capaz de capturar elétrons elui da coluna, a corrente diminui, gerando um sinal.

O de Condutividade Eletrolítica (TCD) é altamente seletivo para compostos nitrogenados. Este detector opera convertendo o nitrogênio orgânico em amônia, que é dissolvida em uma solução de isopropanol:água, na qual dois eletrodos medem a sua condutividade elétrica devido à presença de íons NH_4^+ . Já o detector Termiônico é altamente sensível para compostos fosforados e nitrogenados. Consiste de um detector de ionização de chama com um sal de metal alcalino (sulfato de rubídio ou brometo de césio) eletricamente aquecido e colocado entre o queimador e o eletrodo coletor (STEVENS, 1976; COLLINS *et al.*, 1997). Maiores detalhes do funcionamento desse detector, usado nesse trabalho, serão dados nas seções subsequentes.

Outro detector usado na análise de resíduos por cromatografia gasosa é o de emissão atômica. Segundo TEKEL & HATRÍK (1996), LINKERHÄNGER & STAN (1994) compararam a detecção pela seqüência captura de elétrons-termiônico com o novo detector que combina excitação em plasma induzida por microondas acoplada a espectroscopia de emissão para a análise de resíduos em plantas. De acordo com o autor, o sistema CG-ECD-NPD é uma ferramenta muito fidedigna em análises de plantas comestíveis, como alho-poró, alho, cebola e repolho. A confiabilidade de resultados quantitativos a baixos níveis de concentração é notável.

A cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massa se tornou uma ferramenta de pesquisa importante nas últimas décadas, sobretudo por ocasião do desenvolvimento de instrumentos de quadrupolo com capacidade de decomposição repetitiva rápida e equipado com sistema de aquisição de dados, provendo meios para adaptar detectores específicos a íons específicos presentes no analito (PLIMMER, 1996). Essa técnica tem se tornado uma técnica de confirmação secundária comum, que dá suporte a métodos de análise de multiresíduos usando detectores específicos na etapa de determinação inicial em produtos frescos. Primeiramente, resíduos de agrotóxicos são determinados usando um detector específico como fotométrico de chama, captura de elétrons ou condutividade eletrolítica. O detector de massa é usado posteriormente, para confirmação dos resultados, especificamente a identificação do analito, através do monitoramento do íon seletivo ou de uma coleção de íons (LIAO, 1991).

2.4.2.1 Detector termiônico

O detector de fósforo e nitrogênio é amplamente usado na análise de agrotóxicos por causa da sua seletividade e sensibilidade. A especificidade para nitrogênio e fósforo também faz com que esse detector seja usado na determinação de produtos farmacêuticos, drogas, frações do petróleo e poluentes ambientais (DRAPPER, 1995).

Este detector é classificado como um detector de ionização. Neste tipo de detector, mede-se a corrente elétrica produzida por ionização sobre uma superfície sólida quente. Essa emissão de partículas carregadas é responsável pela detecção (DRAPPER, 1995). Ele funciona utilizando-se metais alcalinos em um plasma gerado pela aplicação de um potencial elétrico em um fluxo de ar e hidrogênio. Uma pérola de metal alcalino é eletricamente aquecida e colocada entre o queimador e o eletrodo coletor. A fonte é mantida em um potencial negativo para evitar a perda dos íons do metal alcalino, e para anular a resposta do detector no modo de ionização de chama. A ação catalítica do metal alcalino

em compostos contendo nitrogênio ou fósforo forma íons com carga negativa, que são coletados no ânodo (eletrodo coletor) para produzir uma corrente (COLLINS *et al.*, 1997)

Vários trabalhos tem sido realizados utilizando este detector. Dentre eles, pode-se citar SZETO *et al.* (1983) e ALLMENDINGER (1991), que usaram a cromatografia gasosa com detector termiônico para determinar resíduos de tebuconazole e triadimenol em solo e material vegetal. SZETO & BROWN (1982) usaram essa técnica na determinação de alguns organofosforados em aspargos e solo. DRAPPER (1995) usou cromatografia gasosa com detector termiônico na análise de amostras de água e DEJONCKHEERE *et al.* (1996) utilizaram este detector na análise de resíduos em frutas, vegetais e outras amostras frescas.

2.4.3 Outras técnicas de análise

As duas técnicas de análise de resíduos mais usadas nos diversos tipos de matrizes são a cromatografia gasosa e a cromatografia líquida de alta eficiência, por oferecerem grandes vantagens neste tipo de análise, como exigência de baixas quantidades de amostras, limite de detecção geralmente baixo e alta especificidade, etc.

A cromatografia líquida com detector de fluorescência ou de massa tipo “termospray” é muito utilizada na análise de resíduos em plantas (TEKEL & HATRÍK, 1996).

O progresso na cromatografia líquida interfaceada com um espectrômetro de massa (LC/MS) e, subseqüentemente, com dois detectores de massa interfaceados (LC/MS/MS) estendeu grandemente o potencial das técnicas de cromatografia líquida de alta eficiência. Esse avanço alcançou também a eletroforese capilar, o que possibilitou a análise de agrotóxicos solúveis em água, polares e de metabólitos polares por essa técnica (PLIMMER, 1996).

Além da cromatografia gasosa e da cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), outras técnicas comumente usadas na análise de agrotóxicos são a cromatografia multidimensional, a cromatografia com fluido supercrítico e a cromatografia em camada delgada, usando como reagentes de revelação inibidores de enzimas. Outras técnicas também podem ser usadas na análise de resíduos como a cromatografia em papel, métodos espectrofotométricos e polarográficos, etc. (CAIRNS & SHERMA, 1992).

Segundo STEVENS (1976), a cromatografia em camada delgada foi usada por BAZZI *et al.* (1965) na determinação de organofosforados. Essa técnica também é muitas vezes usada na limpeza das amostras antes da sua análise por cromatografia gasosa. A cromatografia em papel foi bastante usada no passado na determinação de resíduos, quando a sensibilidade e exatidão não eram importantes.

Os métodos espectrofotométricos são processos específicos de identificação para uma dada classe de compostos. Além disto, eles possuem maior exatidão do que alguns métodos cromatográficos, sobretudo quando as amostras não se apresentam puras, pois a reação de produção de cor é específica. A espectrofotometria na região do visível é usada hoje em dia ocasionalmente, em detrimento aos métodos cromatográficos. Sua utilização só é justificada pela praticidade da técnica. A espectrofotometria na região do ultravioleta, no entanto, é mais específica e usualmente mais sensível do que os métodos colorimétricos. A espectrofotometria na região do infravermelho é outra técnica bastante sensível. Vários trabalhos têm sido feitos na quantificação de resíduos por infravermelho, como a determinação de demeton em frutas e extratos vegetais, dissulfoton em fertilizantes, metilcarbamatos, endrin, dieldrin e outros organoclorados em solos, tecidos de peixes, fauna aquática e efluentes industriais (IBRAHIM *et al.*, 1969; STEVENS, 1976). Este último trabalho combinou cromatografia em papel, em coluna e em camada delgada para isolar os resíduos de inseticidas do substrato. Segundo STEVENS (1976), CROSBY & LAWS (1964) usaram cromatografia gasosa como um etapa de limpeza adicional, na

preparação de extratos de resíduos de organofosfatos para a análise por infravermelho.

A fluorescência, que também pode ser usada na análise de resíduos, tem a vantagem de ser mais sensível do que métodos colorimétricos, mas tem uma pequena aplicabilidade, pois poucos compostos, ou seus derivados, têm uma fluorescência natural. Outra desvantagem é que a intensidade da fluorescência é muito afetada por fatores como presença de água ou solventes polares em solventes apolares; características do ambiente, como solvente usado, e pH da solução durante a medida. Outro fator que também é muito importante é o fato da relação fluorescência X concentração ser linear somente para uma pequena faixa de concentração. De acordo com STEVENS (1976), MOYE & WINEFORDNER (1965) investigaram 52 pesticidas por medidas fosforimétricas, incluindo seus limites de detecção e características espectrais. Dentre eles estão o carbaril, zectram, carbofuran. O paration também foi detectado na urina usando cromatografia em camada delgada e medidas fosforimétricas. Esses autores também realizaram pesquisas envolvendo o uso de fosforimetria na detecção final de agrotóxicos em extratos de solos e tecidos de plantas.

A espectrometria de massa, associada à técnicas de separação de resíduos de agrotóxicos oferece várias vantagens como alta sensibilidade, possibilidade de determinação da massa molar, bem como o número e o tipo de heteroátomos. Outra técnica que pode ser usada na análise de resíduos é a ressonância magnética nuclear. Ela apresenta sensibilidade suficiente para muitas análises quantitativas. Segundo STEVENS (1976), FUKUTO *et al.* (1966) publicaram alguns trabalhos mostrando o uso de RMN para ^{31}P na detecção e identificação de fention em plantas e sua decomposição na superfície da planta sobre exposição à luz solar e ao ar.

Segundo STEVENS (1976), GUDZINOWICZ & LUCIANO (1965) tem proposto a análise de fungicidas organometálicos e compostos relacionados por espectroscopia de absorção atômica. Vários compostos foram quantificados como maneb, ferbam, ziram e zineb.

Compostos organoclorados e organofosforados podem ser quantificados por medida do fósforo ou cloro totais. Essa técnica tem a desvantagem de não distinguir entre dois ou mais agrotóxicos de uma mesma classe.

A polarografia é aplicada a análise de resíduos com alta reprodutibilidade, considerável sensibilidade, além de oferecer informações qualitativa e quantitativas, simultaneamente. Nessa técnica o extrato deve estar livre de contaminantes ou a resposta do contaminante deve ser facilmente detectada e compensada. SCHWACK *et al.* (1995) estudaram a utilização dessa técnica na detecção de resíduos de thiram em amostras de maçã. RUPP & ZUMAN (1982) também utilizaram essa técnica em estudos envolvendo adsorção de dazomet e thiram em ligninas. Cada agrotóxico a ser analisado por polarografia requer uma atenção individual com respeito a seleção de solventes, eletrólitos, preparação da amostra. Para ser analisado por polarografia o agrotóxico precisa ter na sua estrutura grupos oxidáveis ou reduzíveis como o grupo nitro, halogênios, grupos carbonil, etc.

2.5 A cultura do café no Brasil

A cultura do café é altamente difundida no Brasil desde o começo do século. Sua importância econômica é inegável. Nos últimos anos a produção de café em coco no Brasil ficou em torno de 2.500.000 toneladas/ano, sendo que o Estado de Minas Gerais respondeu por aproximadamente 45 % da produção nacional, destacando-se como o maior produtor de café do país. Isto faz com que o café seja de grande importância econômica para o estado. A área reservada à esta cultura tem aumentado a cada ano, tanto em Minas Gerais como nos outros estados, com valores em torno de 2.800.000 ha em todo país e 800.000 ha em Minas. O aumento da produção tem acontecido juntamente com o aumento da área destinada ao cultivo de café (IBGE, 1995-1996 e 1996).

As principais doenças que afetam o cafeeiro são Ferrugem, Rhizoctoniose, Fusariose, Mal dos Quatro Anos, Seca dos Ponteiros, dentre outras (ZAMBOLIM & RIBEIRO DO VALE, 1997).

O Bicho mineiro (*Perileuoptera coffeella* Guerin-Mèneville) é o principal inseto praga do cafeeiro nas regiões Sul e Alto Paranaíba do Estado de Minas Gerais. Prejuízos da ordem de 50 % na produção já têm sido caracterizados como decorrentes do ataque desse inseto (SOUZA *et al.*, 1981; REIS *et al.*, 1984). Vários são os inseticidas utilizados no controle do bicho mineiro, dentre eles destacam-se o dissulfoton e o aldicarbe (RIGITANO *et al.*, 1993). Além destes organofosforados, o bicho mineiro pode ser controlado por inseticidas piretróides (RIGITANO & SOUZA, 1994).

A ferrugem, causada pelo fungo (*Hemileia vastatrix* Berk & Br), surgiu no Brasil em 1970 em Itabuna na Bahia. Ela ataca plantações de café em todo o mundo, causando prejuízos que chegam a 35% da produção. Isto ocorre, principalmente, devido aos danos causados ao cafeeiro por ocasião do ataque da doença, como a queda precoce das folhas e a seca dos ramos. A época crítica de ataque da doença é de dezembro a junho, sendo que atinge maior severidade nos anos de alta produção (ZAMBOLIM & RIBEIRO do VALE, 1997).

Por ser o café uma cultura amplamente difundida no estado de Minas Gerais, torna-se necessário um estudo mais aprofundado do comportamento dos agrotóxicos utilizados, tanto no solo quanto no cafeeiro.

2.6 A associação triadimenol + dissulfoton

Desde 1989, segundo ACUÑA (1996), a mistura do fungicida sistêmico triadimenol com o inseticida organofosforado dissulfoton vem sendo aplicada ao solo em formulação granulada, com o objetivo de realizar o controle conjunto da ferrugem do cafeeiro e do bicho mineiro do café.

Segundo MANSK & MATIELLO (1987) o dissulfoton influi na melhor absorção do triadimenol, na maior permanência do efeito residual, na melhoria do estado nutricional das plantas e na ação direta sobre a ferrugem.

O dissulfoton puro (O,O-dietil S-2-etiltioetil fosforoditioato), Figura 1, é um óleo incolor com odor característico, de massa molar igual a 274,4 g mol⁻¹, ponto de ebulição, 128 °C, pertencente a classe toxicológica I (extremamente tóxico). Ele pode ser usado em várias culturas como algodão, amendoim, batata, cebola, feijão, fumo, melancia, melão, tomate, café, abacaxi, sorgo, arroz, sendo que ele atua inibindo a ação enzimática da acetilcolinesterase (CLIVE, 1994).

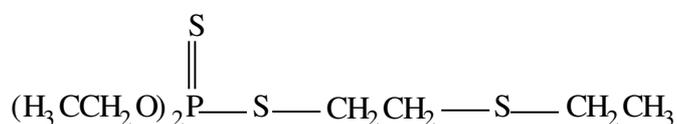


Figura 1: Estrutura química do dissulfoton.

Na cultura do café ele é usado no combate ao bicho mineiro (*Perileucoptera coffeella* Guerin-Mèneville). Este organofosforado age como um inseticida. Quando usado separadamente em plantas, utiliza-se um concentrado emulsificante no tratamento das folhagens e como grânulos para a aplicação no solo, para o controle do ataque de insetos sugadores como besouros, pulgões, aranhas, dentre outros (SZETO & BROWN, 1982). O dissulfoton, quando aplicado no solo, é absorvido pelas raízes do cafeeiro, move-se com a rota de nutrientes da planta e exerce sua ação inseticida pela forma biotransformada - é um inseticida sistêmico endometatóxico (ANDRÉA, 1986).

Segundo ETO (1974) inseticidas sistêmicos, como o dissulfoton, são absorvidos, translocados e armazenados nos tecidos de transporte do vegetal, em quantidade suficiente para tornar a planta ou o local de translocação tóxico aos insetos.

A decomposição do dissulfoton, segundo IBRAHIM *et al.* (1969), pode ser atribuída total ou parcialmente à atividade de superfície (oxidação catalítica).

De acordo com SZETO *et al.* (1983), a atividade do dissulfoton e de outros organofosforados como o demeton, o forato e o fention, resulta dos sulfóxidos e sulfonas derivados da oxidação do composto de origem, sendo que os compostos oxigenados, de acordo com COBERT (1974), inibem mais efetivamente a acetilcolinesterase. Segundo STEVENS (1976) a transformação do dissulfoton em dissulfoton sulfóxido ocorre imediatamente após a sua absorção pela planta. Entretanto, BRIGGS *et al.* (1984) afirmam que o dissulfoton é transportado para as folhas na forma de seus produtos de oxidação. Seu lento acúmulo nas folhas é atribuído à baixa solubilidade do composto em água e à sua lenta oxidação no solo. Segundo THORNTON & ANDERSON (1968) o dissulfoton é convertido inicialmente a dissulfoton sulfóxido e depois de muito tempo à dissulfoton sulfona e dissulfoton sulfóxido oxigênio análogo, sendo que no extrato de folhas de algodoeiro a forma presente foi o dissulfoton sulfona.

De acordo com STEVENS (1976) a degradação do dissulfoton ocorre duas a três vezes mais rápido em folhas de tomate a 20 °C do que em folhas de algodão e em uma taxa intermediária em uma variedade de outras plantas que inclui alfafa, arroz, limão, feijão, repolho, etc.

De acordo com IBRAHIM *et al.* (1969) e ANDRÉA (1986) o dissulfoton, quando aplicado ao solo, segue a rota de degradação mostrada na Figura 2.

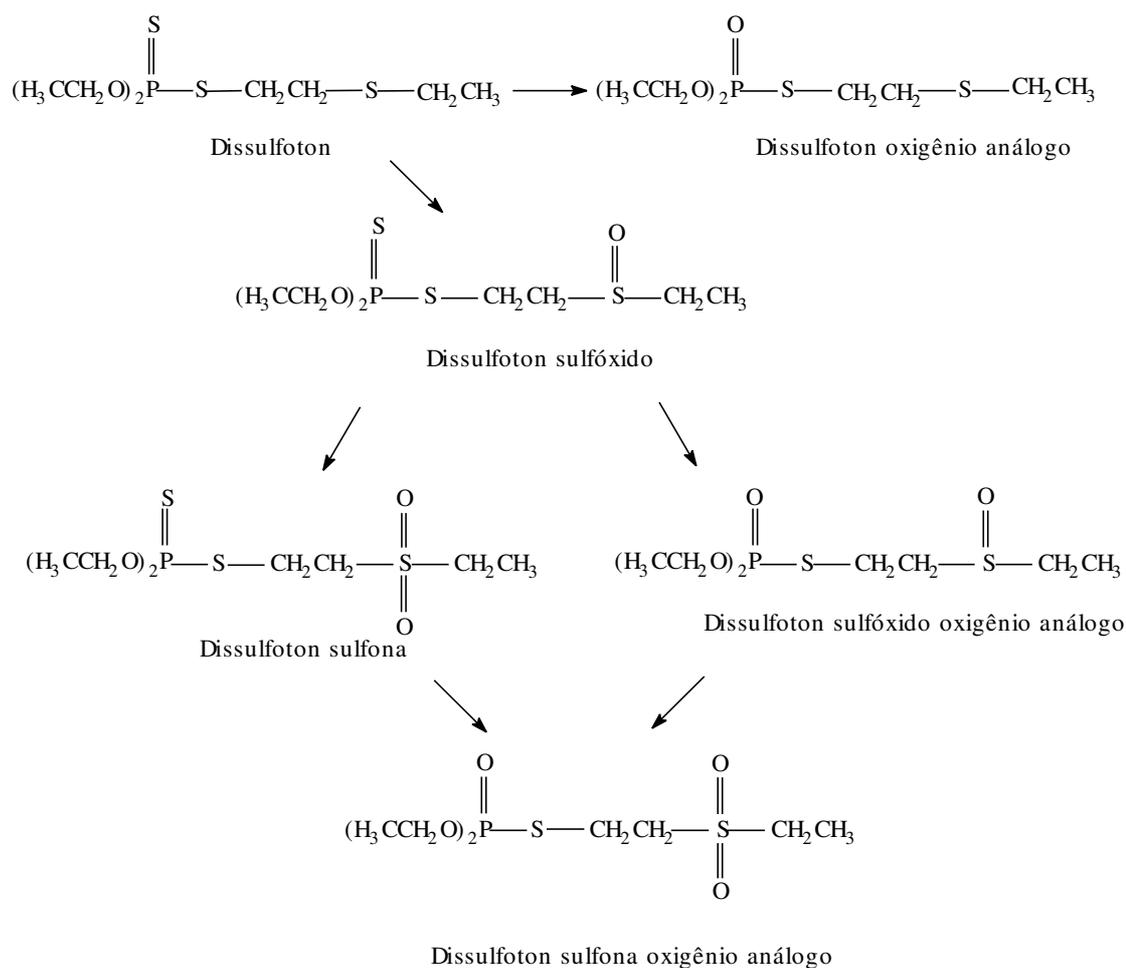


Figura 2: Rota de degradação do dissulfoton.

De acordo com THORNTON & ANDERSON (1968), os derivados oxidativos do dissulfoton podem ser separados por cromatografia gasosa. Entretanto, os picos referentes aos sulfóxidos fornecem uma cauda muito longa, dificultando a quantificação. Além disto, o tempo de retenção destes compostos é

muito curto, o que faz com que eles sejam usualmente incorporados ao pico do solvente. Outro fator a ser levado em consideração é que as sulfonas possuem alta estabilidade, são menos voláteis e fornecem uma resposta cromatográfica melhor, sobretudo quando se utiliza detectores específicos como o termiônico. Estes fatos justificam a conversão do dissulfoton, do dissulfoton oxigênio análogo, do dissulfoton sulfóxido e do dissulfoton sulfóxido oxigênio análogo às sulfonas correspondentes durante o processo de análise.

O triadimenol ((1RS,2RS;1RS,2SR)-1-(4-clorofenoxi)-3,3-dimetil-1-(1H-1,2,4-triazol-1-il)butan-2-ol) é um fungicida sistêmico com ação de proteção, curativa e erradicante (Figura 3). Apresenta-se como um sólido branco de massa molar $295,8 \text{ g mol}^{-1}$, ponto de fusão $118-130 \text{ }^\circ\text{C}$, pressão de vapor 10^{-5} mbar e pertence à classe toxicológica III (medianamente tóxico). Ele pode ser usado tanto como uma suspensão concentrada quanto uma formulação em pó. Várias são as culturas tratadas com o triadimenol, como trigo, cevada, centeio, banana, hortaliças, fumo, cana de açúcar, café, tomate e plantas ornamentais (CLIVE, 1994; BAYER PFLANZENSCHUTZ LEVERKUSEN, 1981 e 1984). Ele é o ingrediente ativo de várias formulações como o Matador®, Bayfidan®, Baysiston®, dentre outras.

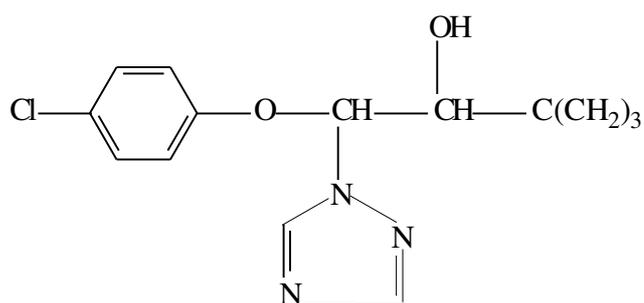


Figura 3: Estrutura química do triadimenol.

O triadimenol age inibindo a germinação do uredosporo do fungo da ferrugem do cafeeiro (*Hemileia vastatrix* Berk & Br) (PAUL, 1982). Ele bloqueia

a biossíntese do ergosterol no fungo e altera o crescimento do cafeeiro por inibição da biossíntese da giberelina, provavelmente por interferir nas reações de dimetilação oxidativa. O efeito regulador do crescimento provocado pelo triadimenol é mais pronunciado quando é aplicado à sementes ou mudas novas e ainda mais quando se faz o tratamento do solo. O triadimenol reduz a transpiração, protege as plantas (soja, rabanete e ervilha) e aumenta a produção durante as condições de estresse de água (FLETCHER & NATH, 1984). Ele provoca também o aumento da resistência dos estômatos e da massa fresca de tomates e protege contra injúrias provocadas pelo ozônio, pela seca e pelo frio, como a clorose, em couve e repolho, provavelmente através da mediação da produção preferencial do ácido abscísico (FLETCHER & HOFSTRA, 1985). Em cereais, ele combate tanto os patógenos que estão aderidos ao grão como os que atuam no interior do mesmo (BAYER PFLANZENSCHUTZ LEVERKUSEN, 1981). A atividade do triadimenol provavelmente é aumentada em função de sua considerável redistribuição na fase vapor (NAG & DUREJA, 1996).

Fungicidas triazóis como o triadimenol estimulam a síntese de carboidratos em cereais de maneira similar àquela das plantas hospedeiras geneticamente resistentes (PAUL, 1982). Segundo RAWLINSON *et al.* (1982) o triadimenol age com maior eficiência em solos com menor teor de matéria orgânica, pois ele se liga a mesma. Entretanto, de acordo com REDONDO *et al.* (1996), alguns agrotóxicos ou seus produtos de degradação podem se ligar tanto à matéria orgânica quanto à fração mineral do solo.

2.6.1 Dosagens comumente utilizadas

A dosagem aplicada de um determinado produto em uma cultura, bem como o intervalo entre as coletas das amostras variam de acordo com o produto, a cultura e o espaçamento da plantação.

Para o dissulfoton, utiliza-se em estudos com cereais como trigo e aspargos, dosagens de 0,5 a 4,0 kg princípio ativo/hectare. As coletas deste tipo

de material se dão de 0 a 98 dias após a data de aplicação do dissulfoton (WARD *et al.*, 1972; WILDMAN & CONE, 1986; SZETO *et al.*, 1983). Em culturas como cebola, feijão e batata as dosagens mais utilizadas variam entre 1,0 a 3,36 kg princípio ativo/hectare, com coletas acontecendo de 0 a 90 dias após a aplicação do produto (SINGH *et al.*, 1983; CHAPMAN *et al.*, 1994; MISRA & AGRAWAL, 1989; SINHA *et al.*, 1984). Já quando os estudos envolvem café as dosagens utilizadas variam entre 25 e 50 g do produto comercial Solvirex 10 G/planta de café (RIGITANO & SOUZA, 1994; WANJALA, 1976).

Em estudos envolvendo a persistência de agrotóxicos em solos, as dosagens de dissulfoton variam de 0,5 a 4,0 kg princípio ativo/hectare, sendo que as coletas geralmente são feitas entre 0 e 343 dias após a aplicação do produto (SINGH *et al.*, 1983; SZETO *et al.*, 1983; HARRIS *et al.*, 1988).

No caso do triadimenol as dosagens também variam de acordo com a cultura. Em cereais como cevada e trigo, as doses de triadimenol aplicadas variam de 0,06 a 2,0 kg princípio ativo/hectare (RAWLINSON *et al.*, 1982). Em amostras de café as dosagens ficam em torno de 25 g triadimenol 1%/planta (ACUÑA *et al.*, 1993). Em estudos de toxicidade do triadimenol em moluscos, peixes e verificação da presença do resíduo na água, as dosagens utilizadas variaram entre 0,7 e 2,5 mg do princípio ativo/L água, com coletas acontecendo até 150 dias após a colocação do produto na água (KHASANOVA & ASILBEKOVA, 1995). Já em frutas, como a uva, e também bebidas como vinho as coletas variam entre 0 e 110 dias após o esmagamento da fruta (FLORI & BRUNELLI, 1995). Em amostras de gramíneas as dosagens giram em torno de 2,7 mg princípio ativo/kg gramíneas (FREDERICK *et al.*, 1994). Já em amostras de solos as dosagens estão em torno de 1,4 mg/kg (FREDERICK *et al.*, 1994; ACUÑA *et al.*, 1993).

As dosagens da associação triadimenol + dissulfoton, utilizadas nos experimentos envolvendo café, variam entre 1,0 e 30 g do produto comercial/planta, dependendo do espaçamento entre as plantas, sendo que as

coletas se dão de 0 a vários meses após a aplicação do produto no solo (GRAVENA *et al.*, 1993; BARROS *et al.*, 1993; ACUÑA *et al.*, 1997).

2.6.2 Análise do dissulfoton e triadimenol

Várias são as técnicas utilizadas na identificação e quantificação do triadimenol e do dissulfoton em amostras de solos, frutos e folhagens. Dentre elas destacam-se a cromatografia gasosa com detector termiônico, fotométrico em chama ou de ionização em chama (FREDERICK *et al.*, 1994; IBRAHIM *et al.*, 1969; ALLMENDINGER, 1991; THORTON & ANDERSON, 1968; RIGITANO & SOUZA, 1994; MOYE, 1973; SPECHET, 1977; SZETO & BROWN, 1982), a cromatografia líquida de alta eficiência (PAPANTONI & MATHIASSEN, 1995), a cromatografia em camada delgada (IBRAHIM *et al.*, 1969; WOOD & KANAGASABAPATHY, 1983) e a espectrofotometria na região do infravermelho (IBRAHIM *et al.*, 1969).

2.6.2.1 Dissulfoton

Segundo HOLSTEGE *et al.* (1991) vários são os solventes utilizados na extração de organofosforados, como acetona, acetato de etila, acetonitrila e tolueno:hexano. Já a etapa de limpeza pode ser feita utilizando-se, como adsorventes, sílica, florisil, carvão magnésiano, extração com fase sólida e cromatografia por exclusão.

O dissulfoton é extraído de produtos agrícolas, como morangos, batata, algodão, cana-de-açúcar, fumo, beterraba, cebolas, feijão, café, frutas, com os mais diversos solventes, sendo que os mais usados são acetato de etila, acetona, acetona:água, benzeno:etanol, acetonitrila e éter de petróleo:acetona. A etapa de limpeza é geralmente feita utilizando-se cromatografia em coluna com carvão ativado:celite:óxido de magnésio, celulose ou carvão ativado como adsorventes e a análise por cromatografia gasosa com detector fotométrico de chama, captura

de elétrons ou de ionização de chama (SZETO & BROWN, 1982; WILDMAN & CONE, 1986; MISRA & AGRAWAL, 1989; DEJONCKHEERE *et al.*, 1996; THORTON & ANDERSON, 1968; SINHA *et al.*, 1984; SANDOZ AGRO LTD, 1972; RIGITANO & SOUZA, 1994; SINGH *et al.*, 1983).

Em amostras de folhas e de solos usados em várias culturas, como aspargos, cebola, feijão os solventes extratores mais usados são acetona, acetato de etila, acetato de etila:metanol, acetonitrila e clorofórmio. A etapa de limpeza pode ser feita com carvão ativado, celulose, florissil, sílica ou uma mistura de vários adsorventes. A análise geralmente é feita por cromatografia gasosa com detector fotométrico de chama ou termiônico, ou cromatografia líquida de alta eficiência com detector de ultravioleta (HARRIS *et al.*, 1988; SZETO & BROWN, 1982; WILDMAN & CONE, 1986; CHAPMAN *et al.*, 1994; SANDOZ AGRO LTD, 1972; YEN *et al.*, 1994).

Na extração de vários organofosforados, dentre eles o dissulfoton, de amostras bovinas (fígado, rúmen) o solvente utilizado é metanol:diclorometano (10:90). A limpeza pode ser feita por cromatografia por exclusão e a determinação por cromatografia gasosa com detector fotométrico em chama (HOLSTEGE *et al.*, 1991).

A extração do dissulfoton e outros agrotóxicos de amostras de água pode ser feita utilizando-se extração líquido-líquido com benzeno e a de tecidos de moluscos extração com fluido supercrítico com metanol. Em ambos os casos a limpeza é feita usando florissil como adsorvente e a análise por cromatografia líquida de alta eficiência com detector de ultravioleta ou cromatografia gasosa com detector termiônico ou de massa (DI CORCIA *et al.*, 1995; DAUBERSCHMIDT *et al.*, 1996).

Em amostras de fertilizantes, a extração do dissulfoton e seus produtos de degradação pode ser feita usando clorofórmio em um sistema de soxhlet, com posterior análise por cromatografia gasosa com detector por ionização de chama (IBRAHIM *et al.*, 1969).

2.6.2.2 Triadimenol

O triadimenol pode ser extraído do solo, gramíneas e folhagens secas com acetona, isooctano, metanol:água, etc e analisado por cromatografia gasosa com detector por captura de elétrons ou cromatografia líquida de alta eficiência com detector de ultravioleta (NAG & DUREJA, 1996; FREDERICK *et al.*, 1994; RAWLINSON *et al.*, 1982).

A análise simultânea de vários agrotóxicos, dentre eles o triadimenol, em frutas como a uva, vegetais como alface, pepino e couve-flor e cereais como trigo, cevada e feijão, pode ser feita após extração dos produtos por diferentes solventes como a acetona, acetona:água, acetonitrila, seguido de limpeza com florisil ou sílica gel e análise por cromatografia gasosa com detector termiônico ou cromatografia líquida de alta eficiência com detector no ultravioleta. A confirmação das análises pode ser feita por cromatografia gasosa acoplada a um espectrômetro de massa (TONAGAI *et al.*, 1993; RAWLINSON *et al.*, 1982; ALLMENDINGER, 1991; LIAO, 1991; PAPANTONI & MATHIASSEN, 1995).

REYNAUD *et al.* (1991) compararam dois métodos de purificação para a determinação de triadimenol em material vegetal. O primeiro consiste na utilização de florisil como adsorvente e o segundo na utilização da cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) semi-preparativa. As análises foram feitas por cromatografia gasosa utilizando um detector termiônico. Esses autores observaram que ao contrário do primeiro método de limpeza, o segundo não apresentou interferências, indicando que esse procedimento é satisfatório para a análise de resíduos de triadimenol em amostras em tecidos vegetais.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Identificação das amostras

No estudo do comportamento dos princípios ativos da formulação triadimenol + dissulfoton e seus produtos de degradação, foram utilizadas amostras de solos, de folhas e de frutos de café coletadas em duas regiões distintas da Zona da Mata de Minas Gerais, Viçosa e Manhuaçu. Nas amostras coletadas na região de Viçosa procurou-se estudar o comportamento destes produtos ao longo de 190 dias após a aplicação do produto comercial. Nas amostras coletadas na região de Manhuaçu, onde o produto vem sendo aplicado sistematicamente há vários anos, o comportamento da associação triadimenol + dissulfoton e seus produtos de degradação foram avaliados após 9 meses da última aplicação, em amostras de solo e folhas.

3.1.1 Amostras coletadas em Manhuaçu

Estas amostras foram coletadas no município de Manhuaçu, Zona da Mata de Minas Gerais, na Fazenda Jaguarai, pertencente ao Grupo Heringer. O local da amostragem foi constituído de uma lavoura de café da variedade Catuaí, com sete anos de idade, espaçamento 3,0 x 1,0 m, e que recebeu, nos últimos anos, doses

regulares de produto comercial Baysiston G 15 + 75 triadimenol + dissulfoton (Quadro 1).

Quadro 1: Dosagens de produto comercial com formulação triadimenol + dissulfoton, aplicadas nos últimos anos em cafezal da Fazenda Jaguará

Ano da aplicação	Doses aplicadas (kg produto comercial/ha)
1990	30,0
1991	40,0
1992	40,0
1993	40,0
1994	50,0
1995	40,0
1996	50,0

O produto comercial foi aplicado, no mês de novembro de cada ano, em blocos de fileiras alternadas, em quatro pontos em cada lado do cafeeiro na profundidade aproximada de 2,0 cm, utilizando-se matraca. Dentro destes, duas fileiras foram usadas como bordadura.

As amostras foram acondicionadas em sacos plásticos e armazenadas em freezer a -18 °C até a análise.

3.1.1.1 Amostras de solo

As amostras de solo, do tipo Latossolo Vermelho-Amarelo, foram coletadas sob a saia do cafeeiro nos locais de aplicação do produto, na profundidade de 0 a 20 cm. Cada amostra foi composta por subamostras coletadas sob 10 plantas.

A coleta foi feita aproximadamente 270 dias após a última aplicação do produto comercial de formulação triadimenol + dissulfoton.

3.1.1.2 Amostras de folhas

Foram coletadas cerca de 100 g de folhas do cafeeiro do terceiro par de folhas do terço médio da planta. Cada amostra foi composta por subamostras de folhas de 10 plantas. Foram coletadas amostras de folhas de café de fileiras de plantas em que foi aplicado o produto comercial e de fileiras em que o produto não foi aplicado (testemunha). A coleta se deu aproximadamente 270 dias após a última aplicação do produto comercial.

3.1.2 Amostras coletadas em Viçosa

O grupo de amostras coletadas na região de Viçosa foi caracterizado por um conjunto de amostras de solo do tipo Latossolo Vermelho Amarelo, folhas e frutos. Essas amostras foram coletadas em uma lavoura de café da variedade Catuaí com espaçamento 3,0 x 2,0 m e 10 anos de idade situada no Viveiro de Café da Universidade Federal de Viçosa. Foi aplicado a formulação triadimenol + dissulfoton na dosagem de 20 kg/ha em dezembro, em um sulco de cada lado da planta, na profundidade de 5,0 cm. O produto comercial foi aplicado no mês de dezembro, em uma fileira de café utilizando-se duas fileiras como bordadura.

Esse grupo de amostras, constou de um conjunto de amostras testemunha e amostras nas quais o produto havia sido aplicado, sendo que cada amostra foi formada por cinco subamostras.

3.1.2.1 Amostras de solo

As amostras de solo foram coletadas nos sulcos onde o produto foi aplicado, sob a saia do cafeeiro, de modo que cada cinco plantas formasse uma amostra.

Procurou-se coletar cerca de 1,0 kg de solo, nos sulcos onde havia sido aplicado o produto comercial, na profundidade de 0 a 10 cm. As coletas se deram 5, 40, 64, 97, 127, 153 e 189 dias após a aplicação do produto. Após a coleta, as amostras foram acondicionadas em sacos plásticos e armazenadas em freezer a -18 °C. Para a análise foi usada a amostra úmida com posterior determinação da umidade.

3.1.2.2 Amostras de folhas

As amostras de folhas foram coletadas do terceiro par de folhas do terço inferior da planta. Cerca de 50 g de cada amostra foram coletadas aos 5, 26, 40, 54, 64, 97, 127, 153 e 189 dias após a data de aplicação do produto. Após as coletas as amostras foram acondicionadas em sacos de plástico e armazenadas em freezer à -18 °C para posterior análise. Para a análise, as amostras de folha foram picadas e secas ao ar, com posterior determinação da umidade.

3.1.2.3 Amostras de frutos

As amostras de frutos no estado cereja foram coletadas do terço inferior, médio e superior das plantas após 153 dias da data de aplicação do produto comercial. Após a coleta as amostras foram guardadas em freezer à -18 °C. Para análise, as amostras de fruto foram despulpadas com a mão, os grãos secos ao ar com posterior determinação do peso seco.

3.2 Análise dos princípios ativos da associação triadimenol + dissulfoton por cromatografia gasosa

As análises dos princípios ativos e dos produtos de degradação da formulação comercial triadimenol + dissulfoton (dissulfoton, dissulfoton oxigênio

análogo, dissulfoton sulfóxido, dissulfoton sulfóxido oxigênio análogo, dissulfoton sulfona, dissulfoton sulfona oxigênio análogo e triadimenol), foram realizadas por cromatografia gasosa usando detector termiônico de chama. Entretanto, as formas analisadas foram somente o dissulfoton sulfona, o dissulfoton sulfona oxigênio análogo (produtos finais de degradação do dissulfoton) e o triadimenol. O estabelecimento das condições ideais de análise destes últimos compostos foi realizado em um cromatógrafo a gás Shimadzu, modelo GC-17A.

3.2.1 Estabelecimento das condições de análise

A análise por cromatografia gasosa de um composto requer condições próprias que permitam melhorar a forma dos picos, o tempo de análise, além de permitir uma melhor separação entre os picos de interesse e os possíveis interferentes. Para isto, a escolha da coluna, da temperatura e da vazão dos gases são de extrema importância para se obter um método preciso e reprodutível.

Na análise cromatográfica dos princípios ativos da formulação triadimenol + dissulfoton e de seus produtos de degradação, as seguintes condições foram otimizadas:

- Coluna BP-5 com fase estacionária composta por 95% de metilssilicone e 5% de fenilssilicone, 30 m, 0,25 mm diâmetro interno, 1 μm filme.
- Temperatura da coluna: 180 $^{\circ}\text{C}$ $\xrightarrow{-20^{\circ}\text{C min}^{-1}}$ 280 $^{\circ}\text{C}$ (6 min)
- Temperatura do injetor: 250 $^{\circ}\text{C}$
- Temperatura do detector: 300 $^{\circ}\text{C}$
- Volume injetado: 1 μL
- Vazão do gás de arraste: 1,0 mL min^{-1}
- Gás de arraste: Nitrogênio

A utilização do modo de injeção com ou sem divisão de fluxo (split ou splitless) dependeu da concentração final da amostra. A escolha foi baseada no formato e altura dos picos dos compostos analisados.

3.2.2 Avaliação da resposta do detector para os compostos estudados

3.2.2.1 Determinação do limite de detecção

Para determinar o limite de detecção foram injetados padrões de dissulfoton sulfona, dissulfoton sulfona oxigênio análogo e triadimenol em concentrações cada vez menores até que o sinal fosse igual a duas vezes o ruído de fundo do aparelho. Foram injetados padrões nas concentrações de 50,0; 10,0; 1,0 e 0,2 ng mL⁻¹.

3.2.2.2 Determinação da linearidade de resposta do aparelho

Para determinação da linearidade de resposta foram injetados padrões de dissulfoton sulfona, dissulfoton sulfona oxigênio análogo e triadimenol em concentrações crescentes: 0,2; 1,0; 10,0; 50,0; 100,0; 500,0 ng mL⁻¹; 1,0; 10,0 µg mL⁻¹ no modo de injeção sem divisão de fluxo. A linearidade da resposta foi avaliada pela relação entre as áreas dos picos e a concentração dos produtos estudados.

3.2.3 Otimização da técnica de extração e análise dos princípios ativos das amostras

Neste trabalho, os padrões de dissulfoton, dissulfoton oxigênio análogo, dissulfoton sulfóxido, dissulfoton sulfóxido oxigênio análogo, dissulfoton sulfona, dissulfoton sulfona oxigênio análogo e triadimenol a 1000 µg mL⁻¹ foram utilizados nos experimentos de otimização do método de análise em amostras de solo, folhas e frutos, bem como nos testes de recuperação das amostras. As soluções padrão foram preparadas em acetato de etila destilado, a partir de padrões analíticos concentrados, com pureza superior a 98,0 %. Os padrões analíticos foram fornecidos pelas empresas Novartis e Bayer.

A extração e análise dos princípios ativos da formulação triadimenol + dissulfoton e de seus produtos de degradação envolvem a extração dos mesmos, a oxidação completa do dissulfoton e seus produtos de degradação às sulfonas correspondentes, reextração, purificação e finalmente a análise por cromatografia gasosa.

3.2.3.1 Otimização da técnica de extração e purificação dos princípios ativos

3.2.3.1.1 Amostras de solo

3.2.3.1.1.1 Escolha do solvente extrator dos produtos

Para avaliar o melhor solvente extrator, 50 g de amostras de solo foram fortificadas com 250 μL de solução estoque a 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ dos padrões dissulfoton sulfona, dissulfoton sulfona oxigênio análogo e triadimenol. Em seguida, fizeram-se três extrações sucessivas com 60 mL de solvente, sob agitação por 10 minutos. Os solventes utilizados foram acetona, acetona:água (6:1) e acetonitrila. As três frações dos sobrenadantes foram reunidos em um só frasco e retirada uma alíquota de 50 mL, da qual a água foi eliminada com sulfato de sódio anidro. Após adição de aproximadamente 3,0 mL de acetato de etila destilado, os extratos foram concentrados em rotavapor e o volume final aferido em balões volumétricos de 5,0 mL. Procedeu-se então a análise por cromatografia gasosa utilizando-se uma razão de divisão de 1:25.

3.2.3.1.1.2 Determinação do tempo de extração

A avaliação do melhor tempo de extração dos produtos de interesse, tanto do solo como de outras matrizes quaisquer, envolve estudos em que todos os parâmetros são mantidos constantes, exceto o tempo. Para isto, foram adicionados à 50 g de solo 250 μL da solução estoque a 1000 $\mu\text{g mL}^{-1}$ dos padrões dissulfoton

sulfona, dissulfoton sulfona oxigênio análogo e triadimenol. Em seguida, fez-se três extrações sucessivas com acetona grau pesticida, agitando-se por 3; 5 ou 10 minutos. Do extrato total foi retirada uma alíquota de 50 mL, da qual a água foi eliminada com sulfato de sódio anidro. Após adição de acetato de etila destilado, as amostras foram concentradas em rotavapor e seus volumes aferidos em balões de 5,0 mL. Foi feita então, a análise por cromatografia gasosa utilizando um detector termiônico e uma razão de divisão de 1:25.

3.2.3.1.1.3 Agente oxidante

A literatura nos fornece vários agentes oxidantes que, a princípio, poderiam ser usados na oxidação do dissulfoton e de seus produtos de degradação à dissulfoton sulfona e dissulfoton sulfona oxigênio análogo (THORTON & ANDERSON, 1968; VOGEL, 1992; SKOOG *et al.*, 1996). Entretanto, nem todos os compostos têm potencial suficiente para realizar esta tarefa com rendimento adequado. Para testar qual seria o melhor agente oxidante foram escolhidos o permanganato de potássio, o peróxido de hidrogênio e o hipoclorito de sódio, sendo que este último foi testado a quente, aproximadamente a 70 °C. 250 µL da solução estoque a 1000 µg mL⁻¹ dos padrões dissulfoton, dissulfoton oxigênio análogo e triadimenol foram adicionados a 90 mL de hipoclorito de sódio 5-6%; 40 mL de solução de permanganato de potássio 0,5 mol L⁻¹ e 100 mL de peróxido de hidrogênio 30 %, separadamente, na presença de solução de sulfato de magnésio 20 %. Após agitação ocasional por 40 minutos os produtos resultantes da oxidação foram extraídos com três alíquotas de 30 mL de clorofórmio e a água eliminada com a adição de sulfato de sódio anidro. A estes extratos foi adicionado acetato de etila destilado, os mesmos concentrados em rotavapor e seus volumes aferidos em balões de 5,0 mL, para posterior análise por cromatografia gasosa na razão de divisão de 1:25.

3.2.3.1.1.4 Escolha do solvente reextrator após a etapa de oxidação

Após à imprescindível etapa de oxidação do dissulfoton e seus produtos de degradação, torna-se necessário fazer uma reextração dos compostos da fase aquosa. Para a verificação do solvente que fornece a melhor taxa de recuperação dos produtos de interesse, foi colocado 250 μL da solução estoque a $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ dos padrões dissulfoton, dissulfoton oxigênio análogo, dissulfoton sulfóxido, dissulfoton sulfóxido oxigênio análogo, dissulfoton sulfona, dissulfoton sulfona oxigênio análogo e triadimenol em solução de permanganato de potássio $0,5 \text{ mol L}^{-1}$ na presença de solução de sulfato de magnésio 20 %. Após agitação, a solução foi deixada em repouso por 40 minutos e depois submetida a extração com três alíquotas de 30 mL de diclorometano, clorofórmio ou éter etílico. A água foi eliminada do extrato com sulfato de sódio anidro e após adição de 3,0 mL de acetato de etila destilado foi concentrado em rotavapor e o volume aferido para 5,0 mL com posterior análise por cromatografia gasosa utilizando-se uma razão de divisão de 1:3.

3.2.3.1.1.5 Avaliação dos solventes para a limpeza

Amostras naturais possuem um grande número de compostos que são extraídos juntamente com os compostos de interesse e que devem ser eliminados do extrato para que não haja interferência na análise dos compostos de interesse. Para isto são feitas limpeza dos extratos, geralmente usando-se cromatografia em coluna com os mais variados adsorventes. Para testar a limpeza que poderia ser usada nas amostras foi utilizada uma coluna de vidro de aproximadamente 20 cm de altura e 2,0 cm de diâmetro interno, recheada com sílica gel 60 (0,063 a 0,200 mm), em éter de petróleo. Em seguida foram colocados 250 μL das soluções padrão de dissulfoton sulfona, dissulfoton sulfona oxigênio análogo e triadimenol a $1000 \mu\text{g L}^{-1}$. Fez-se a eluição com 75 mL da mistura éter de petróleo:éter etílico (16:1) para retirada dos

interferentes. Os compostos foram recuperados das colunas, após a eluição com 200 mL de diversos solventes. Os solventes utilizados foram acetato de etila, acetato de etila:éter de petróleo (3:2 e 1:1), acetato de etila:diclorometano (1:1) ou acetato de etila:éter etílico (1:1). Os eluatos foram concentrados em rotavapor e o volume aferido em balões de 5,0 mL com acetato de etila destilado. Em seguida eles foram analisados por cromatografia gasosa utilizando-se uma razão de divisão de 1:3.

3.2.3.1.2 Amostras de folhas

3.2.3.1.2.1 Escolha do solvente extrator dos princípios ativos da associação triadimenol + dissulfoton e de seus produtos de degradação

Nas amostras de folhas foram testados outros solventes além daqueles usados para as amostras de solos, visando-se a extração de uma menor quantidade de interferentes, uma vez que se trata de matrizes diferentes. Nas folhas há muita clorofila, lignina e outros compostos que devem ser extraídos na menor quantidade possível, para que não interfiram no processo de análise e principalmente na oxidação, o que acarretaria perdas devido ao aumento da viscosidade do extrato.

Para realizar este estudo em amostras de folhas de café, foram adicionados 100 µL das soluções estoque a 1000 µg mL⁻¹ dos padrões dissulfoton sulfóxido, dissulfoton sulfóxido oxigênio análogo e triadimenol a 20 g de amostra seca ao ar e triturada em liquificador. Fizeram-se então três extrações sucessivas em agitador horizontal, com 60 mL de solvente por 10 minutos. Neste estudo, os solventes utilizados foram acetona:água (6:1), acetonitrila, acetona ou acetona:hexano (1:1). Do sobrenadante total foi retirada uma alíquota de 50 mL, a qual foi oxidada com permanganato de potássio 0,5 mol L⁻¹ na presença de solução de sulfato de magnésio 20 %, durante 40 minutos. Após oxidação, os produtos resultantes foram extraídos com 75 mL de clorofórmio. Após eliminação da água do extrato com sulfato de sódio anidro e adição de acetato de etila destilado, o extrato foi concentrado em rotavapor e o volume aferido em balões de 5,0 mL com acetato de etila. Em seguida, o mesmo foi analisado por cromatografia gasosa usando-se o modo sem

divisão de fluxo.

3.2.3.1.2.2 Estudo do tempo de extração dos compostos de interesse das folhas

Para verificar a melhor taxa de recuperação dos compostos em estudo foram adicionados 100 µL das soluções padrão de dissulfoton sulfóxido, dissulfoton sulfóxido oxigênio análogo e triadimenol a 1000 µg mL⁻¹ a 20 g de amostra de folha triturada em liquidificador e seca ao ar. Em seguida fez-se três extrações sucessivas com 100, 50 e 50 mL de acetonitrila, respectivamente, sob agitação por 3 ou 15 minutos. Do sobrenadante total foi retirada uma alíquota de 50 mL, a qual foi concentrada até eliminação da acetonitrila. Ao extrato foi adicionado 15 mL de solução de sulfato de magnésio 20 % e 20 mL de solução de permanganato de potássio 0,5 mol L⁻¹. Após agitação a solução resultante foi deixada em repouso por 40 minutos. Em seguida os compostos de interesse foram extraídos com clorofórmio. Após eliminação da água do extrato com sulfato de sódio anidro, este foi concentrado em rotavapor. O extrato resultante passou por limpeza em uma coluna de vidro de aproximadamente 20 cm e 2,0 cm de diâmetro, recheada com sílica gel 60 (0,063 a 0,200 mm). Para retirada dos interferentes, fez-se a eluição com 75 mL de éter de petróleo:éter etílico (16:1). Para recuperação do dissulfoton sulfona, dissulfoton sulfona oxigênio análogo e triadimenol da coluna, fez-se a eluição com 100 mL de diclorometano e 100 mL de acetato de etila destilados. O segundo eluato foi concentrado em rotavapor e aferido em balões de 5,0 mL com acetato de etila destilado. Procedeu-se então a análise por cromatografia gasosa utilizando uma razão de divisão de 1:99 e as condições citadas na seção 3.2.1.

3.2.3.2 Testes de recuperação dos produtos nas amostras

O método de análise dos produtos foi avaliado mediante adição de quantidades conhecidas dos princípios ativos e seus produtos de degradação as diferentes matrizes estudadas, seguindo-se à avaliação da taxa de recuperação dos mesmos. As metodologias utilizadas na análise foram resultantes da otimização de

parâmetros como solvente extrator, tempo de extração, agente oxidante, solvente reextrator e limpeza.

Para a realização dos testes de recuperação, os padrões foram divididos em 3 blocos que compreendiam, primeiro, o dissulfoton e o dissulfoton oxigênio análogo; segundo, o dissulfoton sulfóxido e o dissulfoton sulfóxido oxigênio análogo e; terceiro, o dissulfoton sulfona, o dissulfoton sulfona oxigênio análogo e o triadimenol.

3.2.3.2.1 Amostras de solo

As amostras de solos (50 g) foram fortificadas com 250, 50 ou 5 μL dos padrões analíticos a $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ e em seguida as mesmas foram extraídas com três alíquotas de 60 mL de acetona sob agitação por 3 minutos. Os três sobrenadantes foram reunidos e retirada uma alíquota de 50 mL, à qual foi adicionada aproximadamente 2,0 mL de clorofórmio, seguida de concentração em rotavapor até a completa eliminação da acetona. O extrato foi submetido à oxidação com 15 mL de solução de permanganato de potássio $0,5 \text{ mol L}^{-1}$, na presença de 10 mL de solução de sulfato de magnésio 20 %, por 40 minutos. Após oxidação o dissulfoton sulfona, dissulfoton sulfona oxigênio análogo e o triadimenol foram extraídos da fase aquosa com 75 mL de clorofórmio e a água retirada do extrato resultante com sulfato de sódio anidro. Ao extrato foram adicionados 3,0 mL de acetato de etila destilado e depois concentrado em rotavapor. O volume foi aferido em balão volumétrico de 5,0 mL com acetato de etila destilado. Em seguida, os extratos foram analisadas por cromatografia gasosa. As razões de divisão utilizadas foram 1:25 para concentração final de $1,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ e 1:99 para concentração final de 10 e $50 \mu\text{g mL}^{-1}$.

3.2.3.2.2 Amostras de folhas e grãos

Seguindo-se o princípio utilizado nas amostras de solo, cerca de 20 g de amostras de folhas, secas ao ar e trituradas em liquidificador, foram fortificadas com 50 ou 5 μL das soluções padrão a $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ de triadimenol, dissulfoton e seus produtos de degradação. Já aos 20 g de amostra de grão, seco ao ar e triturado em liquidificador, foram adicionados 2,5 μL dos padrões. Em seguida estes compostos foram extraídos sob agitação por 15 minutos, com três alíquotas de 100, 50 e 50 mL de acetonitrila, respectivamente. Nas amostras de folhas, do sobrenadante total foi retirada uma alíquota de 50 mL, a qual foi concentrada até eliminação da acetonitrila. Nas amostras de grãos, o sobrenadante total foi filtrado e depois concentrado em rotavapor. Ao extrato retirado do balão após lavagens sucessivas com clorofórmio, foram adicionados 15 mL de solução de sulfato de magnésio 20 % e 20 mL de permanganato de potássio $0,5 \text{ mol L}^{-1}$. Após agitação a solução resultante foi deixada em repouso por 40 minutos. Em seguida os compostos de interesse foram extraídos com 3 porções de 25 mL de clorofórmio. A água foi retirada do extrato com sulfato de sódio anidro e o mesmo concentrado em rotavapor. O extrato resultante foi colocado em uma coluna de vidro de aproximadamente 20 cm, com 2,0 cm de diâmetro, recheada com sílica gel 60 (0,063 a 0,200 mm). Para retirada dos interferentes, fez-se a eluição com 75 mL de éter de petróleo:éter etílico (16:1), o qual foi descartado. Para recuperação do dissulfoton sulfona, dissulfoton sulfona oxigênio análogo e triadimenol da coluna, fez-se a eluição com 100 mL de diclorometano e 100 mL de acetato de etila destilados. Esse eluato foi concentrado em rotavapor e o volume aferido em balão volumétrico de 5,0 mL com acetato de etila destilado. Procedeu-se então a análise por cromatografia gasosa. As análises foram realizadas seguindo-se as condições determinadas em 3.2.1 com razão de divisão de 1:5 para as concentração finais de 500 ng L^{-1} ; $1,0 \mu\text{g mL}^{-1}$ e $10 \mu\text{g mL}^{-1}$.

3.2.3.3 Determinação do peso seco das amostras

Para determinar o peso seco das amostras de grãos, solo e folhas, uma quantidade conhecida das mesmas foi seca em estufa a 105 °C até peso constante. Com isto foi determinada a umidade das amostras. Estes dados foram utilizados nos cálculos dos teores de cada substância estudado por peso seco das amostras.

3.2.3.4 Análise das amostras coletadas em Viçosa e Manhuaçu

A análise dos princípios ativos e seus metabólitos nas amostras foram feitas seguindo-se os procedimentos descritos no item 3.2.3.2.

3.2.3.4.1 Amostras de solo

Para análise das amostras de solo foi utilizada uma massa de 50 g. Tal análise seguiu a metodologia descrita em 3.2.3.2.1. Nas análises por cromatografia gasosa utilizou-se a razão de divisão de 1:5.

3.2.3.4.2 Amostras de folhas

À semelhança das amostras de solo, foi retirada, para análise dos princípios ativos da associação triadimenol + dissulfoton e de seus produtos de degradação, uma quantidade de folhas de massa igual a 25 g. O procedimento analítico utilizado foi o descrito na seção 3.2.3.2.2, com análises no modo de injeção sem divisão de fluxo.

3.2.3.4.3 Amostras de grãos

Para a análise dos compostos de interesse nas amostras de grãos do café, foram utilizadas 20 g de amostra, seca ao ar e triturada. As análises foram feitas conforme descrito nos testes de recuperação, item 3.2.3.2.2, utilizando-se o modo de injeção sem divisão de fluxo.

3.2.3.5 Quantificação

A quantificação dos produtos de interesse nas amostras, bem como os cálculos de recuperação dos produtos, foram feitos comparando-se a área dos picos dos padrões dissulfoton sulfona, dissulfoton sulfona oxigênio análogo e triadimenol A e B dos cromatogramas com as áreas destes picos nos cromatogramas das amostras. No caso do triadimenol, a quantificação foi feita somando-se as áreas dos diastereoisômeros A e B.

Para tal utilizou-se o seguinte cálculo:

- Recuperação dos padrões

$$C_a (\mu\text{g mL}^{-1}) = \frac{A_a}{A_p} \times C_p \times \frac{V_f}{V_{al}} \times \frac{V_e}{V_p}$$

Onde: C_a : Concentração dos princípios ativos ou produtos de degradação na amostra ($\mu\text{g mL}^{-1}$);

A_a : Área do pico do produto no cromatograma da amostra;

A_p : Área do pico do produto no cromatograma da solução padrão;

C_p : Concentração do padrão ($\mu\text{g mL}^{-1}$);

V_f : Volume final do extrato limpo (mL);

V_{al} : Volume da alíquota do extrato bruto (mL);

V_e : Volume total do extrato bruto (mL);

V_p : Volume do padrão adicionado (mL).

$$\% \text{ Recuperação} = \frac{C_a \times 100}{C_{adi}}$$

Onde C_{adi} : Concentração da solução padrão adicionada ($\mu\text{g mL}^{-1}$).

Nessas amostras há a necessidade de converter a percentagem encontrada do dissulfoton sulfona e dissulfoton sulfona oxigênio análogo na percentagem do padrão adicionado de dissulfoton, dissulfoton oxigênio análogo, dissulfoton sulfóxido e dissulfoton sulfóxido oxigênio análogo. Para isto tem que se levar em consideração as massas molares de cada composto.

Assim tem-se o cálculo:

$$\%C = \frac{\%DS \times MM_c}{MM_{DS}}$$

Onde: $\%C$: Percentagem do composto de interesse;

$\% DS$: Percentagem de dissulfoton sulfona ou dissulfoton sulfona oxigênio análogo;

MM_c : Massa molar do composto estudado (g mol^{-1}) (dissulfoton ($MM= 274$), dissulfoton oxigênio análogo ($MM= 258$), dissulfoton sulfóxido ($MM= 290$) e dissulfoton sulfóxido oxigênio análogo ($MM= 274$));

MM_{DS} : Massa molar do dissulfoton sulfona ($MM= 306$) ou dissulfoton sulfona oxigênio análogo ($MM= 290$) (g mol^{-1}).

Para o dissulfoton e o dissulfoton sulfóxido utiliza-se a massa molar e a percentagem de recuperação do dissulfoton sulfona e para os correspondentes oxigênio análogos utiliza-se a massa molar e a percentagem de recuperação do dissulfoton sulfona oxigênio análogo.

- Quantificação das amostras

$$C_a (\mu\text{g g}^{-1}) = \frac{A_a}{A_p} \times C_p \times \frac{V_f}{V_{al}} \times \frac{V_e}{P_a \times \frac{100 - \%U}{100}}$$

Onde: C_a : Concentração do produto na amostra analisada ($\mu\text{g g}^{-1}$);

A_a : Área do pico do produto no cromatograma da amostra;

A_p : Área do pico do produto no cromatograma da solução padrão;

C_p : Concentração do padrão ($\mu\text{g mL}^{-1}$);

V_f : Volume final do extrato limpo (mL);

V_{al} : Volume da alíquota do extrato bruto (mL);

V_e : Volume total do extrato bruto (mL);

P_a : Peso da amostra úmida (g);

$\%U$: Teor de umidade da amostra.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Análise cromatográfica

4.1.1 Condições otimizadas

As análises cromatográficas dos extratos das amostras foram feitas nas condições descritas abaixo:

- Coluna BP-5 com fase estacionária composta por 95% de metil-polissiloxano e 5% de fenilssiloxano, 30 m, 0,25 mm diâmetro interno, 1 μm filme.
- Temperatura da coluna: 180 °C $\xrightarrow{20^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}}$ 280 °C (6 min)
- Temperatura do injetor: 250 °C
- Temperatura do detector: 300 °C
- Volume injetado: 1 μL
- Vazão do gás de arraste: 1,0 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$
- Gás de arraste: Nitrogênio

A Figura 4 apresenta um cromatograma dos padrões dissulfoton sulfona, dissulfoton sulfona oxigênio análogo e triadimenol a 1 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, obtido nas condições citadas acima e a uma razão de divisão de 1:5.

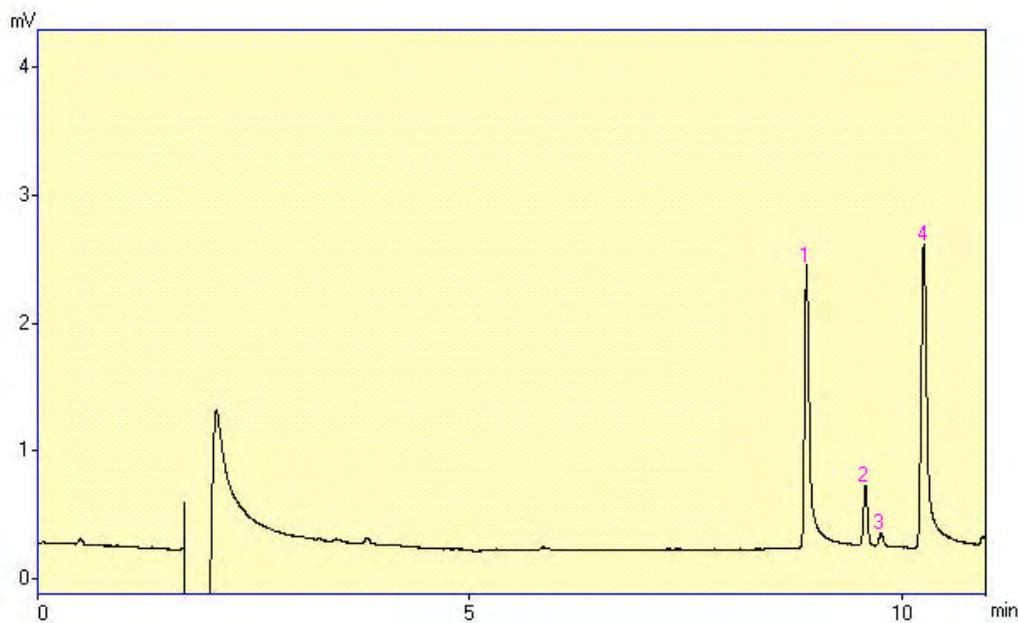


Figura 4: Cromatograma dos padrões dissulfoton sulfona, dissulfoton sulfona oxigênio análogo e triadimenol. Onde 1- t_R =8,9 min: Dissulfoton sulfona oxigênio análogo, 2- t_R =9,6 min: Triadimenol A, 3- t_R =9,7 min: triadimenol B e 4- t_R =10,2 min: Dissulfoton sulfona.

4.1.2 Resposta do detector para os compostos estudados

4.1.2.1 Limite de detecção

Em todo processo analítico, um dos parâmetros indispensáveis para a quantificação é a determinação do limite de detecção ou quantidade mínima detectável pelo sistema de detecção. O nível de ruído do detector determina esta quantidade mínima detectável, definida como a menor quantidade do composto que gera uma resposta duas vezes maior que o ruído de fundo do aparelho (COLLINS *et al.*, 1997).

Neste trabalho foi empregada a cromatografia gasosa com detector termiônico. O limite de detecção foi obtido injetando-se concentrações decrescentes de soluções padrão dos compostos investigados. Obteve-se um limite de detecção para o triadimenol B de 50 ng mL^{-1} , para o triadimenol A e o dissulfoton sulfona oxigênio análogo de 10 ng mL^{-1} e para o dissulfoton sulfona

de 0,2 ng mL⁻¹. LIAO *et al.* (1991), utilizando cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa, obtiveram um limite de detecção de aproximadamente 50 ng g⁻¹ para o dissulfoton e triadimenol. Já DAUBERSCHMIDT *et al.* (1996) obtiveram na análise dos metabólitos do dissulfoton, também por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa, o limite de detecção de 0,5 ng g⁻¹. WILDMAN & CONE (1986), determinando o dissulfoton por cromatografia gasosa com detector fotométrico de chama, obtiveram um limite de detecção de 2 µg g⁻¹. PAPANTONI & MATHIASSEN (1995) usaram cromatografia líquida de alta eficiência com detector espectrofotométrico na região do ultravioleta na análise de triadimenol, obtendo um limite de detecção de 8 µg mL⁻¹ para o triadimenol A e 2 µg mL⁻¹ para o triadimenol B.

Além das técnicas cromatográficas, outras técnicas espectrofotométricas são descritas na literatura para a análise do dissulfoton e seus compostos de degradação. MISRA & AGRAWAL (1989) determinaram colorimetricamente o dissulfoton e obtiveram 20 ng g⁻¹ como limite de detecção.

Os limites de detecção obtidos neste trabalho para os três compostos analisados são equivalentes aos apresentados pela literatura, mostrando a especificidade do detector para estes compostos. Isto permite a análise com segurança de extratos com concentrações muito pequenas.

4.1.2.2 Linearidade de resposta do aparelho

A linearidade de resposta do aparelho onde foram feitas as análises é um parâmetro muito importante, do qual se deve ter conhecimento. A determinação da linearidade de resposta do aparelho permite a verificação das faixas de concentração onde as respostas são lineares, auxiliando na utilização de curvas de calibração nas análises dos produtos de interesse pela técnica escolhida. Para verificar a linearidade de resposta para o dissulfoton sulfona, dissulfoton sulfona oxigênio análogo e triadimenol, padrões de concentrações crescentes foram analisados no modo de injeção sem divisão de fluxo e as áreas colocadas em um gráfico em função da concentração. Os dados obtidos na determinação da linearidade de resposta dos compostos de interesse são mostrados no Quadro 2.

Quadro 2: Linearidade de resposta do cromatógrafo a gás com detector termiônico para o dissulfoton sulfona, dissulfoton sulfona oxigênio análogo e triadimenol

Faixa de concentração (ng mL ⁻¹)	Linearidade de resposta (R)		
	DSOA	DS	TRD
0,2 a 10,0	-	0,9979	-
0,2 a 50,0	-	0,9997	-
0,2 a 100,0	-	0,9969	-
10,0 a 100,0	1,000	-	0,9976
0,2 a 500,0	-	0,9996	-
10,0 a 500,0	0,9962	-	0,9990
0,2 a 1000,0	-	0,9998	-
10,0 a 1000,0	0,9939	-	0,9998
0,2 a 10000,0	-	0,9998	-
10,0 a 10000,0	0,9989	-	0,9993

DSOA: Dissulfoton sulfona oxigênio análogo; DS: Dissulfoton sulfona; TRD: Triadimenol.

Para todos os compostos de interesse (Quadro 2), observa-se que existe uma resposta linear do aparelho para diferentes faixas de concentração. Esta linearidade de resposta em uma grande faixa de concentração permite a utilização de padrões em concentrações um pouco distantes da amostra sem prejudicar a quantificação.

4.2 Otimização do método de análise dos princípios ativos da formulação triadimenol + dissulfoton e seus produtos de degradação em amostras de folhas, grãos e solo.

Nas etapas de otimização para que respostas mais rápidas fossem obtidas e também para economizar solventes e reagentes foram usados diferentes padrões no solo e folhas. As percentagens de recuperação obtidas nos testes de

otimização do método de análise do dissulfoton ou seus produtos de degradação foram extrapoladas para os outros compostos não testados. Foi possível fazer isso porque as respostas das análises não apresentam grandes diferenças entre os compostos.

A análise dos compostos estudados engloba várias etapas como extração, oxidação, reextração, limpeza e análise por cromatografia gasosa. Durante a etapa de oxidação, o dissulfoton e todos os compostos estudados derivados de sua oxidação são convertidos em dissulfoton sulfona ou dissulfoton sulfona oxigênio análogo e nessas formas são quantificados por cromatografia gasosa.

4.2.1 Amostras de solo

4.2.1.1 Solvente extrator

Na extração do dissulfoton e seus produtos de degradação ou do triadimenol, vários solventes são recomendados pela literatura, dentre eles pode-se citar a acetona, acetonitrila, acetato de etila, etanol, diclorometano, etc (SANDOZ AGRO LTDA, 1972; SZETO & BROWN, 1982; ALLMENDINGER, 1991; HOLSTEGE *et al.*, 1991; PAPANTONI & MATHIASSEN, 1995). Para a extração simultânea do dissulfoton, de seus produtos de degradação e do triadimenol foram testados acetona, acetonitrila e acetona:água (6:1), sendo esta última mistura escolhida em função de resultados encontrados em alguns testes prévios. A escolha dos solventes foi baseada nas características dos compostos de interesse como polaridade e afinidade pelo solvente.

Os resultados obtidos com os padrões dissulfoton sulfona, dissulfoton sulfona oxigênio análogo e triadimenol são apresentados no Quadro 3. Foram escolhidos estes padrões pelo fato deles serem as últimas formas de oxidação do dissulfoton, o que permite sua análise por cromatografia gasosa, sem passar pela etapa de oxidação.

Quadro 3: Percentagem de recuperação dos padrões em amostras de solo fortificadas, usando diferentes solventes extratores

Padrões	% Recuperação (s)		
	Acetonitrila	Acetona	Acetona:água (6:1)
DS	77,87 (5)	102,4 (3)	7,532 (0,6)
DSOA	90,92 (5)	101,4 (2)	8,455 (0,9)
TRD	70,16 (4)	74,30 (6)	10,35 (0,6)

DS: Dissulfoton sulfona; DSOA: Dissulfoton sulfona oxigênio análogo; TRD: Triadimenol; s: Estimativa do desvio padrão.

Observando-se o Quadro 3 pode-se verificar que o melhor solvente extrator para os compostos testados foi a acetona. Com este solvente obteve-se taxas de recuperação dos produtos de interesse nas amostras próximas a 100 % para os produtos derivados do dissulfoton e em torno de 75 % para o triadimenol.

4.2.1.2 Tempo de extração

O tempo de extração é um parâmetro importante na otimização de uma técnica que será empregada na extração de compostos de uma matriz. Os resultados de percentagem de extração podem se modificar em função do tempo de extração. Vários fatores interferem nesta percentagem de recuperação como, por exemplo, adsorção do produto pela matriz sólida ou extração incompleta. Para avaliar este parâmetro, seguiu-se o procedimento analítico descrito em 3.2.3.1.1.2, mudando apenas o tempo de extração de um lote de amostras para outro.

Na avaliação do melhor tempo de extração dos padrões do solo foram obtidos as percentagens de recuperação mostradas no Quadro 4. Em todos os tempos testados, em triplicatas, foram feitas três extrações sucessivas.

Quadro 4: Percentagem de recuperação dos padrões dissulfoton sulfona, dissulfoton sulfona oxigênio análogo e triadimenol em amostras de solo submetidas à diferentes tempos de extração

Padrões	% Recuperação (s)		
	3 minutos	5 minutos	10 minutos
DS	115,2 (0,5)	102,3 (4)	102,4 (3)
DSOA	109,8 (0,8)	106,9 (1)	101,4 (2)
TRD	100,9 (6)	78,7 (5)	74,3 (6)

DS: Dissulfoton sulfona; DSOA: Dissulfoton sulfona oxigênio análogo; TRD: Triadimenol; s: Estimativa do desvio padrão.

Observando-se os resultados de recuperação obtidos nos experimentos de tempo de extração, verificou-se que o dissulfoton sulfona e o dissulfoton sulfona oxigênio análogo tem resultados semelhantes para todos os tempos de extração testados. O fator determinante na escolha do solvente extrator foi a percentagem de recuperação do triadimenol, que apresentou um valor próximo a 100 % somente no tempo de 3 minutos. Este tempo de extração permite, bons resultados de extração dos padrões e análises mais rápidas.

Vários são os tempos de extração usados na literatura para o dissulfoton e seus produtos de degradação e para o triadimenol, como 5, 20 e até 60 minutos, apresentando resultados de recuperação que variam entre 80 e 110 % (HOLSTEGE *et al.*, 1991; LIAO *et al.*, 1991; SZETO & BROWN, 1982; DEJONCKHEERE, *et al.*, 1996; SPECHT, 1977).

Comparando-se os resultados desse trabalho com os apresentados pela literatura observa-se que 3 minutos, apesar de ser um tempo curto, foram suficientes para extrair quantitativamente os produtos de interesse das amostras de solo, proporcionando análises mais rápidas sem interferir negativamente nos resultados de análise.

4.2.1.3 Escolha do agente oxidante

Segundo THORNTON & ANDERSON (1968) uma etapa de oxidação torna-se necessária devido a baixa estabilidade do dissulfoton, dissulfoton oxigênio análogo, dissulfoton sulfóxido e dissulfoton sulfóxido oxigênio análogo frente as condições usadas na cromatografia gasosa e também ao baixo tempo de retenção destes compostos, especialmente dos sulfóxidos, o que faz com que eles sejam perdidos junto com o pico do solvente, dificultando a quantificação. No presente trabalho, outro fator que leva à necessidade de oxidação e quantificação do dissulfoton e seus produtos de degradação como dissulfoton sulfona e dissulfoton sulfona oxigênio análogo é a diminuição da concentração de alguns destes produtos com o tempo, dificultando a quantificação.

Na literatura o agente oxidante geralmente utilizado é o permanganato de potássio ($\epsilon = 1,69$ V) (THORNTON & ANDERSON, 1968; SANDOZ AGRO LTDA, 1972; SZETO & BROWN, 1982, RIGITANO & SOUSA, 1994). Entretanto, na procura de alternativas para obtenção de extratos mais puros e límpidos foram testados outros agentes oxidantes, como NaClO ($\epsilon = 0,89$ V) e H₂O₂ em meio neutro ($\epsilon = 1,59$ V).

Esta etapa foi realizada submetendo-se as soluções padrão de dissulfoton, dissulfoton oxigênio análogo e triadimenol à oxidação com diferentes agentes oxidantes. Após oxidação os produtos presentes na solução foram dissulfoton sulfona, dissulfoton sulfona oxigênio análogo e triadimenol. A percentagem de recuperação dos padrões, obtida após a oxidação, é mostrada no Quadro 5.

Quadro 5: Percentagem de recuperação dos padrões dissulfoton, dissulfoton oxigênio análogo e triadimenol após oxidação com diferentes agentes oxidantes

Padrões	% Recuperação (s)		
	KMnO ₄ 0,5 mol L ⁻¹	NaOCl 5-6% a quente	H ₂ O ₂ 30 %
DSF	93,04 (6)	nd	4,593 (0,1)
DOA	81,34 (5)	nd	nd
TRD	99,39 (4)	nd	46,27 (3)

DSF: Dissulfoton; DOA: Dissulfoton oxigênio análogo; TRD: Triadimenol; nd: não detectável; s: Estimativa do desvio padrão.

O único agente oxidante capaz de oxidar o dissulfoton e seus produtos de degradação à dissulfoton sulfona ou a dissulfoton sulfona oxigênio análogo, como são quantificados, com boas taxas de recuperação, foi o permanganato de potássio. Os outros produtos testados não foram capazes de realizar esta oxidação com rendimentos expressivos. O peróxido de hidrogênio não foi capaz de oxidar o dissulfoton ou seus produtos de degradação às sulfonas correspondentes em meio neutro, apesar do seu valor de potencial de oxidação ser próximo ao do permanganato de potássio. Quando esse composto é usado em meio ácido seu potencial de oxidação é maior que do próprio permanganato de potássio ($\epsilon = 1,77$ V). Entretanto, RIGITANO (informação pessoal) tem mostrado que mesmo em meio ácido, o peróxido de hidrogênio não é capaz de oxidar o dissulfoton ou seus produtos de degradação à sulfona, embora o possa para outros organofosforados, como o aldicarbe.

4.2.1.4 Solvente para a reextração

Após a etapa de oxidação com permanganato de potássio, os produtos resultantes (dissulfoton sulfona, dissulfoton sulfona oxigênio análogo e triadimenol) devem ser reextraídos da fase aquosa com solventes orgânicos, para

posterior análise por cromatografia gasosa. Para avaliar a eficiência da reextração destes produtos, diferentes solventes de polaridades semelhantes, como clorofórmio, diclorometano e éter etílico foram testados.

A escolha do solvente de reextração foi baseada na literatura, onde alguns autores utilizam na análise do triadimenol o diclorometano e na análise do dissulfoton e seus produtos de degradação o clorofórmio (SZETO & BROWN, 1982; ALLMENDIGER, 1991; RIGITANO & SOUSA; 1994). O éter etílico foi testado por apresentar uma polaridade próxima ao do diclorometano e do clorofórmio.

Os resultados obtidos no teste de recuperação para a verificação do melhor solvente para a reextração dos produtos de oxidação do dissulfoton como dissulfoton sulfona ou dissulfoton sulfona oxigênio análogo e do triadimenol, após oxidação com permanganato de potássio, são mostrados no Quadro 6.

Quadro 6: Porcentagem de recuperação dos princípios ativos e seus produtos de oxidação, após oxidação com permanganato, por diferentes solventes de reextração

Padrões	% Recuperação (s)		
	CH ₂ Cl ₂	CHCl ₃	C ₂ H ₅ -O-C ₂ H ₅
DSF	73,69 (2)	93,04 (6)	81,08 (4)
DOA	65,80 (2)	81,34 (5)	65,06 (6)
DSX	73,85 (5)	95,16 (3)	90,15 (5)
DSXOA	64,91 (3)	97,10 (5)	30,42 (4)
DS	77,59 (7)	98,46 (5)	88,66 (2)
DSOA	76,58 (5)	99,05 (2)	28,06 (2)
TRD	100,1 (3)	97,39 (4)	81,33 (4)

DSF: Dissulfoton; DOA: Dissulfoton oxigênio análogo; DSX: Dissulfoton sulfóxido; DSXOA: Dissulfoton sulfóxido oxigênio análogo; DS: Dissulfoton sulfona; DSOA: Dissulfoton sulfona oxigênio análogo; TRD: Triadimenol; s: Estimativa do desvio padrão.

Nesta etapa os produtos de degradação do dissulfoton e o próprio dissulfoton é que determinaram o solvente reextrator, pois o triadimenol apresentou bons resultados para todos os solventes usados na reextração. Assim, os melhores resultados de recuperação foram obtidos com o clorofórmio (Quadro 6). Já o éter etílico, apesar de fornecer bons resultados para alguns dos compostos estudados, apresentou muitas flutuações nos resultados.

4.2.1.5 Limpeza

Esta etapa foi feita fazendo-se eluir soluções padrão em uma coluna de vidro recheada com sílica gel. A escolha da fase estacionária foi baseada na eficiência da mesma no processo de limpeza.

Na etapa de limpeza foram testadas várias combinações de solventes, até que fosse encontrada a que fornecesse os melhores resultados de recuperação dos padrões de dissulfoton sulfona, dissulfoton sulfona oxigênio análogo e triadimenol após sua eluição. Foram escolhidos estes padrões porque eles são resultantes da etapa de oxidação. Os resultados obtidos na recuperação dos padrões, após sua eluição da coluna, estão dispostos no Quadro 7.

Quadro 7: Porcentagem de recuperação do dissulfoton sulfona, dissulfoton sulfona oxigênio análogo e triadimenol na etapa de limpeza com diferentes solventes

Padrões	% Recuperação (s)				
	EP:AC 3:2	EP:AC 1:1	ET:AC 1:1	DCM:AC 1:1	AC
DS	20,75 (2)	12,63 (1)	87,84 (5)	94,28 (5)	8,20 (0,7)
DSOA	29,34 (3)	14,31 (0,9)	97,48 (4)	99,01 (2)	93,05 (5)
TRD	98,12 (5)	97,71 (5)	99,19 (2)	98,66 (4)	89,06 (6)

DS: Dissulfoton sulfona; DSOA: Dissulfoton sulfona oxigênio análogo; TRD: Triadimenol; EP:AC: Éter de petróleo:acetato de etila; ET:AC: Éter etílico:acetato de etila; DCM:AC: Diclorometano:acetato de etila; AC: Acetato de etila; s: Estimativa do desvio padrão.

A combinação de solventes que melhor recuperou o dissulfoton sulfona, dissulfoton sulfona oxigênio análogo e triadimenol da coluna de sílica gel foi o diclorometano associado ao acetato de etila na proporção 1:1. Esta mistura proporcionou ótimos resultados de recuperação dos padrões da coluna, com valores próximos a 100 %. A eliminação dos interferentes foi feita eluindo-se a coluna com a mistura éter de petróleo:éter etílico (16:1), proposta pela literatura (SPECHT, 1977), antes da recuperação dos padrões de interesse.

A literatura apresenta vários adsorventes usados na limpeza de amostras ambientais. Dentre eles pode-se citar florisil, sílica gel, carvão magnésiano, óxido de magnésio (SZETO & BROWN, 1982; HOLSTEGE *et al.*, 1991; TEKEL & HATRÍK, 1996). Em nosso trabalho nós testamos também florisil, que apresentou bons resultados de recuperação dos padrões e eficiência nessa etapa de limpeza. Entretanto, pelo alto custo deste adsorvente e pelos resultados satisfatórios apresentados pela sílica gel, esta última foi escolhida em detrimento da outra.

Embora a etapa de limpeza tenha sido testada para as amostras de solo, ela não foi utilizada na análise das mesmas, pois a especificidade do detector e o pequeno número de interferentes fizeram com que esta etapa fosse dispensável. No entanto, esta etapa tornou-se necessária na análise das folhas, sendo testada também para este tipo de matriz.

4.2.2 Amostras de folhas

4.2.2.1 Solvente extrator

Assim como para as amostras de solo, a primeira etapa a se verificar dentro do processo de análise de agrotóxicos em matrizes foliares é a eficiência da extração que compreende duas etapas: a escolha do solvente extrator e do tempo de extração. Primeiramente foi feita a verificação do solvente que melhor extrai os compostos de interesse das amostras de folha. Para isto usou-se um tempo de extração arbitrário de 10 minutos.

Para a extração dos princípios ativos da formulação triadimenol + dissulfoton, bem como de seus produtos de degradação, de folhas de café foram utilizados vários solventes, sendo que as suas escolhas foram feitas baseadas na literatura, na polaridade dos compostos de interesse e na menor percentagem de extração da clorofila e outros interferentes (SPECHT, 1977, ALLMENDINGER, 1991; RIGITANO & SOUSA, 1994; TEKEL & HATRÍK, 1996). Na extração das amostras de folha, ao contrário da extração do solo, não foram utilizados como padrões o dissulfoton sulfona e dissulfoton sulfona oxigênio análogo, pois devido ao excesso de clorofila do extrato, a análise direta dos mesmos por cromatografia gasosa, utilizando-se uma coluna capilar, ficaria inviabilizada. Assim outros padrões puderam ser usados, sem prejuízos nos resultados. Os resultados obtidos com as extrações utilizando acetona:hexano 1:1, acetonitrila, acetona, acetonitrila:acetona 1:1, estão dispostos no Quadro 8.

Quadro 8: Porcentagem de recuperação dos padrões nas amostras de folha utilizando-se vários solventes extratores

Padrões	% Recuperação (s)			
	ACN	ACTNA: HEX 1:1	ACTNA: ACN 1:1	ACTNA
DSX	71,44 (5)	73,37 (4)	14,94 (0,8)	36,75 (3)
DSXOA	68,03 (3)	28,22 (2)	nd	11,19 (0,7)
TRD	57,29 (2)	55,02 (3)	66,87 (5)	67,90 (3)

DSX: Dissulfoton sulfóxido; DSXOA: Dissulfoton sulfóxido oxigênio análogo; TRD: Triadimenol; ACN: Acetonitrila; HEX: Hexano; ACTNA: Acetona; nd: Não detectável pela técnica utilizada; s: Estimativa do desvio padrão.

Dentre os vários solventes testados na extração das folhas de café, o que deu uma melhor percentagem de recuperação foi a acetonitrila. Este solvente apresenta a vantagem de extrair uma menor quantidade de interferentes, o que facilita o processo de análise. Apesar da vantagem na extração de amostras de folhas apresentada pela acetonitrila, vários autores utilizam outros solventes

extratores como acetato de etila, acetona, etc (SZETO & BROWN., 1982, ALLMENDINGER, 1991 e SPECHT, 1977).

4.2.2.2 Tempo de extração

Os estudos realizados para a escolha do solvente extrator em amostras de folhas mostraram que o tempo de 10 minutos não foi ideal para uma extração eficiente, apresentando taxas de recuperação média para os três produtos de 65 %, revelando assim a necessidade de verificar qual tempo de extração extrairia os compostos em estudo com maior eficiência. Para tal, foram testados tempos de 3 e 15 minutos. Os resultados podem ser vistos no Quadro 9.

Quadro 9: Percentagem de recuperação dos padrões dissulfoton sulfóxido, dissulfoton sulfóxido oxigênio análogo e triadimenol em amostras de folhas de café fortificadas, submetidas a diferentes tempos de extração

Padrões	% Recuperação (s)		
	3 minutos	10 minutos	15 minutos
DSX	76,82 (3)	71,44 (5)	97,66 (4)
DSXOA	104,8 (1)	68,03 (3)	106,7 (0,8)
TRD	74,44 (6)	57,29 (2)	85,68 (6)

DSX: Dissulfoton sulfóxido; DSXOA: Dissulfoton sulfóxido oxigênio análogo; TRD: Triadimenol; s: Estimativa do desvio padrão.

Conforme pode ser visto no Quadro 9 o melhor tempo de extração para os compostos de interesse foi 15 minutos. Com esse tempo de extração, foram conseguidos os melhores resultados de recuperação.

Na literatura são apresentados vários tempos de extração do dissulfoton, de seus produtos de degradação e do triadimenol nas análises destes produtos em amostras de folhas. Esses tempos de extração variam entre 5 a 60 minutos com percentagens de recuperação dos compostos de interesse entre 90 e 100 % (SPECHT, 1977; RIGITANO & SOUZA, 1994; ALLMENDINGER, 1991).

Entretanto nesse estudo, por se tratar de uma análise simultânea de compostos com características estruturais diferentes, como é o caso do triadimenol e do dissulfoton, os resultados obtidos podem ser considerados muito bons.

4.3 Teste de recuperação

Testes de recuperação são necessários em qualquer procedimento analítico envolvendo métodos de extração, para que se tenha certeza da eficiência do método utilizado. Para isso amostras naturais da mesma natureza das que serão analisadas são fortificadas com quantidades conhecidas dos padrões de interesse no estudo e, no final, o resultado é avaliado, ou seja, verifica-se a percentagem de recuperação de cada padrão na amostra.

4.3.1 Amostras de solo

Amostras de solos foram fortificadas com diferentes volumes das soluções padrão dos compostos estudados e então foi feita a análise total destes produtos, compreendendo etapas de extração, oxidação, reextração e análise por cromatografia gasosa. É importante salientar que as análises foram feitas em três blocos. O primeiro bloco compreendeu as amostras fortificadas com dissulfoton e dissulfoton oxigênio análogo, o segundo bloco as amostras fortificadas com dissulfoton sulfóxido e dissulfoton sulfóxido oxigênio análogo e o terceiro as amostras fortificadas com dissulfoton sulfona, dissulfoton sulfona oxigênio análogo e triadimenol. Seguiu-se este procedimento devido ao fato que, durante a oxidação, tanto o dissulfoton quanto o dissulfoton sulfóxido e o dissulfoton sulfona fornecem o mesmo composto, ou seja o dissulfoton sulfona. O mesmo acontece com o dissulfoton oxigênio análogo, com o dissulfoton sulfóxido oxigênio análogo e com o dissulfoton sulfona oxigênio análogo, que, após oxidação, convertem-se em dissulfoton sulfona oxigênio análogo. O dissulfoton sulfona e o dissulfoton sulfona oxigênio análogo são os compostos que são quantificados. No entanto, os resultados são convertidos para os respectivos

padrões adicionados às amostras de solo antes da análise.

Os resultados obtidos com os testes de recuperação das amostras de solos fortificadas são mostrados no Quadro 10.

Quadro 10: Percentagem de recuperação dos princípios ativos e seus produtos de degradação em amostras de solo fortificadas com diferentes quantidades de padrões

Padrões	% Recuperação (s)		
	1 $\mu\text{g mL}^{-1}$	10 $\mu\text{g mL}^{-1}$	50 $\mu\text{g mL}^{-1}$
DSF	71,90 (6)	60,92 (3)	85,95 (0,3)
DOA	89,99 (0,3)	64,64 (2)	84,52 (3)
DSX	96,48 (5)	71,27 (4)	111,8 (3)
DSXOA	78,33 (4)	73,92 (4)	88,02 (2)
DS	107,9 (2)	85,22 (6)	120,2 (4)
DSOA	103,6 (2)	83,42 (1)	107,2 (5)
TRD	105,7 (0,9)	68,36 (3)	103,5 (6)

DSF: Dissulfoton; DOA: Dissulfoton oxigênio análogo; DSX: Dissulfoton sulfóxido; DSXOA: Dissulfoton sulfóxido oxigênio análogo; DS: Dissulfoton sulfona; DSOA: Dissulfoton sulfona oxigênio análogo; TRD: Triadimenol; s: Estimativa do desvio padrão.

Pode-se observar pelo Quadro 10 que o método de análise do dissulfoton, dos seus produtos de degradação e do triadimenol apresentou altas percentagens de recuperação. Estes resultados permitem analisar com maior segurança os dados das análises das amostras reais, uma vez que o método permite extração e análise de quase 100 % dos produtos de interesse presentes nestas amostras. Estes resultados se assemelharam aos obtidos por outros autores quando analisaram separadamente o dissulfoton (e seus produtos de degradação) e o triadimenol em amostras de solo com diferentes características (SZETO *et al.*, 1983 e THORNTON & ANDERSON, 1968). A grande vantagem do método otimizado neste trabalho é a possibilidade de analisar simultaneamente o triadimenol, o dissulfoton e seus produtos de degradação em um único procedimento analítico, economizando assim, tempo e reagentes.

4.3.2 Amostras de folhas

Para avaliar a taxa de recuperação dos padrões, amostras de folhas sem agrotóxicos foram fortificadas com volumes variados das soluções padrão a $1000 \mu\text{g mL}^{-1}$ dos compostos. Após fortificação, as amostras foram analisadas seguindo-se as melhores condições obtidas na otimização do processo de análise, isto é extração com acetona por 15 minutos, oxidação com solução de permanganato de potássio, reextração com clorofórmio e limpeza em coluna de sílica gel, usando como solventes eluidores diclorometano e acetato de etila 1:1.

Assim como para os testes de recuperação dos padrões no solo, as análises também foram feitas em blocos que compreendiam o dissulfoton e o dissulfoton oxigênio análogo; o dissulfoton sulfóxido e o dissulfoton sulfóxido oxigênio análogo e o terceiro bloco que foi composto por amostras fortificadas com dissulfoton sulfona, dissulfoton sulfona oxigênio análogo e triadimenol. Também nessas amostras, os resultados de recuperação foram convertidos nos respectivos padrões adicionados às mesmas.

Os resultados dos testes de recuperação das amostras de folhas de café são apresentados no Quadro 11.

Quadro 11: Percentagem de recuperação dos princípios ativos e seus produtos de degradação em amostras de folhas de café fortificadas com diferentes quantidades de padrões

Padrões	% Recuperação (s)	
	1 $\mu\text{g mL}^{-1}$	10 $\mu\text{g mL}^{-1}$
DSF	107,6 (9)	77,07 (1)
DOA	86,36 (4)	79,22 (4)
DSX	101,9 (7)	83,89 (6)
DSXOA	109,6 (6)	85,16 (12)
DS	112,4 (3)	99,94 (7)
DSOA	103,0 (9)	78,46 (17)
TRD	81,67 (2)	70,08 (2)

DSF: Dissulfoton; DOA: Dissulfoton oxigênio análogo; DSX: Dissulfoton sulfóxido; DSXOA: Dissulfoton sulfóxido oxigênio análogo; DS: Dissulfoton sulfona; DSOA : Dissulfoton sulfona oxigênio análogo; TRD: Triadimenol; s: Estimativa do desvio padrão.

O teste de recuperação dos princípios ativos e seus produtos de degradação em amostras de folhas apresentou valores variando entre 70 e 115 %, estando nos limites aceitáveis pela cromatografia gasosa. As diferenças nos resultados obtidos nas diferentes concentrações são consideradas normais por se tratar de análise de traços, onde pode haver muitas fontes de erro. Além disto, a tendência é ocorrerem extrações mais quantitativas, em amostras com concentrações menores.

Assim como nos testes de recuperação das amostras de solo, os valores estão em concordância com outros métodos utilizados nas análises individuais do dissulfoton e seus produtos de degradação e do triadimenol em amostras de folhas de outras plantas utilizadas nos experimentos de ALLMENDINGER (1991), SZETO *et al.* (1983) e REED (1988). Através dos resultados do teste de recuperação das amostras de folhas de café tem-se a segurança de utilizar este método em amostras de concentrações desconhecidas.

4.3.3 Amostras de grãos

Os testes de recuperação dos princípios ativos em amostras de grãos de café, isentos de agrotóxicos, foram feitos seguindo-se a metodologia utilizada nas amostras de folhas. Assim como para as amostras de solo e folhas, as análises foram feitas em blocos como descrito anteriormente. Os resultados obtidos nos testes de recuperação dos padrões em amostras de grãos de café podem ser vistos no Quadro 12.

Quadro 12: Percentagem de recuperação dos princípios ativos e seus produtos de degradação em amostras de grãos de café fortificadas com os mesmos

Padrões	% Recuperação (s)
	500 ng mL ⁻¹
DSF	93,83 (4)
DOA	86,61 (6)
DSX	93,54 (6)
DSXOA	98,48 (8)
DS	99,74 (6)
DSOA	90,06 (4)
TRD	93,98 (2)

DSF: Dissulfoton; DOA: Dissulfoton oxigênio análogo; DSX: Dissulfoton sulfóxido; DSXOA: Dissulfoton sulfóxido oxigênio análogo; DS: Dissulfoton sulfona; DSOA : Dissulfoton sulfona oxigênio análogo; TRD: Triadimenol; s: estimativa do desvio padrão.

Os resultados aqui apresentados são tão bons quanto os obtidos nas amostras de folhas e solos. Outros autores analisando separadamente o dissulfoton e seus produtos de degradação e o triadimenol em amostras de cereja, uva, laranja e banana obtiveram resultados semelhantes na recuperação dos padrões nestas amostras com valores variando entre 85 e 100 % (PAUL, 1982; LIAO *et al.*, 1991 e ZAMBOLIM *et al.*, 1993).

4.4. Amostras coletadas

4.4.1 Amostras de solos

4.4.1.1 Região de Viçosa

Conhecer as características do solo utilizado no experimento é importante, uma vez que o solo tem grande influência na degradação dos agrotóxicos aplicados ao mesmo (REDONDO *et al.*, 1996; RAWLINSON *et al.*, 1981). Para obtenção destes dados, as amostras de solo coletadas na região de Viçosa foram analisadas pelo Laboratório de Análise de Solo de Rotina e de Física do Solo da Universidade Federal de Viçosa, seguindo-se as metodologias propostas por EMBRAPA (1979). Os resultados encontrados são mostrados no Quadro 13.

Quadro 13: Características do solo utilizado no experimento de Viçosa

Areia (%)	45
Silte (%)	14
Argila (%)	41
pH (H ₂ O)	6,4
Matéria orgânica (%)	4,77
CTC _{efetiva} (cmol _c /dm ³)	6,98
CTC _{total} (cmol _c /dm ³)	8,18

Onde: CTC: Capacidade de troca catiônica.

Das características do solo mostradas no Quadro 13, as que têm maior influência na disponibilidade de agrotóxicos no solo são o teor de matéria orgânica e o teor de argila. Essas frações são as grandes responsáveis pela adsorção de compostos ao solo. Solos com maior teor de matéria orgânica e/ou argila adsorvem em maior quantidade os agrotóxicos, impedindo sua

translocação e lixiviação a curto prazo. Outra característica que poderia influenciar o comportamento dos agrotóxicos no solo é o pH do mesmo, principalmente em se tratando de compostos iônicos, o que não é o caso do dissulfoton, de seus produtos de degradação e do triadimenol (SOCCOL *et al.*, 1995; REDONDO *et al.*, 1996).

Além das características do solo, o índice pluviométrico durante o experimento também é outro fator que tem influência no comportamento de agrotóxicos no solo. A quantidade de chuva influencia na liberação dos princípios ativos, triadimenol e dissulfoton, do grânulo e conseqüentemente sua degradação no solo e absorção pela planta. Em função disto, durante o experimento, estes dados foram obtidos no Laboratório de Meteorologia da Universidade Federal de Viçosa e podem ser visualizados na Figura 5.

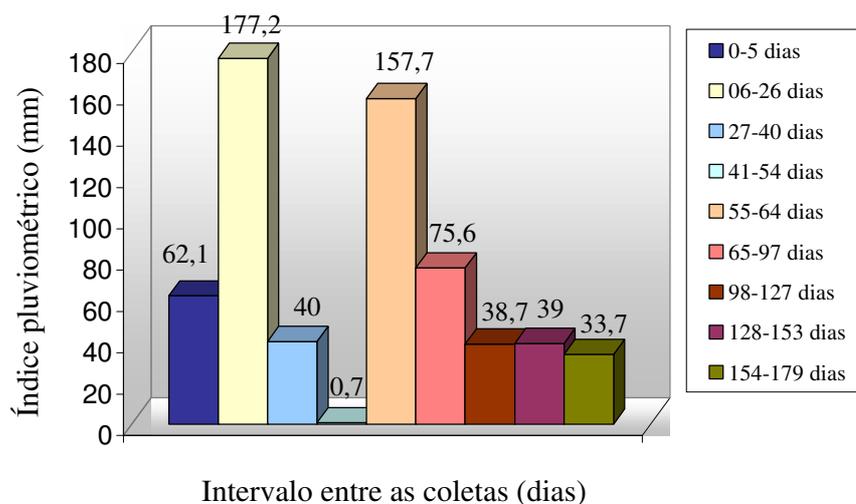


Figura 5. Índice pluviométrico observado durante os intervalos das coletas das amostras de solos e folhas, no experimento de Viçosa.

Observa-se na Figura 5, dois períodos de grande intensidade de chuvas, entre o 6^o e o 26^o dias e entre o 55^o e 64^o dias após a aplicação do produto. Houve apenas um período de baixa intensidade de chuva, durante o qual a liberação e movimentação dos princípios ativos, triadimenol + dissulfoton, pode ter sido

prejudicada. O índice pluviométrico foi monitorado durante o experimento para melhor correlação com os resultados das amostras.

Amostras de solos coletadas periodicamente foram submetidas à análise de resíduos de dissulfoton sulfona, dissulfoton sulfona oxigênio análogo e triadimenol. No Quadro 14 podem ser visualizados os resultados destas análises no solo, ao longo de 190 dias após a aplicação da formulação triadimenol + dissulfoton.

Quadro 14: Concentração de dissulfoton sulfona, dissulfoton sulfona oxigênio análogo e triadimenol presentes no solo de Viçosa, ao longo de 180 dias

Dias de coleta após a aplicação do produto	Concentração média ($\mu\text{g g}^{-1}$ de peso seco) (s)		
	DS	DSOA	TRD
5	8,681 (0,82)	0,2887 (0,052)	3,355 (0,29)
40	3,054 (0,58)	0,07636 (0,017)	2,377 (0,16)
64	0,9111 (0,062)	0,03189 (0,002)	1,832 (0,11)
97	0,1998 (0,072)	0,06821 (0,013)	1,191 (0,16)
127	1,411 (0,51)	0,02866 (0,007)	0,8859 (0,036)
153	0,2022 (0,17)	0,005470 (0,004)	0,6461 (0,024)
189	0,3273 (0,0085)	0,004233 (0,003)	0,9318 (0,047)

DS: Dissulfoton sulfona; DSOA: Dissulfoton sulfona oxigênio análogo; TRD: Triadimenol; s: Estimativa do desvio Padrão.

Os cromatogramas dos extratos de amostras de solos coletadas ao longo do período de estudos (190 dias) estão representados na Figura 6. Nestes cromatogramas estão as respostas do equipamento à presença do dissulfoton sulfona oxigênio análogo total, triadimenol A e B e dissulfoton sulfona total representados pelos números 1, 2, 3 e 4, respectivamente. As análises foram feitas usando a razão de divisão de 1:5.

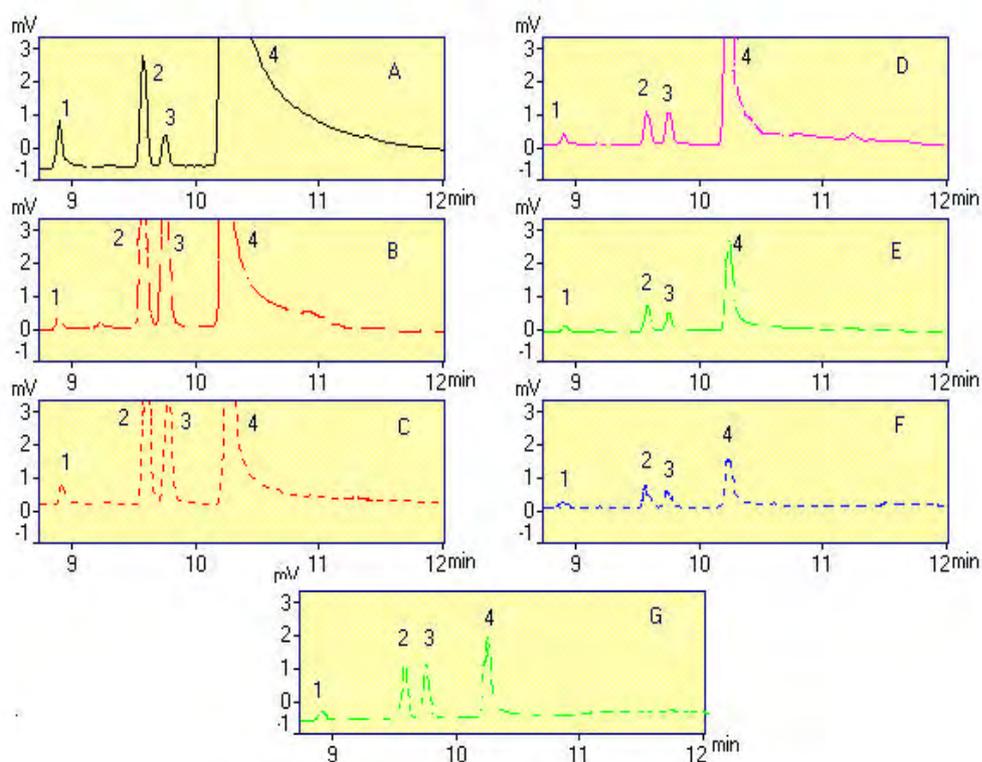


Figura 6: Cromatogramas dos extratos de amostras de solos coletadas em Viçosa ao longo de 190 dias. Amostras coletadas em:, A= 5^o dia após a aplicação da formulação triadimenol + dissulfoton; B= 40^o dia; C= 64^o dia; D= 97^o dia; E= 127^o dia; F= 153^o dia; G= 189^o dia. Onde 1- t_R = 8,9 min: Dissulfoton sulfona oxigênio análogo, 2- t_R = 9,6 min: Triadimenol A, 3- t_R = 9,7 min: Triadimenol B e 4- t_R = 10,2 min: Dissulfoton sulfona.

A comparação dos picos nos cromatogramas da Figura 6 com as áreas dos picos do cromatograma dos padrões permitiu calcular as concentrações de cada um dos compostos, que estão mostradas no Quadro 14. Esses resultados mostram a evolução dos resíduos dos compostos derivados do dissulfoton e do triadimenol durante os 190 dias do experimento de Viçosa. É importante salientar que nunca havia sido aplicada a formulação triadimenol + dissulfoton na área em estudo, antes deste experimento.

Segundo HARRIS *et al.* (1988) a taxa de decomposição de formulações granuladas medida no campo, não é uma constante física para um conjunto tipo de solo versus agrotóxico. Seus resultados mostram que não é possível prever uma lista de persistência de formulações granulares baseada na sua taxa de

decomposição, mesmo quando se utiliza um tipo de solo homogêneo mantido na mesma localização geográfica.

Alguns valores mais altos de desvio padrão, obtidos neste experimento (Quadro 14), podem ser explicados, de acordo com HARRIS *et al.* (1988), por se tratar de estudos com compostos granulados. Segundo este autor, análises de compostos granulados incorporados ao solo são mais variáveis do que aquelas de solos tratados com pós, químicos puros e líquidos. Isso porque este tipo de produto é lentamente liberado do grânulo e transportado para a planta. Os fatores que mais influenciam esta liberação e transporte são o teor de umidade do solo e a polaridade dos compostos (RIGITANO & SOUZA, 1994; KRAUS, 1981).

Pelo Quadro 14, verifica-se que há uma tendência de diminuição dos resíduos com o passar do tempo, o que era esperado. Entretanto valores discrepantes aparecem em algumas datas de coleta, sobretudo para o triadimenol aos 189 dias após a aplicação do produto. Isso provavelmente se deu por problemas durante a aplicação do produto. Por se tratar de um composto granulado e aplicado em pequenas dosagens por planta, existe a dificuldade de homogeneização do produto nos sulcos. Outro fator que pode ter gerado erros é a possibilidade de, durante a amostragem, coletar em um lugar do sulco onde havia sido aplicado mais produto comercial que em outro.

Uma melhor visualização do comportamento dos compostos derivados do dissulfoton no solo, pode ser obtida nas Figuras 7 e 8.

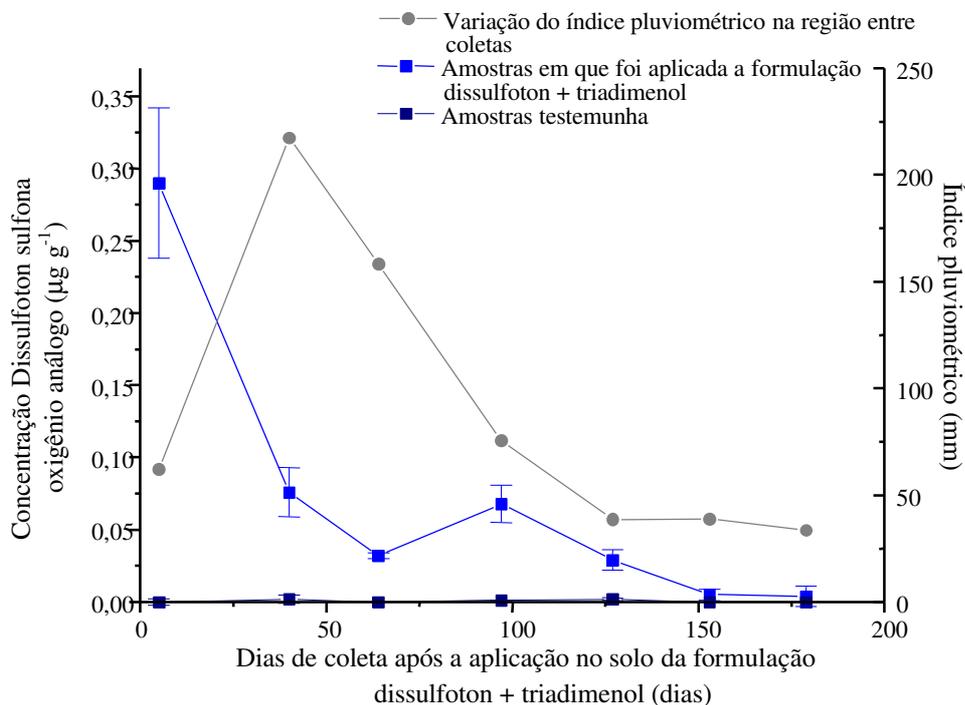


Figura 7: Avaliação da concentração do Dissulfoton sulfona oxigênio análogo total (dissulfoton oxigênio análogo + dissulfoton sulfóxido oxigênio análogo + dissulfoton sulfona oxigênio análogo) no solo, ao longo de 190 dias, comparado ao índice pluviométrico durante o experimento de Viçosa.

Verifica-se pela Figura 7, que com o aumento da quantidade de chuva no início do experimento, há uma rápida diminuição na concentração de dissulfoton sulfona oxigênio análogo total até 64 dias após a aplicação do produto comercial triadimenol + dissulfoton no solo. Esta tendência se repete ao longo de todo experimento, onde há uma diminuição do teor de resíduos com o tempo. A partir do 127^o após a aplicação do produto no solo, a quantidade de chuva parece não influenciar na diminuição de resíduos, uma vez que a primeira se torna praticamente constante.

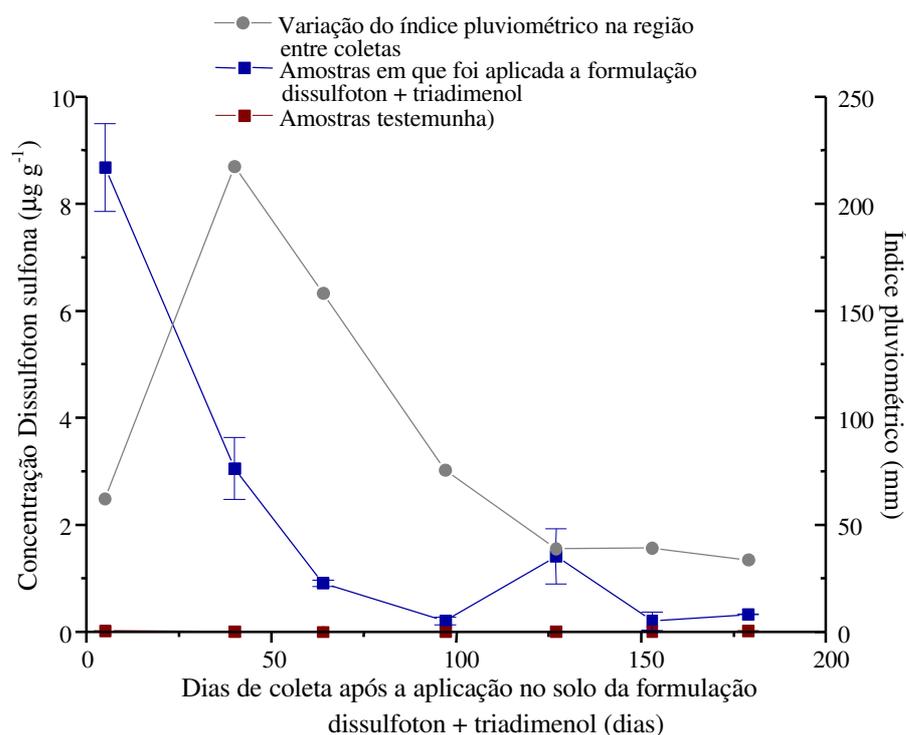


Figura 8: Avaliação da concentração do Dissulfoton sulfona total (dissulfoton + dissulfoton sulfóxido + dissulfoton sulfona) no solo, ao longo de 190 dias, comparado ao índice pluviométrico durante o experimento de Viçosa.

Assim como para o dissulfoton sulfona oxigênio análogo total, a concentração de dissulfoton sulfona total diminui rapidamente no início do experimento com o aumento da quantidade de chuva, seguindo esta tendência durante todo experimento. Algumas discrepâncias aparecem aos 127 e 189 dias após a aplicação do produto comercial no solo, mas podem ser atribuídas à dificuldade de realizar uma aplicação e uma coleta homogênea nos sulcos, por se tratar de um produto granulado.

A taxa de desaparecimento dos compostos, dissulfoton sulfona e dissulfoton sulfona oxigênio análogo total, estão de acordo com o índice pluviométrico entre os intervalos das coletas, principalmente no início do experimento.

Uma comparação da variação na concentração de dissulfoton sulfona

total comparada a de dissulfoton sulfona oxigênio análogo total pode ser feita pela análise da Figura 9.

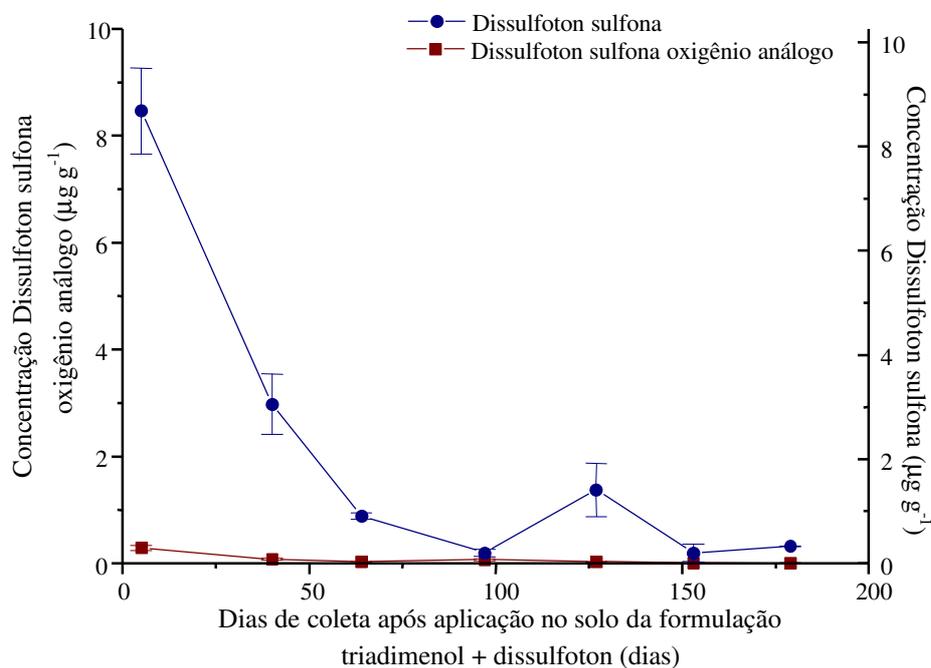


Figura 9: Avaliação das concentrações de dissulfoton sulfona e dissulfoton sulfona oxigênio análogo totais no solo, ao longo de 190 dias.

Observa-se pela Figura 9, que o comportamento do dissulfoton sulfona oxigênio análogo total no solo ao longo de 190 dias após a aplicação da formulação triadimenol + dissulfoton, é semelhante ao comportamento do dissulfoton sulfona total. Entretanto teores bem maiores do primeiro são observados ao longo de todo experimento. Esta diferença não era esperada, pois o dissulfoton sulfona oxigênio análogo é a última forma de degradação ativa do dissulfoton (THORTON & ANDERSON, 1968). Por isto pode-se sugerir que o tempo necessário para a conversão do dissulfoton, dissulfoton sulfóxido ou dissulfoton sulfona aos seus correspondentes oxigênio análogo no solo não foi suficiente, já que estas transformações se dá por microrganismos (CHICHESTER, 1965). Outra possibilidade seria a de os compostos oxigênio análogos formados serem absorvidos rapidamente pela planta, fazendo com que mais dissulfoton, dissulfoton sulfóxido ou dissulfoton sulfona sejam formados para que o equilíbrio seja mantido. Teores de dissulfoton sulfona total superiores

aos de dissulfoton sulfona oxigênio análogo total só eram esperados no início do experimento, uma vez que, quando aplicado ao solo, o dissulfoton é transformado em dissulfoton sulfóxido e daí em dissulfoton sulfona (IBRAHIM *et al.*, 1969 e ANDRÉA, 1986).

A presença de resíduos dos produtos de degradação do dissulfoton até 189 dias após a aplicação da formulação comercial triadimenol + dissulfoton no solo está de acordo com ACUNÃ (1996) que verificou a persistência desse produto de um ano para o outro em alguns solos brasileiros.

A diminuição na concentração tanto de dissulfoton sulfona total quanto de dissulfoton sulfona oxigênio análogo total está também em concordância com os resultados apresentados por CHAPMAN *et al.* (1994), SINGH *et al.* (1983) e SZETO *et al.* (1983).

CHAPMAN *et al.* (1994), após a aplicação de Di-syston 15 G na dosagem de 3,36 kg de dissulfoton/hectare plantado com batata, obtiveram um máximo de dissulfoton sulfona no tempo 0, com valores em torno de 20 $\mu\text{g g}^{-1}$. Estes autores monitoraram simultaneamente o desaparecimento do dissulfoton e o aparecimento do dissulfoton sulfóxido e dissulfoton sulfona com o passar do tempo. Já na dosagem de 2,0 kg ingrediente ativo/hectare, o máximo ficou em torno de 14 $\mu\text{g g}^{-1}$, observando-se persistência do produto até 12 semanas após a aplicação, assim como aconteceu com a dosagem de 3,36 kg de ingrediente ativo/hectare. Estes autores observaram também que a degradação é mais rápida para dosagens menores, o que justifica a abrupta diminuição na concentração de dissulfoton sulfona total e dissulfoton sulfona oxigênio análogo total entre a primeira e a segunda coleta em nosso experimento. Entretanto, os valores puros não podem ser comparados, pois a degradação de agrotóxicos depende de fatores, como características do solo (tipo de solo, pH, teor de argila, matéria orgânica) e índice pluviométrico, e esses são diferentes nos dois experimentos. As características do solo utilizado por CHAPMAN *et al.* (1994) são: teor de matéria orgânica igual a 3,5 %, areia 57 %, silte 23 % e argila 20 %. As maiores diferenças entre o solo utilizado no nosso experimento em Viçosa e o solo utilizado por CHAPMAN *et al.* (1994) estão nos teores de argila e matéria

orgânica, que possuem grande influência na disponibilidade deste tipo de composto no solo. A matéria orgânica possui grupos carboxilas e fenólicos dentre outros, que são responsáveis pela adsorção de agrotóxicos e outros compostos. Assim como a matéria orgânica, a fração argila também possui grupamentos hidroxila que ajudam na adsorção de alguns agrotóxicos, embora não tenha grande influência no caso do triadimenol e do dissulfoton. Já a umidade do solo, gerada pela chuva, favorece a liberação do composto do grânulo para a solução do solo, onde está mais susceptível à movimentação e a degradação pôr microrganismos (RAWLINSON *et al.*, 1982; REDONDO *et al.*, 1996; SOCCOL, *et al.*, 1995).

SINGH *et al.* (1983), após aplicação de várias dosagens de Solvirex 5 G que variaram entre 1,0 e 2,5 kg de dissulfoton/hectare plantado de feijão, observaram através de microbioensaios e ensaios colorimétricos, concentrações de dissulfoton total (dissulfoton + dissulfoton sulfóxido + dissulfoton sulfona + dissulfoton sulfóxido oxigênio análogo + dissulfoton sulfona oxigênio análogo) variando entre 9,75 e 0 $\mu\text{g g}^{-1}$ na dosagem de 1,0 kg de ingrediente ativo/ha. Após a aplicação de 1,5 kg de dissulfoton/ha obtiveram concentrações de dissulfoton total de 13,15; 7,90; 6,86; 3,81; 1,41 e 0 $\mu\text{g g}^{-1}$ aos 0, 5, 10, 20, 40 e 66 dias, respectivamente. Apesar de, no presente trabalho, também ter sido usada a dosagem de 1,5 kg de dissulfoton/ha, os valores obtidos em nosso experimento estão um pouco maiores que os obtidos por SINGH *et al.* (1983), mas isto pode ser justificado por se tratar de culturas diferentes, no caso feijão e café, com sistemas de absorção diferentes. Isso pode ser enfatizado pelo menor tempo de permanência no solo do dissulfoton total encontrado por SINGH *et al.* (1983) em seu experimento, que foi 66 dias após a incorporação do produto ao solo, enquanto no presente trabalho foram encontrados resíduos de dissulfoton sulfona total em quantidades consideráveis aos 190 dias após a aplicação, quando aplicado o produto comercial triadimenol + dissulfoton. SINGH *et al.* (1983) verificaram que dosagens maiores apresentam valores diferentes nas concentrações de dissulfoton total, somente nos primeiros 20 dias. Após este período, os valores foram uniformes para quaisquer dosagens utilizadas.

SZETO *et al.* (1983) utilizando o Di-syston 15 G na dosagem de 0,5 kg de dissulfoton/hectare cultivado de aspargo, observaram teores de dissulfoton total que iniciaram com 2,13 $\mu\text{g g}^{-1}$ após 14 dias da aplicação, decaindo rapidamente para 1,33 $\mu\text{g g}^{-1}$ aos 21 dias após a aplicação do produto no solo. Estes autores observaram resíduos de dissulfoton total até 147 dias após a data de aplicação, enquanto que no presente trabalho foram observados resíduos até 189 dias após a aplicação. Isso pode ser justificado pelas diferentes características do solo utilizado por SZETO *et al.* (1983) no seu experimento (teor de matéria orgânica igual a 1,2 %; pH 6,8; areia 68,3 %; silte 25,2 % e argila 5,3 %) e também por se tratar de diferentes culturas (café e aspargo).

Assim como para o dissulfoton sulfona oxigênio análogo e para o dissulfoton sulfona, o comportamento do triadimenol ao longo do tempo também foi monitorado e comparado ao índice pluviométrico durante o experimento. Os resultados podem ser observados na Figura 10.

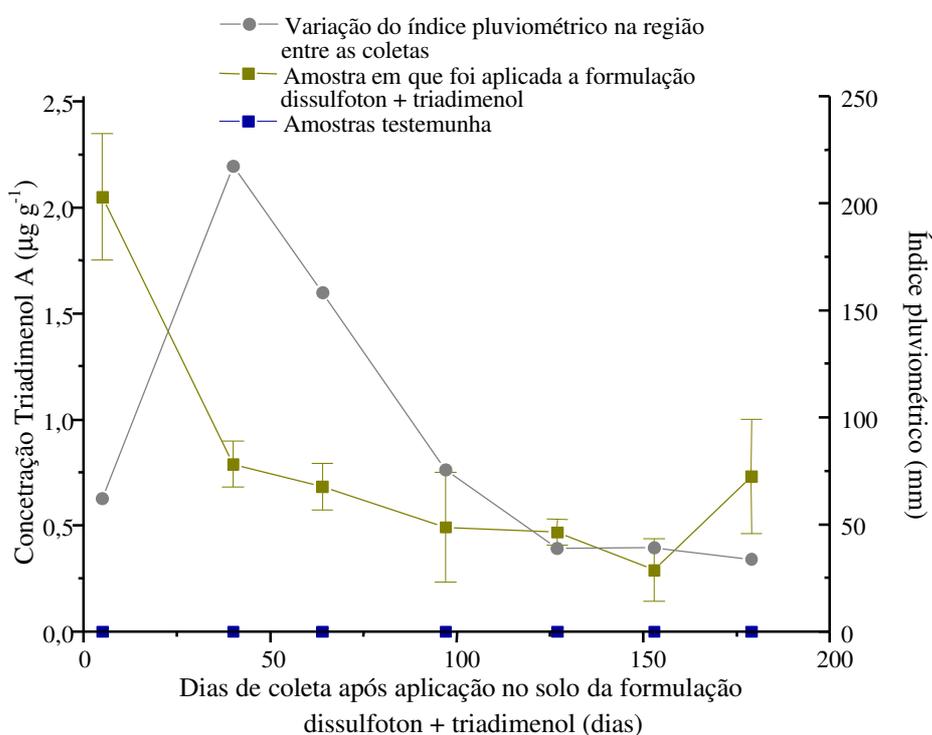


Figura 10: Avaliação da concentração do triadimenol no solo ao longo de 190 dias, comparado ao índice pluviométrico durante o experimento de Viçosa.

Pela Figura 10 podemos verificar que o teor de resíduos de triadimenol tem um forte decréscimo nos primeiros 40 dias e continua decaindo até o 150^o dia, quando então tem um aumento. Entre a coleta do 97^o e 127^o dias após a aplicação, o teor de triadimenol no solo praticamente não se alterou, apesar de uma diferença na quantidade de chuva nesse período. Após 127 dias da aplicação, o índice pluviométrico parece não influenciar nas concentrações de triadimenol no solo. O aumento do teor de triadimenol no solo após 189 dias após a aplicação do produto comercial, segue a tendência do dissulfoton sulfona e dissulfoton sulfona oxigênio análogo totais, o que nos leva a acreditar que pode estar relacionado com o problema de coleta das amostras.

Segundo RAWLINSON *et al.* (1982) os teores de resíduos de triadimenol diminuem nos primeiros meses do experimento, devido a degradação e ao metabolismo de microrganismos do solo e possivelmente pela lixiviação resultante de uma precipitação elevada. Por outro lado, trabalhos recentes mostram que o triadimenol não sofre lixiviação no solo (MATRANGOLO, 1998)

Assim como em nosso trabalho, onde foram encontrados resíduos de triadimenol em solo utilizado na cultura do café, outros autores também encontraram este tipo de resíduo em solos utilizados em outras culturas. Pode-se citar ZAMBOLIM *et al.* (1993) que estudaram a presença de resíduos de triadimenol em solo utilizado em plantações de banana, quando aplicado a dosagem de 0,75 g ingrediente ativo/touceira. Estes autores verificaram que após um mês da última aplicação os teores de triadimenol variavam entre 3,0 e 4,79 $\mu\text{g g}^{-1}$ dependendo do número de aplicações e da época da aplicação. Já por ocasião da colheita do cacho de banana (maio e junho) foram encontrados no solo, concentrações de triadimenol que variavam entre 0,15 e 2,98 $\mu\text{g g}^{-1}$ conforme o número de aplicações do produto.

FREDERICK *et al.* (1994), após aplicação de triadimenol na dosagem de 1,4 kg/ha de solo, verificaram que após 20 dias da aplicação não havia mais a presença do produto no solo, provavelmente devido a alta população microbiana nele existente, o que facilitaria a sua degradação. Estes autores verificaram

também, que a degradação no solo é mais rápida do que em outras matrizes como as gramíneas.

COLE *et al.* (1987) realizaram vários estudos objetivando a verificação da presença de triadimenol no solo, quando submetido a diferentes tipos de plantações e sistemas de rotação de culturas. Assim, após dois meses da aplicação do produto comercial no solo, verificaram que havia uma média de 0,2; 0,4 e 0,7 $\mu\text{g g}^{-1}$ de triadimenol para as dosagens aplicadas de 0,5; 1,0 e 2,0 g m^{-2} , respectivamente. Quando cultivaram fumo quatro anos sucessivos no mesmo canteiro, verificaram que os valores variavam entre 1,0 e 1,4 $\mu\text{g g}^{-1}$, 2 dias após a aplicação e entre 0,1 e 0,2 $\mu\text{g g}^{-1}$, um ano após a última aplicação. Quando fizeram rotação de culturas utilizando fumo e grama, houve uma redução nos resíduos de um ano para outro. Entretanto dois dias após a última aplicação, os teores de resíduos de triadimenol aumentaram em relação ao experimento onde havia sido usado a monocultura de fumo, variando entre 1,6 e 2,4 $\mu\text{g g}^{-1}$, de acordo com o número de anos em que a grama foi plantada (1 ou 2 anos).

ALBUQUERQUE *et al.* (1998), verificando a persistência do triadimenol em diferentes solos com e sem acréscimo de matéria orgânica, após a aplicação de 375 mg de triadimenol/kg de solo, encontraram resíduos variando entre 100 e 220 $\mu\text{g g}^{-1}$, dependendo do solo estudado, Latossolo Vermelho Amarelo variação Una ou Podzólico Vermelho Amarelo câmbico, e da adição ou não de composto orgânico.

O decréscimo aparentemente baixo na concentração de triadimenol no solo traz problemas como um acúmulo gradual deste fungicida na camada superficial de solos aráveis. Se estratégias de uso de diferentes fungicidas e variedades resistentes não forem utilizadas para limitar o aumento do uso de fungicidas com alta persistência, então esta característica de persistência no solo deve ser levada em consideração para a utilização do produto (RAWLINSON *et al.*, 1982).

Segundo COLE *et al.* (1987), quantidades de resíduos de triadimenol relativamente pequenas podem afetar o uso de uma área, devido à má fixação de

nitrogênio; retardamento do crescimento de coleópteras, de folhas primárias e raízes de mudas de cevada e inibição da elongação do talo de plantas de fumo.

A Figura 8 e 10 e o Quadro 14 mostram que até aos 189 dias após a data da aplicação da formulação triadimenol + dissulfoton, há resíduos de dissulfoton sulfona total e triadimenol em quantidades consideráveis no solo. Estes dados são preocupantes, principalmente os que dizem respeito aos derivados do dissulfoton, que são muito tóxicos, pois neste experimento foi utilizada somente a metade da dosagem recomendada pelo fabricante para o espaçamento de cultura de 3 x 2 m.

4.4.1.2 Região de Manhuaçu

Assim como para as amostras de solo coletadas em Viçosa, as amostras de solo coletadas na região de Manhuaçu foram analisadas pelos Laboratórios de Rotina e de Física do Solo da Universidade Federal de Viçosa para a verificação das suas principais características físicas, químicas e texturais. Os resultados destas análises estão contidas no Quadro 15.

Quadro 15: Características do solo utilizado no experimento de Manhuaçu

Areia (%)	58
Silte (%)	10
Argila (%)	32
pH (H ₂ O)	5,7
Matéria orgânica (%)	3,68
CTC _{efetiva} (cmol _c /dm ³)	3,29
CTC _{total} (cmol _c /dm ³)	7,59

Onde: CTC: Capacidade de troca catiônica

Verifica-se pelos resultados mostrados no Quadro 15, que o solo utilizado no experimento de Manhuaçu, apresenta um alto teor de areia e um teor médio de argila e matéria orgânica, que são as maiores responsáveis pela

adsorção de agrotóxicos no solo (SOCCOL *et al.*, 1995). As características do solo do experimento de Manhuaçu são um pouco diferentes das características do solo utilizado no experimento de Viçosa, com teores de matéria orgânica, argila e pH mais baixos do que em Viçosa. Isto pode acarretar diferenças no comportamento dos agrotóxicos estudados nos dois solos.

No experimento de Manhuaçu foi feita apenas uma coleta, aproximadamente 270 dias após a última aplicação do produto comercial com formulação triadimenol + dissulfoton no solo, na dosagem de 50 kg/hectare. A lavoura utilizada no estudo vem sofrendo aplicações sucessivas da associação triadimenol + dissulfoton a vários anos. Os resíduos de dissulfoton sulfona, dissulfoton sulfona oxigênio análogo totais e triadimenol encontrados no solo coletado em Manhuaçu, estão contidas no Quadro 16.

Quadro 16: Concentração de dissulfoton sulfona, dissulfoton sulfona oxigênio análogo e triadimenol encontrados em amostras de solo da região de Manhuaçu

Coleta após a aplicação do produto (dias)	Concentração média ($\mu\text{g g}^{-1}$ de peso seco) (s)		
	DS	DSOA	TRD
270	0,05220 (0,158)	0,001182 (0,002)	0,3288 (0,0081)

DS: Dissulfoton sulfona; DSOA: Dissulfoton sulfona oxigênio análogo; TRD: Triadimenol; s: Estimativa do desvio padrão.

Pode-se verificar pelos dados apresentados no Quadro 16 que, apesar da lavoura de café estudada em Manhuaçu ter um histórico de aplicações sucessivas da formulação triadimenol + dissulfoton, baixas concentrações de triadimenol e dos derivados oxidados do dissulfoton, o dissulfoton sulfona e o dissulfoton sulfona oxigênio análogo foram obtidas a aproximadamente 270 dias após a última aplicação do produto comercial. Estes resultados não estão de acordo com os obtidos por HARRIS *et al.* (1988) que, usando aplicações de Di-Syston 15 G de aproximadamente 1,1 kg de dissulfoton/hectare/ano, encontrou no seu primeiro ano de estudo um máximo de cerca de $3,0 \mu\text{g g}^{-1}$ de dissulfoton sulfona,

sendo observado valores de $1,1 \mu\text{g g}^{-1}$ no terceiro ano de tratamento. Esta diferença pode ser justificada pelos tipos de solo utilizados nos dois experimentos, uma vez que as características do solo utilizado por HARRIS *et al.* (1988) são muito diferentes (Argila: 12%, Silte 21%, Areia: 66%, Matéria orgânica: 4% e pH: 7,5) daquelas mostradas no Quadro 15, sobretudo o teor de argila e o pH do solo, que têm grande influência no comportamento dos compostos nele presentes. Outro fator que pode influenciar neste resultados é a umidade dos solos.

Segundo ALEXANDER (1994) há uma maior taxa de degradação de agrotóxicos como 2,4-D, propham, glifosate e simazine, em solos com histórico de aplicações, do que naqueles que não sofreram aplicações sucessivas. Para verificar se o mesmo acontece com o triadimenol e o dissulfoton, outros estudos tem que ser realizados.

Observando-se os resultados mostrados nos Quadros 14 e 16 referentes a Viçosa e Manhuaçu, respectivamente, verifica-se que há uma maior persistência nos solos do experimento de Viçosa após 190 dias da aplicação, do que no de Manhuaçu, quando a coleta aconteceu a aproximadamente 270 dias após a última aplicação do produto comercial. Apesar de se tratar de tempos de amostragem diferentes, pode-se dizer que o tipo de solo no qual a formulação dissulfoton + triadimenol foi aplicada influenciou grandemente na degradação dos produtos, o que está em acordo com REDONDO *et al.* (1996) e RAWLINSON *et al.* (1982). Segundo estes autores a matéria orgânica é a grande responsável pela adsorção de compostos como dissulfoton e triadimenol, bem como de seus produtos de degradação. Entretanto outros agrotóxicos podem ser adsorvidos também pela fração argila do solo. No solo utilizado em Manhuaçu, o teor de matéria orgânica é menor do que no de Viçosa, provavelmente pelo fator diluição, uma vez que em Viçosa o solo foi coletado na profundidade de 0-10 cm enquanto que em Manhuaçu foi na profundidade de 0-20 cm.

De acordo com RAWLINSON *et al.* (1982), o triadimefon e seus metabólitos, dentre eles o triadimenol, quando aplicados na dosagem de 2,0 kg de

ingrediente ativo/ha, permanecem muito tempo no solo, sendo observada a presença de resíduos até 3 anos após a data da aplicação.

O valor encontrado para o teor de triadimenol no solo do experimento de Manhauçu está bem abaixo dos valores encontrados por COLE *et al.* (1987), quando analisaram resíduos deste produto em solos cultivados com várias plantas de cobertura como grama e fumo, as quais foram plantadas alternadamente por vários anos. Estes autores encontraram um ano após a última aplicação, nas dosagens de 0,5; 1,0 e 2,0 g m⁻² de solo, teores de triadimenol que variavam de 0,1 a 0,7 µg g⁻¹. Dentro de um mesmo sistema de cultura, no caso fumo, observaram que houve um decréscimo dos resíduos em relação ao primeiro ano da aplicação. A diferença nos teores de resíduos entre o nosso experimento e o destes autores pode ser justificada pela dosagem muito maior utilizada por COLE *et al.* (1987) e também pelo tipo de cultura, uma vez que o sistema de absorção é um pouco diferente, por se tratar de culturas de ciclo curto (fumo) e longo (café).

4.4.2 Amostras de folhas

Compostos sistêmicos são aplicados no solo e translocados para a planta, onde vão atuar no controle de pragas. Para verificar a eficiência da translocação e persistência nas folhas da formulação triadimenol + dissulfoton, bem como de seus compostos de degradação, resíduos de dissulfoton sulfona total, dissulfoton sulfona oxigênio análogo total e triadimenol foram monitorados ao longo de 190 dias nas amostras de Viçosa e após aproximadamente 270 dias da última aplicação, nas amostras de Manhauçu.

4.4.2.1 Região de Viçosa

Assim como para as amostras de solo, os resíduos de dissulfoton sulfona, dissulfoton sulfona oxigênio análogo e triadimenol foram monitorados em folhas de café por 190 dias após a aplicação no solo da formulação triadimenol + dissulfoton. Os resultados obtidos são mostrados no Quadro 17.

Quadro 17: Concentrações de dissulfoton sulfona, dissulfoton sulfona oxigênio análogo e triadimenol encontradas em folhas de café coletadas ao longo de 190 dias

Dias de coleta após a aplicação do produto	Concentração média ($\mu\text{g g}^{-1}$ de peso seco) (s)		
	DS	DSOA	TRD
5	0,04917 (0,0022)	0,04058 (0,0098)	0,06047 (0,004)
26	0,1161 (0,0050)	0,3043 (0,043)	0,08754 (0,003)
40	0,2104 (0,0050)	0,8512 (0,062)	0,1656 (0,004)
54	0,05013 (0,0012)	0,06474 (0,0028)	0,1557 (0,001)
64	0,04919 (0,00082)	0,1864 (0,0058)	0,3683 (0,020)
97	0,05749 (0,0018)	0,4299 (0,0017)	0,1552 (0,0021)
127	0,03423 (0,0036)	0,2703 (0,015)	0,1667 (0,033)
153	0,02837 (0,0046)	0,05040 (0,0020)	0,06664 (0,009)
189	0,05647 (0,0031)	0,2950 (0,0084)	0,1809 (0,006)

DS: Dissulfoton sulfona; DSOA: Dissulfoton sulfona oxigênio análogo; TRD: Triadimenol; s: Estimativa do desvio padrão.

Na Figura 10 estão representados os cromatogramas dos extratos foliares ao longo de todo experimento de Viçosa, cujos resultados foram mostrados no Quadro 17. As análises foram feitas usando o modo de injeção sem divisão de fluxo.

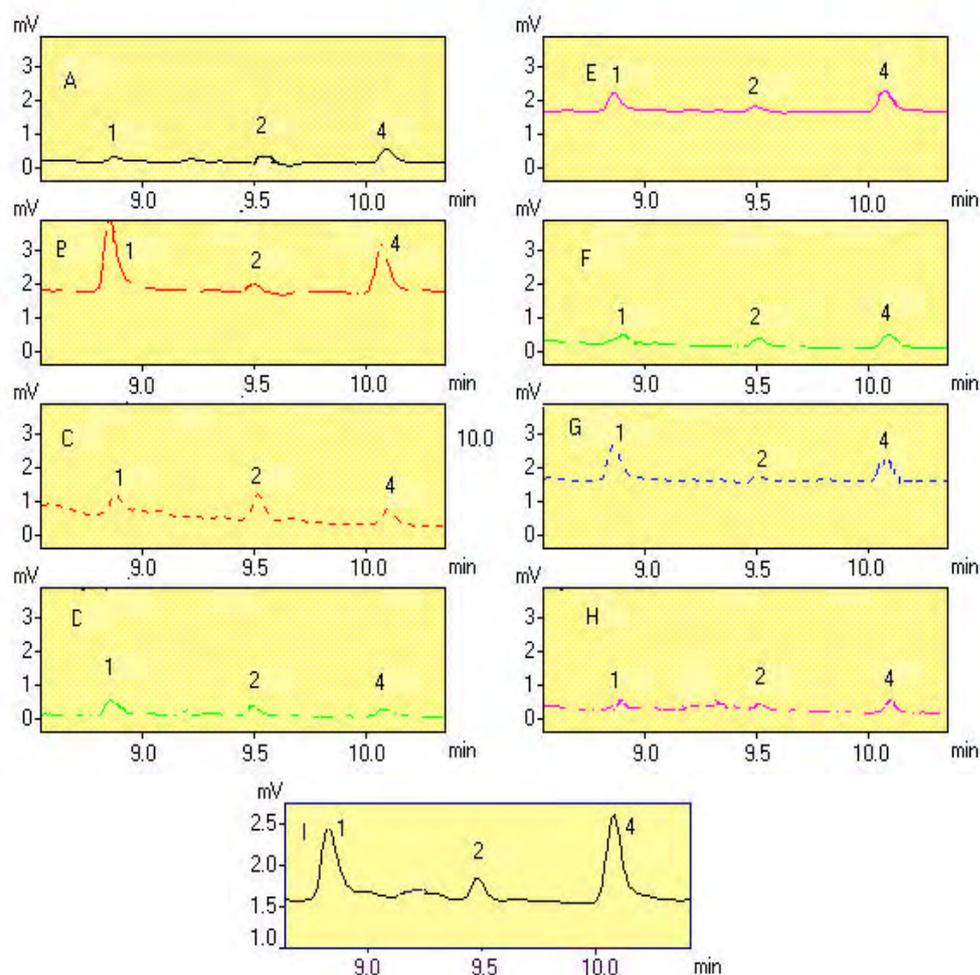


Figura 11: Cromatogramas dos extratos de amostras de folha ao longo de 180 dias. Amostras coletadas em: A= 5^o dia após a aplicação da formulação triadimenol + dissulfoton; B= 26^o dia; C= 40^o dia; D= 54^o dia; E= 64^o dia; F= 97^o dia; G= 127^o dia; H= 153^o dia; I= 189^o dia. Onde 1- t_R = 8,9 min: Dissulfoton sulfona oxigênio análogo, 2- t_R = 9,6 min: Triadimenol A e 4- t_R = 10,2 min: Dissulfoton sulfona.

As diferenças nas intensidades dos picos cromatográficos de interesse, entre as datas de coleta, mostrados na Figura 11 não devem ser levados em consideração, devido a diferença na umidade das amostras, o que confere um fator de correção entre a amostra seca ao ar, cujos cromatogramas são apresentados na Figura 11 e o peso seco.

Pode-se observar que pelos dados contidos no Quadro 17 e nas Figuras 12, 13 e 15 que a formulação triadimenol + dissulfoton é rapidamente absorvida

pela planta, sendo que 5 dias após a aplicação no solo, já se encontra resíduos na folha. Os mesmos persistem por mais de 189 dias quando ainda são encontrados resíduos de triadimenol, dissulfoton sulfona total e dissulfoton sulfona oxigênio análogo total, sendo que este último em níveis relativamente altos ($0,295 \text{ ng g}^{-1}$). Este dado deve ser levado em consideração na verificação da dosagem mínima do produto eficiente no controle do bicho mineiro, uma vez que os compostos oxigenados derivados do dissulfoton são mais efetivos que os compostos sulfurados (COBERT, 1974).

As variações das concentrações dos compostos derivados do dissulfoton nas amostras de folhas em relação ao tempo, comparado às testemunhas e ao índice pluviométrico ocorrido durante o experimento podem ser avaliados pelas Figuras 12 e 13.

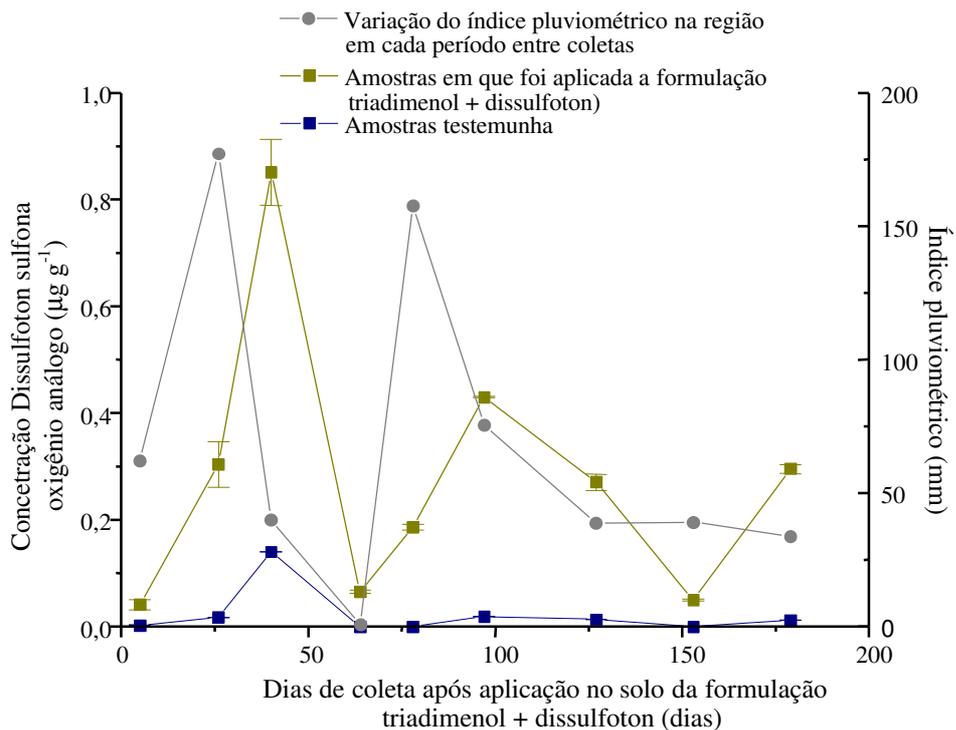


Figura 12: Variação da concentração do dissulfoton sulfona oxigênio análogo total (dissulfoton oxigênio análogo + dissulfoton sulfóxido oxigênio análogo + dissulfoton sulfona oxigênio análogo) nas amostras de folha ao longo de 190 dias, comparada ao índice pluviométrico durante o experimento de Viçosa.

Como pode ser visto pela Figura 12, de modo geral a concentração de dissulfoton sulfona oxigênio análogo segue o índice pluviométrico entre o intervalo das coletas.

Verifica-se pelas Figuras 12 e 13 que há uma tendência de aumento na concentração dos produtos, dissulfoton sulfona oxigênio análogo e dissulfoton sulfona totais, com o aumento da precipitação pluviométrica, sendo que este efeito é um pouco retardado no caso do dissulfoton sulfona oxigênio análogo total aos 40 e 97 dias após a aplicação do produto comercial no solo. Isto provavelmente ocorreu devido ao fato de um excessivo aumento na precipitação, formar no solo um ambiente anaeróbico, que dificulta a conversão do dissulfoton sulfona em dissulfoton sulfona oxigênio análogo. No entanto, com a diminuição da chuva após um período de grande intensidade pluviométrica, a oxigenação do solo aumentou, propiciando a transformação do dissulfoton sulfona em dissulfoton sulfona oxigênio análogo. Isto explica a predominância de dissulfoton sulfona no solo e do dissulfoton sulfona oxigênio análogo na folha.

Segundo WARD *et al.* (1972), a distribuição das raízes aumenta em resposta a novas fontes de água como, por exemplo, uma segunda estação chuvosa e, conseqüentemente, a translocação de agrotóxicos se torna mais eficiente.

Observando-se a Figura 12, pode-se verificar que o máximo de translocação do dissulfoton sulfona oxigênio análogo total ocorreu aos 40 dias após a aplicação no solo da formulação comercial triadimenol + dissulfoton. Foi observado nas amostras testemunhas a presença de resíduos de dissulfoton sulfona oxigênio análogo total em quantidade significativa, em apenas uma data de coleta, sendo que este máximo coincidiu com o obtido para as amostras tratadas com a formulação comercial. Essa contaminação pode ter se dado por transporte superficial do produto no solo, já que as plantas testemunhas se situavam abaixo das plantas em que a formulação triadimenol + dissulfoton foi aplicada.

O comportamento dos resíduos de dissulfoton sulfona total nas amostras de folhas de café comparado ao índice pluviométrico da região, durante o

experimento pode ser visualizado na Figura 13.

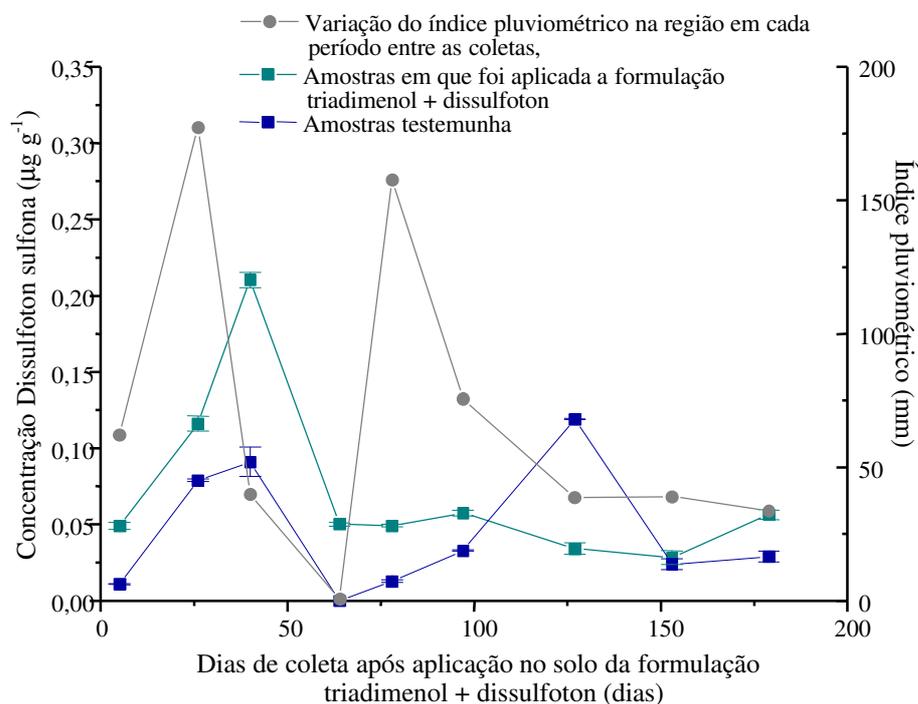


Figura 13: Avaliação da concentração do dissulfoton sulfona total (dissulfoton + dissulfoton sulfóxido + dissulfoton sulfona) nas amostras de folha, ao longo de 190 dias, comparado ao índice pluviométrico durante o experimento Viçosa.

A variação das concentrações do dissulfoton total ao longo do período do experimento mostrada na Figura 13 permite concluir que o dissulfoton sulfona total é rapidamente absorvido pela planta, observando-se a sua presença nas folhas já aos 5 dias após a aplicação do produto comercial no solo. Sua permanência nas folhas se estende até 189 dias após aplicação do produto, sendo que nesta data a folha ainda apresenta resíduos deste composto. No intervalo entre 5 e 189 dias após o tratamento do solo, os teores de dissulfoton sulfona total na folha flutuam entre máximo e mínimo, sendo que o máximo de absorção pode ser observado aos 40 dias após a aplicação da formulação triadimenol + dissulfoton no solo, assim como aconteceu com o dissulfoton sulfona oxigênio análogo total. Os teores de dissulfoton sulfona total na folha parecem não sofrer grandes influências da quantidade de chuva, exceto nos primeiros 40 dias do experimento.

Foi observado também (Figura 13) a presença do dissulfoton sulfona total nas amostras testemunha em concentrações mais altas das que as esperadas. O máximo de absorção nestas amostras testemunhas coincidiu com o máximo de absorção das plantas que foram tratadas com a formulação triadimenol + dissulfoton. O fato da testemunha apresentar alguns altos teores de dissulfoton sulfona total confirma o transporte superficial do dissulfoton ou de seus produtos de degradação no solo, uma vez que os máximos de absorção aconteceram após os máximos de índice pluviométrico. Isto pode ser proposto pelo fato das testemunhas se situarem três fileiras abaixo das fileiras nas quais foram aplicados os produtos em estudo e por se tratar de terreno acidentado.

O fato de ter ocorrido o máximo de translocação nas amostras testemunhas após períodos de alto índice pluviométrico, pode ser explicado pela facilidade de absorção pela planta do produto, uma vez que esse se encontrava na solução do solo, caso tenha havido lixiviação do produto. A umidade do solo facilita a liberação dos produtos do grânulo e portanto sua lixiviação, percolação, transporte e translocação.

Uma melhor visualização da comparação das concentrações de dissulfoton sulfona oxigênio análogo total e dissulfoton sulfona total nas amostras de folhas de café ao longo de 190 dias pode ser conseguida pelos dados da Figura 14.

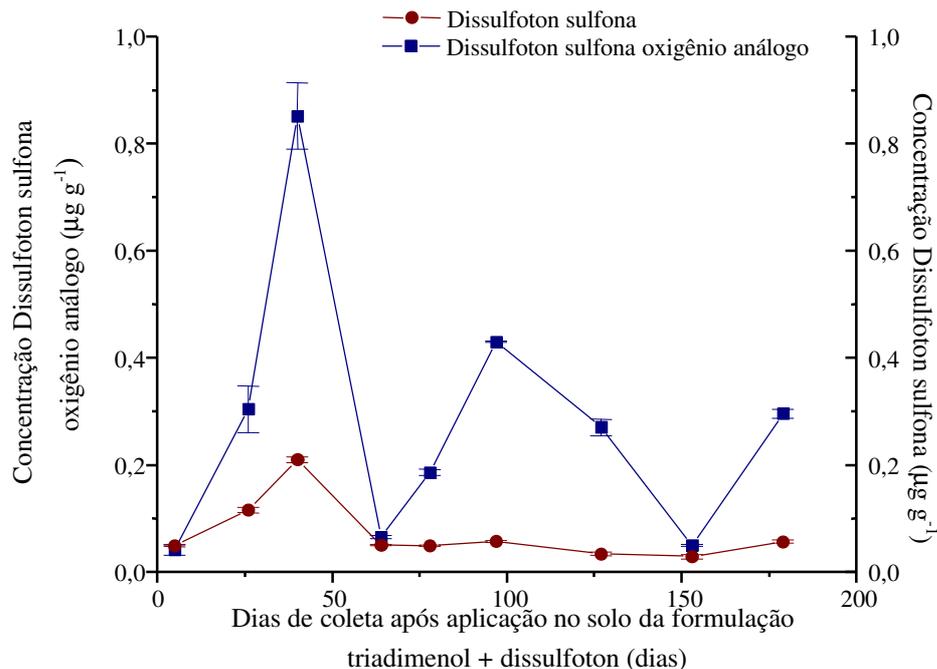


Figura 14: Variação das concentrações do dissulfoton sulfona total e dissulfoton sulfona oxigênio análogo total em amostras de folhas de café ao longo de 190 dias.

Tanto o dissulfoton sulfona oxigênio análogo total como o dissulfoton sulfona total quantificados em folhas de café (Figura 14) seguiram a tendência de aumento da concentração até um certo tempo, quando então começa a decair, sendo que este processo ocorreu mais de uma vez. O máximo de absorção tanto do dissulfoton sulfona total como do dissulfoton sulfona oxigênio análogo total ocorreu 40 dias após a aplicação no solo da formulação comercial triadimenol + dissulfoton. Segundo RIGITANO & SOUSA (1994), o máximo de absorção do dissulfoton sulfona total e do dissulfoton sulfona oxigênio análogo total somente aos 40 dias após a aplicação do produto comercial triadimenol + dissulfoton, retrata o lento e gradual acúmulo dos produtos de degradação do dissulfoton nas folhas. Verifica-se também que o dissulfoton sulfona oxigênio análogo total possui dois máximos de absorção.

Através da Figura 14 pode-se verificar que, ao contrário do solo, há predominância nas folhas de dissulfoton sulfona oxigênio análogo total sobre o dissulfoton sulfona total ao longo de todo experimento. Dois fatos podem estar acontecendo para que ocorra tal predominância, o dissulfoton se transformou no

solo em dissulfoton sulfona e depois em dissulfoton sulfona oxigênio análogo e esse último foi preferencialmente translocado para a planta, fazendo com que mais sulfona seja formada no solo para manter o equilíbrio. Outra possibilidade seria o dissulfoton ser absorvido pela planta como dissulfoton sulfona e aí é rapidamente transformado em dissulfoton sulfona oxigênio análogo. Ambas as hipóteses estão em concordância com BRIGGS *et al.* (1984), que afirmam que o dissulfoton é absorvido para a planta na forma de seus produtos de oxidação. Entretanto, STEVENS (1976) afirma que o dissulfoton é transformado em seus produtos de oxidação imediatamente após a absorção pela planta. Nossos experimentos não permitiram identificar qual das duas hipóteses destes autores está correta, pois o dissulfoton e seus produtos de degradação não foram analisados separadamente ao longo do experimento.

Segundo BRIGGS *et al.* (1984) o dissulfoton não possui ação sistêmica em plantas mas, sim, os seus produtos de degradação. Desta forma, o acúmulo lento e gradual dos compostos nas folhas do cafeeiro pode ser explicada como sendo devido à gradual oxidação do dissulfoton no solo. O lento acúmulo dos resíduos de dissulfoton nas folhas pode também ser explicado admitindo-se que a ação sistêmica dos produtos de degradação do dissulfoton não seja tão rápida, por eles possuírem coeficientes de lipofilicidade um pouco afastados do valor ótimo para ação sistêmica via solo.

Os valores obtidos em nosso experimento somando-se as concentrações de dissulfoton sulfona total e dissulfoton sulfona oxigênio análogo total estão bem menores do que os apresentados por RIGITANO & SOUSA (1994). Estes autores estudaram a translocação do dissulfoton em folhas de café, quando aplicado no solo 25 e 50 g de produto comercial Solvirex 10 G/cova, o triplo e sêxtuplo da dosagem utilizada em nosso experimento, respectivamente. Nos seus estudos, esses autores verificaram que o máximo de absorção do dissulfoton total (dissulfoton + dissulfoton oxigênio análogo + dissulfoton sulfóxido + dissulfoton sulfóxido oxigênio análogo + dissulfoton sulfona + dissulfoton sulfona oxigênio análogo) pelas folhas acontece após 75 dias da aplicação do produto no solo, com resíduos de dissulfoton total em folhas de café em torno de $18,0 \mu\text{g g}^{-1}$ na região

de Lavras e em torno de $10,0 \mu\text{g g}^{-1}$ em Patrocínio. Segundo os autores, o valor mais baixo da região de Patrocínio pode ser atribuído ao maior porte das plantas e portanto diluição dos resíduos. Este fato não está em concordância com os dados obtidos em nosso experimento que mostram que o máximo de absorção dos produtos derivados do dissulfoton pelas folhas ocorreu após 40 dias da aplicação do produto comercial no. Esta diferença pode ser explicada em função do índice pluviométrico ocorrido em cada experimento, do produto comercial utilizado e também da época de aplicação dos produtos comerciais, novembro e dezembro em RIGITANO & SOUSA (1994) e no presente trabalho, respectivamente. A quantidade de água presente no solo influencia grandemente a translocação de agrotóxicos para a planta (SOCCOL *et al.*, 1995). O fato da aplicação do produto ter sido feita em dezembro, no experimento do presente trabalho, pode ter adiantado o máximo de translocação dos compostos derivados do dissulfoton, devido à geralmente à maior quantidade de água presente no solo nesta época do ano, comparado ao mês de novembro.

SINHA & CHAKRABARTI (1984) detectaram a presença de dissulfoton em folhas de cebola, quando aplicado no solo 1,0 ou 1,5 kg de ingrediente ativo/ha. As coletas se deram até 21 dias após a aplicação do dissulfoton no solo, quando foi encontrado uma concentração de 0,05 e 0,08 $\mu\text{g g}^{-1}$ nas dosagens de 1,0 e 1,5 kg ingrediente ativo/ha, respectivamente. Estes valores estão bem abaixo dos encontrados em nosso experimento, embora tenhamos usado também a dosagem de 1,5 kg de dissulfoton/ha. Este fato pode ser atribuído não só a diferença no sistema de absorção entre as culturas, como também às condições em que cada experimento foi conduzido (tipo de solo, índice pluviométrico).

WARD *et al.* (1972) verificaram que após a aplicação do dissulfoton em trigo nas dosagens de 0,28 ou 0,82 kg de ingrediente ativo/ha, os níveis de resíduos nas folhas de trigo permaneciam altos até 14 dias após a aplicação do produto ($1,4 \mu\text{g g}^{-1}$). Após esta data os autores não forneceram informações.

SINGH *et al.* (1983) verificaram que o dissulfoton apresentou o máximo de resíduos em folhas de feijão aos 20 dias após a aplicação no solo de 1,5 kg de

ingrediente ativo/ha. A persistência máxima do produto nas folhas de feijão foi de 66 dias após a aplicação. Quando estes autores utilizaram dosagens maiores e menores de dissulfoton no solo, os resultados se repetiram. Assim como SINGH *et al.* (1983), o máximo de absorção de dissulfoton total encontrado por WILDMAN & CONE (1986) em folhas de aspargos ficou entre 20 e 23 dias após a aplicação do dissulfoton no solo na dosagem de 1,1 kg de ingrediente ativo/ha. No máximo de translocação foram encontrados resíduos de dissulfoton total na ordem de 4,25 e 7,14 $\mu\text{g g}^{-1}$, no primeiro e segundo anos de aplicação, respectivamente. Estes dados estão em conflito com os obtidos em nosso experimento, que apresentou uma absorção máxima do dissulfoton sulfona oxigênio análogo total em folhas de café aos 40 dias, com uma concentração de 0,851 $\mu\text{g g}^{-1}$ e persistência do produto nas folhas por mais de 189 dias, quando utilizada uma dosagem de 1,5 kg de dissulfoton/ha.

SZETO *et al.* (1983) estudando a translocação do dissulfoton em folhas de aspargos, verificaram a persistência do produto até 147 dias após a aplicação, quando utilizadas as dosagens de 0,5 e 4,0 kg de ingrediente ativo/ha. Na dosagem de 4,0 kg/ha os resíduos de dissulfoton total em folhas de aspargos foram de 17,1 $\mu\text{g g}^{-1}$ após 147 dias da aplicação do produto no solo. Os máximos de absorção do dissulfoton total foram 70 e 85 dias após a aplicação do produto no solo. Estes valores não estão de acordo com os obtidos em nosso experimento para o dissulfoton sulfona oxigênio análogo total, que apresentou um máximo de translocação em folhas de café aos 40 dias após a aplicação da formulação triadimenol + dissulfoton no solo. Observa-se também uma grande diferença nos teores de resíduos aos 150 dias após a aplicação do produto comercial no solo em nosso experimento (0,02837 $\mu\text{g g}^{-1}$ de dissulfoton sulfona oxigênio análogo total e 0,05040 $\mu\text{g g}^{-1}$ de dissulfoton sulfona total quando utilizada a dosagem de 1,5 kg de dissulfoton/ha da formulação triadimenol + dissulfoton) e o experimento de SZETO *et al.* (1983) (17,1 $\mu\text{g g}^{-1}$ de dissulfoton total quando usada a dosagem de 4,0 kg de dissulfoton/ha do produto comercial Di-syston 15 G). Estas diferenças podem ser atribuídas em parte, às culturas, às dosagens e aos diferentes produtos comerciais utilizados.

Os máximos de translocação do dissulfoton ou de seus produtos de oxidação obtidos por vários autores (SZETO *et al.*, 1983; SINGH *et al.*, 1983; WILDMAN & CONE; 1986 e RIGITANO & SOUSA, 1994) e em nosso experimento mostram que este fator depende principalmente da cultura estudada, do tipo de solo, além da quantidade de produto aplicada. Outro fator que tem grande influência é o índice pluviométrico da região durante o experimento, pois altos índices facilitam a liberação dos compostos do grânulo, fazendo com que eles fiquem na solução do solo e daí possam ser absorvidos pela planta.

À semelhança da avaliação de resíduos de dissulfoton sulfona oxigênio análogo total e dissulfoton sulfona total em amostras de folhas foi monitorado também os resíduos de triadimenol em folhas de café em relação ao tempo. Os resultados podem ser verificados na Figura 15.

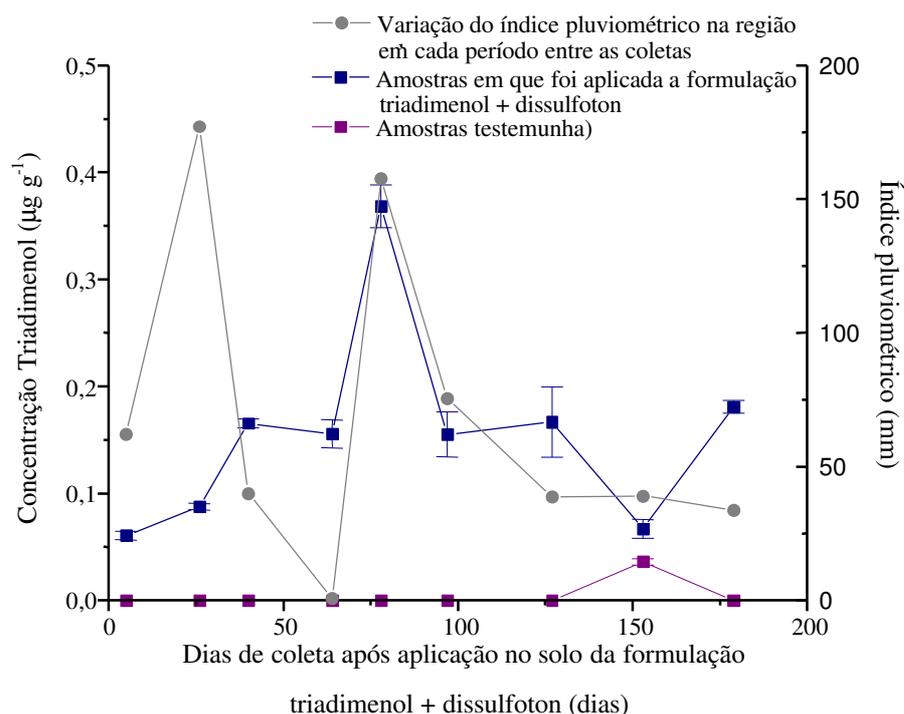


Figura 15: Variação da concentração do Triadimenol nas amostras de folhas de café, ao longo de 190 dias, comparado ao índice pluviométrico durante o experimento de Viçosa.

De acordo com a Figura 15, o triadimenol é rapidamente absorvido pela planta, apresentando um máximo de absorção aos 64 dias após a aplicação no solo da formulação triadimenol + dissulfoton. A partir desta data os teores de triadimenol na folha começam a cair, devido à degradação do mesmo ou à escassez de água no solo. Verifica-se no entanto, que há uma persistência do produto por mais de 189 dias após a aplicação da formulação comercial no solo.

O máximo de absorção do triadimenol acontece em um período de grande intensidade de chuva, ao contrário do que foi mostrado para o dissulfoton sulfona oxigênio análogo e dissulfoton sulfona totais (Figuras 12 e 13).

Ao contrário do dissulfoton sulfona total e do dissulfoton sulfona oxigênio análogo total, o triadimenol parece não se movimentar horizontalmente no solo, o que pode ser confirmado pela ausência do produto nas amostras testemunhas, exceto aos 153 dias após a aplicação do produto comercial. Este resultado pode ter sido ocasionado por erros experimentais, uma vez que a presença do triadimenol nas amostras testemunhas não foi observada em nenhuma outra coleta. Segundo MATRANGOLO (1998) o triadimenol também não é lixiviado no solo, quando este é submetido a chuvas sucessivas.

As concentrações de triadimenol obtidos em nosso experimento (0,103 $\mu\text{g g}^{-1}$ aos 189 dias após a aplicação da formulação triadimenol + dissulfoton no solo) estão bem menores dos que as apresentadas por ZAMBOLIM *et al.* (1993) para folhas de bananeira. Estes autores verificaram que, após um número variado de aplicações do triadimenol no solo (entre 1 e 6 aplicações) na dosagem de 0,75 g ingrediente ativo/touceira de bananeira da variedade prata, as concentrações de triadimenol nas folhas variavam entre 1,75 e 1,85 $\mu\text{g g}^{-1}$, um mês após aplicação do produto no solo. Já por ocasião da colheita do cacho (maio e junho) as concentrações de triadimenol ficaram entre 1,29 e 2,25 $\mu\text{g g}^{-1}$, de acordo com o número de aplicações. Estas discrepâncias podem ser explicadas pela diferença nas dosagens dos dois experimentos (0,18 g ingrediente ativo/cova em nosso experimento e 0,75 g ingrediente ativo/touceira de bananeira no experimento de ZAMBOLIM *et al.* (1993) e também por se tratar de culturas com sistemas de absorção diferentes.

O comportamento de agrotóxicos em plantas sofre influência também de outros fatores além do tipo de cultura, como a temperatura ambiente, pressão de vapor e a solubilidade do produto, a intensidade da radiação solar, a quantidade de chuva e os intervalos, a idade da planta, etc. Desse modo, a tarefa de prever o tempo exato de permanência de um determinado produto na planta torna-se difícil, pois as condições de campo diferem de um lugar para outro (ZONGMAO & HAIBIN, 1997).

4.4.2.2 Região de Manhuaçu

Por se tratar de uma região cafeeira de destaque no estado de Minas Gerais e com ampla utilização da formulação comercial triadimenol + dissulfoton, algumas amostras de folhas de lavouras de café da região de Manhuaçu foram coletadas e analisadas para a determinação do teor de dissulfoton sulfona total, dissulfoton sulfona oxigênio análogo total e triadimenol após aproximadamente 270 dias da última aplicação do produto comercial no solo. Os resultados obtidos estão no Quadro 18.

Quadro 18: Concentração de dissulfoton sulfona total, dissulfoton sulfona oxigênio análogo total e triadimenol encontradas em amostras de folhas de café coletadas em Manhuaçu

Coleta após a aplicação do produto (dias)	Concentração média ($\mu\text{g g}^{-1}$ de peso seco) (s)		
	DS	DSOA	TRD
270	0,02770 (0,0013)	0,1519 (0,022)	1,226 (0,1)

DS: Dissulfoton sulfona; DSOA: Dissulfoton sulfona oxigênio análogo; TRD: Triadimenol; s: Estimativa do desvio padrão.

Os dados contidos no Quadro 18, permitem concluir que, sobretudo o dissulfoton sulfona oxigênio análogo total e o triadimenol, foram persistentes em folhas de café da lavoura de Manhuaçu, após aplicação da formulação triadimenol + dissulfoton no solo, na dosagem de 50 kg/ha. É importante salientar que a lavoura utilizada neste experimento tem um histórico de sete

aplicações sucessivas da formulação estudada.

Segundo WILDMAN & CONE o dissulfoton aplicado na dosagem de 1,1 kg ingrediente ativo/ha fornece resíduos em torno de $0,35 \mu\text{g g}^{-1}$ após 54 dias da aplicação do produto no solo, em seu primeiro ano de aplicação. No segundo ano este valor aumenta para $1,86 \mu\text{g g}^{-1}$ aos 41 dias após a última aplicação, o que pode indicar uma facilidade de acúmulo do produto na planta, quando se tem um histórico de aplicações.

Verifica-se também que não há diferenças significativas entre os teores de dissulfoton sulfona total e dissulfoton sulfona oxigênio análogo total nos experimentos de Viçosa e Manhuaçu, levando-se em consideração as diferenças entre a aplicação da formulação triadimenol + dissulfoton no solo e as coletas (dissulfoton sulfona oxigênio análogo total igual a $0,295 \mu\text{g g}^{-1}$, dissulfoton sulfona total igual a $0,0565 \mu\text{g g}^{-1}$ aos 179 dias após a aplicação do produto comercial no solo no experimento de Viçosa e dissulfoton sulfona oxigênio análogo total igual a $0,152 \mu\text{g g}^{-1}$, dissulfoton sulfona igual total a $0,028 \mu\text{g g}^{-1}$ após 270 dias no experimento de Manhuaçu).

O nível de triadimenol presente nas amostras de folhas coletadas em Manhuaçu, foi muito alto para o grande intervalo entre a aplicação do produto comercial no solo e a coleta das amostras. Entretanto, como vários autores afirmam que este produto pode permanecer no solo por até 3 anos após sua aplicação (RAWLINSON, 1982 e COLE *et al.*, 1987); o triadimenol sob certas condições de umidade do solo pode estar sendo translocado permanentemente para a planta, o que poderá conferir uma proteção prolongada contra a ferrugem, em função do gradiente de absorção.

4.4.3 Amostras de grão

4.4.3.1 Região de Viçosa

A coleta das amostras de fruto foi feita 153 dias após a aplicação no solo da formulação triadimenol + dissulfoton. Essa época foi escolhida por coincidir com a colheita do produto, ou seja, em maio. As amostras de frutos foram coletadas das mesmas plantas em que foram retiradas as amostras de folhas. Foram coletados amostras de frutos de plantas que receberam a formulação triadimenol + dissulfoton, bem como de amostras testemunhas.

Assim como foi verificada a presença de resíduos ao longo do tempo nas amostras de solo e folhas, o mesmo foi feito para as amostras de fruto por ocasião da colheita. Os resultados obtidos para as amostras de grão são apresentados no Quadro 19.

Quadro 19: Concentração de dissulfoton sulfona total, dissulfoton sulfona oxigênio análogo total e triadimenol nos grãos de café coletados no experimento de Viçosa-MG na época da colheita (Maio, 1998)

Coleta após a aplicação do produto (dias)	Concentração média ($\mu\text{g g}^{-1}$ de peso seco) (s)		
	DS	DSOA	TRD
153	0,05136 (0,0035)	nd	0,04674 (0,004)

DS: Dissulfoton sulfona; DSOA: Dissulfoton sulfona oxigênio análogo; TRD: Triadimenol; s: Estimativa do desvio padrão; nd: não detectado pela técnica utilizada.

Os resultados, mostrados no Quadro 19, indicam a presença de resíduos de dissulfoton sulfona total e triadimenol no grão de café, em baixas concentrações. O dissulfoton sulfona oxigênio análogo total, no entanto, não foi detectado no grão.

A presença dos resíduos de dissulfoton sulfona total e triadimenol nessas amostras de grão de café foi confirmada pela técnica de adição padrão e pela injeção do extrato em uma coluna de polaridade diferente da empregada no

procedimento proposto. Os cromatogramas das amostras nas quais foram encontrados os resíduos de dissulfoton sulfona oxigênio análogo total e triadimenol (Quadro 19), o da amostra testemunha e o da amostra com adição padrão podem ser visualizados na Figura 16.

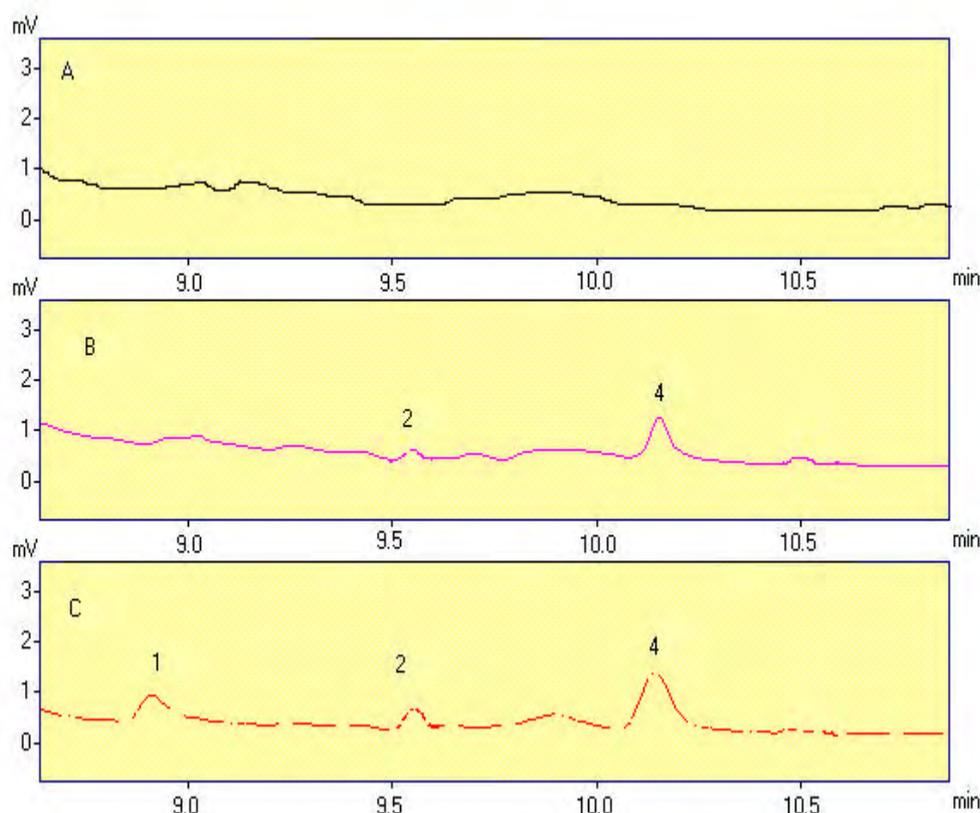


Figura 16: Cromatogramas de uma das repetições de extratos de amostras de grão de café coletadas por ocasião da colheita. Amostra A= Testemunha, B= Extrato de grão de café após aplicação no solo da formulação triadimenol + dissulfoton, C= Extrato de grão de café + solução padrão 500 ng g^{-1} (1:1). Onde 1- t_R = 8,9 min: Dissulfoton sulfona oxigênio análogo, 2- t_R = 9,6 min: Triadimenol A e 4- t_R = 10,2 min: Dissulfoton sulfona.

A outra técnica empregada para a confirmação dos resíduos encontrados no fruto do café consistiu na análise do extrato por cromatografia gasosa com detector termiônico utilizando uma coluna capilar com fase estacionária composta por 50 % metil-polissiloxano e 50 % fenilssiloxano. Foram usadas as seguintes condições cromatográficas:

- Coluna com fase estacionária composta por 50 % de metil-polissiloxano e 50 % de fenilssiloxano, 50 m, 0,32 mm diâmetro interno, 0,17 μm filme
- Temperatura da coluna: 150 °C (2 min) $\xrightarrow{20\text{ }^\circ\text{C min}^{-1}}$ 250 °C $\xrightarrow{8\text{ }^\circ\text{C min}^{-1}}$ 280 °C (6 min)
- Temperatura do injetor: 250 °C
- Temperatura do detector: 290 °C
- Volume injetado: 1 μL
- Vazão do gás de arraste: 1,5 mL min^{-1}
- Gás de arraste: Nitrogênio

Os cromatogramas da Figura 17 mostram as análises dos extratos das amostras testemunhas, das amostras que receberam a formulação triadimenol + dissulfoton e o das amostras em que foi feita a adição de padrões.

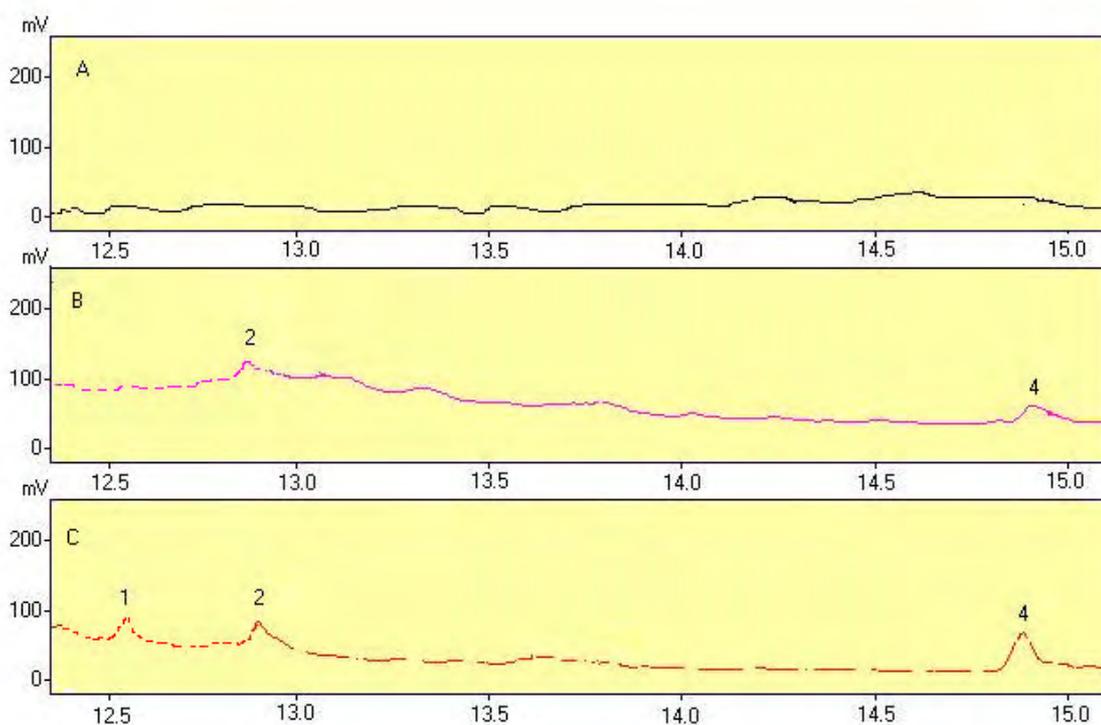


Figura 17: Cromatogramas de uma das repetições de extratos de grão de café analisado por cromatografia gasosa com detector termiônico usando uma coluna, 50 % fenil e 50 % metil-polissiloxano. Amostra A= Testemunha, B= Extrato de grão de café após aplicação no solo da formulação triadimenol + dissulfoton, C= Extrato de grão de café + solução padrão 500 ng g^{-1} (1:1). Onde 1- t_R =12,6 min: Dissulfoton sulfona oxigênio análogo, 2- t_R =12,9 min: Triadimenol A e 4- t_R = 14,8 min: Dissulfoton sulfona.

Esses resultados mostram que os picos observados nos cromatogramas da Figura 16 correspondem realmente aos picos do dissulfoton sulfona e do triadimenol, confirmando assim sua presença nessas amostras de grão.

Os resultados apresentados pelo Quadro 19 e Figuras 16 e 17 são preocupantes, apesar de estarem abaixo dos limites permissíveis de dissulfoton e triadimenol pela legislação (entre 0,1 e 0,5 $\mu\text{g g}^{-1}$), pois o café é uma bebida muito consumida no Brasil. Além disso, nesse experimento foi utilizada a metade da dosagem recomendada pelo fabricante. Outro fato agravante é que, segundo o fabricante, o período de carência da formulação triadimenol + dissulfoton para a cultura do café é de três meses e a coleta das amostras foi realizada cinco meses após a aplicação do produto comercial no solo (ANDREI, 1993).

A presença de dissulfoton sulfona total no grão de café e a ausência do dissulfoton sulfona oxigênio análogo total reforça o fato de que a planta absorve tanto o dissulfoton sulfona quanto o dissulfoton sulfona oxigênio análogo e o primeiro é convertido no segundo na planta.

Apesar da presença de resíduos de dissulfoton sulfona total e triadimenol no grão, é possível que estes resíduos não estejam presentes no café torrado e moído, uma vez que, para obtenção deste produto, é necessário a exposição do café limpo a altas temperaturas, que podem ser suficientes para a degradação destes compostos. Entretanto, segundo MISRA & AGRAWAL (1989), os resíduos de dissulfoton permanecem em batatas após cozimento até 70 dias após a aplicação no solo de 1,0 ou 1,5 kg de dissulfoton/ha. RIGITANO *et al.* (1989) estudando a influência das temperaturas de torrefação nos teores de resíduos de aldicarbe (organofosforado), e verificaram que após a torrefação do café, o mesmo não apresenta resíduos de aldicarbe. Para verificação da persistência do dissulfoton sulfona total e do triadimenol em cafés prontos para o consumo outros testes devem ser feitos.

Apesar de no presente trabalho Ter sido encontrados resíduos de dissulfoton sulfona total em grãos de café, SINHA & CHAKRABARTI (1984) não encontraram resíduos de dissulfoton em bulbos de cebola que receberam

aplicação desse produto. ZAMBOLIM *et al.* (1993), estudando frutos de banana nos quais o triadimenol havia sido aplicado, também não encontraram resíduos deste composto. Segundo estes autores, esse resultado se deve ao fato da rota de translocação de agrotóxicos sistêmicos atingirem as folhas via xilema, enquanto que para os resíduos atingirem o fruto eles têm que ser translocados via floema até o rizoma.

5. RESUMO E CONCLUSÕES

Os agrotóxicos, amplamente utilizados na agricultura, muitas vezes geram resíduos tóxicos que contaminam o meio ambiente e toda cadeia alimentar. Um produto comumente utilizado na cultura do café é a formulação a base de triadimenol + dissulfoton. A fim de estudar a persistência desses compostos em solos e folhas e sua possível presença no grão por ocasião da colheita, foi feito um monitoramento dos resíduos desses produtos e de seus compostos de degradação ao longo do tempo. Foram utilizadas duas plantações, uma em que o produto foi aplicado pela primeira vez, em Viçosa-MG, e outro onde o produto vem sendo aplicado a vários anos consecutivos, em Manhuaçu.

Para que fosse possível este monitoramento foi necessário otimizar métodos de análise que possibilitassem a análise simultânea dos produtos de interesse e oferecessem respostas mais rápidas. Este método de análise consistiu na extração dos produtos de interesse de amostras de solos, folhas e grãos de café e análise por cromatografia gasosa. Os resultados mostraram que o método de análise otimizado aliado à cromatografia gasosa com detector termiônico (TIO) é uma ferramenta adequada para a determinação simultânea do triadimenol, dissulfoton e seus produtos de degradação, em amostras de folhas, grãos e solos. Com essa técnica foi possível obter rendimentos de extração variando entre 80 e 110 %, além de minimizar o tempo de análise e o consumo de solventes.

Os resultados obtidos nas amostras de solo e folhas de café durante o monitoramento, mostraram que tanto o triadimenol como o dissulfoton e seus produtos de degradação permanecem nestas matrizes por mais de 189 dias, quando aplicada a metade da dosagem recomendada pelo fabricante (Viçosa-MG), e por mais de 270 dias após a aplicação, quando utilizada a dosagem recomendada pelo fabricante (Manhuaçu-MG).

No experimento conduzido em Viçosa, tanto o dissulfoton (ou seus produtos de degradação) como o triadimenol translocaram rapidamente para a planta (5 dias) persistindo em amostras de solo e de folhas por mais de 189 dias após a aplicação do produto comercial no solo. Os máximos de absorção dos compostos pela planta variaram de um produto para outro, sendo que para o dissulfoton sulfona oxigênio análogo e para o dissulfoton sulfona totais foi de 40 dias e para o triadimenol foi de 64 dias.

Houve uma predominância de dissulfoton sulfona total no solo e dissulfoton sulfona oxigênio análogo total nas folhas, sendo que o primeiro apareceu também no grão, mas em pequenas quantidades.

Na região de Manhuaçu, a concentração de triadimenol nas folhas coletadas após 270 dias da última aplicação, foi significativa (maior que $1,2 \mu\text{g g}^{-1}$), comprovando a persistência deste composto. Os demais produtos estudados, dissulfoton sulfona total e dissulfoton sulfona oxigênio análogo total, apresentaram baixas concentrações tanto em folhas ($0,028$ e $0,152 \mu\text{g g}^{-1}$, para o dissulfoton sulfona total e sulfona oxigênio análogo total, respectivamente) como em solos ($0,052$ e $0,0012 \mu\text{g g}^{-1}$, para o dissulfoton sulfona total e sulfona oxigênio análogo total, respectivamente).

Houve diferenças significativas entre os experimentos de Manhuaçu e Viçosa. Um fator que influenciou os resultados das duas regiões, foi o histórico de aplicações de cada plantação utilizada nos experimentos. Verificou-se maior persistência dos produtos estudados, tanto no solo, como nas folhas, coletadas em

Manhuaçu, devido ao fato de que a região vem usando a formulação triadimenol + dissulfoton há vários anos consecutivos.

Conclui-se portanto, que a persistência do triadimenol e do dissulfoton ou seus produtos de degradação é influenciada pelo tipo de solo, umidade, dosagem utilizada, sendo que em alguns solos, persistem por mais de 270 dias após a aplicação do produto comercial granulado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACUÑA, R. S. **Análise epidemiológica da ferrugem do cafeeiro (hemileia vastatrix berk & br.) e estratégias de controle químico**, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 1996 (Tese Ds), 148 p.
- ACUÑA, R. S.; ZAMBOLIM, L.; VENEGAS, V. A. & RIBEIRO do VALE, F. X., Controle da ferrugem do cafeeiro com aplicação da mistura triadimenol + dissulfoton em solo submetido a três níveis de umidade, **Fitopatologia Brasileira**, 22 (2), p. 148-153, 1997.
- ACUÑA, R. S.; ZAMBOLIM, L. & MOLINA, E. C. G. Controle da ferrugem em cafeeiros sombreados com formulações de triadimenol combinadas com oxicloreto de cobre na Venezuela, **Summa Phytopathologica**, 19 (3-4), p. 189-194, 1993.
- ALBUQUERQUE, M. A.; SCHAEFER, C. E. R.; LOURES, E. G. & ZAMBOLIM, L. Persistência do fungicida triadimenol em solos, **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 22, p. 355-360, 1998.
- ALEXANDER, M. & MARTIN, B. K. Growth-linked and cometabolic biodegradation: possible reason for occurrence or absence of accelerated pesticide biodegradation, **Pesticide Science**, 41, p. 311-318, 1994.

ALLMENDINGER, H. A method for determining residues of the fungicides folicur and bayfidan in plant material and soil by gas chromatography, **Pflanzenschutz Nachrichten Bayer**, 44 (62), p. 5-66, 1991.

ANDRÉA, M. M. **Metabólitos tóxicos do dissulfoton: comportamento em feijoeiro, no solo e em solução nutriente**, Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Piracicaba-SP, 1986. (Tese Ms). 110 p.

ANDREI, E. **Compêndio de defensivos agrícolas**
Organização Andrei Editora Ltda, São Paulo, 1993, 448 p.

BARBERÁ, C. **Pesticidas agrícolas**
Ediciones Omega, Barcelona, 1967, 330 p.

BARROS, U. V.; MENDONÇA, G. M., MATIELLI, A. & FREITAS, J. L. P. Efeito do baysiston no desenvolvimento do cafeeiro. In: **19º Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras**, Três Pontas, 1993.

BAYER P. L. Baytan, **Informação Técnica**, 1981.

BAYER P. L. Bayfidan, **Informação Técnica**, 1984.

BILLINGS, S. C. **Pesticide handbook-entoma**
The Entomological Society of America, College Park, 1975, 290 p.

BRIGGS,, G. G. Factors affecting the uptake of soil-applied chemicals and other organism. In: HANCE, R. J. (Ed.) **Soils and crop protection chemicals**, Croydon, UK: British Crop Protection Council, 1984, p. 35-48 (Monogr. 27).

CAIRNS, T. & SHERMA, J. **Emerging strategies for pesticide analysis**, CRC Press, Boca Raton, 1992, 352 p.

CHAPMAN, R. A.; HARRIS, C. R.; TOLMAN, J. H.; DUBOIS, D. & COLE, C. The persistence of insecticidal chemicals in soils treated with granular formulation of disulfoton and their uptake by potato plants, **Journal of Environment Science and Health**, B 29 (2), p. 233-245, 1994.

CHAPMAN, R. A.; TOLMAN, J. H. & COLE, C. The effect of multiple soil applications of disulfoton on enhanced microbial degradation in soil and subsequent uptake of insecticidal chemical by potato plants, **Journal of Environment Science and Health**, B 29 (3), 485-506, 1994.

CHICHESTER, C. O. **Research in pesticides**
Academic Press, New York, 1965, 380 p.

CLIVE, T. **The pesticide manual (a world compendium) incorporating the agrochemicals handbook**, Tenth Edition, Crop Protection Publications, 1994, 1341 p.

COBERT, J. R. **The biochemical mode of action of pesticides**
London, Academic Press, 1974, 330 p.

COLE, J. S.; ZVENYIKA, Z. & TOET, L. Triadimenol soil residues following tobacco seedbed drenches to control sore shin of transplants, **Pesticide Science**, 20, p. 119-124, 1987.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L. & BONATO, P. S. **Introdução a métodos cromatográficos**, Editora da Unicamp, Campinas, 1997, 279 p.

CARRACEDO, C. J.; OLIVA, A.; CABRERA, M. & LOPEZ, C. Control químico del minador de la hoja del café en el tercer frente, **Revista Baracoa**, 21 (2-3), p. 23-30, 1991.

DAUBERSCHMIDT, C.; DIETRICH, D. R. & SCHLATTER, C. Toxicity of organophosphorus insecticides in the zebra mussel, *Dreissena polymorpha* P., **Archives of Environment Contamination Toxicology**, 30, p. 373-378, 1996.

DEJONCKHEERE, W.; STEURBAUT, W.; DRIEGHE, S.; VERSTRAETEN, R. & BRAECKMAN, H. Monitoring of pesticide residues in fresh vegetables, fruits, and other selected food items in Belgium, 1991-1993, **Journal of AOAC International**, 79 (1), p. 97-110, 1996.

DI CORCIA, A.; CRESCENZI, C.; MADBOULY, M. D. & SAMPERI, R. Pesticide stability studies upon storage in a graphitized carbon black extraction cartridge, **Environmental Science & Technology**, 29 (9), p. 2185-2190, 1995.

DRAPPER, W. M. Optimizing nitrogen-phosphorus detector gas chromatography for pesticide analysis, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 43, p. 2077-2082, 1995.

EMBRAPA, Serviço nacional de levantamento e conservação de solos. **Manual de Métodos de Análise do Solo**. Rio de Janeiro, 1979, não paginado.

ETO, M. Organophosphorus pesticides: Organic and biological chemistry
CRC Press, Cleveland, 1976, 387 p.

FLETCHER, R. A. & HOFSTRA, G. Triadimefon a plant multi-protectant, **Plant and Cell Physiology**, 26 (4), p. 775-780, 1985.

FLETCHER, R. A. & NATH, V. Triadimefon reduces transpiration and increases yield in water stressed plants, **Physiology Plant**, 62, p. 422-426, 1984.

FLORI, P. & BRUNELLI, A. Residues of ebi fungicides on grape, in must and wine, In: **47th International Symposium on Crop Protection**, Gent, 60 (2b), p. 503-509, 1995.

FREAR, D. E. H. **Chemistry of the pesticides**
D. Van Nostrand, Toronto, 1955, 467 p.

FREDERICK, E. K.; BISCHOFF, M. THROSSELL, C.S. & TURCO, R. F.
Degradation of chloroneb, triadimefon, and vinclozolin in soil, thatch, and
grass clippings, **Bulletin of Environment Contamination Toxicological**,
53, p. 536 - 542, 1994.

GRAVENA, S.; HARADA, S. S.; BENETOLI, I. & YAMAMOTO, P. T.
Comparação de estratégias de manejo de pragas e doenças do cafeeiro
(*Coffea arabica* L.), var. Mundo Novo, na região de Marília, SP, **Científica**,
21(1), p. 139-147, 1993.

GOULO, R. F. **Organic pesticides in the environment**
American Chemical Society, Washington, 1966, 309 p.

HANIFF, I. M. & ZIENIUS, R. H. Column temperature effects on gas
chromatography responses to organophosphorus pesticides, **Journal of**
Chromatography, 264, p. 33-46, 1983.

HARRIS, C. R.; CHAPMAN, R. A.; TOLMAN, J. H.; MOY, P.; HENNING, K.
& HARRIS, C. A comparison of the persistence in a clay loam of single and
repeated annual applications of seven granular insecticides used for corn
rootworm control, **Journal of Environment Science and Health**, B 23(1),
p. 1-32, 1988.

HOLSTEGE, D. M.; SCHARBERG, D. L.; RICHARDSON, E. R. & MÖLLER,
G. Multiresidue screen for organophosphorus insecticides using gel
permeation chromatography-silica gel cleanup, **Journal of Association**
Office Analytical Chemistry, 74 (2), p. 394-399, 1991.

IBGE, **Anuário estatístico do Brasil**
Fundação IBGE, Vol. 56, 1996, não paginado.

IBGE, **Censo agropecuário**
Fundação IBGE, Minas Gerais, Número 16, 1995-1996. 421 p.

IBRAHIM, F. B.; GILBERT, J. M.; EVANS, R. T. & CAVAGNOL, J. C.
Decomposition of di-syston (o,o-diethyl s-[2-(ethylthio)ethyl]
phosphorodithioate) on fertilizers by infrared, gas-liquid chromatography,
and thin-layer chromatography, **Journal of Agricultural Food Chemistry**,
17 (2), p. 300 - 305, 1969.

- JARAMILLO, T. **Esquemas, métodos de aplicação e translocação de fungicidas no controle da ferrugem do cafeeiro (*Hemileia vastatrix* Berk et Br.)**, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, 1988. (Tese Ms). 69 p.
- KHASANOVA, V. M. & ASILBEKOVA, K. T. Transformation of the fungicide triadimenol in a model aquatic system, **Agrokhimiya**, 11, p. 103-107, 1995.
- LIAO, W.; JOE, T. & CUSICK, W. G. Multiresidue screening method for fresh fruits and vegetables with gas chromatographic/mass spectrometric detection, **Journal of Association Office Analytical Chemistry**, 74 (3), p. 554-565, 1991.
- MANSK, Z. & MATIELLO, J. B. Estudo do fungicida sistêmico bayfidam, quando aplicado no solo e no tronco do cafeeiro e em pulverização visando o controle da ferrugem (*H. vastatrix* Berk. et Br.). In: **Congresso Brasileiro de Pesquisas Cafeeiras**, Campinas, 14, 1987. Resumos..... Rio de Janeiro, p. 27-28, 1987.
- MISRA, S. S. & AGRAWAL, H. O. Phorate and disulfoton residues in potatoes grown in north-western plains of india, **Tropical Agriculture**, 66 (4), p. 317-320, 1989.
- MISRA, S. S.; AGRAWAL, H. O. & DIKSHIT, A. K. Estimation of phorate and disulfoton residues in potatoes grown in northeastern plains, **Indian Journal of Entomology**, 56 (1), p.76-82, 1994.
- MATRANGOLO, P. F. R. **Avaliação da percolação do triadimenol no solo por cromatografia gasosa e cromatografia líquida de alta eficiência**, Viçosa-MG, Universidade Federal de Viçosa, 1998 (Tese MS), 61 p.
- MOYE, H. A. Reaction gas chromatographic analysis of pesticides. II. on-column transesterification of organophosphates by methanol, **Journal of Agriculture Food Chemistry**, 21 (4), p. 621-625, 1973.

- MUCEMECI, M. R. Defensivos agrícolas e sua interação com a microbiota do solo. In: TSAI, S. M.; NEVES, M. C. P. **Microbiologia do solo**, Campinas, Sociedade Brasileira do solo, 1992, p. 341-360.
- NAG, S. K. & DUREJA, P. Phototransformation of triadimenol on glass and soil surfaces, **Pesticide Science**, 48, p. 247-252, 1996.
- NETO, F. G. **Uso de agrotóxicos e receituário agrônômico**
Agroedições, São Paulo, 1982, 194 p.
- PAPANTONI, M. & MATHIASSEN, L. Long-term studies of fungicide concentration in greenhouses. 1. technique for determining superficial foliar residues of fungicide with vinclozolin and triadimefon as model compounds, **Journal of Agriculture Food Chemistry**, 43, p. 157-164, 1995.
- PAUL, V. H. Studies on the effect of bayleton on pathogenesis of brown rust of wheat (*Puccinia recondita* f. sp. *tritici*), **Pflanzenschutz Nachrichten Bayer**, 35 (3), p. 229-246, 1982.
- PÉRES, G. & PEREIRA, P. Campo devolve o veneno para a cidade, **Estado de Minas**, Belo Horizonte, 11 março 1998. Agropecuário. p. 6-7.
- PIFFER, R. **Movimento e degradação de aldicarbe e sulfona de aldicarbe em dois diferentes solos**, Lavras, Escola Superior de Agricultura de Lavras, 1989. (Tese Ms). 99 p.
- PLIMMER, J. R. Analytical chemistry and the future of pesticides, **Journal of Environment of Science and Health**, B 31(4), p. 645-670, 1996.
- PORTARIAS DO MINISTÉRIO DA SAÚDE – Relação de substâncias para uso fitosanitário e domissanitário – ILSI – Brasil – Monografia dezembro de 1996.

- RAWLINSON, C. J.; MUTHYALU, G. & CAYLEY, G. R. Residual effects of triadimefon in soil on powdery mildew and yield of spring barley, **Plant Pathology**, 31, p. 143-155, 1982.
- REDONDO, M. J.; RUIZ, M. J.; BOLUDA, R. & FONT, G. Optimization of a solid-phase extraction technique for the extraction of pesticides from soil samples, **Journal of Chromatography A**, 719, p. 69-76, 1996.
- REIS, R. R.; SOUZA, J. C. & MELLES, C. C. A. Pragas do cafeeiro. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, n. 109, Jan. 1984, 72 p.
- REYNAUD, P. V.; ROLLE, S. D. & CORMIS, L. Comparative purification methods for determination of triadimenol residues in plant material, **Pesticide Science**, 32 (1), p. 121-131, 1991.
- RIGITANO, R. L. O. & SOUZA, J. C. Ocorrência de resíduos do inseticida dissulfoton em folhas de cafeeiro após a sua aplicação no solo, **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 29 (6), p. 839-846, 1994.
- RIGITANO, R. L. O.; SOUZA, J. C. & JUNIOR, A. T. Ocorrência de aldicarbe em folhas do cafeeiro e seu efeito no controle do bicho-mineiro *Perileucoptera coffeella* (Guérin-Mèneville, 1842), **Ciência e Prática**, 17 (1), p. 43-48, 1993.
- RIGITANO, R. L. O.; SOUZA, J. C. & MORAES, M. L. Resíduos de aldicarbe e seus metabólitos tóxicos em café após aplicação de aldicarbe 15 G no solo em diferentes intervalos antes da colheita, **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 24 (8), p. 955-959, 1989.
- RÜEGG, E. F.; PUGA, F. R.; MARTINS de SOUZA, M. C.; ÚNGARO, M. T. S.; FERREIRA, M. S.; YOKOMIZO, Y. & ALMEIDA, W. F. **O impacto dos agrotóxicos sobre o ambiente, a saúde e a sociedade**, São Paulo, Ícone, 1991, 94 p.
- RUPP, E. B. & ZUMAN, P. Polarographic determination of some pesticides. Application to a study of their adsorption on lignin, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 40, p. 2016-2021, 1992.

- SANDOZ AGRO LTD. **GLC determination of disulfoton residues on plant material and soil**, Basileia, Suíça, Sandoz Agro, 1972, 5 p.
- SCHWACK, W.; BRÜGER, B. & NYANZI, S. Simultaneous differential pulse-polarographic determination of CS₂ and COS gases and its application in the analysis of dithiocarbamate fungicide residue in foods, **Fresenius Journal of Analytical Chemistry**, 351, p. 297-300, 1995.
- SIMONOVSKA, B. Preparation of some toxic metabolites of disulfoton, phorate, and terbufos, their separation by thin-layer chromatography and confirmation by electron impact mass spectrometry, **Journal of AOAC International**, 80 (3), p. 688-692, 1997.
- SINGH, A. K.; GUPTA, D. S. & HAMEED, S. F. translocation and dissipation in mung bean, *Vigna radiata* var. *aureus* Hübn., **Journal of Entomological Residue**, 7 (2), p. 127-132, 1983.
- SINHA, S. N.; CHAKRABARTI, A. K.; AGNIHOTRI, N. P.; JAIN, H. K. & GAJBHIYE, V. T. Efficacy and residual toxicity of some systemic granular insecticides against *thrips tabaci* on onion, **Tropical Pest Management**, 30 (1), p. 32-35, 1984.
- SKOOG, D. A.; WEST, D. M. & HOLLER, F. J. **Fundamentals of analytical chemistry**, Forth Worth, Saunders College, 1996, 870 p.
- SOCCOL, C. R.; PINHEIRO, L. I. & KREFTA, A. A. W. et al. Degradação microbiológica de pesticidas no solo: revisão bibliográfica, **Pesticidas Revista Técnico-Científica**, 5, p. 1-18, 1995.
- SOUZA, J. C.; SALGADO, L. O. & MELLES, C. C. A. **Pragas do cafeeiro**, Belo Horizonte, EPAMIG, 1981, 65 p.
- SPECHT, W. Gas-chromatographic method for determining residues of the fungicides fuberidazol, fluotrimazole and triadimefon in plants and soil, **Pflanzenschutz Nachrichten Bayer**, 30 (1), p. 55-71, 1977.
- STEVENS, R. W. **Pesticides in the environment**
New York, Marcel Dekker, vol. 1, 1976, 270 p.

- SZETO, S. Y. & BROWN, M. J. Gas-liquid chromatographic methods for the determination of disulfoton, phorate, oxydemeton-methyl, and their toxic metabolites in asparagus tissue and soil, **Journal of Agriculture Food Chemistry**, 30, p. 1082-1086, 1982.
- SZETO, S. Y.; VERNON, R. S. & BROWN, M. J. Degradation of disulfoton in soil and its translocation into asparagus, **Journal of Agriculture Food Chemistry**, 31, p. 217-220, 1983.
- TEKEL, J. & HATRÍK, S. Pesticides residue analyses in plant material by chromatographic methods: clean-up procedures and selective detectors, **Journal of Chromatography A**, 754, p. 397-410, 1996.
- THORTON, J. S. & ANDERSON, C. A. Determination of residues of di-syston and metabolites by thermionic emission flame gas chromatography, **Journal of Agriculture Food Chemistry**, 16 (6), p. 895-898, 1968.
- TONOGAI, Y.; HASEGAWA, Y.; NAKAMURA, Y.; SHIBATA, T.; TSUJI, S.; ITO, Y. & KATO, S. Analysis of disulfoton and trichlorfon in agricultural products by FPD-GC, **Journal of the Food Hygienic Society of Japan**, 32 (4), p. 328-335, 1991.
- TONOGAI, Y.; TSUMURA, Y.; NAKAMURA, Y.; MIYATA, M.; KAMAKURA, K.; HASEGAWA, M.; WADA, I. & FUJIWARA, Y. Development of simultaneous analysis for 8 kinds of organonitrogen fungicides in vegetables and fruits by FTD-GC, **Journal of the Food Hygienic Society of Japan**, 34 (3), p. 216-226, 1993.
- VOGEL, A. I. **Análise química quantitativa**
Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1992, 712 p.
- WARD, C. R.; OWENS, J. C.; HUDDLESTON, E. W.; ASHDOWN, D. & BAILEY, C. F. Phytotoxic and residual properties of disulfoton used on wheat, **Journal of Economic Entomology**, 65 (2), p. 561-563, 1972.

- WANJALA, F. M. E. Disyston (disulfoton) granules against leafminers, *Leucoptera meyricki* Ghesq. applied at different periods in a rainy season, **Kenya Coffee**, 41 (475), p. 277-280, 1976.
- WILDMAN, T. E. & CONE, W. W. Drip chemigation of asparagus with disulfoton: *Brachycorynella asparagi* (Homoptera: Aphididae) control and disulfoton degradation, **Journal of Economic Entomology**, 79 (6), p. 1617-1620, 1986.
- WOOD, A. B. & KANAGASABAPATHY, L. Evaluation of inexpensive thin-layer chromatographic procedures for the estimation of some organophosphorus and carbamate insecticide residues in fruit and vegetables, **Pesticide Science**, 14, p. 108-118, 1983.
- YEN, J. H. & WANG, Y. S. Studies on multi-residue analysis of organophosphorus insecticides in soils, **Journal of the Chinese Agricultural Chemical Society**, 32 (6), p. 602-611, 1994.
- ZAMBOLIM, L.; GALINDO ALVAREZ, J. R.; VENTURA, J.; RIBEIRO do VALE, F. X. Resíduos fungitóxicos em solo, folhas, e frutos de bananeira CV. prata tratada com triadimenol, **Fitopatologia Brasileira**, 18(2), p. 181-186, 1993.
- ZAMBOLIM, L & RIBEIRO do VALE, F. X. Manejo integrado de doenças do cafeeiro In: **Controle de doenças de plantas grandes culturas**, Cap. 3 Viçosa-MG, Suprema, 1997, vol. 1, 1131 p.
- ZONGMAO, C. & HAIBIN, W. Degradation of pesticides on plant surfaces and its prediction – a case study on tea plant, **Environmental Monitoring and Assessment**, 44, p. 303-313, 1997.