

**RODRIGO ZIANI DO NASCIMENTO**

**DEGRADAÇÃO DE CLORPIRIFÓS EM NEOSSOLO E CAMBISSOLO DE SANTA CATARINA**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-graduação em Ciência do Solo do Centro de Ciências Agroveterinárias, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência do Solo.

Orientador: Marcelo Alves Moreira

Coorientador: Osmar Klauberg Filho

**Lages, SC  
2021**

**Ficha catalográfica elaborada pelo programa de geração automática da  
Biblioteca Setorial do CAV/UEDESC,  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)**

Nascimento, Rodrigo Ziani do  
Degradação de Clorpirifós em Neossolo e Cambissolo de Santa  
Catarina / Rodrigo Ziani do Nascimento. -- 2021.  
78 p.

Orientador: Marcelo Alves Moreira  
Coorientador: Osmar Klauberg Filho  
Dissertação (mestrado) -- Universidade do Estado de Santa  
Catarina, Centro de Ciências Agroveterinárias, Programa de  
Pós-Graduação em Ciência do Solo, Lages, 2021.

1. Análise molecular. 2. Contaminação. 3. Tempo de meia vida.  
I. Moreira, Marcelo Alves. II. Klauberg Filho, Osmar. III.  
Universidade do Estado de Santa Catarina, Centro de Ciências  
Agroveterinárias, Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo.  
IV. Título.

**RODRIGO ZIANI DO NASCIMENTO**

**DEGRADAÇÃO DE CLORPIRIFÓS EM NEOSSOLO E CAMBISSOLO DE SANTA CATARINA**

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-graduação em Ciência do Solo do Centro de Ciências Agroveterinárias, da Universidade do Estado de Santa Catarina, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciência do Solo.

**Banca Examinadora:**

Orientador:

---

(Prof. Dr. Marcelo Alves Moreira)  
UDESC

Membros:

---

(Prof<sup>a</sup>. Dra. Mayara Cristiana Stanger)  
UFU

---

(Prof. Dr. Dennis Góss De Souza)  
UDESC

**Lages, 24 de março de 2021**



## AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Ciência do solo (CAV/UEDESC) pelos conhecimentos e ensinamentos repassados durante o percurso no curso de mestrado. Em especial a própria Universidade que possibilitou a realização do mesmo com a concessão de bolsa (PROMOP) para a ajuda financeira, ao qual sem este recurso não seria possível a realização do Mestrado.

Agradeço a Dra. Pamela Niederauer Pompeo, do laboratório de ecologia do solo do CAV/UEDESC que neste período auxiliou e me acompanhou em diversas etapas do trabalho, tanto experimental quanto na parte escrita. Juntamente aos meus colegas e amigos, que sempre me motivaram e me encorajaram na realização da Pós-Graduação.

Tenho um profundo agradecimento ao meu orientador prof. Dr. Marcelo Alves Moreira e ao meu coorientador prof. Dr. Osmar Klauberg Filho, que além de possibilitar de que o sonho de ser Mestre se tornasse verdade, me acompanharam por este período de dois anos auxiliando e ajudando em tudo o que eu precisava, se tornando fonte de inspiração para que eu me tornasse um bom profissional e uma pessoa exemplar.

A Dra. Sara Leston, da Universidade de Coimbra, pela oportunidade de troca de ideias, informações, apoio, ajuda com o trabalho e principalmente por ensinamentos vistos por outro ângulo como a cultura europeia sobre as conscientizações ambientais e o atual cenário da Europa.

Agradeço do fundo do coração ao meu Pai Alfredo e minha vó Maria por toda a ajuda emocional, financeira e por todo o companheirismo ao decorrer de toda a vida e não só neste período. Sendo meus dois pilares base, que sem eles não seria nem metade do que conquistei até hoje.

A CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) fundação vinculada ao Ministério da Educação do Brasil, pela concessão da bolsa por um período longo, sendo de 12 meses, pois foi uma ajuda financeira crucial para o desenvolvimento de minha pesquisa.

Por fim agradeço a Deus por ter me concedido saúde, proteção e as oportunidades que surgiram no decorrer de minha vida, ao qual a soma delas formaram a pessoa e o profissional que atualmente sou, inclusive os diversos desafios que me prepararam para as variadas situações inusitadas que apareceram no decorrer de minha jornada nesta vida terrena.



## RESUMO

O objetivo do estudo foi verificar a degradação do inseticida Clorpirifós, ao longo do tempo em dois solos (Cambissolo e Neossolo) de Santa Catarina, Brasil. Após a coleta (nos municípios de Araranguá e Lages) e preparação dos solos, foi realizada a contaminação com o Clorpirifós, em 5 diferentes doses (1 = 0,45 mg kg<sup>-1</sup>; 2 = 0,9 mg kg<sup>-1</sup>; 3 = 4,5 mg kg<sup>-1</sup>; 4 = 9 mg kg<sup>-1</sup>; 5 = 18 mg kg<sup>-1</sup>) e o controle (sem Clorpirifós), sendo três repetições com 200g de solo para cada dose, por classe de solo. Cada amostra de solo foi contaminada, homogeneizada, incubada e posteriormente, medida a degradação das moléculas de Clorpirifós a cada 10 dias, ao longo de 60 dias. As sub amostras de solo (20 g), retiradas das amostras contaminadas, foram agitadas por 50 minutos em 25 ml de solução de acetonitrila: água (90% e 10%). A solução final foi centrifugada a 6.000 rpm por cinco minutos e o sobrenadante foi coletado para a avaliação e leitura por Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Os dados obtidos foram submetidos a análise de Pearson ( $p < 0,05$ ) para verificar a correlação da concentração do Clorpirifós no solo com o tempo de exposição após contaminação. Para a comparação do tempo de meia-vida entre as doses foi realizada a variância *by ranks* por teste Kruskal-Wallis e para a comparação entre os solos, foi utilizado teste de Wilcoxon-Mann-Whitney ( $p < 0,05$  e  $p < 0,10$ ). Para o Cambissolo e o Neossolo, foi verificada redução significativa da concentração do pesticida ao longo do tempo, para todas as doses avaliadas (1, 2, 3, 4 e 5). O tempo de meia vida (DT50) médio em Cambissolo foi verificado aos 16,2 dias após contaminação do solo, a taxa de degradação foi de 0,050 mg kg<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>. Não houve diferença na persistência do Clorpirifós avaliada pelo DT50 em Cambissolo. O DT50 médio em Neossolo foi verificado aos 14,1 dias após contaminação do solo. Houve variação da persistência do Clorpirifós em Neossolo, com diferença significativa do DT50 das concentrações das doses 1 e 2 (médias de 7,6 e 9,1 dias) com a dose 5 (21,4 dias). A taxa de degradação do Clorpirifós em Neossolo foi de 0,058 mg kg<sup>-1</sup> dia<sup>-1</sup>. A eficiência de extração em Cambissolo e Neossolo foi acima de 80%. A adsorção do Clorpirifós foi maior em Cambissolo devido ao teor elevado de matéria orgânica. O tempo de avaliação de 60 dias demonstrou ser adequado para verificar a degradação do Clorpirifós nos solos estudados.

**Palavras-chave:** Análise molecular. Contaminação. Tempo de meia vida.



## ABSTRACT

The aim of the study was to verify the degradation of the insecticide Chlorpyrifos over time in two soils (Haplumbrept and Quartzipisamment) in Santa Catarina, Brazil. After collection (in the municipalities of Araranguá and Lages) and soil preparation, contamination with Chlorpyrifos was carried out in 5 different doses (1 = 0.45 mg kg<sup>-1</sup>; 2 = 0.9 mg kg<sup>-1</sup>; 3 = 4.5 mg kg<sup>-1</sup>; 4 = 9 mg kg<sup>-1</sup>; 5 = 18 mg kg<sup>-1</sup>) and the control (without Chlorpyrifos), with three repetitions with 200g of soil for each dose, by soil class. Each soil sample was contaminated, homogenized, incubated and subsequently, the degradation of Chlorpyrifos molecules was measured every 10 days, over 60 days. The soil sub-samples (20 g), removed from the contaminated samples, were stirred for 50 minutes in 25 ml of acetonitrile: water solution (90% and 10%). The final solution was centrifuged at 6,000 rpm for five minutes and the supernatant was collected for evaluation and reading by high performance liquid chromatography (HPLC). The data obtained were submitted to Pearson analysis ( $p < 0.05$ ) to verify the correlation of the concentration of Chlorpyrifos in the soil with the time of exposure after contamination. To compare the half-life between doses, the variance by ranks was performed using the Kruskal-Wallis test and for the comparison between soils, the Wilcoxon-Mann-Whitney test was used ( $p < 0.05$  and  $p < 0, 10$ ). For Haplumbrept and Quartzipisamment, a significant reduction in the concentration of the pesticide was observed over time, for all doses evaluated (1, 2, 3, 4 and 5). The mean half-life (DT50) in Haplumbrept was verified at 16.2 days after soil contamination, the rate of degradation was 0.050 mg kg<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>. There was no difference in the persistence of Chlorpyrifos assessed by DT50 in Haplumbrept. The average DT50 in Quartzipisamment was verified at 14.1 days after soil contamination. There was variation in the persistence of Chlorpyrifos in Quartzipisamment, with a significant difference in the DT50 of the concentrations of doses 1 and 2 (averages of 7.6 and 9.1 days) with dose 5 (21.4 days). The degradation rate of Chlorpyrifos in Quartzipisamment was 0.058 mg kg<sup>-1</sup> day<sup>-1</sup>. The extraction efficiency in Haplumbrept and Quartzipisamment was above 80%. The adsorption of Chlorpyrifos was higher in Haplumbrept due to the high content of organic matter. The evaluation time of 60 days proved to be adequate to verify the degradation of Chlorpyrifos in the studied soils.

**Keywords:** Molecular analysis. Contamination. Half life time.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 - Concentração de Clorpirifós nas DOSE 1 “0,45 mg kg<sup>-1</sup>” (a), DOSE 2 “0,9 mg kg<sup>-1</sup>” (b), DOSE 3 “4,5 mg kg<sup>-1</sup>” (c), DOSE 4 “9 mg kg<sup>-1</sup>” (d) e DOSE 5 “18 mg kg<sup>-1</sup>” (e) em função dos dias após contaminação em Cambissolo. ....44
- Figura 2 - Concentração de Clorpirifós nas DOSE 1 “0,45 mg kg<sup>-1</sup>” (a), DOSE 2 “0,9 mg kg<sup>-1</sup>” (b), DOSE 3 “4,5 mg kg<sup>-1</sup>” (c), DOSE 4 “9 mg kg<sup>-1</sup>” (d) e DOSE 5 “18 mg kg<sup>-1</sup>” (e) em função dos dias após contaminação em Neossolo. ....47
- Figura 3 - Faixa de concentração linear das isotermas de sorção para Clorpirifós nas amostras de Cambissolo (a) e Neossolo (b) para as condições experimentais do estudo, pH de 4,7 e 5,8, com temperatura de 25° C, agitação de 150 rpm, em solução de acetonitrila e água (9:1). ....50



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Atributos químicos e granulometria dos solos, Neossolo e Cambissolo, estudados. .....	36
Tabela 2 - Contaminação por Clorpirifós do experimento com Neossolo. ....	37
Tabela 3 - Contaminação por Clorpirifós do experimento com Cambissolo. ....	38
Tabela 4 - Eficiência de extração, média, desvio padrão e coeficiente de variação do pesticida Clorpirifós (18 mg kg <sup>-1</sup> ) em Cambissolo. ....	43
Tabela 5 – Taxa de degradação do Clorpirifós, tempo de meia-vida e comparação aos pares dos valores entre as doses em Cambissolo. ....	45
Tabela 6 – Teste Kruskal-Wallis (ANOVA <i>by Ranks</i> ) dos valores de taxa de degradação e tempo de meia-vida (DT50) da concentração do Clorpirifós em Cambissolo.....	46
Tabela 7 - Eficiência de extração, média, desvio padrão e coeficiente de variação do pesticida Clorpirifós (18 mg kg <sup>-1</sup> ) em Neossolo. ....	46
Tabela 8 – Taxa de degradação do Clorpirifós, tempo de meia-vida e comparação aos pares dos valores entre as doses em Neossolo. ....	48
Tabela 9 - Teste Kruskal-Wallis (ANOVA <i>by Ranks</i> ) dos valores de taxa de degradação e tempo de meia-vida (DT50) da concentração do Clorpirifós em Neossolo.....	49
Tabela 10 - Diferença da taxa de degradação e tempo de meia vida entre Cambissolo e Neossolo. .....	50
Tabela 11 - Valores de $f_{om}$ , $f_{oc}$ , $K_d$ , $K_{oc}$ , $K_{om}$ para amostras de Cambissolo e Neossolo. ....	51



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Al	Alumínio
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
Ca	Cálcio
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CRA	Capacidade de retenção de água
CTC	Capacidade de trocar cátions
Cu	Cobre
Fe	Ferro
H+Al	Acidez potencial
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i>
i.a.	Ingrediente ativo
IBAMA	Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis
K	Potássio
MAPA	Ministérios da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
Mg	Magnésio
Mn	Manganês
MO	Matéria orgânica
P	Fósforo
pH	Potencial hidrogeniônico
Zn	Zinco
K <sub>d</sub>	Constante de distribuição
K <sub>oc</sub>	Constante de sorção em relação ao carbono orgânico
K <sub>om</sub>	Constante de sorção em relação a matéria orgânica



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>19</b>
<b>2 HIPÓTESE</b> .....	<b>23</b>
<b>3 OBJETIVOS</b> .....	<b>25</b>
3.1 GERAL.....	25
3.2 ESPECÍFICOS .....	25
<b>4 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	<b>27</b>
4.1 HISTÓRICO DOS PESTICIDAS .....	27
4.2 PESTICIDAS NO BRASIL .....	28
4.3 ESTUDO DA MOLÉCULA CLORPIRIFÓS.....	29
4.4 CLORPIRIFÓS NO SOLO .....	31
<b>5 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>35</b>
5.1 COLETA DO SOLO E CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA.....	35
5.2 CONTAMINAÇÃO DAS AMOSTRAS DE SOLO.....	37
5.3 EXTRAÇÃO DO CLORPIRIFÓS .....	38
5.4 ANÁLISE DE CROMATOGRAFIA.....	39
5.5 CURVA DE CALIBRAÇÃO E EFICIÊNCIA DE EXTRAÇÃO .....	39
5.6 ANÁLISE DOS DADOS .....	40
<b>6 RESULTADOS</b> .....	<b>43</b>
6.1 EXPERIMENTO CAMBISSOLO .....	43
6.2 EXPERIMENTO NEOSSOLO .....	46
6.3 COMPARAÇÃO ENTRE CAMBISSOLO E NEOSSOLO .....	49
<b>7 DISCUSSÃO</b> .....	<b>53</b>
7.1 EXPERIMENTO CAMBISSOLO .....	53
7.2 EXPERIMENTO NEOSSOLO .....	55
7.3 COMPARAÇÃO ENTRE CAMBISSOLO E NEOSSOLO.....	56
7.4 ANÁLISE GERAL SOBRE O ESTUDO .....	58
<b>7 CONCLUSÃO</b> .....	<b>59</b>

**REFERÊNCIAS..... 61**  
**APÊNDICES..... 67**

## 1 INTRODUÇÃO

É possível quantificar qual agrotóxico e seus metabólitos estão presentes em determinado solo por uma análise molecular. Com isto, pode-se obter a quantidade e quais produtos estão sendo usados em determinada lavoura ou região e dependendo do nível de concentração pode ser feito a avaliação do risco ambiental (CONCEIÇÃO, 2002). Com a crescente preocupação sobre a necessidade da preservação do meio ambiente que são temas altamente ligados à agricultura, o controle e pesquisa sobre o efeito de agrotóxicos no ambiente e sua consequência na biodiversidade de organismos no solo, aumentou muito no Brasil nesta década (LESSA; MARTINS, 2018).

O uso indiscriminado de inseticidas é um grande problema, principalmente em países em desenvolvimento devido à agricultura intensiva e o pensamento somente voltado ao ganho econômico. De modo geral, há uma crescente preocupação em relação à poluição ambiental e a preservação dos recursos naturais em todo o mundo, assim o uso dos agrotóxicos é discutido frequentemente quando o assunto é preservação ambiental. Devido a lucratividade e rendimento na lavoura ser maior, até certo nível, com o uso de fertilizantes químicos e agrotóxicos, acarreta problemas de controle da quantidade de produtos químicos aplicados e a falta de cuidado nas misturas de produtos em tanques de pulverização agrava o problema ambiental (KOH; JEYARATNAM, 1996; SANTOS et al., 2007; GEBREMARIAM et al., 2012). Os problemas dos efeitos do Clorpirifós e de outros produtos químicos no meio ambiente, vêm sendo extensivamente relatados e estudados até os dias atuais (RANI et al., 2020).

O controle de insetos é realizado pelos inseticidas, dentre eles o Clorpirifós, sendo que estes possuem moléculas e meios de ação alvo específicas, conforme os ingredientes ativos que estão presentes na composição dos produtos comerciais. Portanto, os efeitos residuais destes produtos químicos e seus níveis de toxicidade podem variar muito no solo dependendo da molécula. A matéria orgânica ajuda a reter as moléculas de pesticidas no solo devido à formação de ligações fortes entre eles, consequentemente afeta a quantidade de lixiviação desses produtos químicos e o que fica retido no solo (RANI et al., 2020).

A polaridade é um dos principais fatores a ser considerado nos agrotóxicos em relação a sua toxicidade no meio ambiente, pois quanto maior a polaridade mais dissolvida a molécula é em água, desta maneira ela forma ligações químicas fracas com a camada orgânica do solo e tendo maior afinidade com a água, consequentemente sendo mais lixiviada nas chuvas tornando-se uma preocupação em razão da contaminação de águas e dos lençóis freáticos. Quando a molécula é menos polar tem a tendência de ter uma lixiviação menor (imobilização),

consequentemente contaminando e gerando uma liberação gradual de subprodutos e metabólicos tóxicos ao meio ambiente (GHINI; KIMATI, 2002).

A água é um dos principais fatores ativos nas reações e o pleno funcionamento das reações gerais do solo, pois além de ser um agente catalizador de reações químicas ainda está envolvida na lixiviação de pesticidas e na contaminação do lençol freático. A intensidade da chuva, evaporação e retenção de água no solo está favorece a difusão e dispersão das partículas dos agroquímicos. A consequência é o transporte de metais pesados e de moléculas químicas de pesticidas que também dependem altamente do pH da água no solo. Geralmente quanto mais baixo o pH desses produtos mais lixiviado e tóxico será ao meio ambiente e toda a cadeia ecológica (MIRSAL, 2008).

Nesse contexto, um desafio importante para compreender toda esta cadeia de contaminação ambiental, é a quebra destas moléculas de pesticida realizadas por microrganismos e que a maioria dos inseticidas e pesticidas em geral possuem moléculas tóxicas, cancerígenas e mutagênicas que dependendo da composição podem ser mais polares e consequentemente mais propensas à contaminação ambiental por lixiviação, causando um problema generalizado tanto em relação a dispersão de moléculas tóxicas, quanto aos riscos e prejuízos a outros organismos no meio ambiente, ou ainda, a utilização desses lençóis freáticos contaminados na hidratação dos seres humanos (VAN SCOY; TJEERDEMA, 2014). Desta maneira torna-se crucial encontrar um método para avaliar a concentração desses pesticidas no solo e determinar o tipo da molécula, toxicidade e sua persistência no meio ambiente, que podem comprometer assim os seres vivos (SOCCOL et al., 1995; PAUMGARTTEN, 2020).

Os agrotóxicos, podem variar em níveis de toxicidade e persistência no solo e meio aquático, podendo desequilibrar processos vitais ecológicos no meio ambiente e até mesmo inibir algumas reações, tais como a atividade da fauna edáfica e microbiana (CARNIEL, 2015; RANI et al., 2020). Com este desequilíbrio no meio, vários fatores são afetados indiretamente devido à desregulação de funções básicas de organismos no solo, como a ciclagem de nutrientes, melhoria de características físico-químicas do solo e na decomposição e disponibilidade destes nutrientes no solo (BARDGETT; VAN DER PUTTEN, 2014; BARETTA et al., 2014; JOHN; SHAIKE, 2015).

As condições de clima, topografia, matéria orgânica, atividade microbiológica, fauna do solo, mineralogia e diversos outros fatores são de grande importância para a formação dos diferentes solos. As características, específicas de cada solo, influenciam no tempo de degradação da molécula ativa do pesticida Clorpirifós (ZIMBACK, 2003; JOHN; SHAIKE, 2015). Portanto, a realização deste estudo é de extrema importância devido aos poucos trabalhos

sobre o comportamento da molécula de Clorpirifós em Neossolo e Cambissolo, que são solos representativos no estado de Santa Catarina.



## **2 HIPÓTESE**

- a) A quantidade de Clorpirifós em Neossolo e Cambissolo diminuem com o maior tempo de exposição do pesticida, e de forma diferenciada de acordo com as características físico-químicas de cada solo.



### 3 OBJETIVOS

#### 3.1 GERAL

Estudar a degradação do inseticida Clorpirifós em solos das classes Cambissolo e Neossolo, coletados em Santa Catarina, Brasil.

#### 3.2 ESPECÍFICOS

- a) Utilizar a metodologia indicada para a extração de Clorpirifós em um estudo europeu, para solos Catarinenses que apresentam teores de matéria orgânica, areia e argila contrastantes (Cambissolo e Neossolo);
- b) Avaliar a cinética de degradação das moléculas do Clorpirifós em Cambissolo e Neossolo por cromatografia líquida de alta eficiência;
- c) Determinar o tempo de meia vida do pesticida nos solos estudados e doses aplicadas;
- d) Determinar a eficiência de extração do pesticida Clorpirifós retido em Cambissolo e Neossolo;



## 4 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 4.1 HISTÓRICO DOS PESTICIDAS

A produção agrícola aumentou acentuadamente desde o início do século 20 para fazer frente ao crescimento demográfico. A população atual do mundo é de 7,2 bilhões e tende a aumentar nos próximos anos. O aumento da população mundial não teria sido possível sem um crescimento paralelo na produção de alimentos, e isso foi conseguido devido aos agroquímicos (CARVALHO 2017; SINGH et al., 2020). Agrotóxicos são formulações químicas geralmente usadas para controlar pragas, patógenos e fornecimento de nutrientes ao solo. O uso destes produtos (reguladores de crescimento, pesticidas e fertilizantes) tem aumentado o rendimento e crescimento das safras proporcionando estabilidade à produção agrícola (SINGH et al., 2020).

Na década de 1960 foram lançados pesticidas com menor toxicidade para os seres humanos e o meio ambiente, denominados de terceira geração de pesticidas, os quais eram à base de feromônios, influenciadores fisiológicos, controles biológicos e até mesmo o uso de inseticidas piretróides (ALVES FILHO, 2002). A quarta geração de pesticidas é usada atualmente e foi obtida principalmente por estudos mais aprofundados na área de entomologia. O conhecimento dos mecanismos endócrinos dos insetos permitiu a produção de produtos químicos com seletividade de alvo. Estes produtos mais seletivos são mais seguros à saúde humana em relação aos produtos das gerações anteriores, pois proporcionam uma maior degradação por um período menor de sua molécula ativa na composição do solo, consequentemente sendo menos prejudicial ao meio ambiente e a saúde humana (NRC, 2000).

Nas últimas décadas, o uso extensivo de agrotóxicos (para controle de pragas e patógenos) vem sendo relacionados a deterioração do solo, que é uma das consequências mais graves da agricultura tradicional. Antes da Revolução Industrial, as práticas agrícolas eram consideradas mais “amigas” do meio ambiente, pois o rendimento da colheita dependia principalmente de recursos internos, incluindo reciclagem de matéria orgânica e rotação de culturas, para manutenção dos nutrientes do solo e controle biológico de pragas. Esse tipo de agricultura, mantinha o equilíbrio natural entre agricultura e meio ambiente e, portanto, os sintomas de degradação ambiental raramente eram evidenciados (SINGH et al., 2020).

O Brasil é um dos quatro grandes exportadores do mundo no setor agrícola, junto com Estados Unidos, China e União Europeia ao qual somente esses representam mais da metade da produção agrícola mundial e consequentemente o uso de pesticidas também é um dos

maiores. Cada um tem suas próprias leis para regulamentação e o uso de produtos sendo que, somente a União Europeia consiste em uma junção de 28 países e por isto tem mais estudos e são mais rigorosos quando o tema é produto químico na agricultura. O Brasil em 1989 criou uma lei de pesticidas N°7802, ao qual é obrigado a fazer a avaliação de risco para produtos, porém o país tem limitações no controle e regulamento (Donley, 2019).

A compilação geral do uso de pesticidas no Brasil ao longo da história é muito difícil, devido aos problemas no controle e fiscalização dos órgãos governamentais. O uso de pesticidas aumentou em conjunto com o aumento na produção de grãos, e o Brasil se tornou um dos quatro maiores consumidores de pesticidas do mundo devido ao extenso território agricultável, junto com os Estados Unidos, União Europeia e China (DONLEY, 2019; PAUMGARTTEN, 2020). Segundo Paumgarten (2020), no Brasil são carentes estudos de biomonitoramento e dados analíticos sobre a exposição de agroquímicos. Nosso país está no ranking dos quatro países que mais consomem esses produtos químicos, e que faltou gerar esses dados relevantes.

## 4.2 PESTICIDAS NO BRASIL

Os produtos químicos utilizados na agricultura atualmente são avaliados pelo Ministérios da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e pelo Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis (IBAMA). O IBAMA é responsável por avaliar e determinar os riscos dos agrotóxicos no ambiente, as classes de avaliações de riscos variam de I- Extremamente Tóxico até a classe IV que é pouco tóxico, ao qual são valores que representam a dose letal a 50% à população de animais teste, representada por miligramas de ingrediente ativo de produto por quilograma de peso vivo (Lei n° 7802/1989, regulamentada pelo decreto n°4074/2002).

A ANVISA tem a responsabilidade de medir o potencial de periculosidade ambiental dos produtos, levando em consideração as características físicas e químicas dos pesticidas, sua persistência e capacidade de translocação no meio ambiente e toxicidade aos seres vivos presentes no ambiente. A classe I é definida como produtos altamente tóxicos e perigosos ao meio ambiente; Classe II é de produtos muito perigosos ao meio ambiente; Classe III é de produtos perigosos ao meio ambiente; e a classe IV é de produtos que são pouco perigosos ao meio ambiente. Todas estas características são encontradas em bula de produto, para que ocorra um controle ideal com maior redução de riscos ambiental de contaminação (IBAMA, 2009).

Toda a degradação ocorre por meio de reações químicas, sendo que três processos são os primordiais: processo abiótico e biótico sendo que o principal é o microbiano. No caso dos

agrotóxicos, a maior forma de degradação da molécula é decorrente da atividade microbiana, em que as reações químicas acontecem devido à ação catalítica de enzimas produzidas pelos microrganismos. A completa biodegradação ou mineralização envolve a oxidação dos compostos intermediários, que podem ser mais ou menos tóxicos que o composto inicial, em moléculas mais simples como água, CO<sub>2</sub>, entre outras (SPADOTTO et al., 2004). Quanto mais o ambiente for favorável aos microrganismos, maior será a degradação e o desenvolvimento das populações, tais condições ambientais são: aeração do solo, temperatura entre 27 a 32 °C, altos teores de matéria orgânica, umidade entre 50 a 100% da capacidade de campo e um pH próximo a 7 para o melhor desenvolvimento das populações (ANDRIGHETTI et al., 2014).

Compostos de diferentes grupos químicos têm diferentes mecanismos de ação e atuam sobre organismos pragas de formas variadas. Organofosfatos (principalmente inseticidas, dentre eles o Clorpirifós) e carbamatos (principalmente herbicidas e fungicidas) atuam como inibidores da enzima acetilcolinesterase (AChE) causando interrupção da transmissão do impulso nervoso a nível sináptico. O mecanismo de ação tóxica não se restringe as pragas alvo, e a toxicidade é exercida também em organismos não-alvo semelhantes, causando danos à biodiversidade e a saúde dos ecossistemas (Carvalho, 2017).

No caso de alguns insetos benéficos ao meio ambiente, exemplo de abelhas e alguns coleópteros, o principal meio de contaminação se deve ao contato destes insetos com o produto no meio agrícola onde o produto foi pulverizado para controle de agentes indesejados, mas indiretamente atinge outros organismos, devido ao tamanho de gota com alta dispersão e volatilidade (PORRINI et al., 2003).

Todo composto químico com a finalidade de eliminar insetos praga é denominado inseticida, a exemplo do Clorpirifós. Podem ser utilizados de duas formas distintas, sendo elas por pulverizações tanto costal de barras ou por trator e também pelo tratamento de sementes em pré-emergência, sendo que a forma a ser utilizada varia muito da praga alvo e do estágio de desenvolvimento da cultura, (MATSUMURA, 2012).

#### 4.3 ESTUDO DA MOLÉCULA CLORPIRIFÓS

Os inseticidas organofosforados são sintéticos e criados na época da segunda guerra mundial, Clorpirifós em 1965, sendo os mais utilizados depois que não foram mais utilizados os organoclorados. O Clorpirifós possui alta toxicidade, mas é degradado, portanto o problema do uso é o acúmulo no solo devido à aplicação repetida em uma cultura. Devido ao baixo preço

e a facilidade de conseguir o produto, ele é amplamente utilizado em países desenvolvidos e em desenvolvimento (JOHN; SHAIKE, 2015).

O inseticida Clorpirifós (O,O-dietil O-3,5,6-tricloropiridin-2-ol fosforotioato) é do grupo dos organofosforados com uma classe de ingestão e por contato, muito utilizado na agricultura e de amplo espectro, possuindo um total de 23 produtos registrados no Brasil em 2019 (ADAPAR, 2019). É classificado como um produto muito perigoso e tóxico ao meio ambiente (Classificação ambiental II), e sua classificação toxicológica é de nível III (moderadamente tóxico). A ação deste produto inibe a atividade da enzima acetilcolinesterase presentes nas junções neuromusculares dos insetos, levando conseqüentemente à paralisia dos organismos e evoluindo até a morte (AGROFIT, 2020).

Os pesticidas modernos foram projetados para serem degradáveis e ter baixa persistência no ambiente, diferente dos pesticidas de primeira geração que tiveram maior degradação e persistência ecológica (CARVALHO et al., 2017). Contudo, devido a sua natureza apolar, o Clorpirifós tem baixa solubilidade em água e grande partição em solventes orgânicos. Sua estabilidade hidrolítica diminui com o aumento do pH. A meia-vida do Clorpirifós no solo pode variar de alguns dias a anos, dependendo muito taxa de aplicação, o tipo de ecossistema, dos microrganismos do solo e das condições climáticas. A degradação da meia-vida do Clorpirifós no solo, em condições aeróbicas, é geralmente de 1 a 2 meses nas taxas de aplicação agrícolas usuais (recomendadas) e parecem aumentar com taxas de aplicação mais altas, podendo chegar a 4 anos (JOHN; SHAIKE, 2015).

Das et al., (2020) ao estudarem a concentração do Clorpirifós em amostras de folhas e solo, com aplicação no campo, verificaram que a concentração média de Clorpirifós nas amostras de solo coletadas após a aplicação (Dia 0), foi aproximadamente 500 vezes menor do que o medido nas folhas de *Phacelia tanacetifolia* no Dia 0. Isso indica que as folhas interceptaram a maior parte do clorpirifós durante a aplicação.

Contudo, apesar das culturas autorizadas no uso do ingrediente ativo Clorpirifós no Brasil, serem na sua maioria para aplicação foliar, há culturas como a batata e o milho onde a aplicação do Clorpirifós pode ser feita no solo (ANVISA, 2021b). O Clorpirifós foi listado pela Anvisa como o quinto agrotóxico, entre os próximos ingredientes ativos a serem reavaliados pela Anvisa por apresentar risco a saúde humana. De acordo com discussão internacional o Clorpirifós apresenta risco de neurotoxicidade para o desenvolvimento (ANVISA, 2021a)

Segundo Jardim et al. (2017), o Clorpirifós foi o pesticida mais detectado em amostras de alimento no Brasil, cerca de 9% (30786 amostras de 30 alimentos), entre os organofosforados, carbamatos e piretróides, analisados pelos Programa de Análise de Resíduos

de Agrotóxicos em Alimentos (PARA), Programa Nacional de Controle de Resíduos e Contaminantes (PNCRC) e pelo Laboratório de Toxicologia da Universidade de Brasília, Brasil, entre 2005-2015.

Um dos principais meios de degradação das moléculas do Clorpirifós é pela hidrólise, possuindo uma complexidade ampla de fatores para a degradação e dissipação da molécula. Foram observados tempos de meia vida menores para a superfície do solo (semanas), quando comparado com uma incorporação no solo (meses), em decorrência ao teor hídrico presentes nos mesmos e até mesmo pela oscilação hídrica superficial (RACKE et al., 1993). Outro fator de influência foi o pH, solos ácidos e neutros tiveram maior uniformidade e baixa hidrólise, comparado com solos alcalinos (RACKE et al., 1996).

#### 4.4 CLORPIRIFÓS NO SOLO

O solo sustenta a vida na terra e é formado pelo derramamento de lava vulcânicas formando as rochas intrusivas e extrusivas, conforme o passar dos anos, ocorre o intemperismo físico e químico, e devido a isto, forma os diferentes relevos e solos observados na crosta terrestre (OLIVEIRA MENEZES, 2013). Os diferentes solos observados ao longo da superfície terrestre, são formados pelo intemperismo ao longo do tempo e outros fatores, dentre eles o clima (chuva, temperatura, insolação, etc.), os organismos que liberam ácidos e compostos orgânicos que aceleram reações químicas, a rocha matriz que pode ter composição distinta dependendo do local onde ocorre e o relevo, ou seja, vários fatores formam os solos e os fazem apresentar determinadas características físico – química (LEPSCH, 2010; IBGE, 2015).

A textura do solo, mineralogia, quantidade de matéria orgânica e a capacidade de troca de cátions influencia no processo de retenção de pesticidas no solo, então a porcentagem de retenção de pesticida em cada tipo de solo é muito variável. Juntamente com propriedades físico-químicas dos pesticidas, ao qual varia sua polaridade, solubilidade em água, volatilidade e até mesmo no coeficiente de distribuição do produto no solo. Como exemplo, pode-se citar solos com alto teor de matéria orgânica e argila, que possuem uma capacidade de adsorção maior devido à maior superfície específica da matéria orgânica (FAY; SILVA, 2004).

Os Cambissolos são muito confundidos com os Latossolos devido à pequena diferenciação de horizontes e seu baixo gradiente textural, porém se diferencia por um menor desenvolvimento pedogenético, com maiores teores de minerais primários menos resistentes ao intemperismo. Compreende-se por solos minerais com um horizonte B bastante heterogêneo,

não hidromórficos, podendo ser derivado de rochas com natureza e composição bastante variáveis, desde as mais antigas e até mesmo nas de origem mais recente. A maioria desses solos são bem drenados, e com um perfil que varia de pouco profundo a profundo. Em microrregiões mais altas e frias como no clima dos campos de Lages, há um teor de matéria orgânica alta e por isso o horizonte superficial tem coloração escura e espessa, e em camadas mais profundas com a coloração vermelho-amarelada ou brunada (SANTOS et al., 2013).

Os Neossolos são solos pouco evoluídos, não apresentam horizonte B diagnóstico e constituídos de matéria orgânica em espessura menor a de 30 cm. Situados em climas, relevos e até mesmo o tempo de formação que são pouco expressivos para que esse solo evolua em estruturação de camadas, podendo ser até mesmo influenciado pela alta resistência dos minerais primários de formação consequentemente pela baixa modificação seu estado parece muito semelhante com o material original herdado. Podem ser de maior fertilidade natural e profundidade denominado de eutrófico, como os de baixas fertilidades naturais e mais ácidos que não são tão bons para o uso agrícola necessitando assim de altas adubações e calagens para a correção de acidez, denominados de distróficos. (IBGE, 2015).

O Clorpirifós entra no solo por aplicação direta do inseticida, por pulverização ou lavagem foliar. A adsorção, dessorção e mobilidade de Clorpirifós no solo e na água dependem da natureza dos adsorventes e solubilidade em água, sendo que a adsorção tende a reduzir a mobilidade do Clorpirifós e aumentar sua persistência no solo, reduzindo sua disponibilidade às forças degradativas (GEBREMARIAM et al., 2012; JOHN; SHAIKE, 2015).

Dufilho e Falco (2019) analisaram o transporte e destino do pesticida organofosforado clorpirifós em solos produtivos na Patagônia Argentina e verificaram que a lixiviação do clorpirifós revelou um padrão diferente nos dois tipos de solo estudados (fraco-arenoso e franco-argiloso). O solo de textura franco-arenosa produziu mais percolação de água irrigada, mas o solo franco-argiloso produziu maior lixiviação de clorpirifós sob condições de aplicação semelhantes.

O Clorpirifós é degradado no solo por diversos fatores já citados, porém a degradação microbiana é algo mais ineficiente devido a transformação da molécula principal em 3, 5, 6, tricloro-2-piridinol (TCP), subproduto que afeta a degradação microbiana (RAFIQUE et al., 2019). Segundo John e Shaike (2015) o subproduto do Clorpirifós TCP é mais tóxico que a própria molécula originária.

Esses subprodutos são mais instáveis, portanto, não se acumulam no solo. Os metais pesados também influenciam na degradação do Clorpirifós no solo, como exemplo o cobre e o

ferro aumentam enquanto manganês e cobalto diminuíram a degradação. Poucos pesquisadores viram esta relação e suas interações, portanto ainda é um mistério todas estas combinações de fatores (RAFIQUE et al., 2019).



## 5 MATERIAL E MÉTODOS

A molécula selecionada para a realização deste estudo foi o Clorpirifós, a marca comercial usada foi o Sabre® contendo 45% da sua composição química com o ingrediente ativo. A metodologia para a extração do Clorpirifós em solos foi baseada em estudo publicado na Europa (*Soil and Environment Sciences Department, Horticulture Research International, Wellesbourne and Department of Biological Sciences, Imperial College at Silwood Park, Ascot, United Kingdom*), que descreveu o solvente orgânico utilizado e as etapas realizadas para a extração da molécula em solo do Reino Unido (SINGH; WALKER; WRIGHT, 2002).

### 5.1 COLETA DO SOLO E CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA

Dois solos com diferentes teores de matéria orgânica foram escolhidos, sendo eles Cambissolo e Neossolo e realizados experimentos individuais para cada classe de solo (Apêndice D). O primeiro experimento foi com o Neossolo Quartzarênico Órtico Típico (Neossolo), coletado no município de Araranguá/SC [29°00'19.98''S e 49°31'02.84''W], região caracterizada, de acordo com o sistema de classificação climática de Köppen como subtropical úmida, com clima oceânico e verões quentes (Cfa), sem estação seca e temperatura média no mês mais quente acima de 22°C (ALVARES et al., 2014).

Para o segundo experimento, foi utilizado solo Cambissolo Húmico (Cambissolo) coletado no município de Lages/SC [27°48'57''S e 50°21'45''W], caracterizada, segundo a classificação de Köppen, como região subtropical úmida, com clima oceânico e verões amenos (Cfb), sem estação seca, com chuvas bem distribuídas e temperatura média no mês mais quente abaixo de 22°C (ALVARES et al., 2014).

Ambos os solos foram coletados em áreas de vegetação natural, sem histórico agrícola, procurando-se obter amostras livres de resíduos de produtos químicos. A coleta dos solos foi realizada na camada superficial de 0-10 cm de profundidade. As amostras de solos foram secas ao ar livre e posteriormente peneiradas em peneira de malha fina de 2 mm. As amostras dos solos foram caracterizadas físico-quimicamente e estão apresentados na Tabela 1.

Os atributos avaliados foram: matéria orgânica (MO%) medido por espectroscopia, capacidade de troca de cátions (CTC), potencial hidrogeniônico (pH), fósforo (P), potássio (K), cálcio (Ca), magnésio (Mg), alumínio (Al), acidez potencial (H+Al), cobre (Cu), zinco (Zn), ferro (Fe), manganês (Mn), porcentagem de areia medido pela gravimetria, porcentagem de argila por densitometria e porcentagem de silte através da diferença entre a massa total da

amostra excluindo as frações de argila e de areia, seguindo a metodologia do Tedesco et al. (1995).

Tabela 1 – Atributos químicos e granulometria dos solos, **Neossolo** e **Cambissolo**, estudados.

<b>Atributo</b>	<b>NEOSSOLO</b>	<b>CAMBISSOLO</b>
MO (%)	0,9	5,5
CTC	4,9	25,3
pH (H <sub>2</sub> O)	5,8	4,7
P (mg dm <sup>-3</sup> )	6,7	6,9
K (mg dm <sup>-3</sup> )	34,0	52,0
Ca (cmolc dm <sup>-3</sup> )	2,0	2,6
Mg (cmolc dm <sup>-3</sup> )	0,8	1,4
Al (cmolc dm <sup>-3</sup> )	0,0	3,0
H+Al (cmolc dm <sup>-3</sup> )	2,0	25,3
Cu (mg dm <sup>-3</sup> )	1,5	2,8
Zn (mg dm <sup>-3</sup> )	1,0	3,8
Fe (mg dm <sup>-3</sup> )	72,5	-
Mn (mg dm <sup>-3</sup> )	2,1	21,1
Areia (%)	37,0	60,0
Silte (%)	59,0	19,0
Argila (%)	4,0	21,0

Matéria orgânica do solo (MO); capacidade de troca de cátions (CTC); potencial hidrogeniônico (pH); fósforo (P); potássio (K); cálcio (Ca); magnésio (Mg); alumínio (Al); acidez potencial (H+Al); cobre (Cu); zinco (Zn); ferro (Fe); manganês (Mn).

A capacidade de retenção de água (CRA) em ambos os solos foi calculada seguindo a metodologia da ISO -11274 (1998), e obtido os valores de CRA para o Cambissolo de 56% e Neossolo de 32%. O percentual de ajuste de umidade utilizado nos experimentos foi de 40%, sendo que ele poderia variar de 40 a 60% da CRA em cada solo. Foi utilizado 40% devido os valores de 60% deixarem as amostras na capacidade de campo, com excesso de umidade. Esses ajustes são necessários para os cálculos de contaminação para cada solo.

## 5.2 CONTAMINAÇÃO DAS AMOSTRAS DE SOLO

Foram utilizadas cinco doses crescentes (Tabelas 2 e 3) do produto Sabre® para a contaminação, considerando valores acima e abaixo da dose utilizada no estudo de Singh et al. (2002) que foi de 10 mg kg<sup>-1</sup>. Por se tratar de experimentos que avaliam a degradação do Clorpirifós ao longo do tempo (até 60 dias após a aplicação), foram preparados ao todo 18 potes (cinco doses crescentes + controle, com três repetições) contendo 200g de solo, para cada experimento. Portanto, a contaminação foi calculada para 200g de solo, para a retirada suficiente de amostras de 20g para cada um dos sete tempos de avaliação do experimento e posterior extrações e análises na cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). Para tanto, o produto comercial foi diluído em água ultra pura (solução estoque) e aplicado de acordo com a necessidade da concentração desejada, suprimindo também o ajuste da CRA (Tabelas 2 e 3).

Os cálculos para a contaminação do experimento no Neossolo foram realizados, considerando o volume de 1 L de solução estoque. Para suprir as demandas de concentração das doses e o volume a ser aplicado, esta solução foi preparada contendo 0,8 mL do produto comercial Sabre®.

Para a dose mais concentrada (18 mg kg<sup>-1</sup>), uma quantidade de solução estoque em 10 mL foi necessária para ser aplicada em cada uma das três repetições em potes contendo 200g de solo. Esse volume da solução estoque de 10 mL foi definida para não ultrapassar os 25,3 mL necessários para ajuste de umidade nos potes. Consequentemente, conforme a concentração da dose diminuía, menor era a quantidade necessária em mL da solução estoque e maior a quantidade de água a ser adicionada, conforme é visto na tabela abaixo (Tabela 2).

Tabela 2 - Contaminação por Clorpirifós do experimento com Neossolo.

Tratamento	Concentração (mg kg <sup>-1</sup> )	Solução Estoque (mL)	Água adicionada (mL)
Controle	0,00	0,00	25,30
Dose 1	0,45	0,25	25,10
Dose 2	0,90	0,50	24,80
Dose 3	4,50	2,50	22,80
Dose 4	9,00	5,00	20,30
Dose 5	18,00	10,00	15,30

Para o experimento no Cambissolo, assim como para o experimento anterior, a solução estoque foi preparada (0,2 mL L<sup>-1</sup>), e a concentração calculada para as doses, considerou também a não ultrapassagem do ajuste de 40% da CRA do solo para os potes de 200 g (44,8 mL). As concentrações das doses para Cambissolo foram as mesmas utilizadas no experimento do Neossolo (Tabela 3).

Tabela 3 - Contaminação por Clorpirifós do experimento com Cambissolo.

Tratamento	Concentração (mg kg <sup>-1</sup> )	Solução Estoque (mL)	Água adicionada (mL)
Controle	0,00	0,00	44,80
Dose 1	0,45	1,00	43,80
Dose 2	0,90	2,00	42,80
Dose 3	4,50	10,00	34,80
Dose 4	9,00	20,00	24,80
Dose 5	18,00	40,00	4,80

O tempo total de incubação de cada experimento foi de 60 dias à 25° C, sendo realizadas as extrações e leituras pelo CLAE a cada 10 dias a fim de obter os valores da concentração da molécula original que ainda restavam na amostra. Durante o período de avaliação, as amostras nos recipientes, contendo inicialmente 200g de solo, eram homogeneizadas com o auxílio de uma espátula, anteriormente a retirada das amostras de 20 g para extração e a análise molecular.

Com o objetivo de simular a temperatura e luminosidade do ambiente externo e manutenção dos teores de água nas amostras, durante o período de incubação, os 18 recipientes contendo, cada um, 200 g de solo, para cada experimento, foram dispostos em uma sala climatizada (Apêndice A). Quantidade aproximada de 4 kg de solo foi utilizada para cada experimento.

### 5.3 EXTRAÇÃO DO CLORPIRIFÓS

A metodologia de extração do clorpirifós, foi baseada no estudo do Singh et al. (2002), sendo usadas amostras de 20g de solo armazenadas em *Snap Cap* de vidro de 100ml para a extração. O início da etapa de extração consistiu na adição de 25 ml de uma solução no *Snap Cap*, contendo acetonitrila e água na proporção de 90:10 respectivamente, submetidos a

agitação de 160 rpm por 50 minutos em agitador da marca Heidolph modelo Promax 1020 (Apêndice E).

Após a agitação, cada amostra foi filtrada em funil contendo papel filtro quantitativo, em que as partículas sólidas do solo ficaram retidas, e o líquido filtrado homogêneo, e transparente, fluiu para o *erlenmeyer* (Apêndice G). Na sequência, foi coletada 10 ml desta solução filtrada e colocada em tubo *falcon* de 50 ml para a última etapa de extração. O tubo *falcon* foi centrifugado (centrífuga molecular marca *Eppendorf* modelo 5810 R) a 6000 rpm por 5 minutos (Apêndice C). Por fim foi utilizado 1 ml do sobrenadante com o auxílio de uma seringa contendo filtro de seringa de 0.45  $\mu\text{m}$  de membrana PES e colocado em um recipiente para futura análise no CLAE.

#### 5.4 ANÁLISE DE CROMATOGRAFIA

Após a extração, as análises das amostras foram realizadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), em um cromatógrafo da marca Shimadzu (modelo M10AVP), com coluna de fase reversa C-18 Supelco (25 cm x 4,6 mm, 5 $\mu\text{m}$ ). O sistema encontrava-se acoplado a um detector espectrofotométrico UV/visível Shimadzu (modelo SPD-10A), conectado por interface (CBM-101) a um microcomputador para processamento de dados. As condições de análise utilizadas foram: fase móvel: 85% de acetonitrila (grau HPLC da Sigma Aldrich): 15% de água MilliQ com fluxo de 1,2 mL/min; temperatura do forno 25 °C e comprimento de onda de 235 nm.

#### 5.5 CURVA DE CALIBRAÇÃO E EFICIÊNCIA DE EXTRAÇÃO

As curvas de calibração foram calculadas através diluições conhecidas do padrão do Clorpirifós (99% *Analytical Standard* Sigma Aldrich) e do solvente orgânico utilizado no experimento (acetonitrila padrão HPLC). Foi realizada uma curva de calibração para cada um dos experimentos. Dependendo da concentração conhecida e analisada, era realizado a leitura em área no cromatograma. A partir destes valores, foi ajustada uma equação linear e conforme eram realizadas as leituras das amostras dos experimentos, eram convertidas as áreas do cromatograma para concentração nas amostras.

A eficiência de extração varia dependendo do solo e suas características, por isso foram realizados ensaios de recuperação, separadamente para cada solo estudado, utilizando valores de concentração da dose de 18 mg kg<sup>-1</sup>. Para isso, foram contaminadas amostras de 20 gramas

de solo (três repetições) para cada ensaio (Cambissolo e Neossolo) e três repetições sem solo. Posteriormente, foram realizadas as mesmas etapas de extração e avaliação no CLAE. A diferença de concentração do Clorpirifós entre as amostras com solo e sem solo, expressa em porcentagem, o que ficou retido de ingrediente ativo no solo, indicando a eficiência de extração.

## 5.6 ANÁLISE DOS DADOS

Os dados das áreas analisadas no CLAE para as doses 1, 2, 3, 4 e 5 foram ajustados de acordo com os valores de leitura observados no controle, subtraindo de todos os dados, o valor médio do controle. Após o ajuste, os valores foram convertidos em concentração do pesticida Clorpirifós ( $\text{mg kg}^{-1}$ ), utilizando a equação obtida na curva de calibração para cada experimento. Para verificar a eficiência de extração realizou-se a avaliação da porcentagem da concentração do pesticida extraída de amostras com solo do ensaio de recuperação, sendo calculadas a média, desvio padrão e coeficiente de variação.

Os dados foram verificados quanto à distribuição normal dos resíduos pelo teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov e a homocedasticidade de variâncias pelo teste de Bartlett ( $\alpha = 5\%$ ). A correlação entre a concentração do Clorpirifós extraído e o tempo em dias após contaminação foi avaliada por teste de correlação de Pearson ( $p < 0,05$ ), para cada dose.

A taxa de degradação e o tempo de meia-vida foram calculados a partir da equação do ajuste linear da concentração em função do tempo de exposição, de cada amostra avaliada. Para confirmar se houve diferença significativa da taxa de degradação e do tempo de meia-vida entre os níveis do tratamento “Dose”, foi realizada análise de variância *by ranks* por teste Kruskal-Wallis ( $p < 0,05$  e  $p < 0,10$ ). Após verificar diferença significativa, procedeu-se com o teste de comparação aos pares entre as doses avaliadas.

As diferenças do tempo de meia vida, entre Cambissolo e Neossolo foram verificadas pelo teste de Wilcoxon-Mann-Whitney para amostras independentes ( $p < 0,05$  e  $p < 0,10$ ). Essas diferenças foram avaliadas para todos os valores de DT50 das doses em conjunto, também por dose separadamente. Todas as análises estatísticas foram realizadas no software STATISTICA 10 (STATSOFT, 2011).

O coeficiente de adsorção para cada solo ( $K_d$ ) foi obtido por isotermas lineares de sorção, utilizando os dados de concentração do soluto no solo ( $C_s$ ) e concentração do soluto na fase aquosa ( $C_w$ ), obtidos das leituras iniciais dos experimentos de extração. A constante de sorção em relação ao carbono orgânico ( $K_{oc}$ ) e a constante de sorção em relação a matéria orgânica ( $K_{om}$ ) foram calculadas utilizando as equações (1) e (2), seguem:

$$K_{oc} = (K_d * 100) / f_{oc} \quad (1)$$

$$K_{om} = (K_d * 100) / f_{om} \quad (2)$$

onde “ $K_d$ ” representa a constante de distribuição ( $L \text{ kg}^{-1}$ ); “ $f_{oc}$ ” representa a fração do carbono orgânico do solo (%) e “ $f_{om}$ ” representa a fração da matéria orgânica do solo (%). Em adição, foram calculados o  $K_d$  e o  $K_{om}$  a partir de dados do  $K_{oc}$  obtidos na literatura para o Cambissolo (SILVA, 2018), também utilizando as equações (1) e (2).



## 6 RESULTADOS

### 6.1 EXPERIMENTO CAMBISSOLO

As leituras moleculares do pesticida Clorpirifós das diluições crescentes do padrão, realizadas no CLAE para a curva de calibração, estão expostas na Apêndice I. Tendo como base estes valores, foi ajustado o modelo linear e gerada a equação utilizada para o cálculo das concentrações do pesticida extraído do Cambissolo (primeiro experimento) (Apêndice K).

Na Tabela 4, foi verificada a eficiência de extração do Clorpirifós em Cambissolo, sendo o valor médio de 83,75%. Onde o valor que faltou para completar 100% (baseado na média das repetições) foi o que ficou retido no solo e foi devido as ligações fortes entre o Clorpirifós e o solo. Nesse sentido, 16,25% do pesticida ficou retido nas partículas do Cambissolo.

Tabela 4 - Eficiência de extração, média, desvio padrão e coeficiente de variação do pesticida Clorpirifós (18 mg kg<sup>-1</sup>) em Cambissolo.

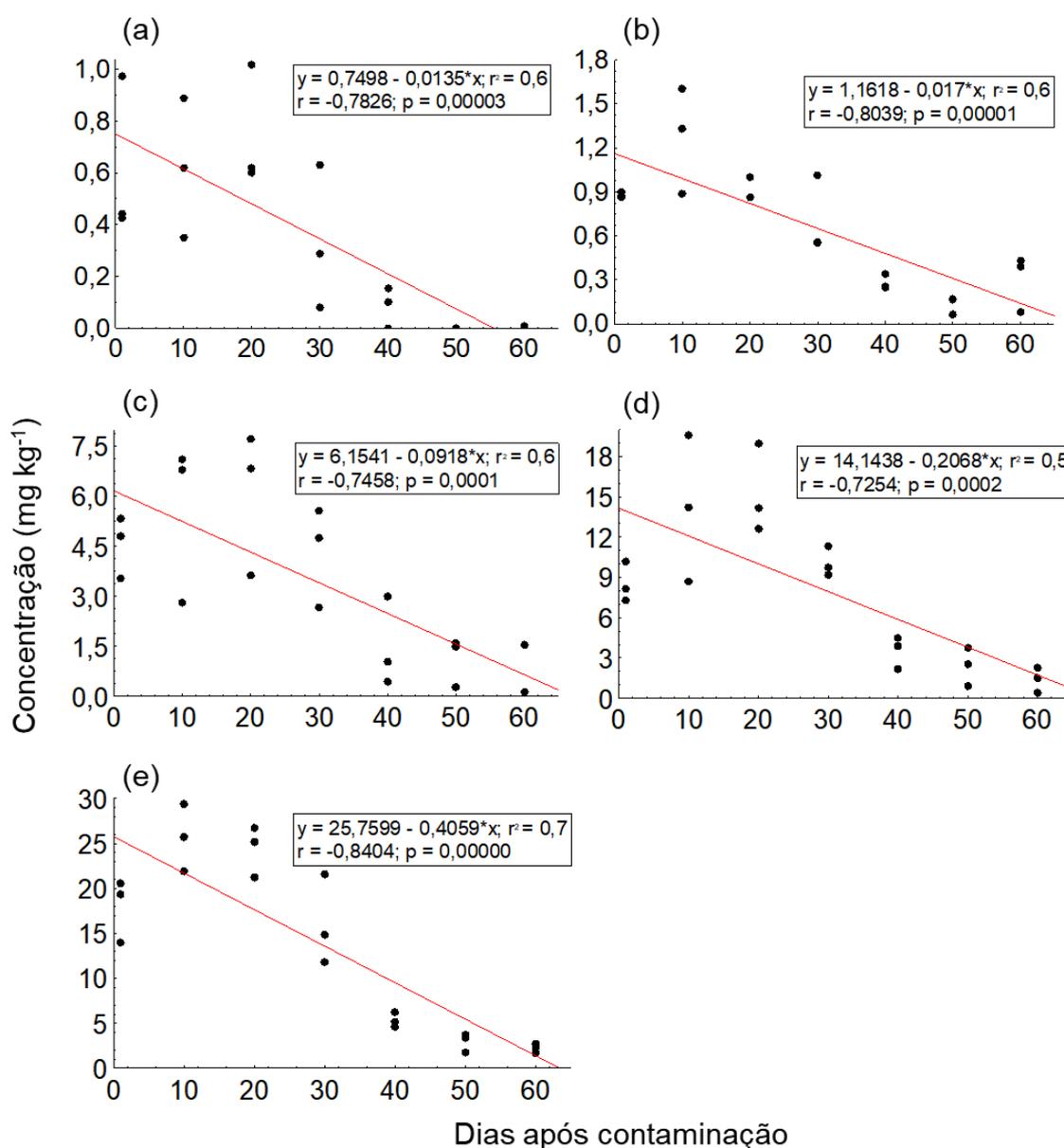
<b>Amostra</b>	<b>Peso da amostra (g)</b>	<b>Eficiência (%)</b>
Repetição 1	20,00	74,82
Repetição 2	20,00	84,80
Repetição 3	20,00	91,64
	<b>Média (%)</b>	83,75
	<b>Desvio padrão</b>	8,46
	<b>Coeficiente de variação (%)</b>	10,10

De acordo com os resultados das concentrações de Clorpirifós extraídas do Cambissolo para a “Dose 1” (0,45 mg kg<sup>-1</sup>), “Dose 2” (0,9 mg kg<sup>-1</sup>), “Dose 3” (4,5 mg kg<sup>-1</sup>), “Dose 4” (9 mg kg<sup>-1</sup>), “Dose 5” (18 mg kg<sup>-1</sup>), demonstrados na Figura 1 “a, b, c, d, e” respectivamente, verificou-se reduções significativas dos valores ao longo dos 60 dias após contaminação (Pearson,  $p < 0,05$ ), com correlações de  $r = -0,78$ ;  $r = -0,80$ ;  $r = -0,75$ ;  $r = -0,72$ ; e  $r = -0,84$ .

A redução ao longo do tempo ocorreu de forma similar para todas as doses do tratamento “Doses 1, 2, 3, 4 e 5”, sendo que, a maior dispersão dos dados foram observadas aos 1, 10, 20 e 30 dias após contaminação e a partir dos 40 dias essa variação diminuiu entre as repetições.

A degradação das doses avaliadas (Figura 1) confirmam a hipótese levantada, que há redução na concentração do pesticida em Cambissolo ao longo do tempo avaliado e essa redução fica mais evidente a partir dos 30 dias. Todas as doses demonstraram importante grau de redução – avaliado pelo coeficiente de Pearson acima de 0,7 – na concentração de Clorpirifós ao longo dos 60 dias.

Figura 1 - Concentração de Clorpirifós nas DOSE 1 “0,45 mg kg<sup>-1</sup>” (a), DOSE 2 “0,9 mg kg<sup>-1</sup>” (b), DOSE 3 “4,5 mg kg<sup>-1</sup>” (c), DOSE 4 “9 mg kg<sup>-1</sup>” (d) e DOSE 5 “18 mg kg<sup>-1</sup>” (e) em função dos dias após contaminação em Cambissolo.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Correlação de Pearson (r); valor significativo ( $p < 0,05$ ).

A taxa de degradação média das doses do Clorpirifós em Cambissolo foi de  $-0,0504 \text{ mg kg}^{-1} \text{ dia}^{-1}$  (Tabela 5). A degradação variou de  $-0,0256 \text{ mg kg}^{-1} \text{ dia}^{-1}$  na “dose 2” até  $-0,0929 \text{ mg kg}^{-1} \text{ dia}^{-1}$  na “dose 1”. O tempo de meio-vida (DT50) médio do pesticida em Cambissolo foi aos 16,2 dias após contaminação, entre as doses aplicadas do tratamento (Tabela 5). O DT50 variou de 7,5 dias na dose 1 até 27,1 dias na dose 2. Não foi observada diferença significativa entre os níveis do tratamento (doses 1, 2, 3, 4 e 5), para a taxa de degradação e o tempo de meia vida, de acordo com o teste Kruskal-Wallis,  $p > 0,05$  ( $H = 7,50$ ;  $p = 0,112$ ) (Tabela 6).

Tabela 5 – Taxa de degradação do Clorpirifós, tempo de meia-vida e comparação aos pares dos valores entre as doses em Cambissolo.

<b>Tratamento (Dose)</b>	<b>R<sup>2</sup></b>	<b>Taxa de degradação <sup>1</sup></b>	<b>Média da taxa de degradação</b>	<b>Tempo meia-vida (DT50 - dias)</b>	<b>Média (DT50)</b>
1.1 (0,45 mg kg <sup>-1</sup> )	0,71	-0,0728	-0,0830 <sup>ns</sup>	9,5	8,4 <sup>ns</sup>
1.2 (0,45 mg kg <sup>-1</sup> )	0,72	-0,0929		7,5	
1.3 (0,45 mg kg <sup>-1</sup> )	0,71	-0,0834		8,3	
2.1 (0,9 mg kg <sup>-1</sup> )	0,85	-0,0531	-0,0352 <sup>ns</sup>	13,1	22,0 <sup>ns</sup>
2.2 (0,9 mg kg <sup>-1</sup> )	0,59	-0,0268		25,9	
2.3 (0,9 mg kg <sup>-1</sup> )	0,63	-0,0256		27,1	
3.1 (4,5 mg kg <sup>-1</sup> )	0,66	-0,0479	-0,0484 <sup>ns</sup>	14,5	17,0 <sup>ns</sup>
3.2 (4,5 mg kg <sup>-1</sup> )	0,81	-0,0713		9,7	
3.3 (4,5 mg kg <sup>-1</sup> )	0,77	-0,0259		26,8	
4.1 (9 mg kg <sup>-1</sup> )	0,76	-0,0545	-0,0413 <sup>ns</sup>	12,7	17,7 <sup>ns</sup>
4.2 (9 mg kg <sup>-1</sup> )	0,73	-0,0312		22,2	
4.3 (9 mg kg <sup>-1</sup> )	0,74	-0,0383		18,1	
5.1 (18 mg kg <sup>-1</sup> )	0,76	-0,0435	-0,0443 <sup>ns</sup>	15,9	15,7 <sup>ns</sup>
5.2 (18 mg kg <sup>-1</sup> )	0,81	-0,0419		16,5	
5.3 (18 mg kg <sup>-1</sup> )	0,87	-0,0475		14,6	
		<b>Média</b>	<b>-0,0504</b>	<b>Média</b>	<b>16,2</b>

Constante de velocidade de primeira ordem K em  $\text{mg kg}^{-1} \text{ dia}^{-1}$  (1); diferenças entre as doses para a taxa de degradação e o DT50 não significativas,  $p > 0,05$  (ns).

Tabela 6 – Teste Kruskal-Wallis (ANOVA *by Ranks*) dos valores de taxa de degradação e tempo de meia-vida (DT50) da concentração do Clorpirifós em Cambissolo.

<b>Grupos</b>	<b>N</b>	<b>Soma dos Ranks</b>	<b>Média dos Ranks</b>	<b>H</b>	<b>p</b>
Dose 1 (0,45 mg kg <sup>-1</sup> )	3	6,00	2,00	7,50	0,1117
Dose 2 (0,9 mg kg <sup>-1</sup> )	3	34,00	11,33		
Dose 3 (4,5 mg kg <sup>-1</sup> )	3	25,00	8,33		
Dose 4 (9 mg kg <sup>-1</sup> )	3	28,00	9,33		
Dose 5 (18 mg kg <sup>-1</sup> )	3	27,00	9,00		

## 6.2 EXPERIMENTO NEOSSOLO

As leituras moleculares do pesticida Clorpirifós das diluições crescentes do padrão, realizadas no CLAE para a curva de calibração, estão expostas na Apêndice J. Tendo como base estes valores, foi ajustado o modelo linear e gerada a equação utilizada para o cálculo das concentrações do pesticida extraído do Neossolo (segundo experimento) (Apêndice L).

Na Tabela 7, foi verificada a eficiência de extração do Clorpirifós em Neossolo, sendo o valor médio de 87,5%. Onde o valor que faltou para completar 100% (baseado na média das repetições) foi o que ficou retido no solo e foi devido as ligações fortes entre o Clorpirifós e o solo. Nesse sentido, 12,5% do pesticida ficou retido nas partículas do Neossolo.

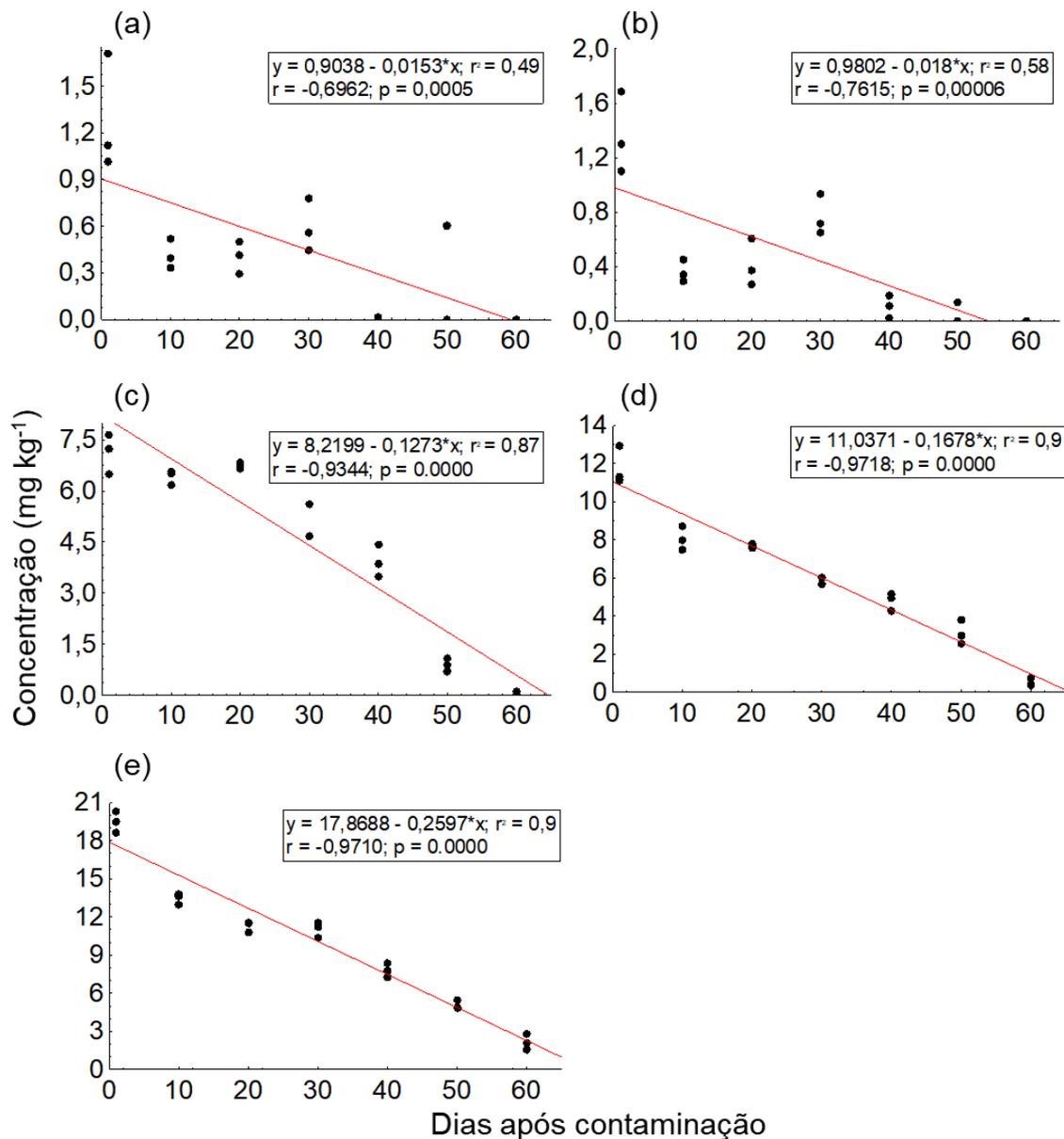
Tabela 7 - Eficiência de extração, média, desvio padrão e coeficiente de variação do pesticida Clorpirifós (18 mg kg<sup>-1</sup>) em Neossolo.

<b>Amostra</b>	<b>Peso da amostra (g)</b>	<b>Eficiência (%)</b>
Repetição 1	20,00	80,47
Repetição 2	20,00	94,63
Repetição 3	20,00	87,40
	<b>Média (%)</b>	87,50
	<b>Desvio padrão</b>	7,08
	<b>Coeficiente de variação (%)</b>	8,10

De acordo com os resultados das concentrações de Clorpirifós extraídas do Neossolo para a “Dose 1” (0,45 mg kg<sup>-1</sup>), “Dose 2” (0,9 mg kg<sup>-1</sup>), “Dose 3” (4,5 mg kg<sup>-1</sup>), “Dose 4” (9

mg kg<sup>-1</sup>), “Dose 5” (18 mg kg<sup>-1</sup>), demonstrados na Figura 2 “a, b, c, d, e” respectivamente, verificou-se reduções significativas dos valores ao longo dos 60 dias após contaminação (Pearson,  $p < 0,05$ ), com correlações de  $r = -0,70$ ;  $r = -0,76$ ;  $r = -0,93$ ;  $r = -0,97$ ; e  $r = -0,97$ .

Figura 2 - Concentração de Clorpirifós nas DOSE 1 “0,45 mg kg<sup>-1</sup>” (a), DOSE 2 “0,9 mg kg<sup>-1</sup>” (b), DOSE 3 “4,5 mg kg<sup>-1</sup>” (c), DOSE 4 “9 mg kg<sup>-1</sup>” (d) e DOSE 5 “18 mg kg<sup>-1</sup>” (e) em função dos dias após contaminação em Neossolo.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Correlação de Pearson (r); valor significativo ( $p < 0,05$ ).

As doses avaliadas (Figura 2) confirmam a hipótese levantada, que há redução na concentração do pesticida em Neossolo ao longo do tempo avaliado e essa redução fica já evidente a partir dos 10 dias após contaminação na maioria das doses. Todas as doses demonstraram importante grau de redução – avaliado pelo coeficiente de Pearson acima de 0,7 para as “Doses 1 e 2” e acima de 0,9 para as “Doses 4 e 5” – na concentração de Clorpirifós ao longo dos 60 dias.

A taxa de degradação média das doses do Clorpirifós em Neossolo foi de  $-0,058 \text{ mg kg}^{-1} \text{ dia}^{-1}$  (Tabela 8). A degradação variou de  $-0,030 \text{ mg kg}^{-1} \text{ dia}^{-1}$  na “dose 5” até  $-0,105 \text{ mg kg}^{-1} \text{ dia}^{-1}$  na “dose 1”. O tempo de meio-vida (DT50) médio do pesticida em Neossolo foi aos 14,1 dias após contaminação, entre os tratamentos das doses aplicadas. O DT50 variou de 6,6 dias na dose 1 até 23,1 dias na dose 5.

Tabela 8 – Taxa de degradação do Clorpirifós, tempo de meia-vida e comparação aos pares dos valores entre as doses em Neossolo.

Tratamento (Dose)	R <sup>2</sup>	Taxa de degradação <sup>1</sup>	Média da taxa de degradação	Tempo meia-vida (DT50 – dias)	Média (DT50)
1.1 (0,45 mg kg <sup>-1</sup> )	0,50	-0,078	-0,092 b **	8,9	7,6 b **
1.2 (0,45 mg kg <sup>-1</sup> )	0,64	-0,094		7,4	
1.3 (0,45 mg kg <sup>-1</sup> )	0,70	-0,105		6,6	
2.1 (0,9 mg kg <sup>-1</sup> )	0,69	-0,091	-0,079 b *	7,7	9,1 b *
2.2 (0,9 mg kg <sup>-1</sup> )	0,74	-0,084		8,3	
2.3 (0,9 mg kg <sup>-1</sup> )	0,71	-0,062		11,2	
3.1 (4,5 mg kg <sup>-1</sup> )	0,71	-0,062	-0,045 ab	11,3	16,5 ab
3.2 (4,5 mg kg <sup>-1</sup> )	0,70	-0,036		19,3	
3.3 (4,5 mg kg <sup>-1</sup> )	0,58	-0,037		18,8	
4.1 (9,0 mg kg <sup>-1</sup> )	0,74	-0,046	-0,043 ab	14,9	16,2 ab
4.2 (9,0 mg kg <sup>-1</sup> )	0,76	-0,044		15,8	
4.3 (9,0 mg kg <sup>-1</sup> )	0,82	-0,039		17,8	
5.1 (18,0 mg kg <sup>-1</sup> )	0,95	-0,030	-0,033 a	23,1	21,4 a
5.2 (18,0 mg kg <sup>-1</sup> )	0,89	-0,034		20,7	
5.3 (18,0 mg kg <sup>-1</sup> )	0,80	-0,034		20,4	
		<b>Média</b>	<b>-0,058</b>	<b>Média</b>	<b>14,1</b>

Constante de velocidade de primeira ordem K em  $\text{mg kg}^{-1} \text{ dia}^{-1}$  (1); médias de taxa de degradação e médias de DT50 seguidas das mesmas letras são similares de acordo com o teste Kruskal-Wallis;  $p < 0,05$  (\*\*);  $p < 0,1$  (\*)

Verificou-se diferença significativa da taxa de degradação e do DT50 entre os níveis do tratamento (doses 1, 2, 3, 4 e 5), de acordo com o teste Kruskal-Wallis,  $p < 0,05$  ( $H = 12,43$ ;  $p = 0,014$ ) (Tabela 9). Na comparação aos pares da taxa de degradação e do DT50 do Clorpirifós em Neossolo, foi demonstrada diferença significativa entre a dose 1 ( $0,45 \text{ mg kg}^{-1}$ ) e a dose 5 ( $18,0 \text{ mg kg}^{-1}$ ) e entre a dose 2 ( $0,9 \text{ mg kg}^{-1}$ ) e a dose 5, sendo que os valores médios das doses 1 e 2 foram menores (Tabela 8).

Tabela 9 - Teste Kruskal-Wallis (ANOVA *by Ranks*) dos valores de taxa de degradação e tempo de meia-vida (DT50) da concentração do Clorpirifós em Neossolo.

<b>Grupos</b>	<b>N</b>	<b>Soma dos Ranks</b>	<b>Média dos Ranks</b>	<b>H</b>	<b>p</b>
Dose 1 ( $0,45 \text{ mg kg}^{-1}$ )	3	8,00	2,67	12,43	0,014**
Dose 2 ( $0,9 \text{ mg kg}^{-1}$ )	3	13,00	4,33		
Dose 3 ( $4,5 \text{ mg kg}^{-1}$ )	3	30,00	10,00		
Dose 4 ( $9,0 \text{ mg kg}^{-1}$ )	3	27,00	9,00		
Dose 5 ( $18,0 \text{ mg kg}^{-1}$ )	3	42,00	14,00		

Diferença significativa de acordo com o teste Kruskal-Wallis,  $p < 0,05$  (\*\*).

### 6.3 COMPARAÇÃO ENTRE CAMBISSOLO E NEOSSOLO

De acordo com a Tabela 10, que demonstra as diferenças dos valores do tempo de meia vida entre Cambissolo e Neossolo, não foi verificada diferença significativa quando comparadas todas as doses em conjunto. Contudo, pode ser observada diferença significativa do DT50 entre os solos para a Dose 2 ( $0,9 \text{ mg kg}^{-1}$ ) e a Dose 5 ( $18,0 \text{ mg kg}^{-1}$ ), quando avaliadas separadamente.

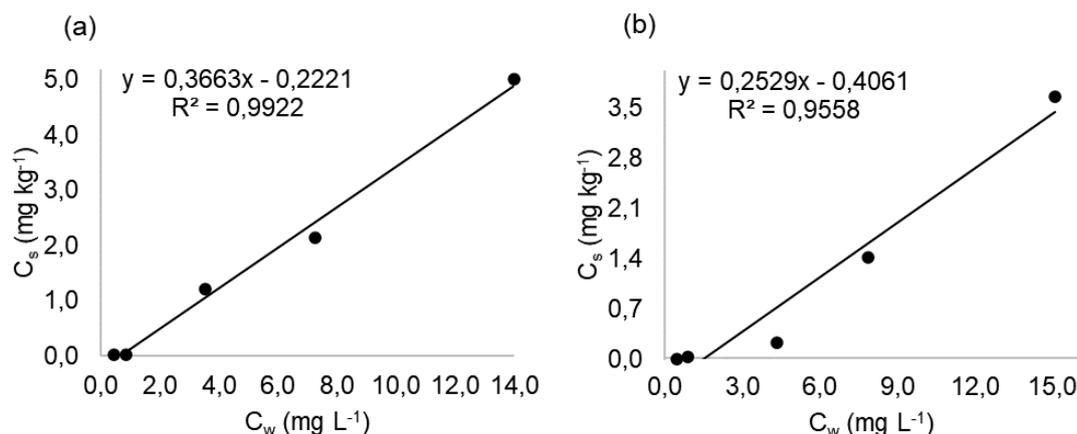
Na Figura 3 é possível observar a faixa de concentração linear das isotermas de sorção para o Clorpirifós nas amostras do Cambissolo e Neossolo, e a determinação do valor de  $K_d$ , que representa o coeficiente de adsorção no solo. O valor de  $K_d$  é numericamente igual ao coeficiente angular da reta de regressão calculada para a faixa linear da isoterma (SILVA, 2018). Nesse sentido o valor de  $K_d$  verificado para Cambissolo foi de 0,36 e para Neossolo foi 0,25.

Tabela 10 - Diferença da taxa de degradação e tempo de meia vida entre Cambissolo e Neossolo.

Meia vida (DT50)	Média	Média	Rank	Rank	Z	p
Cambissolo vs. Neossolo	Camb.	Neo.	Camb.	Neo.		
Todas as doses	16,2	14,1	251,0	214,0	0,747	0,455 <sup>ns</sup>
Dose 1 vs. Dose 1	8,4	7,6	13,0	8,0	0,873	0,383 <sup>ns</sup>
Dose 2 vs. Dose 2	22,0	9,1	15,0	6,0	1,746	0,081*
Dose 3 vs. Dose 3	17,0	16,5	10,0	11,0	0,000	1,000 <sup>ns</sup>
Dose 4 vs. Dose 4	17,7	16,2	12,0	9,0	0,436	0,662 <sup>ns</sup>
Dose 5 vs. Dose 5	15,7	21,4	6,0	15,0	-1,746	0,081*

Diferença significativa de acordo com teste de Wilcoxon-Mann-Whitney,  $p < 0,10$  (\*).

Figura 3 - Faixa de concentração linear das isotermas de sorção para Clorpirifós nas amostras de Cambissolo (a) e Neossolo (b) para as condições experimentais do estudo, pH de 4,7 e 5,8, com temperatura de 25° C, agitação de 150 rpm, em solução de acetonitrila e água (9:1).



Fonte: Elaborado pelo autor.

Concentração do soluto no solo ( $C_s$ ); concentração do soluto na fase aquosa ( $C_w$ ).

Os valores calculados de  $K_{oc}$  e  $K_{om}$ , com base no  $K_d$  das isotermas (Figura 3), no  $f_{oc}$  e no  $f_{om}$ , para Cambissolo foram 12 e 7, respectivamente. Os valores calculados pelas isotermas lineares para o Neossolo foram  $K_{oc} = 48$  e  $K_{om} = 28$  (Tabela 11).

O  $K_d$  calculado com base no  $K_{oc}$  encontrado na literatura para um Cambissolo coletado no Brasil, estudado por Silva (2018), e utilizando o  $f_{oc}$  do Cambissolo e do Neossolo do presente estudo, foram de 10 e 1,6 L kg<sup>-1</sup> respectivamente. O valor de  $K_{om}$  calculado a partir destes dados e do  $f_{om}$  do presente estudo foi de 182 L kg<sup>-1</sup> para Cambissolo e 180 L kg<sup>-1</sup> para Neossolo.

O  $K_d$  e  $K_{om}$  calculados a partir do  $K_{oc}$  em PPDB (2021), foram de  $K_d = 175,7$  e  $K_{om} = 3.195$  para Cambissolo e  $K_d = 28,6$  e  $K_{om} = 3.183$  para Neossolo. O  $K_d$  e  $K_{om}$  calculados a partir do  $K_{oc}$  médio verificado por Parolo et al. (2017), foram de  $K_d = 430$  e  $K_{om} = 7.821$  para Cambissolo e  $K_d = 67$  e  $K_{om} = 7.492$  para Neossolo.

Tabela 11 - Valores de  $f_{om}$ ,  $f_{oc}$ ,  $K_d$ ,  $K_{oc}$ ,  $K_{om}$  para amostras de Cambissolo e Neossolo.

<b>Amostra</b>	<b><math>f_{om}</math></b> (%)	<b><math>f_{oc}</math> *</b> (%)	<b><math>K_d</math></b> (L kg <sup>-1</sup> )	<b><math>K_{oc}</math></b> (L kg <sup>-1</sup> )	<b><math>K_{om}</math></b> (L kg <sup>-1</sup> )	<b><math>K_{oc}</math> <sup>a</sup></b> (L kg <sup>-1</sup> )	<b><math>K_d</math> **</b> (L kg <sup>-1</sup> )	<b><math>K_{om}</math> ***</b> (L kg <sup>-1</sup> )
<b>Cambissolo</b>	5,5	3,2	0,4	12	7	312 <sup>1</sup>	10,0	182
						5.509 <sup>2</sup>	175,7	3.195
						13.486 <sup>3</sup>	430	7.821
<b>Neossolo</b>	0,9	0,5	0,3	48	28	312 <sup>1</sup>	1,6	180
						5.509 <sup>2</sup>	28,6	3.183
						13.486 <sup>3</sup>	67	7.492

\* Estimado considerando o fator 0,58 da matéria orgânica.

Fração da matéria orgânica do solo ( $f_{om}$ ); fração do carbono orgânico do solo ( $f_{oc}$ ); constante de distribuição ( $K_d$ ); constante de sorção em relação ao carbono orgânico ( $K_{oc}$ ); constante de sorção em relação a matéria orgânica ( $K_{om}$ ).

<sup>a</sup> Valor de  $K_{oc}$  encontrado na literatura científica.

<sup>1</sup> Valor verificado para Cambissolo háplico com textura franco argilo arenosa coletado no Brasil, camada do solo de 0-20 cm, com 1,34% de carbono orgânico e pH em água de 6,7 (SILVA, 2018).

<sup>2</sup> Valor médio verificado em diferentes estudos, disponível na *Pesticide Properties DataBase*, (PPDB, 2021).

<sup>3</sup> Valor médio verificado em diferentes solos da Argentina (PAROLO et al., 2017).

\*\* Valor calculado a partir de  $K_{oc}$  encontrado na literatura,  $K_d = K_{oc} \times f_{oc} / 100$ .

\*\* Valor calculado a partir do  $K_d$  \*\*,  $K_{om} = K_d \times 100 / f_{om}$ .



## 7 DISCUSSÃO

### 7.1 EXPERIMENTO CAMBISSOLO

A eficiência de extração do Clorpirifós em Cambissolo, medida pelo ensaio de recuperação (Tabela 4), foi similar ao encontrado por outros autores em diferentes solos. Singh et al. (2002) em solo coletado em Wellesbourne, no Reino Unido, verificaram que a recuperação do Clorpirifós ( $10 \text{ mg kg}^{-1}$ ) foi de 90%. Xiaoqiang et al. (2008), observaram que a recuperação do Clorpirifós ( $10 \text{ mg kg}^{-1}$ ) foi de 96% em um solo de Hangzhou, China.

Rafique et al. (2019) verificaram que a extração do Clorpirifós em solo coletado em *National agricultural research council*, Paquistão, foi eficiente com recuperação média de 84 à 101%. Das et al. (2020) reportaram recuperação de Clorpirifós de aproximadamente 92%, em solo coletado em Ida Valley, Central Otago, Nova Zelândia. Esses estudos corroboram com o resultado de extração do Clorpirifós do presente estudo em Cambissolo, demonstrando ser eficiente e reproduzível em 83,75%.

A redução da concentração do Clorpirifós ao longo de 60 dias avaliados (Figura 1), vai de encontro ao resultado de Singh et al. (2002), onde foi demonstrado que ao menos 75% da concentração inicial já havia sido degradada entre 60 e 65 dias. De acordo com documento publicado pelo Ministério da Saúde, o Clorpirifós é persistente no solo por 60 a 120 dias (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2021). Esses dados publicados e os resultados obtidos, demonstram que 60 dias é um período de avaliação adequado para verificar a degradação do Clorpirifós em Cambissolo quando realizada uma única aplicação, com as doses avaliadas entre  $0,45$  e  $18,00 \text{ mg kg}^{-1}$ .

A maior dispersão dos dados de concentração de Clorpirifós nos primeiros 30 dias de avaliação após contaminação, pode ter ocorrido devido as moléculas do pesticida terem ficado retidas de forma distinta nas amostras das repetições (Figura 1). A mistura do pesticida no solo, apesar de realizada de forma intensa, homogênea e com a umidade do solo uniforme, ainda pode permitir que ocorram locais do solo com maior contaminação do que outros, devido a adsorção das moléculas nas cargas do solo. Neste sentido, ao retirar as subamostras para a avaliação, pode ser verificada variação nos valores do pesticida extraído daquela porção de solo específica.

O tempo médio do DT50 e a taxa de degradação, verificados no presente estudo (Tabela 5) foram diferentes ao encontrado no trabalho, cuja metodologia foi utilizada como base, com solo coletado no Reino Unido (SINGH; WALKER; WRIGHT, 2002). Estes autores verificaram

valores do DT50 de 36,5 dias e taxa de degradação de  $0,019 \text{ mg kg}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ , sendo que o solo utilizado apresentava granulometria de 18 % de argila, 8 % de silte, 74 % de areia, matéria orgânica de 4,61% e pH de 6,8. Enquanto no presente estudo o Cambissolo obteve um DT50 para Clorpirifós de 16,2 dias e taxa de degradação de  $0,0504 \text{ mg kg}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ , sendo que este solo possui 60 % de areia, 19 % de silte, 21 % de argila, 5,5 % de matéria orgânica e pH de 4,7.

A principal diferença entre as características supracitadas dos dois solos foi o pH. A meia-vida dissipativa do Clorpirifós costuma ser igual ou ligeiramente mais rápida em condições tropicais do que temperadas e o pH desempenha um papel importante (JOHN; SHAIKE, 2015). Entretanto, a adsorção do Clorpirifós no solo pode variar mesmo quando as propriedades do solo são aproximadamente similares (GEBREMARIAM et al., 2012)

Segundo John e Shaike (2015), em seu estudo de revisão bibliográfica, a meia-vida do Clorpirifós no solo pode variar de alguns dias a 4 anos, dependendo do tipo de solo, do ecossistema, das condições climáticas e do nível de aplicação. Nesse contexto, é esperado que solos provenientes de regiões distintas, apresentem persistência diferente do Clorpirifós. Laabs et al. (2000), observaram o tempo de meia vida do Clorpirifós ( $\sim 7 \text{ mg kg}^{-1}$ ) de 1,1 dias em Latossolo coletado no Mato Grosso, Brasil, calculado a partir de uma equação bi-exponencial.

Em estudo realizado por Xiaoqiang et al. (2008), os autores verificaram o DT50 de 3,6 dias do Clorpirifós ( $2 \text{ mg kg}^{-1}$ ) no solo, também calculado a partir de equação bi-exponencial. No caso destes estudos, eles utilizaram equação bi-exponencial e não de primeira ordem, como no presente estudo, devido a degradação do clorpirifós no solo ter demonstrado características bifásicas de diminuir lentamente após um rápido declínio inicial (XIAOQIANG et al., 2008).

Contudo, em relação ao Cambissolo, a degradação demonstrou comportamento mais linear, com reação de primeira ordem, apresentando  $R^2$  acima de 0,7 (Tabela 5). Outros autores também verificaram que a degradação do Clorpirifós seguiu uma reação de primeira ordem, corroborando com os resultados encontrados no presente estudo (SINGH et al., 2002; DAS; ADHYA, 2015).

Segundo o *Pesticide Properties DataBase*, o DT50 do Clorpirifós em solos, publicado por estudos da União Europeia, variou de 19,8 até 1000 dias para estudos de laboratório e 0,32 até 88,9 dias para estudos de campo (PPDB, 2021). De acordo com o Ministério da Saúde, Brasil (2021), o tempo de meia vida do Clorpirifós devido a hidrólise é de 25,5 dias (pH = 7) e devido a fotólise é aos 29,6 dias. Essa variação de valores do DT50 observadas nos estudos, pode estar relacionada as diferenças das características intrínsecas de cada solo e as variações nas metodologias de avaliação.

## 7.2 EXPERIMENTO NEOSSOLO

A eficiência de extração do Clorpirifós em Neossolo (87,5%), medida pelo ensaio de recuperação (Tabela 7), foi similar ao verificado para Cambissolo (83,7%). Além disso, esse resultado foi aproximado ao encontrado no estudo de Singh et al. (2002), onde a recuperação do Clorpirifós ( $10 \text{ mg kg}^{-1}$ ) foi de 90%.

A redução da concentração do Clorpirifós ao longo de 60 dias avaliados em Neossolo, demonstrou que houve degradação completa nas doses 1, 2 e 3 (Figura 2 a, b, c) e mais de 75% nas doses 4 e 5 (Figura 2 d, e). Evidenciando que esse período de avaliação foi adequado para avaliar a degradação do Clorpirifós em Neossolo, quando realizada uma única aplicação, quanto as doses estudadas entre  $0,45$  e  $18,00 \text{ mg kg}^{-1}$ . Sendo que os resultados observados para Cambissolo e por Singh et al. (2002) foram similares ao Neossolo, quanto a degradação observada ao longo dos 60 dias após contaminação.

Na dose 1 em Neossolo, que é a de menor concentração do pesticida ( $0,45 \text{ mg kg}^{-1}$ ), percebeu-se altos valores de extração iniciais, acima da dose calculada na aplicação (Figura 2 a, b, c). Isso pode ter ocorrido devido a problemas na sensibilidade do CLAE para doses muito baixas, ou devido a adsorção das moléculas nas partículas do solo, como já comentado anteriormente para o experimento com Cambissolo.

Contudo, neste segundo experimento com Neossolo, foi possível observar menor dispersão dos dados entre as repetições e maior correlação da degradação do Clorpirifós no solo em função do tempo de exposição nas doses mais altas ( $4,5 \text{ mg kg}^{-1}$ ,  $9,0 \text{ mg kg}^{-1}$ ,  $18,0 \text{ mg kg}^{-1}$ ), do que foi verificado anteriormente para Cambissolo. Essa condição pode ser decorrente das diferenças nas características de cada solo, como os teores de matéria orgânica, pH, areia, silte e argila (Tabela 1).

Neste experimento com Neossolo, foi verificado que a persistência do Clorpirifós depende da concentração da dose do pesticida aplicada, demonstrado pelas diferenças da taxa de degradação (constante  $k$ ) e do tempo de meia vida entre as doses (Tabela 8). Onde o DT50 da dose 5 (21,4 dias) foi maior que os da dose 1 (7,6 dias) e dose 2 (9,1 dias). Esse resultado vai de encontro com as informações relatadas no estudo de John e Shaike (2015), onde foi discutido que o nível de aplicação é um fator importante a ser considerado, pois o Clorpirifós mostra uma maior persistência em concentrações mais altas.

O Neossolo apresenta baixo teor de argila 4% e alta proporção de silte 59%, seguido de areia 37%, também baixo teor de matéria orgânica 0,9%. Essas características podem ter

interferido na capacidade de persistência do Clorpirifós no solo para as doses mais baixas. A matéria orgânica afeta vários atributos do solo, dentre eles destacam-se a capacidade de retenção de água, atividade de microrganismos, estrutura do solo, a capacidade de trocar cátions (CTC) e a adsorção específica de cátions e metais poluentes (ERNANI, 2016).

### 7.3 COMPARAÇÃO ENTRE CAMBISSOLO E NEOSSOLO

As diferenças observadas para o DT50 das doses 2 e 5 entre Cambissolo e Neossolo (Tabela 10), podem ser decorrentes das variações nos atributos de cada solo (Tabela 1). O Cambissolo apresenta maiores valores de MO, CTC, H+AL, areia e argila, já o Neossolo apresenta maior pH e proporção mais elevada de silte. Quanto as classes texturais de acordo com os teores de areia, silte e argila, o Cambissolo é um solo franco argilo arenoso e o Neossolo é um solo franco siltoso (LEMOS; SANTOS, 1984).

Segundo Gebremariam et al. (2012) o Clorpirifós pode sofrer adsorção preferencial às frações de argila dos solos. A adsorção tende a reduzir a mobilidade do clorpirifós e aumentar sua persistência no solo, reduzindo sua disponibilidade às forças degradativas. O clorpirifós se adsorve ao solo em diferentes graus na matéria orgânica, minerais de argila e sedimentos (JOHN; SHAIKE, 2015).

A composição química da matéria orgânica do solo é conhecida por ter grande influência na sorção de pesticidas e outros poluentes orgânicos. Como o Clorpirifós é um pesticida com características hidrofóbicas, sua adsorção aumenta conforme o conteúdo de matéria orgânica aumenta (PAROLO et al., 2017). Contudo segundo esses mesmos autores, independentemente da quantidade de matéria orgânica, outros fatores, como a composição da matéria orgânica, o pH e o teor de argila podem impactar na sorção de Clorpirifós.

Segundo John e Shaike (2015) a estabilidade hidrolítica do Clorpirifós diminui com o aumento pH. De acordo com Parolo et al. (2017) ao estudarem solos da região Norte da Patagônia Argentina verificaram que uma maior adsorção do Clorpirifós ocorre para solos com pH mais baixo, esses autores avaliaram solos com pH de 5,3 até 8,3. O pH determina o estado iônico dos grupos ionizáveis dos materiais orgânicos (carboxila, hidroxila, etc), portanto, quando o pH aumenta, a concentração de grupos desprotonados nas substâncias húmicas aumentam e conseqüentemente diminui a afinidade não iônica do pesticida com o adsorvente (PAROLO et al., 2017).

Nesse contexto, o solo com mais matéria orgânica, maior proporção de argila e menor pH, como é o caso do Cambissolo, tende a apresentar maior persistência do Clorpirifós do que

o Neossolo. Isso ficou evidente no resultado de comparação da dose 2 ( $0,9 \text{ mg kg}^{-1}$ ) entre os dois solos, onde o Cambissolo apresentou maior DT50, mas não foi observado para as outras doses (Tabela 10).

Entretanto quando observados os valores de  $K_d$ ,  $K_{oc}$  e  $K_{om}$ , verifica-se que estes foram baixos para ambos os solos (Tabela 11). Apesar do Cambissolo apresentar maiores teores de matéria orgânica, o  $K_d$  encontrado no ajuste linear da isoterma de sorção é moderadamente maior que em Neossolo, afetando os resultados de  $K_{oc}$  e  $K_{om}$ .

De acordo com o Critério de classificação de mobilidade do pesticida no solo, estabelecido pela Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO), quando o valor de  $K_{oc}$  está entre 10 e  $100 \text{ L kg}^{-1}$ , o pesticida é consideração móvel no solo. Um pesticida com grande mobilidade tem maior probabilidade de lixiviar para as águas subterrâneas ou escoar para corpos d'água superficiais, como lagos e rios (FAO, 2021).

Entretanto deve ser considerado que no presente estudo, as isotermas (Figura 3) foram construídas a partir dos experimentos que utilizaram solução de acetonitrila e água (90:10) para extrair o Clorpirifós do solo, diferente dos estudos que avaliaram a adsorção pelo *batch equilibrium method*, onde o solo é agitado em solução de  $0.01\text{M CaCl}_2$  p.a. e referentes a um experimento específico para avaliação da sorção do Clorpirifós no solo (GEBREMARIAM et al., 2012; PAROLO et al., 2017).

Nesse sentido, fica difícil a comparação dos valores de  $K_d$  e  $K_{oc}$  com a literatura científica, por essa razão foram realizados cálculos do  $K_d$  com base no  $K_{oc}$  encontrado para Cambissolo por Silva (2018), também em base de dados da Europa em PPDB (2021) e por Parolo et al. (2017). Esse tipo de cálculo do  $K_d$ , com base no  $K_{oc}$  retirado de outros estudos científicos, já foi descrito anteriormente (AGOSTINHO; FLUES, 2006; DUFILHO; FALCO, 2020)

Os valores de  $K_d$  e  $K_{om}$ , recalculados a partir do  $K_{oc}$  retirado em Silva (2018) e dos teores de matéria orgânica e carbono orgânicos do presente estudo para Cambissolo, demonstraram ser similares com valores encontrados em outros trabalhos, como Kanazawa (1989), onde o foi verificado o  $K_d = 13,4$  em um solo argiloso no Japão; Silva (2018) verificou um  $K_{om} = 156$  para Cambissolo e  $K_d = 4,05$ . Outros autores como Kravvariti et al. (2010), observaram valor de  $k_d = 17$ , para solo franco arenoso na Grécia.

Entretanto os demais  $K_d$  calculados, com base no  $K_{oc}$  do PPDB (2021) e Parolo et al. (2017), foram bastante superiores e mais de acordo com valores verificados na literatura em geral, para a sorção do Clorpirifós no solo (GEBREMARIAM et al., 2012; JOHN; SHAIKE, 2015; DUFILHO; FALCO, 2020).

#### 7.4 ANÁLISE GERAL SOBRE O ESTUDO

Nos tratamentos que obtiveram as maiores dispersões de dados, pode-se observar que as repetições dentro de uma mesma dose foram mais estáveis no experimento do Neossolo do que no Cambissolo. Essa diferença pode ter sido uma variação analítica, decorrente dos métodos de injeção, que foram distintos nos dois experimentos.

No experimento com Cambissolo foi utilizado o método automático (*auto-sampler*) tanto para a injeção quanto a limpeza da agulha e componentes internos, realizando a leitura com o comando no programa pelo computador. No experimento com Neossolo o método foi manual, onde o próprio operador da máquina injetou no equipamento por meio de uma seringa e após isto foi feita a limpeza com outra seringa para tirar as impurezas utilizando o solvente orgânico puro que foi utilizado nas extrações.

Esta diferença observada ainda pode ter sido influenciada pelas características de cada solo. Outro fator a ser considerado, é que devido a pandemia de COVID-19 as amostras experimento com Neossolo foram guardadas por 5 meses em ultra freezer (Apêndice H) a -80 °C e não foi mensurado o quanto isto poderia ter influenciado nas moléculas e nas concentrações do experimento do Neossolo.

## 7 CONCLUSÃO

Houve redução da concentração de Clorpirifós ao longo do tempo de exposição de 60 dias em Cambissolo e Neossolo, sendo degradada mais 75% da molécula para todas as doses. Apresentando maior dispersão dos dados e menor grau de redução em Cambissolo,

A eficiência de extração do Clorpirifós em Cambissolo e Neossolo foi maior que 80%. Houve diferença na taxa de degradação e na persistência do Clorpirifós entre as concentrações das doses aplicadas no Neossolo, sendo maior sua persistência na dose mais alta.

O tempo de meia-vida (DT50) do Clorpirifós em Cambissolo foi de 16,2 dias e a taxa de degradação  $0,050 \text{ mg kg}^{-1} \text{ dia}^{-1}$  e no Neossolo o DT50 foi 14,1 dias e a taxa de degradação  $0,058 \text{ mg kg}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ . Houve diferença do tempo do DT50 entre os solos apenas nas doses  $0,9 \text{ mg kg}^{-1}$  e  $18,0 \text{ mg kg}^{-1}$ .

O Cambissolo demonstrou maior capacidade de absorção do Clorpirifós do que o Neossolo, verificado pelo maior coeficiente de sorção ( $K_d$ ), calculado por isotermas lineares e por dados de  $K_{oc}$  publicados na literatura científica.



## REFERÊNCIAS

- ADAPAR. **Consulta de bula Clorpirifós: Lorsban 480**. Disponível em: <http://www.adapar.pr.gov.br/arquivos/File/defis/DFI/Bulas/Inseticidas/lorsban480br260218.pdf>. Acesso em: 10 jan. 2019.
- D'AGOSTINHO, A.; FLUES, M. Determinação do coeficiente de distribuição (Kd) de benzo (a) pireno em solo por isotermas de sorção. **Química Nova**, v. 29, n. 4, p. 657-661, 2006.
- AGROFIT. **Consulta de ingrediente ativo: Clorpirifós**. 2020. Disponível em: [http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/agrofit.ap\\_download\\_blob\\_agrofit?p\\_id\\_file=332672&p\\_nm\\_file=F1645348715/Bula\\_Agrofit\\_Sabre\\_2020\\_03\\_27.pdf](http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/agrofit.ap_download_blob_agrofit?p_id_file=332672&p_nm_file=F1645348715/Bula_Agrofit_Sabre_2020_03_27.pdf). Acesso em: 05 mar. 2020.
- ALVARES, C. A. et al. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, v. 22, n. 6, p. 711–728, 2014.
- ALVES FILHO, J.P. **Uso de agrotóxicos no Brasil controle social e interesses corporativos**. São Paulo: Annablume, 2002. 188p.
- ANDRIGHETTI, M. S. et al. Biodegradação de glifosato pela microbiota de solos cultivados com macieira. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 38, n. 5, p. 1643-1653, 2014.
- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Reavaliação de agrotóxicos: Quais os próximos agrotóxicos que serão reavaliados pela Anvisa?** Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/acessoainformacao/perguntasfrequentes/agrotoxicos/reavaliacao-de-agrotoxicos> Acesso em: 17 de fev. 2021a.
- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Agrotoxicos: Monografias autorizadas de agrotóxicos**. Disponível em <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/setorregulado/regularizacao/agrotoxicos/monografias/monografias-autorizadas/c/4226json-file-1> Acesso em: 17 de fev. 2021b.
- BARDGETT, R. D.; VAN DER PUTTEN, W. H. Belowground biodiversity and ecosystem functioning. **Nature**, v. 515, p. 505–511, 2014.
- BARETTA, D. et al. Soil fauna and its relation with environmental variables in soil management systems. **Revista Ciência Agronômica**, v. 45, n. 5, p. 871–879, 2014.

CARNIEL, L. S. C. **Avaliação de risco ecológico de Mancozeb e Clorpirifós para representantes da macro e mesofauna do solo e eficiência de leitos biológicos de descarte.** 2015. 140p. Dissertação (Mestrado em Ciência do Solo) – Universidade do Estado de Santa Catarina, Programa de Pós-Graduação em Ciência do Solo. 2015.

CARVALHO, R. A. et al. Avaliação da persistência de resíduos de clorpirifós em alimento e no ambiente após o cultivo de couve-flor. **Revista Eletrônica de Farmácia**, v. 14, n. 2, 2017.

CONCEIÇÃO, M. H. **Resíduos de pesticidas em tomates: metodologia analítica e avaliação da exposição humana.** 2002. Tese (Doutorado) – Universidade de Brasília, Instituto de Química da Universidade de Brasília, Brasília-DF. 2002

DAS, S.; ADHYA, T. K. Degradation of chlorpyrifos in tropical rice soils. **Journal of Environmental Management**, v. 152, p. 36-42, 2015.

DAS, S. et al. Fate of the organophosphate insecticide, chlorpyrifos, in leaves, soil, and air following application. **Chemosphere**, v. 243, p. 125194, 2020.

DONLEY, Nathan. The USA lags behind other agricultural nations in banning harmful pesticides. **Environmental Health**, v. 18, n. 1, p. 1-12, 2019.

DUFILHO, A. C.; FALCO, S. Preferential flow modelling of chlorpyrifos leaching in two arid soils of irrigated agricultural production areas in Argentine Patagonia. **Journal of contaminant hydrology**, v. 229, p. 103584, 2020.

ERNANI, P. R. **Química do solo e disponibilidade de nutrientes.** Lages: O Autor, 2016. 256 p.

FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Parameters of pesticides that influence processes in the soil.** Disponível em: <http://www.fao.org/3/X2570E/X2570E06.htm>. Acesso em: 26 de fev. 2021.

FAY, E. F.; SILVA, C. M. M. S. Comportamento e destino de agrotóxicos no ambiente solo-água. In: FAY, E. F. e SILVA, C. M. M. S. (Ed.). **Agrotóxico e ambiente.** Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2004. Cap. 3, p.107-143.

GEBREMARIAM, S. Y. et al. Adsorption and desorption of chlorpyrifos to soils and sediments. **Reviews of environmental contamination and toxicology**, p. 123–175, 2012.

GHINI, R.; KIMATI, H. **Resistência de fungos a fungicidas**. Jaguariúna, SP: Embrapa Meio Ambiente, 2002. 78p.

GUERRA, M.S.; SAMPAIO, D.P.A. **Receituário Agrônomo**. São Paulo: Editora Globo, 1991.

IBAMA- Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis. **Manual para requerimento de avaliação ambiental: agrotóxicos e afins**. p.180, 2009. Disponível em:  
<[http://www.ibama.gov.br/phocadownload/Qualidade\\_Ambiental/manual\\_de\\_procediment](http://www.ibama.gov.br/phocadownload/Qualidade_Ambiental/manual_de_procediment)>.

IBGE. Coordenação de Recursos Naturais e Estudos Ambientais. **Manual técnico de pedologia**. 3. ed. Rio de Janeiro: IBGE, 2015. 425 p. (IBGE. Manuais Técnicos em Geociências, 04).

ISO. International Organization for Standardization. **ISO –11274: Soil quality – Determination of the Water-retention characteristic – Laboratory methods**. Genève, Switzerland, 1998.

JOHN, E. M.; SHAIKE, J. M. Chlorpyrifos: pollution and remediation. **Environmental Chemistry Letters**, v. 13, n. 3, p. 269-291, 2015.

KANAZAWA, J. Relationship between the soil sorption constants for pesticides and their physicochemical properties. **Environmental Toxicology and Chemistry**, v. 8, n. 6, p. 477-484, 1989.

KRAVVARITI, K.; TSIROPOULOS, N. G.; KARPOUZAS, D. G. Degradation and adsorption of terbuthylazine and chlorpyrifos in biobed biomixtures from composted cotton crop residues. **Pest management science**, v. 66, n. 10, p. 1122-1128, 2010.

KOH, D.; JEYARATNAM, J. Pesticides hazards in developing countries. **Science of the total environment**, v. 188, p. S78-S85, 1996.

LAABS, V. et al. Leaching and degradation of corn and soybean pesticides in an Oxisol of the Brazilian Cerrados. **Chemosphere**, v. 41, n. 9, p. 1441-1449, 2000.

- LEMOS, R.C.; SANTOS, R.D. **Manual de descrição e coleta de solo no campo**. 2ed. Campinas: SBSC/SNLCS, 1984. 45p.
- LEPSCH, I. F. **Formação e conservação dos solos**. 2 ed. São Paulo: Oficina de textos. 2010. 216 p.
- LESSA, A. C. V.; MARTINS, P. E. S. Diagnóstico do descarte de embalagens de agroquímicos no P.A. Rosa de Luxemburgo II, São Cristóvão/SE. **Semana de Pesquisa da Universidade Tiradentes-SEMPESq**, n. 19, 2018.
- MACHADO, R. S. et al. EFEITO DE SUPERDOSAGEM DO HERBICIDA 2, 4-D NA TAXA DE COLONIZAÇÃO MICORRÍZICA EM RAÍZES DE MILHO. **Ciência & Tecnologia Fatec-JB**, v. 8, n. esp., 2016.
- MATSUMURA, Fumio. **Toxicology of insecticides**. Springer Science & Business Media, 2012. 493p.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE, BRASIL. **Revisão do Anexo XX da Portaria de Consolidação no 5 de 28 de setembro de 2017 do Ministério da Saúde (antiga Portaria MS N° 2914/2011) Padrão de Potabilidade e Planos de Amostragem Substâncias Químicas – Agrotóxicos Subsídios para Discussão e Orientações para Revisão Substâncias listadas na PRC nº 5/ 2017 – abril de 2020**. Disponível em: <http://portal.arquivos.saude.gov.br/images/pdf/2020/May/04/DOC-S--NTESE-AGROT--XICOS-2---AGROT--XICOS-LISTADOS.pdf>> Acesso em: 17 de fev. 2021.
- MIRSAL, I. **Soil pollution: origin, monitoring & remediation**. Springer: Verlag Berlin Heidelberg, 2008. 312 p.
- NRC. **Nacional Research Council: The future role of pesticides in US agriculture**. Washington, D.C.: National Academy Press, 2000. 332p.
- OLIVEIRA MENEZES, S. **Rochas: manual fácil de estudo e classificação**. São Paulo: Oficina de Textos, 2013. 112 p.
- OLIVEIRA-SILVA, J. J. et al. Influence of social-economic factors on the pesticide poisoning, Brazil. **Revista de Saúde Pública**, v. 35, n. 2, p. 130-135, 2001.

PAROLO, M. E.; SAVINI, M. C.; LOEWY, R. M. Characterization of soil organic matter by FT-IR spectroscopy and its relationship with chlorpyrifos sorption. **Journal of environmental management**, v. 196, p. 316-322, 2017.

PAUMGARTTEN, Francisco JR. Pesticides and public health in Brazil. **Current Opinion in Toxicology**, v. 22, p. 7-11, 2020.

PORRINI, C. et al. Honey bees and bee products as monitors of the environmental contamination. **Apiacta**, v. 38, n. 1, p. 63-70, 2003.

PPDB (Pesticide Properties Data Base), 2021. **The FOOTPRINT Pesticide Properties Database - Chlorpyrifos**. University of Hertfordshire, UK. Disponível em: <<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/154.htm>> Acesso em: 17 fev. 2021.

RACKE, Kenneth D. Environmental fate of chlorpyrifos. **Reviews of environmental contamination and toxicology**, p. 1-150, 1993.

RACKE, Kenneth D. et al. Factors affecting the hydrolytic degradation of chlorpyrifos in soil. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 44, n. 6, p. 1582-1592, 1996.

RAFIQUE, N. et al. Zn<sup>2+</sup> and Cd<sup>2+</sup> assisted photo-catalytic degradation of chlorpyrifos in soil. **Heliyon**, v. 5, n. 5, p. e01624, 2019.

RANI, L. et al. An extensive review on the consequences of chemical pesticides on human health and environment. **Journal of Cleaner Production**, 2020. JCLP 124657 (Pre-proof).

SANTANA, E.L.; MACHINSKI JUNIOR, M. O uso de praguicidas por trabalhadores do setor agrícola atendidos ambulatorialmente em Maringá no período de 2002 a 2003. **Acta Scientiarum**, v. 26, n. 2, p. 325-329, 2008.

SANTOS, J. B. et al. Fitorremediação de áreas contaminadas por herbicidas. In: SILVA, A. A.; SILVA, J. F. **Tópicos em manejo de plantas daninhas**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 2007. 367 p.

SANTOS, H. G. et al. **Sistema brasileiro de classificação de solos**. Brasília, DF: Embrapa, 2013. 353 p.

SINGH, B. K.; WALKER, A.; WRIGHT, D. J. Persistence of chlorpyrifos, fenamiphos, chlorothalonil, and pendimethalin in soil and their effects on soil microbial characteristics. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 69, n. 2, p. 181-188, 2002.

SOCOL, C. R.; PINHEIRO, L. I.; KREFTA, A. A. W. Degradação microbiológica de pesticidas no solo: revisão bibliográfica. **Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 5, p. 1 – 18, 1995.

SPADOTTO, C. A. **Monitoramento do risco ambiental de agrotóxicos: princípios e recomendações**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2004. 29 p.-- (Embrapa Meio Ambiente. Documentos, 42).

STATSOFT, Inc. **STATISTICA (data analysis software system), version 10**. [www.statsoft.com](http://www.statsoft.com). 2011.

TEDESCO, M. J. et al. **Análise de solo, plantas e outros materiais**. 2.ed. Porto Alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1995. 147p. (Boletim Técnico, 5).

VAN SCOY, A. R.; TJEERDEMA, R. S. Environmental fate and toxicology of Chlorothalonil. **Reviews of Environmental Contamination and Toxicology**, v. 232. p. 89-105, 2014.

XIAOQIANG, C. H. U. et al. Degradation of chlorpyrifos alone and in combination with chlorothalonil and their effects on soil microbial populations. **Journal of Environmental Sciences**, v. 20, n. 4, p. 464-469, 2008.

ZIMBACK, Célia Regina Lopes. **Formação dos solos. GEPAG. Botucatu-SP**, 2003.

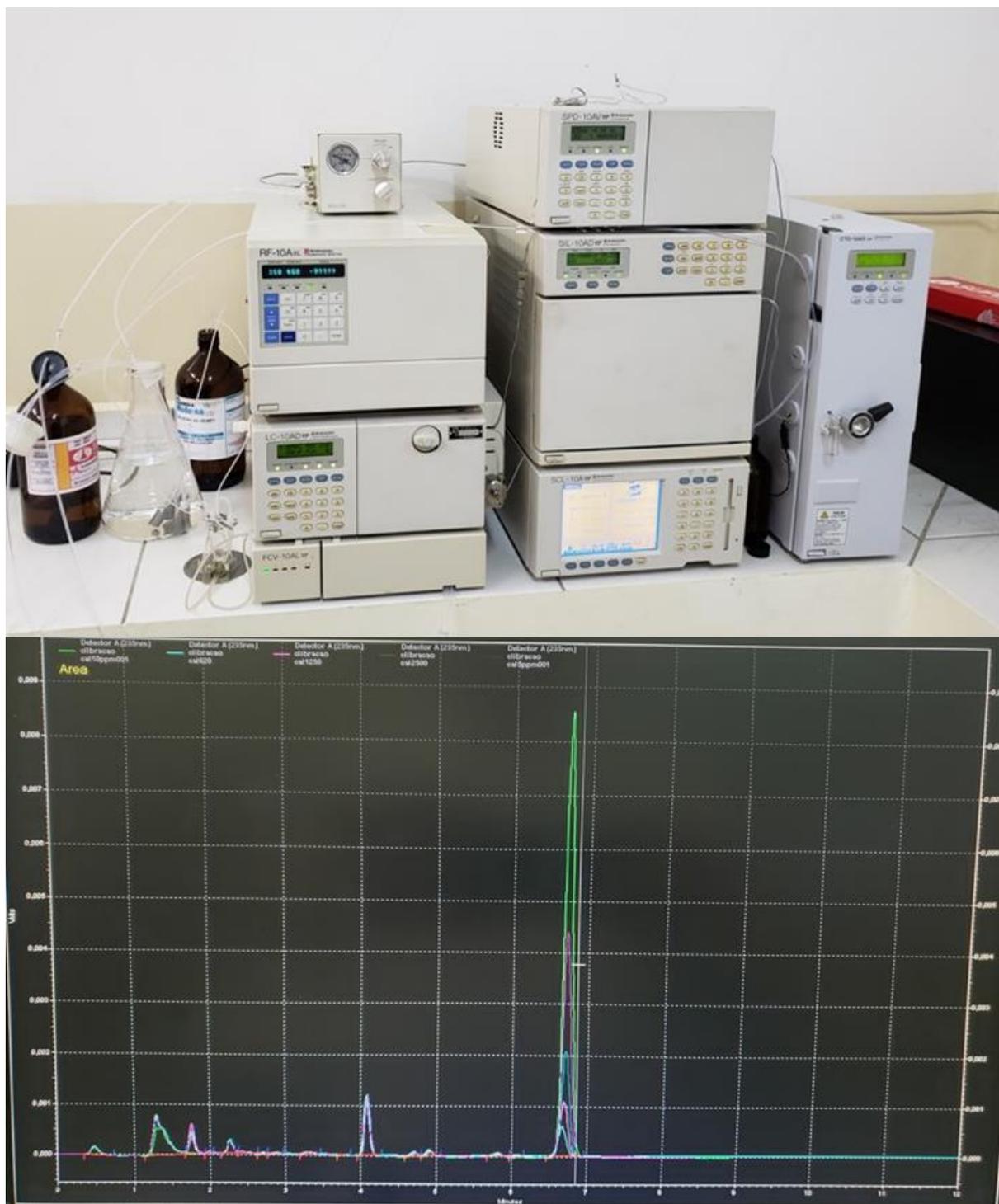
WAICHMAN, A. V. et al. Use and fate of pesticides in the Amazon State, Brazil. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 9, n. 6, p. 423-428, 2002.

## APÊNDICES

APÊNDICE A – Sala de armazenamento das amostras, climatizada para cultivo de organismos solo do laboratório de ecologia do solo, simulando uma situação real à campo.



APÊNDICE B – O equipamento visto na foto é o CLAE junto com um cromatograma das leituras do padrão.



APÊNDICE C – Centrífuga Molecular da marca *Eppendorf* modelo 5810 R, utilizado na última etapa de extração.



APÊNDICE D – Os dois solos utilizados no trabalho estão na foto, sendo o solo de cima mais claro com textura mais arenosa denominado de Neossolo, enquanto o solo de baixo mais escuro é o Cambissolo.



APÊNDICE E – Na foto mostra o *Shaker* marca Heidolph e modelo Promax 1020, utilizado para agitar as amostras nos *snap cap* a 160 rpm por 50 minutos.



APÊNDICE F – Possíveis erros de leituras ocorridos pelo equipamento, sendo necessário o acompanhamento em tempo integral das leituras da amostra.



APÊNDICE G – Segunda etapa da extração dos pesticidas no solo, após ficar por 50 minutos no agitador, o conteúdo do *snap cap* é colocado no funil com papel filtro para separação do solo com a parte líquida. Como pode ser visto na foto a seguir o solo fica retido restando uma solução homogênea transparente da amostra, contendo a acetonitrila e as moléculas de pesticidas extraídos da amostra.



APÊNDICE H – *Ultra freezer* localizado no laboratório de ecologia do CAV/UEDESC, utilizado para armazenar as amostras do segundo experimento (Neossolo), pode-se ver na foto abaixo de que as amostras foram armazenadas próximo a  $-80$  grau celsius para que não ocorra a degradação natural do pesticida nas amostras.



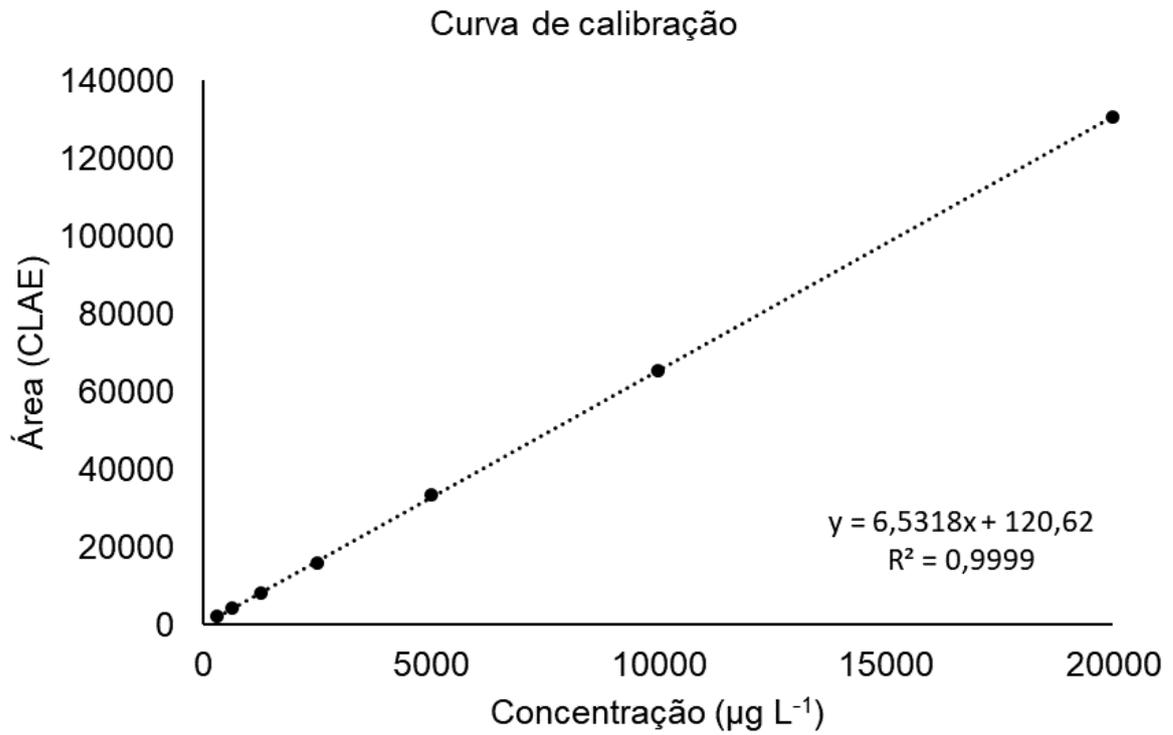
APÊNDICE I – Valores de concentração do pesticida Clorpirifós extraído em Cambissolo.

Dose	Concentração (mg kg <sup>-1</sup> )	Dias após contaminação						
		1	10	20	30	40	50	60
<b>0.1</b>	<b>0,00</b>	0,352	0,437	0,030	0,318	-0,018	0,385	0,000
<b>0.2</b>	<b>0,00</b>	0,044	0,087	0,037	0,090	0,048	0,000	0,000
<b>0.3</b>	<b>0,00</b>	0,000	0,206	0,010	0,326	0,260	0,248	0,025
<b>1.1</b>	<b>0,45</b>	0,425	0,619	0,618	0,288	0,102	0,000	0,008
<b>1.2</b>	<b>0,45</b>	0,441	0,350	0,601	0,081	0,000	0,000	0,000
<b>1.3</b>	<b>0,45</b>	0,972	0,888	1,016	0,631	0,155	0,000	0,000
<b>2.1</b>	<b>0,90</b>	0,878	1,607	0,863	0,555	0,250	0,067	0,083
<b>2.2</b>	<b>0,90</b>	0,901	1,331	1,001	1,014	0,344	0,172	0,431
<b>2.3</b>	<b>0,90</b>	0,863	0,889	1,003	0,557	0,258	0,167	0,393
<b>3.1</b>	<b>4,50</b>	3,523	2,802	3,624	2,663	0,429	1,487	0,134
<b>3.2</b>	<b>4,50</b>	5,326	7,091	7,719	5,566	1,039	0,282	0,127
<b>3.3</b>	<b>4,50</b>	4,795	6,787	6,827	4,753	2,988	1,598	1,541
<b>4.1</b>	<b>9,00</b>	7,278	8,683	12,629	9,189	2,168	0,917	0,395
<b>4.2</b>	<b>9,00</b>	8,165	14,205	14,155	9,730	3,915	2,558	2,257
<b>4.3</b>	<b>9,00</b>	10,204	19,606	18,986	11,319	4,502	3,755	1,478
<b>5.1</b>	<b>18,00</b>	13,987	21,907	21,223	14,838	4,640	1,757	2,304
<b>5.2</b>	<b>18,00</b>	20,572	25,759	25,219	21,612	5,198	3,712	2,708
<b>5.3</b>	<b>18,00</b>	19,328	29,385	26,761	11,805	6,242	3,409	1,678

APÊNDICE J – Valores de concentração do pesticida Clorpirifós extraído em Neossolo.

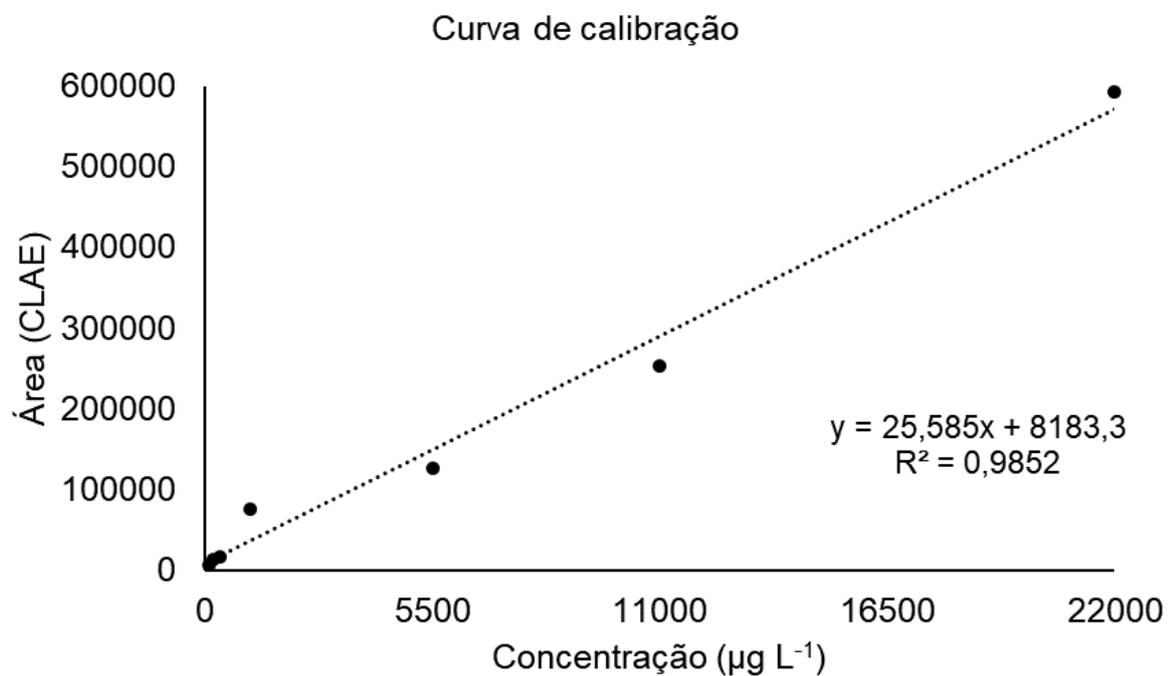
Dose	Concentração (mg kg <sup>-1</sup> )	Dias após contaminação						
		1	10	20	30	40	50	60
<b>0,1</b>	<b>0,00</b>	1,048	0,000	0,792	0,000	0,000	0,000	1,331
<b>0,2</b>	<b>0,00</b>	0,000	0,965	0,757	0,360	2,284	0,000	0,000
<b>0,3</b>	<b>0,00</b>	1,025	0,914	1,268	0,693	0,000	0,975	1,344
<b>1,1</b>	<b>0,45</b>	1,015	0,335	0,499	0,778	0,015	0,599	0,000
<b>1,2</b>	<b>0,45</b>	1,118	0,519	0,296	0,559	0,011	0,000	0,000
<b>1,3</b>	<b>0,45</b>	1,709	0,396	0,415	0,444	0,010	0,603	0,000
<b>2,1</b>	<b>0,90</b>	1,302	0,291	0,370	0,935	0,022	0,000	0,000
<b>2,2</b>	<b>0,90</b>	1,686	0,453	0,270	0,718	0,111	0,000	0,000
<b>2,3</b>	<b>0,90</b>	1,102	0,339	0,608	0,651	0,187	0,139	0,000
<b>3,1</b>	<b>4,50</b>	7,646	6,563	6,719	6,376	3,495	1,075	0,111
<b>3,2</b>	<b>4,50</b>	7,241	6,172	6,833	4,673	3,856	0,881	0,000
<b>3,3</b>	<b>4,50</b>	6,501	6,524	6,652	5,609	4,424	0,684	0,000
<b>4,1</b>	<b>9,00</b>	11,118	7,980	7,651	6,023	5,167	2,562	0,378
<b>4,2</b>	<b>9,00</b>	11,296	8,720	7,811	5,677	4,276	3,798	0,421
<b>4,3</b>	<b>9,00</b>	12,928	7,488	7,585	6,008	4,941	2,978	0,762
<b>5,1</b>	<b>18,00</b>	19,467	13,636	11,532	10,344	7,272	4,914	2,824
<b>5,2</b>	<b>18,00</b>	20,280	13,764	11,481	11,557	7,744	4,866	2,110
<b>5,3</b>	<b>18,00</b>	18,653	12,989	10,804	11,195	8,363	5,484	1,569

APÊNDICE K - Curva de calibração com o padrão de Clorpirifós para o primeiro experimento.



Fonte: Elaborada pelo autor.

APÊNDICE L - Curva de calibração com o padrão de Clorpirifós para o experimento com Neossolo.



Fonte: Elaborada pelo autor.