



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS NATURAIS E EXATAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**MÉTODO MULTIRRESÍDUO PARA AGROTÓXICOS E COMPOSTOS  
RELACIONADOS EM AR EMPREGANDO TRAPEAMENTO EM  
SORVENTE POLIMÉRICO E GC-MS/MS**

**TESE DE DOUTORADO**

**Samile Martel**

**Santa Maria - RS, Brasil**

**2013**

**MÉTODO MULTIRRESÍDUO PARA AGROTÓXICOS E COMPOSTOS  
RELACIONADOS EM AR EMPREGANDO TRAPEAMENTO EM  
SORVENTE POLIMÉRICO E GC-MS/MS**

**Samile Martel**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, Área de Concentração em Química Analítica, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de

**DOUTOR EM QUÍMICA**

Orientador: Prof. Dr. Renato Zanella

**Santa Maria - RS, Brasil**

**2013**

**Universidade Federal de Santa Maria  
Centro de Ciências Naturais e Exatas  
Programa de Pós-Graduação em Química**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,  
aprova a Tese de Doutorado

**MÉTODO MULTIRRESÍDUO PARA AGROTÓXICOS E COMPOSTOS  
RELACIONADOS EM AR EMPREGANDO TRAPEAMENTO EM SORVENTE  
POLIMÉRICO E GC-MS/MS**

elaborada por

**Samile Martel**

como requisito parcial para a obtenção do grau de **Doutor em Química**

**COMISSÃO EXAMINADORA**

---

**Prof. Dr. Renato Zanella** (Orientador, UFSM)

---

**Prof. Dr. Diosnel Antonio Rodriguez Lopez** (UNISC)

---

**Prof. Dr. Enio Leandro Machado** (UNISC)

---

**Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Cristina Solci** (UEL)

---

**Dr. Ubiratan Flores Da Silva** (UFSM)

Santa Maria, 25 de outubro de 2013.

## DEDICATÓRIA

“No meio da dificuldade encontra-se a oportunidade”

Albert Einstein

Dedico este trabalho a todas as pessoas que tornaram cada dificuldade encontrada no caminho mais simples, contribuindo para esta conquista, especialmente minha família que sempre esteve ao meu lado torcendo por mim e meu amor Márcio por ser tão especial em minha vida.

Obrigada por tudo.  
Amo muito vocês!!!

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por guiar meus passos, dando força e paciência, mostrando-me que esse caminho era possível.

A minha família pelo incentivo sempre, principalmente minha mãe, sempre disposta a ajudar em tudo. Agradeço tudo o que fizeram e fazem por mim a cada dia.

Ao meu noivo Márcio pelo apoio e carinho. Obrigada por todo o amor e companheirismo, e por estar comigo em todas as dificuldades e conquistas. Tenha certeza que essa conquista é sua também.

Ao Instituto Federal Farroupilha que possibilitou o meu afastamento para concluir esse estudo, especialmente aos diretores do campus Panambi, Adriano e Ana Rita, que desde o início fizeram o possível para me incentivar a concluir esta fase e aos colegas de trabalho que deram continuidade as atividades. Meus agradecimentos sinceros.

Ao Prof. Dr. Renato Zanella por acreditar no meu trabalho e no meu esforço, incentivando minhas próprias escolhas, dando-me a oportunidade de permanecer no grupo mesmo sabendo dos compromissos de trabalho. Agradeço a confiança e o tempo dedicado a esse trabalho. Espero que o contato com o grupo sempre permaneça!

A Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Martha B. Adaime pelos ensinamentos desde a época da graduação, que foi quando tive a oportunidade de conhecer o LARP. Obrigada pela amizade e por sempre achar um tempo em sua agenda para nos auxiliar. Também desejo que o contato sempre permaneça!

Ao Prof. Dr. Sérgio Luiz de Oliveira Machado, pela contribuição no exame de qualificação. Obrigada pelas valiosas sugestões.

Ao colega Dr. Manoel L. Martins também pela participação e sugestões no exame de qualificação, mas, além disso, obrigada pelo apoio desde o início deste trabalho, sempre acompanhando e orientando este estudo.

Ao Prof. Dr. Fábio Ferreira Gonçalves, também participante do exame de qualificação, agradeço pelas ótimas sugestões, mas agradeço principalmente pelos primeiros ensinamentos no LARP. À você e minha amiga Dra. Márcia Kurz, um

agradecimento especial pelo início desta caminhada. Que o contato se mantenha sempre!

Ao Dr. Ubiratan Flores Da Silva e aos professores Dr. Diosnel Antonio Rodriguez Lopez, Dr. Enio Leandro Machado e Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Cristina Solci agradeço pela participação na defesa da tese, contribuindo com ótimas sugestões e importantes questionamentos para a melhoria deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Osmar D. Prestes pela amizade e contribuição neste trabalho. Agradeço pelas valiosas sugestões e ensinamentos e também pela amizade e pelos bons momentos vividos no LARP. Tenho certeza que a amizade permanecerá sempre!

Aos colegas e amigos Alessandro Hermann, Filipe Donato e Janice Facco, obrigada pelo auxílio em cada amostra a ser injetada e cada dúvida sanada no decorrer deste trabalho. Obrigada por sempre estarem dispostos a ajudar quando precisei. A minha amiga Michele, colega e companheira de muitos anos, obrigada pela amizade e convivência. Vocês foram muito importantes na realização deste trabalho.

Aos demais colegas do LARP que também sempre auxiliaram no que foi preciso. Sem a ajuda de cada um de vocês o caminho teria sido mais difícil.

As minhas queridas amigas Márcia e Sandra Botega pela amizade, companheirismo e pelos momentos de descontração. Sem a amizade de vocês tudo teria sido mais difícil. Que Deus abençoe a nossa amizade. A minha amiga Rose Menezes, obrigada pelo carinho e por me acolher em sua família em Santa Maria. São essas amigas que dão sentido ao nosso trabalho.

Aos meus demais amigos, que apesar de estarem longe nunca saem dos meus pensamentos e na primeira oportunidade se fazem presente!!!

À UFSM pela oportunidade de estudar em uma instituição de qualidade, aos professores do curso de química pelos ensinamentos e aos funcionários do PPGQ, Ademir e Valéria, pela atenção e auxílio disponibilizados aos alunos.

## RESUMO

Tese de Doutorado  
Programa de Pós-Graduação em Química  
Universidade Federal de Santa Maria

### MÉTODO MULTIRRESÍDUO PARA AGROTÓXICOS E COMPOSTOS RELACIONADOS EM AR EMPREGANDO TRAPEAMENTO EM SORVENTE POLIMÉRICO

AUTOR: SAMILE MARTEL

ORIENTADOR: PROF. Dr. RENATO ZANELLA

Data e Local da Defesa: 25 de outubro de 2013, Santa Maria.

Enquanto agrotóxicos são aplicados em lavouras com o intuito de controlar pragas e, conseqüentemente, aumentar a produtividade, essas substâncias podem sofrer processos como volatilização, dispersão e transporte, atingindo a atmosfera, solo e água. Assim, o presente trabalho teve como objetivo principal desenvolver e validar um método para a determinação de 48 agrotóxicos e compostos relacionados em ar, baseado na amostragem ativa utilizando um dispositivo de trapeamento *home-made*, com posterior extração dos analitos com solvente e determinação por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas em Série (GC-MS/MS), bem como demonstrar a aplicabilidade do método proposto em locais de armazenamento e comercialização destes compostos, verificando a exposição dos trabalhadores. O sistema de amostragem consiste de uma bomba de vácuo para forçar a passagem do ar pelos *traps* e um medidor de vazão para controle do volume de ar amostrado. Considerando que vários compostos estudados possuem média volatilidade, utilizou-se uma estufa para aquecimento do primeiro *trap*, onde é realizada a fortificação com os compostos em estudo. Um conjunto de três *traps* de vidro com dimensões de 12,5 cm de comprimento x 3 mm de diâmetro interno x 5 mm de diâmetro externo, conectados por meio de conectores de silicone, completam o dispositivo utilizado. Utilizou-se o planejamento fatorial  $2^4$  para otimização do método de amostragem e eluição, onde as condições definidas foram: vazão de  $87,5 \text{ mL min}^{-1}$ , tempo de amostragem de 8 h, volume de acetona para eluição de 5 mL e temperatura da estufa de  $60 \text{ }^\circ\text{C}$ . O extrato foi filtrado e analisado por GC-MS/MS. A exatidão e precisão do método foram verificadas com ensaios de recuperação de no mínimo três níveis de concentração para cada analito, obtendo-se valores entre 70,0 e 120,0% para a maioria dos compostos avaliados. A maioria dos valores de RSD inferiores a 20% garantiram a precisão do método. Valores de LOQ do método foram de  $3,0$  ou  $6,0 \text{ } \mu\text{g m}^{-3}$ , dependendo do analito, considerado adequado para o controle de exposição desses compostos em ar. O método foi aplicado em empresa que armazena e comercializa agrotóxicos e em ambiente de preparo de padrões em laboratório de análises de resíduos de agrotóxicos. Não foram encontrados resíduos dos compostos estudados nos locais amostrados. O método de amostragem e eluição proposto mostrou ser eficaz para a maioria dos compostos, podendo ser aplicado na determinação de agrotóxicos e compostos relacionados em amostras de ar.

Palavras Chave: ar atmosférico, agrotóxico, GC-MS/MS.

**ABSTRACT**

Doctoral Thesis  
Graduate Program in Chemistry  
Universidade Federal de Santa Maria

**MULTIRESIDUE METHOD FOR PESTICIDES AND RELATED COMPOUNDS IN AIR USING NO POLYMERIC SORBENT TRAPPING**

AUTHOR: SAMILE MARTEL

ADVISOR: PROF. Dr. RENATO ZANELLA

**Date and Place for thesis defense: October 25<sup>th</sup>, 2013, Santa Maria.**

While pesticides are applied to crops in order to control pests and thereby increase productivity, these substances can undergo processes such as volatilization, dispersion and transport, reaching the atmosphere, soil and water. Thus, this study aimed to develop and validate a method for the determination of 48 pesticides and related compounds in air, based on active sampling using a trapping device home-made, with subsequent solvent extraction of analytes and determination by Gas Chromatography coupled to Tandem Mass Spectrometry (GC-MS/MS), as well as demonstrate the applicability of the proposed method in local storage and marketing of these compounds, checking the exposure of workers. The sampling system consists of a vacuum pump to force the passage of air through the traps and a flow meter for controlling the volume of air sampled. Whereas various compounds studied have medium volatility, it was used a heater for heating the first trap, where the spike process is carried out with the compounds under study. A set of three traps glass with dimensions of 12.5 cm long x 3 mm inner diameter x 5 mm external diameter, connected by silicone connectors, complete the device used. It was used the 2<sup>4</sup> factorial design for optimization of sampling and elution, where conditions were defined as: flow of 87.5 mL min<sup>-1</sup> sampling time of 8 h, volume of acetone for elution of 5 mL and greenhouse temperature of 60 °C. The extract was filtered and analyzed by GC-MS/MS. The accuracy and precision of the method was verified with recovery tests of at least three concentration levels for each analyte, yielding values between 70.0 and 120.0% for most of the compounds evaluated. Most RSD values lower than 20% ensured the precision of the method. Method LOQ values were 3.0 or 6.0 µg m<sup>-3</sup>, depending on the analyte, considered appropriate to control the exposure of these compounds in air. The method was applied in company that stores and sells pesticides and in the standards preparation room in laboratory of analysis of pesticides residue, in which no residues were found for the studied compounds. The sampling and elution method proposed was effective for most compounds and can be applied in the determination of pesticides and related compounds in air samples.

Keywords: atmospheric air, pesticides, GC-MS/MS.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Principais rotas de transporte e degradação de agrotóxicos no ambiente. Adaptado de JARDIM *et al.* (2009)..... 37
- Figura 2 - Esquema geral de procedimento para determinação de agrotóxicos em ar. Adaptado de KOSIKOWSKA & BIZIUK (2010)..... 45
- Figura 3 - Esquema da composição de um Espectrômetro de Massas. Adaptado de LANÇAS (2009)..... 68
- Figura 4 - Ionização por impacto de elétrons. Adaptado de HARRIS (2008)..... 69
- Figura 5 - Esquema de um analisador de massas do tipo Quadrupolo. Adaptado de CORILO (2009)..... 71
- Figura 6 - Esquema de um analisador de massas, do tipo Triplo Quadrupolo. Adaptado de MARTINS (2010)..... 72
- Figura 7 - Estrutura do sorvente polimérico Tenax TA = poli (óxido de 2,6-difenil-fenileno)..... 84
- Figura 8 - Foto ilustrativa do sistema de amostragem de ar, sendo (A) estufa para aquecimento do *trap* 1; (B) conjunto de 3 *traps* unidos por conectores de silicone (*trap* 1 encontra-se dentro da estufa para aquecimento); (C) medidor de vazão e (D) bomba de vácuo..... 98
- Figura 9 - (A) Foto ilustrativa dos três *traps* conectados em série; (B) Esquema dos três *traps* conectados em série, onde *trap* 1 corresponde ao *trap* vazio, onde ocorre a fortificação e transferência dos analitos para o ar; *trap* 2 é o *trap* analítico e

	<i>trap</i> 3 chamado <i>trap</i> de segurança.....	99
Figura 10 -	Esquema do processo de amostragem de ar, demonstrando a migração e trapeamento dos analitos através dos <i>traps</i> 1, 2 e 3..	100
Figura 11 -	Sistema de eluição dos compostos em estudo utilizando dispositivo <i>manifold</i> .....	102
Figura 12 -	Fluxograma geral representando as principais etapas envolvidas na amostragem e preparo da amostra usando trapeamento em sorvente polimérico.....	103
Figura 13 -	Esquema das salas em empresa que armazena e comercializa agrotóxicos onde foram realizadas as coletas de ar para análise de agrotóxicos e compostos relacionados.....	115
Figura 14 -	Esquema do laboratório de preparo de padrões de agrotóxicos onde foi realizada a coleta de ar para análise de agrotóxicos e compostos relacionados.....	116
Figura 15 -	Cromatograma modo SRM obtido por GC-MS/MS para (A) amostra “branco” da matriz e (B) solução analítica preparada no solvente, contendo os compostos em estudo na concentração de $100 \mu\text{g L}^{-1}$ , destacando o pico cromatográfico referente à bifentrina com seus respectivos íons .....	118
Figura 16 -	Cromatograma SRM obtido por GC-MS/MS para uma solução analítica $100 \mu\text{g L}^{-1}$ preparada em solvente para os analitos: (A) hexaclorobenzeno e (B) bifentrina, com destaque para os respectivos íons.....	124
Figura 17 -	Gráfico demonstrando o percentual de compostos que apresentaram recuperação entre 70 e 120% para os 27 ensaios do planejamento fatorial.....	128
Figura 18 -	Gráfico dos efeitos das variáveis: (1) vazão de amostragem ( $\text{mL min}^{-1}$ ); (2) tempo de amostragem (h); (3) volume de acetona para eluição (mL) e (5) temperatura de aquecimento do <i>trap</i> 1 ( $^{\circ}\text{C}$ ).....	130
Figura 19 -	Percentual de compostos que apresentaram recuperações médias nas seguintes faixas: menor que 70%; entre 70 e 120% e acima de 120% para o Teste 5.....	135

Figura 20 -	Percentual de compostos que apresentaram RSD (%) nas seguintes faixas: menor que 10%; entre 10 e 20% e acima de 20% para o teste 5.....	136
Figura 21 -	Fluxograma do método de amostragem e eluição otimizado para determinação de agrotóxicos e compostos relacionados em ar...	137
Figura 22 -	Cromatograma amostra “branco” obtido utilizando GC-MS/MS no modo SRM.....	138
Figura 23 -	Percentual de compostos que apresentaram recuperações médias nas seguintes faixas: menor que 70%; entre 70 e 120% e acima de 120% em quatro diferentes níveis de fortificação.....	150
Figura 24 -	Percentual de compostos que apresentaram RSD (%) nas seguintes faixas: menor que 10%; entre 10 e 20% e acima de 20% em quatro diferentes níveis de fortificação.....	152
Figura 25 -	Cromatogramas no modo SRM do herbicida trifluralina em (A) cromatograma do padrão preparado no solvente na concentração $200 \mu\text{g L}^{-1}$ , destacando os íons monitorados, (B) cromatograma resultante do <i>trap</i> 1 no nível de fortificação $24,0 \mu\text{g m}^{-3}$ , (C) cromatograma do <i>trap</i> 2 no nível $24,0 \mu\text{g m}^{-3}$ e (D) cromatograma do <i>trap</i> 3 no nível $24,0 \mu\text{g m}^{-3}$ .....	159
Figura 26 -	Cromatogramas no modo SRM do analito PCBTF em (A) cromatograma do padrão preparado no solvente na concentração $200 \mu\text{g L}^{-1}$ , destacando os íons monitorados, (B) cromatograma resultante do <i>trap</i> 1 no nível de fortificação $24,0 \mu\text{g m}^{-3}$ , (C) cromatograma do <i>trap</i> 2 no nível $24,0 \mu\text{g m}^{-3}$ e (D) cromatograma do <i>trap</i> 3 no nível $24,0 \mu\text{g m}^{-3}$ .....	161
Figura 27 -	Cromatogramas no modo SRM do analito bifentrina em (A) cromatograma do padrão preparado no solvente na concentração $200 \mu\text{g L}^{-1}$ , destacando os íons monitorados, (B) cromatograma resultante do <i>trap</i> 1 no nível de fortificação $24,0 \mu\text{g m}^{-3}$ , (C) cromatograma do <i>trap</i> 2 no nível $24,0 \mu\text{g m}^{-3}$ e (D) cromatograma do <i>trap</i> 3 no nível $24,0 \mu\text{g m}^{-3}$ .....	162

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Classes toxicológicas dos agrotóxicos.....	34
Tabela 2 -	Matriz de planejamento para planejamento fatorial $2^4$ no estudo da influência de fatores no rendimento de uma reação..	64
Tabela 3 -	Coeficientes de contraste de planejamento fatorial $2^4$ .....	65
Tabela 4 -	Agrotóxicos selecionados para avaliação das melhores condições de amostragem e eluição, indicando classe, grupo químico, massa molar ( $\text{g mol}^{-1}$ ), ponto de fusão e ebulição ( $^{\circ}\text{C}$ ) e pressão de vapor (mPa).....	89
Tabela 5 -	Agrotóxicos e compostos relacionados acrescentados ao método para aumento do escopo de analitos, indicando classe/tipo, grupo químico/aplicação, massa molar ( $\text{g mol}^{-1}$ ), ponto de fusão e ebulição ( $^{\circ}\text{C}$ ) e pressão de vapor (mPa).....	90
Tabela 6 -	Limites de exposição em termos de TWA estabelecidos pela OSHA, NIOSH e <i>WorkSafeBC</i> .....	92
Tabela 7 -	Condições experimentais dos ensaios preliminares para otimização do processo de amostragem de ar.....	105
Tabela 8 -	Demonstração das 16 possíveis combinações das 4 variáveis definidas para o planejamento fatorial $2^4$ .....	106
Tabela 9 -	Condições experimentais do planejamento $2^4$ , incluindo valores médios e valores extrapolados.....	107
Tabela 10 -	Condições de amostragem do Ensaio 16 do planejamento experimental e Teste 4, onde o tempo de amostragem passou de 6 para 8h.....	109
Tabela 11 -	Agrotóxicos determinados por GC-MS/MS, utilizando o modo	

	de ionização EI, no modo SRM com seus respectivos segmentos de análises, tempos de retenção ( $t_R$ ), íons precursores e produtos para a quantificação e confirmação.....	120
Tabela 12 -	Resultados dos ensaios preliminares realizados para a otimização do processo de amostragem de ar.....	125
Tabela 13 -	Condições experimentais do planejamento $2^4$ com resposta obtida para cada ensaio.....	126
Tabela 14 -	Coeficientes de contraste para o planejamento fatorial $2^4$ .....	129
Tabela 15 -	Resultados de recuperação média de cada composto para o Ensaio 16 do planejamento experimental e Teste 4, conforme condições descritas no item 3.10.4.....	131
Tabela 16 -	Resumo das condições de amostragem e eluição para o Teste 5 com resposta em termos de número de compostos com recuperação entre 70 e 120%.....	132
Tabela 17 -	Recuperação média de cada composto e RSD (%) para o Teste 5, conforme condições descritas na Tabela 16.....	133
Tabela 18 -	Faixa de concentração linear, equações das curvas analíticas e respectivos coeficientes de determinação ( $r^2$ ) para cada composto estudado.....	139
Tabela 19 -	Limites de detecção e quantificação do instrumento e do método.....	142
Tabela 20 -	Níveis de fortificação para cada composto estudado.....	145
Tabela 21 -	Recuperações percentuais médias e RSD (%) em termos de precisão intermediária do método.....	147
Tabela 22 -	Concentração e recuperação médias para cada analito no <i>trap</i> 3 ( <i>trap</i> de segurança).....	154
Tabela 23 -	Concentração e percentual médios de cada analito que permaneceu no <i>trap</i> 1 nos diferentes níveis de fortificação.....	157

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ABHO	- Associação Brasileira de Higienistas Ocupacionais
ACGIH	- <i>American Conference of Governmental Industrial Hygienists</i>
ANVISA	- Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APTI	- <i>Air Pollution Training Institute</i>
CDC	- <i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
CETESB	- Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental
CI	- Ionização Química, do inglês <i>Chemical Ionization</i>
CID	- Dissociação Induzida por Colisão, do inglês <i>Collision-induced dissociation</i>
CONAMA	- Conselho Nacional do Meio Ambiente
DC	- Corrente Direta, do inglês <i>Direct Current</i>
DCBTF	- Di-cloro-benzeo-tri-fluoreto
DDD	- Dicloro-difenil-dicloroetano
DDE	- Dicloro-difenil-dicloro-etileno
DDT	- Dicloro-difenil-tricloroetano
d.i.	- Diâmetro interno
DF	- Distrito Federal
DL <sub>50</sub>	- Dose Letal para 50% dos organismos testes
DQ	- Departamento de Química
ECD	- Detecção por Captura de Elétrons, do inglês <i>Electron Capture Detection</i>
EI	- Ionização por Elétrons, do inglês <i>Electron Ionization</i>

EPA	- Agência de Proteção Ambiental, do inglês <i>Environmental Protection Agency</i>
EUA	- Estados Unidos da América
eV	- Elétrons volt
FAO	- Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura, do inglês <i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i>
FID	- Detecção por Ionização em Chama, do inglês <i>Flame Ionization Detection</i>
GC	- Cromatografia Gasosa, do inglês <i>Gas Chromatography</i>
GC-ECD	- Cromatografia Gasosa com Detecção por Captura de Elétrons, do inglês <i>Gas Chromatography coupled to Electron Capture Detection</i>
GC-MS	- Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas, do inglês <i>Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry</i>
GC-MS/MS	- Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas em série, do inglês <i>Gas Chromatography coupled to Tandem Mass Spectrometry</i>
HCH	- Hexaclorobenzeno
HPLC	- Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, do inglês <i>High Performance Liquid Chromatography</i>
IBAMA	- Instituto Brasileiro de Meio Ambiente
ICH	- <i>International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use</i>
INMETRO	- Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial
IUPAC	- União Internacional de Química Pura e Aplicada, do inglês <i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
LARP	- Laboratório de Análise de Resíduos de Pesticidas
LC	- Cromatografia Líquida, do inglês <i>Liquid Chromatography</i>
LC-MS/MS	- Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massas em série, do inglês <i>Chromatography coupled to Tandem Mass Spectrometry</i>
LOD	- Limite de Detecção, do inglês <i>Limit of Detection</i>

LOQ	- Limite de Quantificação, do inglês <i>Limit of Quantification</i>
m/z	- Razão massa carga
MAE	- Extração Assistida por Microondas, do inglês <i>Microwave-assisted Solvent Extraction</i>
MAPA	- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MM	- Massa molar
MS	- Espectrometria de Massas, do inglês <i>Mass Spectrometry</i>
MS/MS	- Espectrometria de Massas em serie, do inglês <i>Tandem Mass Spectrometry</i>
NAAQS	- <i>Nacional Ambient Air Quality Standards</i>
NIOSH	- <i>Nacional Institute for Occupation Safety and Health</i>
NPD	- Detecção de Nitrogênio e Fósforo, do inglês <i>Nitrogen Phosphorus Detection</i>
NR	- Norma Regulamentadora
NVOCs	- Composto Orgânico Não Volátil, do inglês <i>Non-Volatile Organic Compound</i>
OMS	- Organização Mundial da Saúde
ONUBR	- Organização das Nações Unidas no Brasil
OPA	- Organização Pan-Americana da Saúde
OSHA	- <i>Occupation Safety and Health Administration</i>
OVS	- <i>OSHA Versatile Sampler</i>
PARA	- Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos
PASL	- Amostrador Passivo de Ar, do inglês <i>Passive Air Samplers</i>
PCBTF	- Para-cloro-benzo-tri-fluoreto
PCT	- Para-cloro-tolueno
PE	- Ponto de Ebulição
PF	- Ponto de Fusão
PI	- Padrão Interno
PLE	- Extração com Líquido Pressurizado, do inglês <i>Pressurized Liquid Extraction</i>
PM	- <i>Particulate Matter</i>

PNQA	- Plano Nacional de Qualidade do Ar
POP	- Poluente Orgânico Persistente
Pronar	- Programa Nacional de Controle de Qualidade do Ar
PUF	- Espuma de Poliuretano, do inglês <i>Polyurethane Foam</i>
PV	- Pressão de Vapor
Q1 ou MS1	- Primeiro quadrupolo
Q3 ou MS3	- Terceiro quadrupolo
r	- Coeficiente de Correlação
r <sup>2</sup>	- Coeficiente de Determinação
Rf	- Radiofrequência
RS	- Rio Grande do Sul
RSD	- Desvio Padrão Relativo, do inglês <i>Relative Standard Deviation</i>
RSD <sub>pi</sub>	- Desvio Padrão Relativo para Precisão Intermediária
RSD <sub>r</sub>	- Desvio Padrão Relativo para Repetitividade
S	- Desvio padrão absoluto
SANCO	- Saúde e Proteção do Consumidor, do francês <i>Santé et protection des consommateurs</i>
SIM	- Monitoramento do Íon Seleccionado, do inglês <i>Selective Ion Monitoring</i>
SPE	- Extração em Fase Sólida, do inglês <i>Solid Phase Extraction</i>
SPMD	- Dispositivo de Membrana Semipermeável, do inglês <i>Semi-Permeable Membrane Device</i>
SRM	- Monitoramento Seletivo de Reações, do inglês <i>Selected Reactions Monitoring</i>
STEL	- Limite de Exposição de Curta Exposição, do inglês <i>Short Term Exposure Limit</i>
SVOCs	- Composto Orgânico Semi-Volátil, do inglês <i>Semi-Volatile Organic Compound</i>
TCD	- Detecção por Condutividade Térmica, do inglês <i>Thermal Conductivity Detection</i>
TIC	- Cromatograma do Íon Total, do inglês <i>Total Ion Chromatogram</i>
TLV	- Limite de Tolerância, do inglês <i>Threshold Limit Value</i>

TOF	- Tempo de Voo, do inglês <i>Time-of-Flight</i>
TPP	- Trifenilfosfato, do inglês <i>Triphenyl Phosphate</i>
TQ	- Triplo Quadrupolo
TWA	- Limite de Tolerância Ponderado no Tempo, do inglês <i>Time Weighted Average</i>
$t_R$	- Tempo de retenção
UFBA	- Universidade Federal da Bahia
UFSM	- Universidade Federal de Santa Maria
VERAM	- <i>Versatile, Easy, Rapid Atmospheric Monitor</i>
VOCs	- Composto Orgânico Volátil, do inglês <i>Volatile Organic Compound</i>
WorkSafeBC	- <i>Workers' Compensation Board</i>
XAD	- Nome comercial para resina polimérica composta por copolímeros de poliestireno e divinilbenzeno

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>23</b>
<b>2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>26</b>
<b>2.1 Poluição Atmosférica.....</b>	<b>26</b>
2.1.1 Poluente atmosférico.....	28
2.1.2 Efeitos da poluição atmosférica.....	28
<b>2.2 Agrotóxicos.....</b>	<b>30</b>
2.2.1 Histórico do uso de agrotóxicos.....	31
2.2.2 Classificação dos agrotóxicos.....	32
2.2.3 Toxicidade dos agrotóxicos.....	34
<b>2.3 Dinâmica dos agrotóxicos na atmosfera.....</b>	<b>35</b>
<b>2.4 Padrões de qualidade do ar .....</b>	<b>37</b>
<b>2.5 Limites de exposição ocupacional.....</b>	<b>40</b>
<b>2.6 Métodos de amostragem de agrotóxicos em ar atmosférico.....</b>	<b>43</b>
2.6.1 Amostragem por adsorção em sorventes sólidos ou filtros.....	46
2.6.2 Amostragem ativa e passiva.....	47
2.6.3 Principais sorventes utilizados e suas propriedades.....	49
<b>2.7 Métodos de extração de analitos de sorventes sólidos e filtros.....</b>	<b>52</b>
<b>2.8 Métodos oficiais para determinação de agrotóxicos em ar.....</b>	<b>53</b>
<b>2.9 Determinação de agrotóxicos em ar atmosférico.....</b>	<b>54</b>
<b>2.10 Planejamento experimental.....</b>	<b>60</b>
<b>2.11 Métodos cromatográficos para determinação de resíduos de agrotóxicos.....</b>	<b>66</b>
2.11.1 Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas.....	67

2.11.2 Analisadores de massas.....	70
2.11.3 Espectrometria de Massas em série (MS/MS).....	73
<b>2.12 Validação de métodos cromatográficos.....</b>	<b>75</b>
2.12.1 Seletividade.....	77
2.12.2 Curva analítica e linearidade.....	78
2.12.3 Limite de Detecção (LOD) e de Quantificação (LOQ).....	80
2.12.4 Exatidão (recuperação).....	81
2.12.5 Precisão (repetitividade e precisão intermediária).....	82
2.12.6 Padrão Interno.....	83
<b>3 MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>84</b>
<b>3.1 Instrumentação.....</b>	<b>85</b>
<b>3.2 Gases utilizados.....</b>	<b>86</b>
<b>3.3 Reagentes, solventes e materiais utilizados.....</b>	<b>86</b>
<b>3.4 Agrotóxicos selecionados.....</b>	<b>87</b>
3.4.1 Limites de exposição ocupacional dos compostos selecionados.....	92
<b>3.5 Seleção do padrão interno.....</b>	<b>93</b>
<b>3.6 Preparo das soluções analíticas.....</b>	<b>93</b>
<b>3.7 Amostragem de ar para validação do método.....</b>	<b>94</b>
<b>3.8 Condicionamento do sorvente utilizado e limpeza dos <i>traps</i> de vidro.....</b>	<b>94</b>
<b>3.9 Otimização do sistema cromatográfico GC-MS/MS para determinação de resíduos de agrotóxicos e compostos relacionados em ar.....</b>	<b>95</b>
3.9.1 Condições cromatográficas.....	95
3.9.2 Otimização do sistema de detecção.....	97
<b>3.10 Avaliação e otimização do método de amostragem de ar por meio do trapeamento com sorvente polimérico.....</b>	<b>97</b>
3.10.1 Cálculos para determinação da concentração e recuperação dos analitos.....	103
3.10.2 Testes iniciais para otimização das condições de amostragem e eluição.....	104
3.10.3 Planejamento experimental.....	106
3.10.4 Confirmação dos resultados do planejamento experimental e teste	

final para otimização das condições de amostragem e eluição.....	109
3.10.5 Aumento do escopo de compostos analisados e escolha das melhores condições para amostragem e eluição.....	110
<b>3.11 Validação de método para determinação de resíduos de agrotóxicos e compostos relacionados utilizando sorvente polimérico para trapeamento.....</b>	<b>110</b>
3.11.1 Seletividade.....	110
3.11.2 Determinação da linearidade das curvas analíticas.....	111
3.11.3 Limite de Detecção e Limite de Quantificação do instrumento e do método.....	112
3.11.4 Ensaio de fortificação para avaliação da exatidão do método.....	112
3.11.5 Precisão (repetitividade e precisão intermediária).....	114
3.12 Aplicação do método.....	114
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>117</b>
<b>4.1 Condições cromatográficas para determinação de agrotóxicos e compostos relacionados em ar.....</b>	<b>117</b>
<b>4.2 Condições de análise por GC-MS/MS para determinação de agrotóxicos e compostos relacionados em ar.....</b>	<b>119</b>
<b>4.3 Desenvolvimento e otimização do método de amostragem e eluição de agrotóxicos e compostos relacionados em ar.....</b>	<b>125</b>
4.3.1 Testes iniciais para otimização das condições de amostragem e eluição.....	125
4.3.2 Planejamento experimental.....	126
4.3.3 Confirmação dos resultados do planejamento experimental e teste final para otimização das condições de amostragem de ar.....	131
4.3.4 Aumento do escopo de compostos analisados e escolha das melhores condições para amostragem e eluição.....	132
<b>4.4 Validação do método para determinação de resíduos de agrotóxicos e compostos relacionados em ar.....</b>	<b>136</b>
4.4.1 Seletividade e análise de solventes e reagentes .....	137
4.4.2 Curva analítica e linearidade.....	139
4.4.3 Determinação dos valores de LOD e LOQ do instrumento e do método.....	141

4.4.4 Ensaio de fortificação para avaliação da exatidão do método.....	144
4.4.5 Avaliação da recuperação dos analitos no <i>trap</i> 3 ( <i>trap</i> de segurança).....	153
4.4.6 Avaliação da concentração dos analitos no <i>trap</i> 1.....	156
<b>4.5 Cromatogramas para demonstração da eficiência de amostragem...</b>	<b>158</b>
<b>4.6 Aplicação do método.....</b>	<b>162</b>
<b>5 CONCLUSÃO.....</b>	<b>164</b>
<b>DESTINAÇÃO DOS RESÍDUOS GERADOS.....</b>	<b>166</b>
<b>SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....</b>	<b>167</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>168</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>178</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O amplo e rápido crescimento da agricultura nos últimos tempos resultou no intenso uso de agrotóxicos, com o objetivo de aumentar a produtividade e atender à demanda mundial de alimentos. Enquanto essas substâncias são aplicadas nas lavouras podem sofrer processos de dispersão, transformação e transporte, atingindo, muitas vezes, os diferentes compartimentos ambientais, como a atmosfera, o solo, as águas superficiais e subterrâneas, podendo resultar em problemas de intoxicação pela ingestão gradativa desses produtos presentes na água potável e em alimentos (SANTOS *et al.*, 2009).

Os dois principais mecanismos pelos quais os agrotóxicos alcançam a atmosfera são: volatilização ou dispersão durante a aplicação e após a aplicação, lembrando que os níveis de concentração na atmosfera podem ser consideravelmente menores que os níveis encontrados em água e solo (DOBSON *et al.*, 2006; KOSIKOWSKA & BIZIUK, 2010). De uma forma geral, a taxa e a extensão da emissão destes compostos para a atmosfera durante a aplicação depende do método de aplicação, formulação, condições ambientais e propriedades dos agrotóxicos, do solo e da planta. Durante a aplicação, estima-se que cerca de 30 a 50% da quantidade aplicada é perdida para a atmosfera (KOSIKOWSKA & BIZIUK, 2010). Em alguns casos, essa perda pode chegar a 60% da dosagem aplicada (Van den BERG *et al.*, 1999). Após a aplicação de agrotóxicos nas culturas, estes podem ser absorvidos por partículas do solo. Uma vez absorvidos estão sujeitos a diferentes fenômenos, incluindo penetração no solo, transporte dos agrotóxicos que estão depositados no solo por meio da água ou por meio do vento. Entretanto, apesar de ocorrerem esses fenômenos, a maior parte dos agrotóxicos é emitida para a atmosfera por meio de volatilização (DOBSON *et al.*, 2006).

Para garantir a qualidade do ar atmosférico quanto à presença de resíduos de agrotóxicos são estabelecidos alguns Limites de Exposição (TLV, do inglês *Threshold Limit Value*) por organizações como a *Occupation Safety and Health Administration* (OSHA), *Nacional Institute for Occupation Safety and Health* (NIOSH) e *American Conference of Governmental Industrial Higienists* (ACGIH), definidos como Limite de Curta Exposição (STEL, do inglês, *Short Term Exposure Limit*) e Limite de

Tolerância Ponderado no Tempo (TWA, do inglês *Time Weighted Average*) (OSHA, 2013; PEDROZA *et al.*, 2011).

O Brasil, assim como outros países, adequou os limites de exposição ocupacional desenvolvidos por agências internacionais, descritos na Lei nº 6.514 de 22 de dezembro de 1977 (BRASIL, 1977) e sua Norma Regulamentadora nº 15 (NR15) (BRASIL, 1978), definidos, neste caso, como Limites de Tolerância. Esta legislação brasileira conta com 202 produtos químicos com limites estabelecidos, não incluindo agrotóxicos nesta lista.

O estudo da distribuição dos agrotóxicos na atmosfera permite entender o transporte dos agrotóxicos para regiões bastante distantes da área de aplicação. As informações de estudos e avaliações podem auxiliar políticas de regulamentação desses compostos e ações mitigadoras para danos ambientais. A determinação dos níveis e da distribuição de agrotóxicos na atmosfera contribui para o melhor entendimento do risco causado por essas substâncias à saúde humana. Embora os trabalhos comprovem um grande esforço para a obtenção de dados confiáveis, novos estudos e trabalhos são requeridos para otimizar os procedimentos de amostragem e métodos de análise de agrotóxicos em ar atmosférico (SANTOS *et al.*, 2009).

Nos últimos anos várias técnicas têm sido empregadas para amostragem e quantificação de resíduos de agrotóxicos em ar atmosférico, sendo os poluentes orgânicos persistentes (POPs) os compostos mais investigados nesta matriz, devido à elevada persistência e volatilidade (WANIA *et al.*, 2003; HARNER *et al.*, 2006; HOLMQVIST *et al.*, 2006). No entanto, a presença de agrotóxicos de intenso uso atual também vem sendo estudada, incluindo estudos de diferentes sorventes que podem ser utilizados para amostragem desses compostos em fase gasosa ou particulada (COSCOLLÀ *et al.*, 2009; COSCOLLÀ *et al.*, 2011; SANJUÁN-HERRÁEZ *et al.*, 2011; RAINA *et al.*, 2010; BAILEY & BELZER, 2007; SANTOS *et al.*, 2009).

Considerando a importância das análises de resíduos de agrotóxicos em amostras ambientais, principalmente em ar atmosférico, para o entendimento do risco causado por essas substâncias à saúde humana, bem como possibilitar a implantação de metodologias para prevenção e/ou correção de eventuais contaminações, os objetivos desse trabalho foram: (i) desenvolvimento e validação de um procedimento de análise de agrotóxicos em ar ambiente baseado em amostragem ativa utilizando um dispositivo *home-made*, não disponível

comercialmente e determinação por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas em Série (GC-MS/MS); (ii) demonstrar a aplicabilidade do método proposto na determinação de resíduos de agrotóxicos e compostos relacionados no ar coletado em empresa de armazenamento e comercialização destes compostos e em laboratório de análise de resíduos de agrotóxicos.

Esse estudo torna-se relevante devido à existência de poucos trabalhos científicos sobre o uso de dispositivos simples para amostragem de ar atmosférico e determinação por GC-MS/MS. Além disso, o método proposto é diferenciado por utilizar pequena quantidade de sorvente para amostragem dos analitos e conseqüentemente pequena quantidade de solvente para eluição, além da possibilidade de reutilização do sorvente. O método proposto poderá contribuir no monitoramento de resíduos, podendo atender uma demanda crescente de análise de agrotóxicos em ar atmosférico, principalmente em locais de armazenamento ou manipulação destes produtos onde o contato com estes compostos é frequente.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1. Poluição atmosférica

Os transtornos relacionados à poluição do ar não são recentes, sendo que, já nos primórdios da história, os vulcões eram responsáveis pelo lançamento de poluentes na atmosfera. Além disso, o mau cheiro dos resíduos gerados por animais, vegetais e humanos era uma das razões das tribos nômades mudarem-se periodicamente. Com o início do uso do fogo, as tribos humanas o utilizaram, durante anos, de maneira que alteravam a qualidade do ar no interior do local onde viviam, respirando os produtos da combustão (CAVALCANTI, 2010; APTI, 2003).

Segundo CAVALCANTI (2010), a partir dos anos 60 despertou na sociedade a consciência ambiental, resultando, em diversos países do mundo, estudos e articulações com o objetivo de criar regulamentos e organizações institucionais dedicados às causas ambientais. Mas é principalmente na década de 90 que surge na sociedade a preocupação com a poluição do ar em termos de destruição da camada de ozônio e aumento das emissões de gases do efeito estufa.

A Lei nº6.938, de 31 de agosto de 1981, conceitua poluição como sendo:

A degradação da qualidade ambiental resultante de atividades que direta ou indiretamente: a) prejudiquem a saúde, a segurança e o bem-estar da população; b) criem condições adversas às atividades sociais e econômicas; c) afetem desfavoravelmente a biota; d) afetem as condições estéticas ou sanitárias do meio ambiente; e e) lancem matérias ou energia em desacordo com os padrões ambientais estabelecidos (BRASIL, 1981).

Atualmente, os processos industriais e de geração de energia, os veículos automotores e as queimadas são, dentre as atividades humanas, as maiores causas da poluição do ar, muitas delas tóxicas à saúde da população e responsáveis por danos à flora. A poluição atmosférica pode afetar bens materiais (corrosão), a qualidade do solo, água e ar (chuvas ácidas) e prejudicar a saúde (PORTAL BRASIL, 2013).

As fontes que provocam a poluição do ar podem ser divididas em três principais: as fixas, que são as indústrias e aterros, por exemplo; fontes móveis, que

têm origem em meios de transporte em geral e fontes como a agricultura, queimadas e o desmatamento (PORTAL BRASIL, 2013).

Com o objetivo de controlar a qualidade do ar no país, foi criado, em 1989, o Programa Nacional de Controle de Qualidade do Ar (Pronar) através da Resolução CONAMA nº 003, que surge como um instrumento para proteção da saúde e bem estar das populações, bem como a melhoria da qualidade de vida. Dentre outros objetivos, o Programa visa uma melhoria na qualidade do ar; o atendimento aos padrões estabelecidos e o não comprometimento da qualidade do ar em áreas consideradas não degradadas (CONAMA, 1989). Como complemento a esta resolução, em 1990, a Resolução CONAMA nº 005, de 28 de junho de 1990 passou a estabelecer alguns Padrões de Qualidade do Ar (CONAMA, 1990).

Em 2009, o Governo Federal traz a reflexão sobre as necessidades e desafios atuais, que visem a proteção da qualidade do ar e da saúde ambiental no Brasil, como parte integrante de um Plano Nacional de Qualidade do Ar (PNQA) a ser concebido de forma coletiva, com os Estados, as demais instituições relacionadas ao tema e a sociedade. Os objetivos estratégicos do PNQA são: reduzir as concentrações de contaminantes na atmosfera, assegurando a melhoria da qualidade ambiental e a proteção à saúde; integrar políticas públicas e instrumentos que se complementem nas ações de planejamento territorial, setorial e de fomento, e na aplicação de mecanismos de comando e controle necessários ao alcance de metas de qualidade do ar temporalmente definidas; contribuir para a diminuição da emissão de gases do efeito estufa (PNQA, 2009).

Especificamente visando a qualidade do ar interior de ambientes climatizados artificialmente, em 2000 é lançada a Resolução ANVISA nº 176, atualizada em 2003, através da Resolução ANVISA nº 09 (ANVISA, 2000; ANVISA, 2003). As principais metas desta Resolução são: estabelecer critérios que informem a população sobre a qualidade do ar interior em ambientes climatizados artificialmente de uso público e coletivo, cujo desequilíbrio poderá causar agravos a saúde dos seus ocupantes e instrumentalizar as equipes profissionais envolvidas no controle de qualidade do ar interior, no planejamento, elaboração, análise e execução de projetos físicos e nas ações de inspeção de ambientes climatizados artificialmente de uso público e coletivo (ANVISA, 2000).

### 2.1.1 Poluente atmosférico

A Resolução CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente) nº005, de 28 de junho de 1990, define como poluente atmosférico:

Qualquer forma de matéria ou energia que, direta ou indiretamente, cause poluição com intensidade e em quantidade, concentração, tempo ou características em desacordo com os níveis estabelecidos, e que tornem ou possam tornar o ar: I) impróprio, nocivo ou ofensivo à saúde; II) inconveniente ao bem estar público; III) danoso aos materiais, à fauna e flora; IV) prejudicial ao uso e gozo da propriedade e às atividades normais da comunidade (CONAMA, 1990).

Segundo CAVALCANTI (2010), os poluentes causam prejuízo à composição química da atmosfera com as seguintes consequências: perigo ou prejuízo ao bem estar dos homens e dos animais; dano ao meio ambiente (natural, residencial ou área de trabalho), levando a efeitos sobre a sociedade que podem ou não ser expressos financeiramente ou que conduzam a deterioração do conforto, como a diminuição da visibilidade.

A variedade das substâncias que podem ser encontradas na atmosfera é muito grande, dificultando o estabelecimento de uma classificação. Devido a isso, com o objetivo de facilitar esta classificação, os poluentes são divididos em duas categorias: poluentes primários e poluentes secundários. Os poluentes primários são aqueles emitidos diretamente pelas fontes de emissão e os poluentes secundários são formados na atmosfera através de reações químicas entre poluentes primários e componentes naturais da atmosfera. É esta interação entre as fontes de poluição e a atmosfera que definem o nível de qualidade do ar, determinando, por sua vez, o aparecimento de efeitos adversos da poluição do ar sobre o homem, os animais, as plantas e os materiais (CETESB, 2013a).

### 2.1.2. Efeitos da poluição atmosférica

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), os perigos causados pela poluição do ar são muito mais abrangentes do que se acreditava há alguns anos atrás, destacando esta poluição como um dos “maiores perigos à saúde humana.”

Estima-se que ocorram 3,5 milhões de mortes todo ano pela poluição do ar doméstico e 3,3 milhões de mortes todo ano causadas pela poluição atmosférica (ONUBR, 2013).

A poluição atmosférica e seus impactos sobre a saúde e meio ambiente têm sido foco de vários estudos epidemiológicos realizados pela comunidade científica em vários países do mundo, inclusive no Brasil. Os resultados destes estudos têm demonstrado que, mesmo que a concentração de poluentes atmosféricos possa ser compatível com os padrões estabelecidos por normatizações, a exposição contínua a esses poluentes causa efeitos adversos sobre a saúde (CAVALCANTI, 2010).

Os efeitos da poluição do ar podem ser caracterizados, tanto pela alteração de condições consideradas normais, como pela potencialização de problemas já existentes. Em geral, estes efeitos podem ocorrer em nível local, regional e global e podem se manifestar na saúde, no bem estar da população, na fauna e na flora, sobre os materiais, sobre as propriedades da atmosfera, passando pela redução da visibilidade, chuva ácida, mudanças climáticas, aumento do efeito estufa, redução na camada de ozônio, etc. (CAVALCANTI, 2010).

Nos humanos os impactos da poluição podem atingir a pele, olhos, nariz ou o sistema respiratório, sendo este último um dos impactos mais graves dos poluentes. Os poluentes também podem ser transportados através do sangue para outras áreas do organismo. Além dos humanos, os poluentes podem ter o ambiente como receptor, o que inclui os animais e vegetais. Dessa maneira, esses poluentes se depositam no solo, nas plantas e na água, contribuindo para aumentar o espectro de exposição humana (CAVALCANTI, 2010; APTI, 2003).

A exposição humana à poluição do ar pode se manifestar através de efeitos agudos (curto intervalo de tempo) ou efeitos crônicos (exposição por longos períodos de tempo). Efeitos agudos à saúde são normalmente imediatos e reversíveis, incluindo irritação dos olhos, dor de cabeça e náuseas. Efeitos crônicos normalmente resultam em efeitos duradouros e irreversíveis e ocorrem depois de longos períodos de exposição, o que inclui diminuição da capacidade pulmonar, doenças do coração, câncer, entre outras complicações. Em casos mais críticos de exposição aguda o caso pode se agravar, ocorrendo complicações como diminuição da capacidade pulmonar, podendo levar à morte. Em casos mais dramáticos, a poluição do ar combinada com condições meteorológicas e topográficas específicas

da região produzem uma concentração mortal de poluentes atmosféricos (APTI, 2003).

## 2.2 Agrotóxicos

Além do termo agrotóxico, alguns autores também utilizam os termos pesticida, praguicida e defensivo agrícola para se referir a estes compostos, cujo conceito, histórico, classificação e toxicidade serão discutidos a seguir.

Os termos agrotóxicos, defensivos agrícolas, praguicidas, pesticidas e até biocidas são denominações dadas às substâncias químicas, naturais ou sintéticas, destinadas ao controle de pragas e doenças de plantas. A legislação brasileira, através do decreto n 4.074, de 04 de janeiro de 2002, o qual regulamenta a Lei nº 7.802, de 11 de Julho de 1989, conceitua agrotóxicos como:

Os produtos e agentes de processos físicos, químicos ou biológicos destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas nativas ou plantadas e de outros ecossistemas e também em ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora e da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos, bem como as substâncias e produtos empregados como desfolhantes, desseccantes, estimuladores e inibidores do crescimento (BRASIL, 2002).

No mesmo sentido, a FAO (do inglês, *Food and Agricultural Organization*), define agrotóxico como qualquer substância utilizada para prevenir, destruir ou controlar pragas, incluindo espécies de plantas ou animais que causem danos durante a produção, processamento, estocagem, transporte ou distribuição de alimentos e rações animais, incluindo substâncias para o controle de ectoparasitas. O termo inclui substâncias utilizadas como reguladores de crescimento para plantas, desfolhantes, desseccantes, agentes promotores de amadurecimento de frutos, inibidores de germinação e substâncias que são aplicadas aos grãos antes e depois da colheita para evitar a deterioração do alimento durante a estocagem e transporte. São excluídos desse conceito os fertilizantes, nutrientes animais e/ou vegetais, aditivos alimentares e medicamentos de uso veterinário (FAO, 2013).

De acordo com o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) (2013), agrotóxicos são produtos e agentes de processos físicos, químicos ou biológicos para uso no cultivo, armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, para alterar a composição da flora ou da fauna, a fim de preservá-las da ação de seres vivos nocivos.

Apesar das grandes vantagens do uso de agrotóxicos no controle de pragas e consequentemente no aumento da produção, os efeitos para o ambiente e para a saúde humana são preocupantes. O intenso avanço da agricultura significa que muitos compostos tóxicos estão entrando no ambiente e, devido ao seu uso intenso, estabilidade, toxicidade, bioacumulação, os agrotóxicos estão entre os compostos que mais contaminam o ambiente e mais tóxicos para os seres humanos (FENIK *et al.*, 2011). E se o cenário atual já é bastante preocupante, do ponto de vista da saúde pública, deve-se considerar que as perspectivas são de agravamento dos problemas nos próximos anos (CARNEIRO *et al.*, 2012).

Segundo análise de amostras coletadas no Brasil e realizadas pelo Programa de Análise de Resíduos de Agrotóxicos em Alimentos (PARA) da ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), um terço dos alimentos consumidos periodicamente pelos brasileiros está contaminado por agrotóxicos. Apesar de alguns dos ingredientes ativos serem classificados como medianamente ou pouco tóxicos, é preciso considerar seus efeitos crônicos que podem ocorrer meses, anos ou décadas após a exposição, desenvolvendo doenças como câncer, malformação congênita, distúrbios endócrinos, neurológicos e mentais (CARNEIRO *et al.*, 2012).

### 2.2.1 Histórico do uso de agrotóxicos

Desde o início de seu desenvolvimento, a produção agrícola está diretamente relacionada com a aplicação de substâncias para controlar as pragas, que atacam os produtos agrícolas, prejudicando as colheitas. O uso de produtos químicos no controle de pragas data do período clássico da Grécia e Roma, sendo que o registro mais antigo de uso de agrotóxicos é atribuído aos sumérios que, em 2500 a. C., utilizavam enxofre no combate aos insetos. Mais tarde, os romanos alteraram um pouco a fórmula adicionando óleo ao enxofre utilizado. No ano 79 da Era Cristã, foi

sugerido o uso do arsênio como inseticida, o qual foi utilizado pelos chineses no século XIV (BARBOSA, 2004).

A utilização dos agrotóxicos na agricultura inicia-se na década de 1920, quando ainda eram pouco conhecidos do ponto de vista toxicológico. Um fato marcante foi seu uso na Segunda Guerra Mundial como arma química, tendo seu uso se expandido enormemente com o passar dos anos (OPAS, 1996).

Após o término da segunda Guerra, algumas substâncias já conhecidas no mundo científico e usadas durante a Guerra pelas suas propriedades inseticidas, passaram a ser empregadas na agricultura. Foi o que ocorreu com o composto DDT (Dicloro-difenil-tricloroetano), que passou a ser um dos mais importantes produtos para a lavoura (LARA & BATISTA, 2002).

Segundo LARA & BATISTA (1992), as culturas do café e algodão foram os principais motivos da introdução de inseticidas sintéticos no Brasil e a demanda por esses produtos levou ao surgimento da indústria brasileira de formulações, em 1948. No entanto, no Brasil, os agrotóxicos foram primeiramente utilizados em programas de saúde pública, no controle de parasitas, passando a ser utilizados mais intensivamente na agricultura a partir da década de 1960 (OPAS, 1996).

A década de 70, no Brasil, foi de grande expansão do uso e da produção de agrotóxicos, devido aos intensos incentivos para a produção agrícola. Nesta fase a elevação do custo da mão-de-obra no setor agrícola e o êxodo rural incentivaram o controle químico na eliminação das plantas daninhas e os herbicidas passaram a ser cada vez mais empregados (LARA & BATISTA, 1992).

Atualmente, a produção agrícola brasileira está cada vez mais dependente dos agrotóxicos e fertilizantes químicos. Conforme estudos da ANVISA e do Observatório da Indústria dos Agrotóxicos da Universidade Federal do Paraná, divulgados no 2º Seminário sobre Mercado de Agrotóxicos e Regulação, em Brasília (DF), em 2012, enquanto, nos últimos dez anos, o mercado mundial de agrotóxicos cresceu 93%, o mercado brasileiro cresceu 190% (CARNEIRO *et al.*, 2012).

### 2.2.2 Classificações dos agrotóxicos

Os agrotóxicos podem ser classificados de acordo com a finalidade do uso (herbicida, inseticida, fungicida, acaricida entre outros), modo de ação (sistêmicos ou

de contato), formulação (pó, granulado, suspensão), estrutura química (organofosforados, organoclorados, piretróides, etc.), de acordo com suas propriedades físico-químicas, toxicidade, entre outras (BARBOSA, 2004).

De acordo com a composição química, apesar dos agrotóxicos possuírem uma enorme diversidade estrutural, muitos apresentam alguma característica em comum, sendo assim, são classificados em um mesmo grupo. Os grupos mais conhecidos são os chamados organofosforados, organoclorados, carbamatos e piretróides. Estes nomes estão relacionados com as características estruturais dos compostos, ou seja, com os elementos químicos presentes em sua composição, além da maneira como tais elementos estão ligados entre si (BARBOSA, 2004).

**Organoclorados:** De acordo com a estrutura molecular, possuem como característica principal a presença do elemento cloro, além de hidrogênio e carbono. Todos os compostos pertencentes a esta classe possuem baixa solubilidade em água e são bastante solúveis em óleos e gorduras, facilitando o seu acúmulo nos tecidos gordurosos (BARBOSA, 2004). Devido a essas propriedades, o uso destes compostos vem sendo progressivamente restringido.

**Organofosforados:** Surgiram como substitutos dos agrotóxicos do grupo dos organoclorados, pois os insetos já estavam apresentando resistências aos clorados. Quanto à sua estrutura molecular, são ésteres, amidas ou derivados tioldos ácidos de fósforo. Apresentam curta persistência no solo, pois são compostos biodegradáveis (JOKANOVIC, 2001).

**Carbamatos:** São agrotóxicos orgânicos derivados do ácido carbâmico e podem ser inseticidas, herbicidas ou fungicidas. Na sua grande maioria, são compostos instáveis. Os principais fatores que influenciam a degradação destes compostos são: umidade, temperatura e luminosidade (BARBOSA, 2004).

**Piretróides:** São compostos análogos às substâncias naturais piretrinas extraídas do crisântemo. Os piretróides sintéticos têm boa estabilidade sob a luz e a temperatura ambiente. Seu largo espectro de atividade, atuação contra a maioria dos grupos de pragas, ação rápida, baixa dosagem requerida e baixo risco para os usuários quando comparado a outros inseticidas resultou no sucesso comercial desse grupo. Degradam-se por hidrólise e oxidação, sendo caracterizados também pela rápida degradação por micro-organismos do ambiente (BARBOSA, 2004).

### 2.2.3 Toxicidade dos agrotóxicos

Uma característica normalmente utilizada para avaliar a toxicidade aguda dos agrotóxicos e outras substâncias químicas é a Dose Letal 50% (DL<sub>50</sub>), que é definida como a quantidade (dose única) da substância necessária para matar 50% dos animais testados nas condições experimentais utilizadas. Esta medida varia muito com o tipo de composto. Nesse sentido, os agrotóxicos são agrupados em quatro classes toxicológicas, de acordo com a DL<sub>50</sub>, conforme demonstrado na Tabela 1, de acordo com a Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA, do inglês *Environmental Protection Agency*) (BARBOSA, 2004).

Tabela 1 – Classes toxicológicas dos agrotóxicos.

Indicador de periculosidade	Classe toxicológica			
	I	II	III	IV
DL <sub>50</sub> oral*	0-50	50-500	500-5000	>5000
DL <sub>50</sub> inalação*	0-0,2	0,2-2	2-20	>20
DL <sub>50</sub> dérmica*	0-200	200-2000	2000-20000	>20000

\*DL 50: Dosagem letal para 50% dos organismos. Unidade: mg kg<sup>-1</sup>.

Fonte: BARBOSA, 2004.

A identificação dos rótulos desses produtos é feita através de faixas coloridas, de acordo com características toxicológicas. Assim, os rótulos dos produtos da classe I possuem uma faixa vermelha, os quais são extremamente tóxicos. Os compostos pertencentes à classe II, identificados por uma faixa amarela são altamente tóxicos; já os da classe III são representados por uma faixa azul e são considerados mediamente tóxicos e os da classe IV representados pela cor verde são pouco tóxicos (BARBOSA, 2004).

### 2.3 Dinâmica dos agrotóxicos na atmosfera

Segundo CAVALCANTI (2010), a concentração de um poluente no ar é resultado de processos complexos, que compreendem não só a emissão pelas fontes, como também suas interações físicas e químicas na atmosfera. É essa interação entre as fontes de poluição e as condições atmosféricas que define a qualidade do ar em uma localidade ou região. Normalmente, a própria atmosfera consegue dispersar os poluentes, misturando-os, com eficiência, a um grande volume de ar, contribuindo para que a poluição fique em níveis aceitáveis.

De uma forma geral, a aplicação dos agrotóxicos dá-se por pulverização aérea ou terrestre, podendo ser manual ou mecânica. Segundo KOSIKOWSKA & BIZIUK (2010), durante a aplicação, cerca de 30 a 50% da quantidade aplicada pode ser perdida para a atmosfera. Já segundo Van den BERG *et al.* (1999) esta percentagem perdida normalmente é de 50 a 60%. Por outro lado, SCHUMMER *et al.* (2010) informam que esta quantidade perdida pode ser acima de 90%, dependendo da tecnologia utilizada durante a aplicação.

Segundo Van JAARSVELD & Van PUL (1999) e DOBSON *et al.* (2006), os dois principais mecanismos pelos quais os agrotóxicos podem alcançar a atmosfera é volatilização ou perda durante a aplicação e volatilização após a aplicação (pela vaporização de compostos presentes no solo, ou nas superfícies de vegetais, principalmente). A taxa e a extensão de emissão durante a aplicação, predominantemente por meio de pulverização, dependem, primeiramente, do método de aplicação (equipamentos e técnicas utilizadas), formulação e das condições ambientais. Por outro lado, a emissão após aplicação, depende, em primeiro lugar, das propriedades dos agrotóxicos, em seguida depende das características do solo, da cultura, da quantidade utilizada e também das condições ambientais (Van den BERG *et al.*, 1999).

A porção de agrotóxicos que é perdida na forma de pequenas gotas que se movem do local de aplicação é carregada pelo vento e pode se depositar em locais próximos ao local de aplicação ou então em locais mais distantes a favor do vento. Durante o transporte aéreo destas pequenas gotas, o diâmetro das mesmas pode diminuir por meio da evaporação do solvente da formulação e/ou do próprio agrotóxico, e quando o diâmetro é suficientemente pequeno, as gotas ou partículas passam a apresentar um potencial de transporte muito maior. Com seus tamanhos

reduzidos, evaporam muito mais rapidamente e o composto evaporado pode ser transportado por longas distâncias. Nota-se que esta perda do composto durante a aplicação é largamente dependente do método de aplicação, das propriedades da formulação, do solvente utilizado para diluição e das condições ambientais (Van den BERG *et al.*, 1999).

Nota-se que devido à possibilidade de ocorrência desse transporte para áreas distantes do local de aplicação, como zonas urbanas, problemas de poluição atmosférica por agrotóxicos não ficam localizados somente em regiões agrícolas (DOBSON *et al.*, 2006). Segundo Van JAARSVELD & Van PUL (1999), o transporte de agrotóxicos no ambiente pode ocorrer em escala local e escala regional. O transporte em escala local costuma demorar apenas alguns minutos à uma hora para ocorrer, enquanto que a dispersão em escala regional pode demorar algumas horas até alguns dias.

Imediatamente após a aplicação, os agrotóxicos estão presentes no ar na forma gasosa, em partículas sólidas ou dissolvidas em vapor de água, o que afeta o transporte e o destino dos agrotóxicos na atmosfera (KOSIKOWSKA & BIZIUK, 2010; DOBSON *et al.*, 2006). Na sequência, os agrotóxicos podem penetrar nas partículas do solo, podendo resultar em diferentes fenômenos, como transporte pela água, penetração mais profunda no solo ou transporte através do vento, onde pequenas partículas de terra que contém os agrotóxicos podem ser carregadas por longas distâncias. Por meio do escoamento superficial e lixiviação, podem atingir os recursos hídricos superficiais e subterrâneos, respectivamente. Embora os agrotóxicos presentes no solo possam sofrer diferentes fenômenos, como descrito, a intensidade desses processos é baixa, prevalecendo ainda a volatilização como o principal fator contribuinte para a entrada de agrotóxicos na atmosfera (DOBSON *et al.*, 2006). Além disso, os agrotóxicos aplicados podem ser transformados em seus produtos de degradação, que, em alguns casos, podem ser mais tóxicos que o produto original (Van den BERG *et al.*, 1999).

Um episódio que relata bem a possibilidade de perda e/ou volatilização de agrotóxicos durante a aplicação, nesse caso, aliado ao despreparo e descuido dos responsáveis, ocorreu no sudoeste de Goiás, em março de 2013, quando 37 pessoas, entre alunos e professores ficaram intoxicadas após um avião agrícola sobrevoar uma escola pública, na manhã do dia 03 de março. A aeronave estava realizando o trabalho de combate às pragas em uma lavoura de milho utilizando um

composto comercial que é a combinação do moderno inseticida piretróide lambda-cialotrina com o potente inseticida neonicotinóide tiametoxam, pertencentes à classe toxicológica III (mediamente tóxicos). O contato com este composto causou nos alunos e educadores sintomas como tontura, dores de cabeça, vômito, formigamento nos braços e coceira (ANVISA, 2013; SYNGENTA, 2013).

A Figura 1 apresenta esquematicamente os principais processos que atuam na movimentação e na degradação de agrotóxicos no ambiente, como lixiviação, volatilização, transporte à longa distância, biodegradação, entre outros.



Figura 1 – Principais rotas de transporte e degradação de agrotóxicos no ambiente. Adaptado de JARDIM *et al.* (2009).

## 2.4 Padrões de qualidade do ar

Em 1989, o Programa Nacional de Controle de Qualidade do Ar (Pronar) foi implementado através da Resolução CONAMA nº 003, com o objetivo de controlar a qualidade do ar no país (CONAMA, 1989). Como complemento a esta resolução, em

1990, a Resolução CONAMA n° 005, de 28 de junho de 1990 passou a estabelecer alguns Padrões de Qualidade do Ar (CONAMA, 1990). Esses padrões nacionais foram estabelecidos pelo IBAMA (Instituto Brasileiro de Meio Ambiente) e aprovados pelo CONAMA.

Como a variedade das substâncias que podem ser encontradas na atmosfera é muito grande, no Brasil ainda não existem regulamentações que tratam especificamente sobre limites de resíduos de agrotóxicos no ar, sendo que a Resolução CONAMA n° 005, de 28 de junho de 1990 estabelece padrões de qualidade para partículas totais em suspensão, fumaça, partículas inaláveis, dióxido de enxofre, monóxido de carbono, ozônio e dióxido de nitrogênio. Esta resolução estabelece dois tipos de padrões de qualidade do ar: os primários e os secundários. Os padrões primários são as concentrações de poluentes que, ultrapassadas, poderão afetar a saúde da população. Podem ser entendidos como níveis máximos toleráveis de concentração de poluentes atmosféricos. Padrões secundários de qualidade do ar são as concentrações de poluentes atmosféricos abaixo das quais se prevê o mínimo efeito adverso sobre o bem estar da população, assim como o mínimo dano à fauna e à flora, aos materiais e ao meio ambiente em geral. Podem ser entendidos como níveis desejados de concentração de poluentes.

Segundo CETESB (2013b), o objetivo do estabelecimento de padrões secundários é criar uma base para uma política de prevenção da degradação da qualidade do ar. Devem ser aplicados para áreas de preservação, por exemplo, parques nacionais, áreas de proteção ambiental, estâncias turísticas, etc. Não se aplicam a áreas de desenvolvimento, onde devem ser aplicados os padrões primários.

Segundo a Resolução CONAMA n° 005, de 28 de junho de 1990, entre outros parâmetros, ficam estabelecidos os seguintes Padrões de Qualidade do Ar:

I - Partículas Totais em Suspensão

a) Padrão Primário - concentração média de 24 h de  $240 \mu\text{g m}^{-3}$ , que não deve ser excedida mais de uma vez por ano.

b) Padrão Secundário - concentração média de 24 h de  $150 \mu\text{g m}^{-3}$ , que não deve ser excedida mais de uma vez por ano.

II - Fumaça

a) Padrão Primário - concentração média de 24 h de  $150 \mu\text{g m}^{-3}$ , que não deve ser excedida mais de uma vez por ano.

b) Padrão Secundário - concentração média de 24 h de  $100 \mu\text{g m}^{-3}$ , que não deve ser excedida mais de uma vez por ano.

### III - Partículas Inaláveis

a) Padrão Primário e Secundário - concentração média de 24 h de  $150 \mu\text{g m}^{-3}$ , que não deve ser excedida mais de uma vez por ano.

Além destes, a resolução também estabelece padrões de qualidade para dióxido de enxofre, monóxido de carbono, ozônio e dióxido de nitrogênio.

A Resolução CONAMA nº 005 no seu artigo 5º estabelece também os chamados níveis de Atenção, Alerta e Emergência para os mesmos poluentes descritos acima, com o objetivo de prevenir grave e iminente risco à saúde da população.

A Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos (EPA, do inglês *Environmental Protection Agency*) através da chamada Lei do Ar Limpo também regulamenta os Padrões Nacionais de Qualidade do Ar Ambiental (NAAQS, do inglês *Nacional Ambient Air Quality Standards*) para poluentes considerados prejudiciais à saúde da população e ao ambiente. A Lei do Ar Limpo também identifica dois tipos de padrões de qualidade do ar ambiental: padrão primário e padrão secundário, assim como na Resolução CONAMA nº 005. A EPA fornece os Padrões Nacionais de Qualidade do Ar Ambiental para seis principais poluentes: monóxido de carbono, chumbo, dióxido de nitrogênio, ozônio, poluentes particulados e dióxido de enxofre, sendo os valores mais rígidos que os Padrões de Qualidade do Ar estabelecidos no Brasil (EPA, 2013).

Na União Européia, por sua vez, os padrões são fornecidos como “valores-limite” e “valores-alvo”. A diferença básica entre estes termos está no nível de exigência. Os valores-limite são de atendimento obrigatório a partir da data em que entram em vigor, já os valores-alvo devem ser atendidos na medida do possível até a data estipulada para atendimento. Os valores-alvo têm o caráter de metas, inexistindo penalidades caso não sejam atingidos no prazo de atendimento. Atualmente, são estabelecidos valores-limite para material particulado, dióxido de enxofre, dióxido de nitrogênio, monóxido de carbono, chumbo e benzeno. Valores-alvo foram definidos também para material particulado, ozônio, arsênio, cádmio, níquel e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (MMA, 2012).

## 2.5 Limites de exposição ocupacional

O estudo sobre segurança e saúde ocupacional busca a prevenção dos danos à saúde causados por contaminantes químicos presentes no ambiente de trabalho, fazendo com que os níveis desta exposição sejam mantidos em valores aceitáveis. Estes níveis são definidos por meio dos chamados Limites de Exposição (TLV, do inglês *Threshold Limit Value*) e são estabelecidos visando a não manifestação de efeitos adversos decorrentes da exposição química (PEDROZA *et al.*, 2011).

Atualmente esses valores são estabelecidos, principalmente, pela agência norte-americana *American Conference of Governmental Industrial Hygienists* (ACGIH), mas também podem ser encontrados em documentos fornecidos pela *Occupation Safety and Health Administration* (OSHA) e *Nacional Institute for Occupation Safety and Health* (NIOSH). Estes níveis publicados foram adequados pelo Ministério de Trabalho brasileiro e publicados por meio da Lei nº 6.514 de 22 de dezembro de 1977 e sua Norma Regulamentadora nº 15 (NR 15) (BRASIL, 1977; BRASIL, 1978). Além dessas organizações, também podemos incluir nesta lista a *Workers' Compensation Board* (*WorkSafeBC*), um Conselho canadense que possui autoridade para fazer algumas exceções e adotar alguns Limites de Exposição específicos (*WorkSafeBC*, 2013).

*Occupation Safety and Health Administration* (OSHA) é uma agência do Ministério do Trabalho dos Estados Unidos, oficialmente formada em 1971. A missão desta agência é garantir condições seguras de trabalho, através da criação e aplicação de normas e também oferecendo formação, sensibilização e assistência às empresas e trabalhadores. Ao longo de sua história vem desenvolvendo treinamentos, assistência ao cumprimento de diferentes legislações e programas de reconhecimento de saúde e segurança ocupacional (OSHA, 2013b).

O Instituto de treinamento da OSHA treina funcionários tanto do setor privado, quanto de setores governamentais. Além disso, emite regulamentações relacionadas à saúde e segurança em locais de trabalho, o que inclui limites de exposição, informações diversas ao trabalhador, informações sobre o uso de equipamentos de proteção e procedimentos seguros (OSHA, 2013b).

*Nacional Institute for Occupational Safety and Health* (NIOSH) é uma agência federal dos Estados Unidos responsável pela condução de pesquisas e elaboração

de recomendações para a prevenção de acidentes de trabalho e doenças. NIOSH faz parte do Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC, do inglês, *Centers for Disease Control and Prevention*) dentro do Departamento de Saúde e Serviços Humanos (CDC, 2013).

NIOSH tem três principais objetivos: I) Conduzir pesquisas para reduzir doenças e acidentes de trabalho; II) promover ambientes de trabalho seguros e saudáveis por meio de intervenções, recomendações e capacitação; III) melhorar a saúde e segurança no local de trabalho de forma global, através de colaborações internacionais. Além disso, a NIOSH deve também conduzir investigações para determinar a toxicidade de materiais usados em locais de trabalho (CDC, 2013).

A *American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH)* é uma instituição privada e sem fins lucrativos, cujos membros são higienistas ocupacionais ou outros profissionais da área de segurança e saúde ocupacional dedicados a promover a saúde e a segurança dentro do local de trabalho. Esta instituição conta com comitês que analisam e compilam dados publicados na literatura e elaboram guias de orientação para a utilização por higienistas ocupacionais na tomada de decisões em relação a níveis de exposição seguros de vários agentes químicos e físicos encontrados no local de trabalho. Esta associação, assim como a NIOSH, não possui força de lei, sendo a OSHA incumbida da regulamentação e fiscalização dos valores limites no ambiente laboral e pela emissão de normas de segurança (PEDROZA *et al.*, 2011).

Em geral, os Limites são fornecidos pela ACGIH, OSHA e NIOSH, no entanto, a *WorkSafeBC*, Conselho canadense, também possui a autoridade de fazer algumas exceções e fornecer alguns Limites de Exposição específicos para algumas substâncias químicas que podem não ser consistentes com os Limites estabelecidos pela ACGIH. A *WorkSafeBC* publica esses Limites de Exposição com o objetivo de fornecer informações e promover a consciência pública. Segundo afirmações do próprio conselho, as tabelas fornecidas não representam limites e designações oficiais, ou seja, não há garantia da plenitude das informações fornecidas em seus dados (*WorkSafeBC*, 2013).

O Brasil, assim como diversos outros países, adequou os limites de exposição ocupacional desenvolvidos por agências internacionais e os mesmos estão descritos na Lei nº 6.514 de 22 de dezembro de 1977 (BRASIL, 1977) e sua Norma Regulamentadora nº 15 (NR15) (BRASIL, 1978), definidos, neste caso, como Limites

de Tolerância. Esta legislação brasileira conta com 202 produtos químicos com limites estabelecidos, não incluindo agrotóxicos nesta lista.

No Brasil, podemos citar a Associação Brasileira de Higienistas Ocupacionais (ABHO) como a principal organização que busca a divulgação da higiene ocupacional no Brasil e o reconhecimento dos profissionais da área. A ABHO é uma associação sem fins lucrativos criada em 1994 que congrega pessoas físicas e jurídicas com interesses relacionados à Higiene Ocupacional (ABHO, 2013).

A ABHO (2013) define higiene ocupacional como a ciência e a arte dedicada ao estudo e ao gerenciamento das exposições ocupacionais aos agentes físicos, químicos e biológicos, por meio de ações de reconhecimento, avaliação e controle das condições dos locais de trabalho, visando à preservação da saúde e bem estar dos trabalhadores, considerando ainda o meio ambiente e a comunidade. No mesmo sentido, os higienistas ocupacionais são definidos como pessoas dedicadas à ciência e à arte da higiene ocupacional e que promovem a prevenção das doenças relacionadas ao trabalho por meio do reconhecimento, da avaliação e do controle de riscos nos locais de trabalho, tais como: ruídos, poeiras, vapores, gases, temperaturas extremas e radiações.

Os principais objetivos da ABHO são: I) promover e valorizar a higiene ocupacional e os higienistas ocupacionais no Brasil; II) promover a troca de informações e de experiências; III) promover a formação, a qualificação e o aperfeiçoamento profissional; IV) participar de ações relativas à política de atuação e normatização em higiene ocupacional; V) promover o intercâmbio com outras associações similares no país e no exterior.

Além disso, a ABHO tem os direitos reservados para tradução e publicação anual dos limites de tolerância emitidos pelas agências anteriormente citadas. No entanto, estes dados não são de livre acesso, e sim, publicados em livros comercializados (ABHO, 2013).

Os valores limites de exposição dos trabalhadores a uma determinada substância química são expressos em ppm ou  $\text{mg m}^{-3}$  e normalmente são representados pelo Limite de Tolerância Ponderado no Tempo (TWA, do inglês *Time-Weighted Average*), Limite de Curta Exposição (STEL, do inglês *Short-Term Exposure Limit*) ou Limite Teto (do inglês *ceiling*) (PEDROZA *et al.*, 2011; OSHA, 2013).

O Limite de Tolerância Ponderado no Tempo (TWA) é a exposição média permitida ao longo de um período de tempo especificado, normalmente 8 h (considerando jornada semanal de 40 h). Isso significa que, no período limitado, um trabalhador pode estar exposto a concentrações mais altas que a indicada, no entanto, a concentração média durante as 8 h não pode passar desse valor. No Brasil, o limite de tolerância teve este valor reajustado para uma jornada de trabalho de 48 h semanais (PEDROZA *et al.*, 2011; PORTAL ISEGNET, 2013).

O Limite de Curta Exposição (STEL) indica o limite a que um trabalhador pode ficar exposto durante 15 min, não podendo ultrapassar quatro exposições numa jornada diária, com intervalo de 60 min entre as exposições sucessivas (PEDROZA *et al.*, 2011; PORTAL ISEGNET, 2013).

O Limite Teto (*ceiling*) é o máximo de exposição que nunca pode ser excedido e é aplicado a agentes irritantes e outros materiais que têm efeitos imediatos (PEDROZA *et al.*, 2011; PORTAL ISEGNET, 2013).

## 2.6 Métodos de amostragem de agrotóxicos em ar atmosférico

Segundo MICHULEC *et al.* (2005), o ar pode ser considerado uma matriz ambiental de difícil amostragem, pois os poluentes geralmente estão presentes em baixas concentrações, por isso, sua detecção e quantificação requerem uma etapa de pré-concentração. Para a amostragem e análise, quantidade suficiente de contaminante deve ser coletada para encontrar limites de detecção e quantificação adequados. A qualidade da amostragem dependerá da concentração e tamanho das partículas, sendo que a quantidade amostrada tem relação direta com a taxa e duração da amostragem.

Os agrotóxicos podem ser amostrados e determinados separadamente nas fases gasosa e particulada. Os chamados PM<sub>10</sub> e PM<sub>2,5</sub> (frações de matéria particulada com diâmetro aerodinâmico menor que 10 e 2,5 µm, respectivamente, do inglês *Particulate Matter*) foram escolhidos entre as partículas suspensas totais como indicadores de poluição ambiental por razões de saúde, pois, neste caso, as pequenas partículas estão aptas a entrar nos pulmões, afetando a saúde e a vida dos seres humanos (COSCOLLÀ *et al.*, 2009).

A coleta de ar requer um sistema pelo qual gases ou partículas são fixados em uma superfície, o que geralmente inclui bomba de vácuo, reguladores de vazão e dispositivos para coleta, como cartuchos ou tubos de vidro preenchidos com sorvente sólido, por exemplo (MICHULEC *et al.*, 2005). Além disso, devido às baixas concentrações de agrotóxicos em ar, técnicas de pré-concentração e extração apropriadas são requeridas (YUSÀ *et al.*, 2009).

A escolha do método de amostragem e de determinação de agrotóxicos no ar depende de diferentes fatores, como o composto a ser analisado, sua pressão de vapor, ponto de ebulição, polaridade, estabilidade térmica e concentração deste no ar. Os principais agrotóxicos podem ser classificados como Compostos Orgânicos Voláteis (VOCs, do inglês *Volatile Organic Compound*), Compostos Orgânicos Semi-voláteis (SVOCs, do inglês *Semi-Volatile Organic Compounds*) ou ainda Compostos Orgânicos Não Voláteis (NVOCs, do inglês *Non-Volatile Organic Compounds*) e os principais métodos de coleta utilizados envolvem adsorção em meio sólido, absorção em solvente e os métodos por reação química (MICHULEC *et al.*, 2005).

A Figura 2 mostra um esquema geral de procedimento para determinação de agrotóxicos em ar em fase particulada e em fase gasosa.

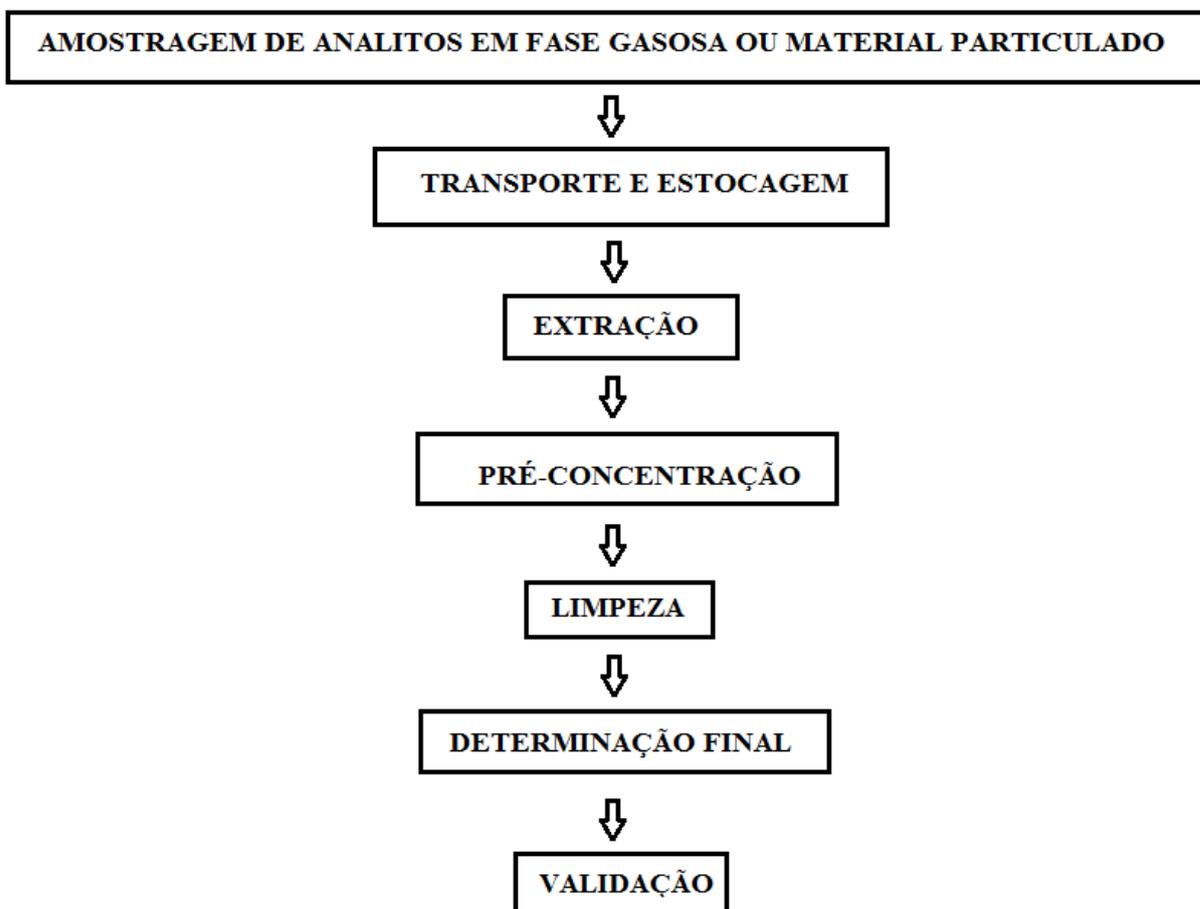


Figura 2: Esquema geral de procedimento para determinação de agrotóxicos em ar. Adaptado de KOSIKOWSKA & BIZIUK (2010).

Na coleta por absorção em solvente, o ar é borbulhado por meio de uma bomba, através de um volume de solvente em um recipiente, onde o analito ficará dissolvido. Neste método de coleta, as bolhas de ar têm de ser as menores possíveis para maximizar a dissolução do analito no solvente. Além disso, o solvente utilizado deverá ter ponto de ebulição alto para evitar perdas por evaporação. Este é um método bastante simples que permite a coleta de grandes volumes de ar, sendo que uma alíquota desta solução é injetada diretamente no cromatógrafo, frequentemente sem nenhuma outra etapa de extração ou concentração (MICHULEC *et al.*, 2005).

Outra maneira de amostragem é por meio de uma reação específica, na qual a amostra passa através do tubo empacotado com um determinado sorvente, o qual

tem a superfície revestida por reagente. Esse reagente, em contato com analitos específicos formam um derivado facilmente analisado ou mais estável que o composto original (MICHULEC *et al.*, 2005).

No entanto, os métodos mais utilizados para amostragem de agrotóxicos no ar envolvem adsorção em sorventes sólidos e/ou filtros, com o auxílio de equipamentos de coleta de ar baseados em amostragem ativa (GAGOULIA *et al.*, 2012; FREIXO *et al.*, 2013) ou passiva (WANIA *et al.*, 2003; SANJUÁN-HERRÁEZ *et al.*, 2011) e posterior extração dos analitos adsorvidos e identificação e quantificação por Cromatografia Gasosa, acoplada a detectores clássicos e Espectrômetro de Massas e, mais recentemente, devido a maior polaridade e baixa estabilidade térmica da nova geração de agrotóxicos, cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massas (ALEGRIA *et al.*, 2006; YUSÀ *et al.*, 2009; RAINA *et al.*, 2010, COSCOLLÀ *et al.*, 2009, COSCOLLÀ *et al.*, 2011; COSCOLLÀ, 2013).

#### 2.6.1 Amostragem por adsorção em sorventes sólidos ou filtros

Para amostragem e determinação de agrotóxicos em ar na fase gasosa ou particulada, diferentes tipos de filtros e adsorventes podem ser utilizados. Os contaminantes em fase particulada são amostrados utilizando filtros de fibra de vidro de diferentes diâmetros (30 cm, 10 cm, 90 mm, 25 mm) ou filtros de quartzo (102 e 150 mm de diâmetro). Para amostragem de analitos em fase gasosa, diferentes sorventes são utilizados, como por exemplo, XAD-2, XAD-4, *carbotrap*, tenax TA, sílica gel, espuma de poliuretano (PUF, do inglês *polyurethane foam*), geralmente utilizada em colchões e travesseiros. Esses sólidos são depositados sobre filtros ou em aço inoxidável ou ainda tubos ou cartuchos de vidro e podem ser utilizados individualmente, combinados um ao outro, ou ainda, entre duas camadas de espuma de poliuretano (PUF) (KOSIKOWSKA & BIZIUK, 2010; SANJUÁN-HERRÁEZ *et al.*, 2011, SANTOS *et al.*, 2009).

Segundo KOSIKOWSKA & BIZIUK (2010), cada conjunto de aparatos utilizado deve ser preparado de forma apropriada. Inicialmente, filtros e resinas devem ser limpos, o que pode ser realizado em um aparelho Soxhlet com um solvente ou uma mistura de solventes adequados, ou de acordo com instruções do fabricante. O próximo passo é a secagem em dessecador e estocagem em frascos

de polietileno. O material também pode ser aquecido a altas temperaturas para eliminar compostos orgânicos e depois de resfriados são estocados em sacos de polietileno ou alumínio. A coleta deve então ser efetuada de forma que seja representativa, e em seguida, os filtros são embalados em sacos limpos de polietileno, e as resinas são colocadas em garrafas ou frascos de vidro de tampa de teflon e estocadas ao abrigo da luz e em baixas temperaturas, geralmente -18 °C. O aparato para amostragem de ar pode realizar esta amostragem de maneira ativa ou passiva. Um amostrador ativo faz uso de uma bomba de vácuo, que força a passagem de ar pelo dispositivo, enquanto que o amostrador passivo atua sem o auxílio da bomba de sucção, portanto, deve ser preparado com um material com alta capacidade de retenção dos analitos de interesse.

## 2.6.2 Amostragem ativa e passiva

Os amostradores ativos são baseados na extração em fase sólida de agrotóxicos presentes nas fases gasosa e particulada do ar pela passagem forçada de ar por filtros e/ou adsorventes com auxílio de uma bomba de sucção. Os agrotóxicos presentes na fase particulada são retidos no filtro, e os presentes na fase gasosa, pelo adsorvente. Os amostradores ativos podem ser de grande e pequeno volume, o que vai depender da bomba de sucção empregada. O tipo de amostrador a ser utilizado, assim como o volume total de ar amostrado, o adsorvente utilizado, tempo e temperatura de amostragem, a umidade relativa do ar no momento da amostragem estão diretamente relacionados com os objetivos do estudo e a sensibilidade do método (SANJUÁN-HERRÁEZ *et al.*, 2011, SANTOS *et al.*, 2009, MICHULEC *et al.*, 2005; KOSIKOWSKA & BIZIUK, 2010).

Normalmente amostradores de grande volume são recomendados para pré-concentração de agrotóxicos em ambientes abertos, pois a concentração dos mesmos é mais baixa nestes ambientes, devido ao efeito de diluição e transporte pelo vento. Sendo assim, apesar dos amostradores de pequeno volume também serem utilizados em locais abertos, em razão do pequeno volume de ar amostrado, estão sendo utilizados, principalmente, em estudos de exposição ocupacional (SANTOS *et al.*, 2009; SANJUÁN-HERRÁEZ *et al.*, 2011; MICHULEC *et al.*, 2005; KOSIKOWSKA & BIZIUK, 2010).

Muitas vezes, o custo das bombas e a frequente necessidade de calibração dos medidores de vazão tornam as coletas mais difíceis por meio de amostrador ativo. Dessa maneira, para coleta de amostras sem custos com bomba e medidores de vazão, um amostrador que não necessita de energia é requerido (WANG *et al.*, 2009).

Amostradores de ar passivos, universais e baratos (chamados PAS, do inglês *Passive Air Samplers*), têm sido desenvolvidos como uma alternativa em lugar as técnicas dinâmicas de amostragem (KOSIKOWSKA & BIZIUK, 2010). São instrumentos que coletam os agrotóxicos da atmosfera sem necessidade de uso de uma bomba de sucção. Para isso, precisam ser constituídos de um material com alta capacidade de retenção dos analitos de interesse (SANTOS *et al.*, 2009). O sorvente irá remover o agrotóxico da atmosfera até que um equilíbrio entre a fase gasosa da atmosfera e o meio de coleta seja atingido. Com isto, tornam-se possíveis duas estratégias de amostragem passiva. Se o equilíbrio foi atingido, a concentração do ar pode ser obtida da quantidade do analito no sorvente e da sua capacidade de adsorção, em função do intervalo de amostragem utilizado. Por outro lado, se o equilíbrio não for atingido é possível determinar a concentração no ar a partir da quantidade do analito no sorvente e da cinética de adsorção deste analito (WANIA *et al.*, 2003).

Esse tipo de dispositivo permite a amostragem de ar em locais onde o uso de amostradores ativos por longos períodos não seria possível, como em locais remotos com ausência de fornecimento de energia, além de serem mais simples, de baixo custo e não necessitar pessoal qualificado para sua aplicação. Nesse caso, a duração das amostragens varia entre semanas e meses, período muito maior do que o necessário quando são utilizados os amostradores ativos. Um dos maiores desafios dos amostradores passivos é estimar a concentração dos analitos no ar a partir das concentrações encontradas no material coletor contido no amostrador, por isso, os amostradores ativos são considerados mais confiáveis. (WANIA *et al.*, 2003; HARNER *et al.*, 2006).

Técnicas de amostragem passiva normalmente utilizam dispositivos de membrana semipermeável (SPMDs, do inglês *Semi-Permeable Membrane Devices*) (SANJUÁN-HERRÁEZ *et al.*, 2011) discos de espuma de poliuretano ou resinas como meios de amostragem. Em particular, discos de PUF são colocados em recipientes de aço inoxidável coberto com tampa em forma de cúpula para reduzir a

influência do vento na taxa de amostragem, sendo também utilizadas para proteger os discos de PUF de precipitações, deposição direta de material particulado e radiações ultravioletas (KOSIKOWSKA & BIZIUK, 2010).

### 2.6.3 Principais sorventes utilizados e suas propriedades

Uma ampla variedade de resinas adsorventes é disponibilizada por diferentes fabricantes e fornecedores. Para a escolha do adsorvente ideal para uma aplicação específica, o usuário deve ter conhecimento do analito e das propriedades físicas das resinas adsorventes disponíveis (SISWEB, 2013).

Os principais sorventes utilizados para amostragem de analitos em fase gasosa são XAD (fornecido nas formas XAD-2, XAD-3, XAD-4, XAD-7, entre outros), *carbotrap*, tenax TA e espuma de poliuretano. Esses adsorventes normalmente são depositados sobre filtros ou em aço inoxidável ou ainda tubos ou cartuchos de vidro e podem ser utilizados individualmente, combinando dois ou mais tipos, ou ainda, entre duas camadas de espuma de poliuretano (PUF) (KOSIKOWSKA & BIZIUK, 2010; SANJUÁN-HERRÁEZ *et al.*, 2011, SANTOS *et al.*, 2009). Misturas de adsorventes são utilizadas principalmente quando os analitos alvo apresentam diferentes propriedades, nesses casos, é importante que no momento do empacotamento destas múltiplas resinas, a mistura entre as resinas seja a menor possível, ou seja, é importante que estas permaneçam em camadas bem separadas. Uma maneira para evitar essa mistura é colocar um pequeno pedaço de algodão de vidro silanizado entre cada camada de resina (SISWEB, 2013b).

A resina XAD é um dos adsorventes mais utilizados, sendo indicado por dois métodos considerados oficiais, elaborados pela OSHA e NIOSH (NMAM, 2013; OSHA, 2013c). Apresenta grande área superficial e alta eficiência para um grande grupo de compostos, além de ser facilmente reconstituída e poder ser reutilizada várias vezes (SANTOS *et al.*, 2009; KOSIKOWSKA & BIZIUK, 2010). O que difere os tipos de resinas XAD fornecidas é a área superficial e porosidade. Por exemplo, a área superficial do XAD-2 é em média  $300 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ , XAD-4  $750 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ , XAD-7  $450 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$  e XAD-16  $900 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$  (RAINA & HALL, 2010).

A resina XAD é um adsorvente polimérico especificamente formado por copolímeros de poliestireno e divinilbenzeno (poliaromáticos hidrofóbicos), fornecida

normalmente com tamanhos de partículas de 20-60 *mesh* (ver Anexo III – Escala *mesh* para definição do tamanho de partículas do adsorvente) na forma de sólido branco a amarelado, com densidade de  $1,02 \text{ g mL}^{-1}$  na forma úmida (como é comercializada). É caracterizada por sua ampla distribuição do tamanho dos poros e grande área superficial. Além disso, tem boa durabilidade e é estável até temperaturas de  $200 \text{ }^\circ\text{C}$ . Cada pérola que forma a resina consiste de um aglomerado de muitas microesferas. A maioria das resinas XAD são apolares, sendo que apenas a resina XAD-7 é encontrada como moderadamente polar, por ter éster acrílico em sua estrutura. No processo de adsorção, as porções hidrofóbicas da molécula são preferencialmente adsorvidas na superfície hidrofóbica de poliestireno das resinas. Os compostos retidos não penetram substancialmente dentro das microesferas, mas permanecem adsorvidas em sua superfície (SIGMA-ALDRICH, 2013<sup>a</sup>; SIGMA-ALDRICH, 2013<sup>b</sup>; DOBSON *et al.*, 2006).

Com eluição apropriada ou técnicas de regeneração, os compostos adsorvidos nas resinas XAD podem ser rapidamente eluídos, devido à alta taxa de difusão do solvente de eluição através da estrutura porosa de cada pérola. Para a maioria das resinas, um solvente adequado eluirá efetivamente os materiais adsorvidos. O solvente deverá ser selecionado de modo que solubilize os materiais adsorvidos e interaja com a superfície da amostra. Metanol, isopropanol e acetona geralmente são bons solventes de eluição. Como o processo de eluição reativa a superfície do adsorvente, este processo é muitas vezes chamado de regeneração. Inchaços podem ocorrer durante operações com adsorventes macroreticulares, particularmente quando solventes apolares são utilizados para condicionamento e eluição. Aplicações comerciais para XAD incluem remoção de antibióticos, nitrogênios orgânicos e vários compostos aromáticos. Em alguns casos, também é utilizada em procedimentos analíticos sensíveis para detectar identificar e quantificar agrotóxicos, hidrocarbonetos poliaromáticos e outros compostos orgânicos no ambiente e também para detectar narcóticos em sangue ou urina e para concentrar compostos orgânicos para análises posteriores por cromatografia ou outros métodos. É recomendado condicionamento destas resinas antes de seu uso para remover traços de compostos residuais. Normalmente a passagem de água irá remover os agentes preservativos e então metanol pode ser usado para remover a água. Se outros solventes orgânicos serão utilizados no processo de eluição, a

resina também deverá ser condicionada com estes materiais (SIGMA-ALDRICH, 2013<sup>a</sup>; SIGMA-ALDRICH, 2013b).

A resina Tenax TA denominada quimicamente como poli (óxido de 2,6-difenilfenileno) é um polímero poroso com baixa área superficial, em média  $35 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$  e alto custo, no entanto, possui a vantagem de ter baixa afinidade por água e é estável até uma temperatura de  $350 \text{ }^\circ\text{C}$ . (RAINA & HALL, 2010). O tamanho médio dos poros desta resina é de  $200 \text{ nm}$  e é fornecida normalmente com tamanhos de partícula de  $60\text{-}100 \text{ mesh}$  na forma de sólido branco insolúvel com densidade de  $0,25 \text{ g mL}^{-1}$ . Sua estrutura fornece a possibilidade de adsorção e dessorção alternadas e adequadas em comparação a outros polímeros. Tenax TA é um material com baixo nível de impurezas e, devido à sua baixa afinidade pela água, é especialmente útil para amostragem de compostos orgânicos voláteis e semi-voláteis do ar, água e matrizes sólidas, podendo ser aplicado tanto em colunas empacotadas quanto em *traps* para amostragem destes compostos. Normalmente utiliza-se entre 50 e 200 mg desta resina para amostragem. Dessa maneira, as principais áreas de aplicação desta resina são no aprisionamento de voláteis de água, de ar ambiental, da respiração humana, de fragrâncias e aromas de plantas e produtos comerciais, de voláteis do solo e no monitoramento da exposição ocupacional (SISWEB, 2013b).

Além do Tenax TA, também é disponibilizado o chamado Tenax GR, que consiste de Tenax TA e 30% de grafite. Essa mistura resulta em um material com baixa afinidade pela água, mantendo uma temperatura de estabilidade alta, em torno de  $350 \text{ }^\circ\text{C}$ , sendo utilizada na amostragem de compostos voláteis do ar, água e matrizes sólidas. Como a densidade do Tenax GR é três vezes a densidade do Tenax TA, permite que uma quantidade maior da resina Tenax GR seja colocada dentro do tubo, o que pode ser muito útil, em alguns casos, principalmente para compostos mais voláteis (SISWEB, 2013b). Assim como a grande maioria dos adsorventes, é recomendado que Tenax seja termicamente condicionado para remover algum componente residual, lembrando que a resina é estável até uma temperatura de  $350 \text{ }^\circ\text{C}$  (SISWEB, 2013b).

O sorvente *carbotrap* é formado por carbonos grafitizados com área superficial de  $100 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$ , densidade de  $0,38 \text{ g mL}^{-1}$  e temperatura limite de  $400 \text{ }^\circ\text{C}$  e afinidade pela água relativamente baixa (SISWEB, 2013b). É fornecido com diferentes tamanhos de partículas, sendo as maiores de  $20/40 \text{ mesh}$ , variando até  $40/60$ ,  $60/80$ ,  $80/100$ , etc. O *carbotrap*  $40/60$  é tipicamente utilizado em tubos de

diâmetros de 4 mm ou maiores, permitindo uma vazão adequada sem pressão excessiva. As partículas menores, 60/80 e 80/100, são tipicamente utilizadas para outras aplicações, como em tubos para extração em fase sólida, purificação, amostragem de ar em baixa vazão, etc. Em aplicações para monitoramento de ar, estes materiais podem ser utilizados para uma ampla variedade de compostos orgânicos (SIGMA-ALDRICH, 2013c).

O amostrador com espuma de poliuretano (PUF) padrão é formado por um filtro para coletar as partículas, seguido por um cartucho de vidro contendo a espuma de 7,6 cm para coletar a fração gasosa. Esta espuma apresenta baixo custo, fácil manuseio, mas possui limitações para compostos mais voláteis e de menor peso molecular (RAINA & HALL, 2010). PUF é formado por monômeros de uretano ou carbamato, que são ésteres do ácido carbâmico, portanto, esse material é mais polar que os demais adsorventes sólidos, o que poderia tornar esse material mais eficiente no trapeamento de muitos agrotóxicos. No entanto, isso não ocorre, pois a área superficial disponível desse material é muito menor que as demais resinas (DOBSON *et al.*, 2006).

## 2.7 Métodos de extração de analitos de sorventes sólidos e filtros

Na próxima etapa, após a amostragem, mas antes da determinação final, os analitos aprisionados nos sorventes ou filtros precisam ser extraídos. Esta etapa é fundamental em todo o processo analítico, pois o objetivo da extração é liberar a maior quantidade possível de analitos dos sorventes. As técnicas de extração podem utilizar ou não solventes para proceder a liberação dos analitos (KOSIKOWSKA & BIZIUK, 2010).

Dentre as técnicas que fazem uso de solvente para extração dos analitos, podemos citar a extração em dispositivo Soxhlet, extração com líquido pressurizado (PLE, do inglês *Pressurized Liquid Extraction*), extração líquida com agitação, extração com solvente assistida por ultrassom, extração com solvente assistida por micro-ondas (MAE, do inglês, *Microwave-assisted Solvent Extraction*) (KOSIKOWSKA & BIZIUK, 2010), entre outras. Diferentes solventes são utilizados nesta fase, como acetona (YOSHIDA, 2009; GAGOULIA *et al.*, 2012), acetato de etila (BAILEY & BELZER, 2007; RAINA & HALL, 2010; GAGOULIA *et al.*, 2012) e

metanol (WANIA *et al.*, 2003), por exemplo. Dentre as técnicas livres de solvente podemos citar a dessorção térmica, onde a execução de um procedimento com várias etapas é evitada, uma vez que o método permite automação do procedimento analítico (KOSIKOWSKA & BIZIUK, 2010).

## 2.8 Métodos oficiais para determinação de agrotóxicos em ar

Agências como OSHA e NIOSH têm alguns métodos analíticos para análise de agrotóxicos em ar considerados oficiais. A NIOSH descreve estes métodos no Manual de Métodos Analíticos (NMAM, do inglês *NIOSH Manual of Analytical Methods*). Este manual apresenta o Método 5602, um método oficial para análise dos seguintes herbicidas: alacloro; atrazina; cianazina; metolaclo; simazina; 2,4-D ácido; 2,4-D, 2-etilexil éster e 2,4-D, 2-butoxietil éster, onde o sorvente indicado para amostragem é XAD-2 na vazão de 0,2 a 1,0 L min<sup>-1</sup> e o volume mínimo de ar amostrado de 12 L e máximo de 480 L. Para amostragem é indicado o uso de tubos OVS (do inglês *OSHA Versatile Sampler Tubes*), disponíveis comercialmente, contendo uma camada de filtro de quartzo com duas camadas de sorvente XAD-2 (270/140 mg), podendo coletar analitos em fase gasosa ou particulada simultaneamente. A extração citada no método é realizada utilizando 2 mL da solução 10% metanol/90% éter-metil-terc-butílico com agitação por 1 h. A análise é realizada utilizando Cromatografia Gasosa com detecção por Captura de Elétrons (GC/ECD, do inglês, *Gas Chromatography/Electron Capture Detection*) (SKC, 2013; NMAM, 1998).

A OSHA, por sua vez, dentre os métodos considerados oficiais, descreve o Método 62, indicado para os seguintes agrotóxicos: clorpirifós, diclorvós, diazinona, malationa e parationa. Segundo este método, as amostras devem ser coletadas em tubos OVS, cada um contendo uma seção de filtro de fibra de vidro e duas seções de sorvente XAD-2 (270/140 mg). A eluição é então realizada com 2 mL de tolueno com agitação por 1 h. A análise é realizada utilizando cromatografia Gasosa com Detecção Fotométrica de Chama. A vazão de amostragem recomendada é de 1,0 L min<sup>-1</sup> e o volume de ar amostrado é de 60 L para malationa e 480 L para os demais compostos (OSHA, 2013c).

A Agência de Proteção Ambiental dos Estados Unidos, por sua vez, também descreve alguns métodos oficiais e, dentre eles, destaca-se o chamado Método TO-10/IP-8 indicado para alguns agrotóxicos e bifenilas policloradas. Dentre os agrotóxicos citados no método destaca-se alacloro, aldrin, atrazina, clorpirifós, diazinona, dieldrin, diclorvós, dicofol, mirex, parationa etílica, entre outros. A vazão indicada para amostragem é de 1 a 5 L min<sup>-1</sup>, com tempo de amostragem variando de 4 a 24 h, utilizando um cartucho contendo PUF ou PUF combinado com Tenax TA prensado na forma de “sanduíche”, ou seja 600 mg de Tenax TA prensado entre duas camadas de PUF. A eluição é realizada por extração Soxhlet com solução 5% éter etílico em hexano (volumes de 300 ou 500 mL) e a análise é realizada utilizando Cromatografia Gasosa com Detecção por Captura de Elétrons (EPA, 1999).

## 2.9 Determinação de agrotóxicos em ar atmosférico

De uma maneira geral, a aplicação dos agrotóxicos é realizada por pulverização, sendo que parte do que é aplicado pode ser perdido para a atmosfera. Neste sentido, a análise do ar é mais preocupante e complexa que a análise de amostras de água e solo, pois a concentração de agrotóxicos em ar pode ser muito menor, especialmente em áreas mais remotas (KOSIKOWSKA & BIZIUK, 2010).

Segundo SANTOS *et al.*, (2009), os poluentes orgânicos persistentes (POPs) são os compostos mais estudados na matriz ar, devido à elevada persistência e volatilidade destes compostos (HOLMQVIST *et al.*, 2006; HARNER *et al.*, 2006; WANIA *et al.*, 2006; LEPRI *et al.*, 1995; HUNG *et al.*, 2013). No entanto, a presença de agrotóxicos de intenso uso atual também vem sendo estudada nessa matriz (YOSHIDA, 2009; COSCOLLÀ *et al.*, 2013).

O procedimento de validação mais utilizado em matrizes como alimentos, solo e água é através do estudo de recuperação utilizando amostras fortificadas ou material de referência certificado, quando disponíveis (RIBANI *et al.*, 2004). No entanto, a validação de métodos para análise de agrotóxicos em ar ainda não é uma prática muito detalhada, de maneira que poucos estudos descrevem e apresentam dados sobre os parâmetros de validação utilizados (SANTOS *et al.*, 2009).

Para o desenvolvimento de um método analítico para determinação de agrotóxicos em ar atmosférico, inicialmente é necessário um dispositivo apropriado

para o aprisionamento destes compostos, sendo que os agrotóxicos presentes na fase particulada são retidos em filtros, e os presentes na fase gasosa, em adsorventes. No caso de amostragem de contaminantes em fase gasosa, métodos utilizando cartuchos (ou dispositivos semelhantes) preenchidos com PUF, tenax TA, *carbotrap* ou outras resinas sólidas são os mais utilizados. Em seguida, é necessária a escolha do melhor método de extração destes contaminantes, o que pode ser realizado utilizando extração com líquido pressurizado, extração assistida por micro-ondas, pela simples passagem de solvente, entre outras e, finalmente, a determinação dos agrotóxicos, geralmente realizada utilizando Cromatografia Gasosa.

O desenvolvimento do método analítico para amostragem de ar também está diretamente relacionado ao local de amostragem. Por exemplo, se a intenção é a determinação de contaminantes em ambientes “abertos” (*outdoor*), como em regiões agrícolas ou regiões mais remotas para estudo da possibilidade de transporte desses compostos, normalmente os trabalhos são realizados utilizando amostradores ativos de grande volume, pois a concentração, nesses casos, é extremamente baixa (DOBSON *et al.*, 2006; BAILEY & BELZER, 2007; RAINA & HALL, 2010; COSCOLLÀ *et al.*, 2013). Por outro lado, quando a intenção é amostragem e análise de contaminantes em ambientes “internos” (*indoor*), como em locais de armazenamento, fabricação ou manipulação de contaminantes, para verificação da exposição ocupacional, os autores utilizam tanto amostradores ativos de grande volume, quanto amostradores de pequeno volume, pois nesse caso, as concentrações dos contaminantes tendem a ser mais elevadas (LEONE *et al.*, 2000; GAGOULIA *et al.*, 2012). Além disso, em alguns casos, quando o uso de bombas de sucção torna-se difícil, o uso de amostradores passivos é desejado. Nesse caso, os dispositivos precisam ser constituídos de materiais com alta capacidade de retenção e, normalmente, são dispositivos maiores contendo maior quantidade desses materiais (WANIA *et al.*, 2003; SANJUÁN-HERRÁEZ *et al.*, 2011).

A maioria das publicações realizadas sobre amostragem e análise de contaminantes em ar está relacionada à determinação de contaminantes em ambientes abertos utilizando amostragem de grande volume. Dentre esses trabalhos, existem muitos estudos comparativos de diferentes adsorventes e filtros que podem ser utilizados, tanto em áreas de intensa atividade agrícola, quanto em áreas remotas. Amostragem e análise de ambientes internos com estudo da

exposição ocupacional são mais restritos, sendo que, um número mais reduzido de trabalhos vêm sendo publicado sobre o assunto.

BARRO *et al.* (2006) apresentaram um método para análise de 11 agrotóxicos piretróides e outros compostos usados como inseticidas domésticos em residências. A quantificação foi realizada utilizando Cromatografia Gasosa com micro Detecção por Captura de Elétrons (GC- $\mu$ ECD, do inglês *Gas Chromatography with microelectron-capture Detection*) e Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (GC-MS, do inglês *Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry*). A amostragem de ar foi realizada utilizando uma bomba de sucção na vazão  $100 \text{ L min}^{-1}$  e um tubo contendo 25 mg de sorvente Tenax TA. Os analitos foram extraídos utilizando apenas 1 mL de acetato de etila utilizando banho ultrassom por alguns minutos. Os autores verificaram a possibilidade de amostragem de  $1 \text{ m}^3$  de ar sem perda do analito. Os limites de detecção ficaram entre 1-10  $\text{ng m}^{-3}$ . No procedimento de validação do método, as fortificações foram realizadas diretamente no adsorvente e o método foi aplicado em salas contaminadas por estes compostos. As concentrações encontradas variaram entre  $3 \text{ ng m}^{-3}$  para aletrina e  $1651 \text{ ng m}^{-3}$  para tetrametrina.

BAILEY & BELZER (2007) desenvolveram um método para detecção de agrotóxicos em ar atmosférico usando injeção de alto volume por GC-MS, com o objetivo de detectar a presença destes agrotóxicos em concentrações abaixo de  $100 \text{ pg m}^{-3}$ . Para a coleta da fase gasosa foi utilizado cartucho contendo PUF/sorvente/PUF, consistindo de 7 g de Tenax TA e 7g de XAD-2 prensados entre 5,08 cm de PUF na saída e 2,54 cm de PUF na entrada. A extração foi realizada utilizando acetato de etila por meio de Extração com Líquido Pressurizado. O volume total de ar amostrado foi de  $2700 \text{ m}^3$ .

SANTOS *et al.*, (2009) apresentaram uma relação de diferentes estudos apresentados na literatura sobre determinação de diversas classes de agrotóxicos em ar, com descrição dos respectivos procedimentos de amostragem, adsorvente, procedimento de extração e de quantificação.

YUSÀ *et al.* (2009) também apresentaram uma lista de trabalhos apresentados na literatura de diversos procedimentos de amostragem ativa de agrotóxicos de ar ambiental, destacando a vazão e o tempo de amostragem e os tipos de adsorventes e/ou filtros utilizados. Nos trabalhos citados pelos autores os

tempos de coleta variam de 5,5 a 168 h e as vazões de amostragem variam de 0,35 a 42 m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup>.

COSCOLLÀ *et al.* (2009) analisaram 30 agrotóxicos em 54 amostras de ar atmosférico em fase particulada utilizando extração assistida por micro-ondas com injeção direta em Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massas em sequência (LC-MS/MS, do inglês *Chromatography coupled to Tandem Mass Spectrometry*). A extração foi realizada utilizando filtro de fibra de quartzo e o volume total amostrado foi de 760 m<sup>3</sup>, com amostragem em diferentes épocas do ano e a diferentes alturas do solo. Dezenove dos trinta agrotóxicos foram encontrados em pelo menos uma das amostras, com concentrações entre 6,5 e 1208 pg m<sup>-3</sup>.

Em outro trabalho, também fazendo uso da extração assistida por micro-ondas, COSCOLLÀ *et al.* (2011), determinaram 40 agrotóxicos em 38 amostras de ar em fase particulada, nesse caso utilizando Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas triplo quadrupolo. A amostragem seguiu o procedimento do trabalho anterior do autor. Dezoito dos quarenta compostos foram detectados em pelo menos uma das amostras, com concentrações variando entre 1,32 e 625,8 pg m<sup>-3</sup>. Segundo os autores, os 18 agrotóxicos encontrados apresentam valores variados de pressões de vapor, demonstrando que sua ocorrência no ar atmosférico depende não somente de sua volatilidade, mas também do tempo de meia vida atmosférica, das condições de aplicação dos compostos e das condições meteorológicas.

Como outra aplicação do método desenvolvido, COSCOLLÀ *et al.* (2013) pesquisaram 40 agrotóxicos em um total de 232 amostras de ar em fase particulada (PM<sub>10</sub>) com análise por LC-MS/MS. A amostragem foi realizada utilizando filtro de fibra de vidro com amostrador de grande volume. A vazão de amostragem foi de 30 m<sup>3</sup> L<sup>-1</sup> durante 24 h, totalizando um volume total de ar de aproximadamente 720 m<sup>3</sup>. Dos 40 agrotóxicos pesquisados, 17 foram encontrados em pelo menos uma das amostras em concentrações entre 7 e 141 pg m<sup>-3</sup>.

YOSHIDA (2009) desenvolveu um método analítico para determinação de 18 agrotóxicos piretróides em ar utilizados como repelentes em residências. Os agrotóxicos estudados foram aplicados na residência antes da amostragem de acordo com as instruções de uso. A amostragem foi realizada durante ou logo após a aplicação utilizando filtro de fibra de quartzo e discos de C18 com posterior extração com pequeno volume de acetona e análise por GC-MS (do inglês *Gas*

*Chromatography coupled to Mass Spectrometry*). Os piretróides foram coletados por 24 h usando bomba de sucção em uma vazão de  $3,0 \text{ L min}^{-1}$ , resultando em um volume total de ar de  $4,32 \text{ m}^3$ . Para eluição dos compostos foi utilizado 8 mL de acetona. A maioria dos agrotóxicos foram detectados em concentrações acima de  $1 \text{ ng m}^{-3}$ .

RAINA & HALL (2010) testaram diferentes sorventes sólidos para amostragem de ar atmosférico, como XAD-2, XAD-3, XAD-4, Tenax TA, Anasorb-747, Chromosorb 102, 108 e 750. Foram utilizados dois amostradores de grande volume diferentes. Um deles continha apenas 7,6 cm de PUF e o outro continha uma mistura de PUF e um sorvente sólido. O volume de ar atmosférico amostrado durante os 7 dias foi de aproximadamente  $3600 \text{ m}^3$ , com uma taxa de vazão de  $225 \text{ L min}^{-1}$ . Os autores concluíram que todos os sorventes testados são mais eficientes que a espuma de poliuretano (PUF) padrão de 7,6 cm, sendo que os sólidos mais eficientes foram XAD-2, XAD-3, Tenax TA e Chromosorb 108. Os testes foram realizados a campo por 1, 2, 4 e 7 dias, por mais de 12 meses consecutivos. O amostrador utilizado consistia de um filtro de microfibra de borossilicato de 102 mm de diâmetro seguido de um cartucho de vidro contendo PUF ou PUF/sorvente sólido/PUF na proporção 5,1cm/14g/2,5cm. O cartucho de vidro possuía 60 mm de diâmetro por 125 mm de comprimento com um suporte de aço inoxidável. A extração foi realizada com acetato de etila por meio de sistema de extração com solvente pressurizado.

Uma aplicação deste mesmo método foi realizada por RAINA *et al.* (2010) quando estudaram a ocorrência de 10 agrotóxicos organoclorados e seus produtos de degradação em 2 regiões agrícolas do Canadá. Segundo os autores este foi o primeiro estudo sobre as variações sazonais destes contaminantes, sendo que em alguns casos, os estudos foram realizados por mais de 1 ano. As amostragens foram testadas por 1, 2, 4 e 7 dias. Os agrotóxicos encontrados com maior frequência nas regiões estudadas foram clorpirifós, malationa e diazinona. Neste estudo novamente foi comprovada a maior eficiência de sorventes sólidos em comparação com espumas de poliuretano (PUF) e também que o sorvente Tenax TA está entre os sorventes mais eficientes para este tipo de aplicação.

SANJUÁN-HERRÁEZ *et al.* (2011) desenvolveram um dispositivo para amostragem de 20 agrotóxicos e 20 compostos orgânicos voláteis em ar em ambiente interno, baseado em uma membrana amostradora fixada com uma mistura

de carbono ativado e florisil. Essa membrana foi denominada VERAM (do inglês, *Versatile, Easy, Rapid, Atmospheric Monitors*), o que permitiu a amostragem por meio de um dispositivo bastante simples. Os dispositivos foram colocados 2 metros acima do chão para amostragem, permanecendo por 48 h em 4 pontos estratégicos. Os resultados obtidos com a membrana VERAM foram comparados com os resultados obtidos utilizando um dispositivo de membrana semipermeável (SPMD, do inglês *Semipermeable Membrane Device*), que consiste de um tubo de polietileno preenchido com trioleína. O método foi baseado em MAE e GC-MS e os resultados foram bastante semelhantes comparando as duas membranas utilizadas.

BORRÁS *et al.* (2011) desenvolveram um método para determinação de 16 agrotóxicos em fase gasosa e fase particulada no ar atmosférico. Neste trabalho, os autores compararam 2 tipos de filtros de amostragem (quartzo e fibra de vidro) para análise de contaminantes em fase particulada e 4 tipos de cartuchos (XAD-2, XAD-4, florisil e orbo-49P) para análise de contaminantes em fase gasosa. Na análise dos agrotóxicos em fase particulada, o filtro de fibra de vidro mostrou ser mais eficiente, e na análise dos compostos em fase gasosa, os sólidos XAD-2 e XAD-4 mostraram ser os mais eficientes. As taxas de amostragem testadas foram de 15 a 45 m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup> para analitos em fase particulada e de 0,5 a 3 L min<sup>-1</sup> na amostragem de gás. Os autores também testaram diferentes solventes na extração por ultrassom: isoctano, acetato de etila, diclorometano e metanol e mistura de acetona e hexano, demonstrando melhores resultados utilizando 10 mL de isoctano na extração. Na aplicação do método em campo, utilizou-se cartuchos contendo XAD-2 e XAD-4 em uma vazão de 1 L min<sup>-1</sup> por 24 h, sendo que o dispositivo foi localizado a 1 m do chão. A validação do método foi realizada utilizando um simulador atmosférico de grande volume, onde os agrotóxicos foram aquecidos até volatilização.

GAGOULIA *et al.* (2012) realizaram estudos para amostragem e determinação de difenilamina em ar coletado dentro de locais de armazenamento de maçãs. A difenilamina é amplamente utilizada no tratamento pós-colheita de maçãs, agindo como importante intermediário para a produção de antioxidantes, corantes e outros produtos, além de ser usado como regulador de crescimento de plantas. O objetivo do estudo foi desenvolver um método simples para a determinação confiável desse composto utilizando amostrador ativo e testando diferentes solventes para o traqueamento. Os amostradores foram colocados em alturas entre 1,5 e 1,8 metros do chão (próximo à zona de respiração dos trabalhadores) e os tempos de

amostragem testados foram de 30 a 70 min com vazões de amostragem de 1 a 2 L min<sup>-1</sup>. Para amostragem, cartuchos de SPE vazios de capacidade de 3 mL foram preenchidos com 250 mg dos sorventes testados (C-18, florisil, XAD-2 e XAD-4). Diferentes solventes e volumes destes foram testados e os melhores resultados foram alcançados utilizando 2 mL de acetona ou acetato de etila (resultados semelhantes para ambos), seguido de 20 min de agitação. Os autores verificaram que em todas as condições testadas as recuperações obtidas foram adequadas. A concentração máxima encontrada durante o estudo foi de 580 µg m<sup>-3</sup> e o Limite de Quantificação (LOQ, do inglês *60ompatív Quantification*) alcançado para o método foi de 2 µg m<sup>-3</sup> quando o volume de ar amostrado foi de 60 L.

FREIXO *et al.* (2013) avaliaram a eficiência da resina XAD-2 na amostragem dos agrotóxicos endossulfan alfa e beta de ar contaminado em laboratório. Para o estudo foi construída uma câmara de volatilização de vidro de 9,0 cm de altura e 7,0 cm de diâmetro, um cartucho de polipropileno com 5,5 cm de comprimento e orifício de entrada e saída medindo, respectivamente 1,0 cm e 0,5 cm de diâmetro e uma bomba de sucção. Os cartuchos foram empacotados em laboratório com 80 mg da resina XAD-2 na primeira seção e 40 mg na segunda seção. As recuperações ficaram entre 87 e 108% para endossulfan alfa e de 71 a 84% para endossulfan beta com RSD (%) menor que 19%. Os agrotóxicos não foram detectados na segunda seção, demonstrando a capacidade de retenção da resina XAD-2 para estes analitos. Os Limites de Quantificação do método foram de 0,32 e 0,34 µg m<sup>-3</sup> para endossulfan alfa e beta, respectivamente, com volume total de amostragem de 0,72 m<sup>3</sup>. A extração dos agrotóxicos foi realizada utilizando 2 mL da solução extratora hexano: acetato de etila 7:3 (v:v) e assistida por ultrassom durante 15 min.

## 2.10 Planejamento experimental

Normalmente, as variáveis experimentais são otimizadas através de procedimentos que consideram o efeito de apenas uma variável por vez (procedimento univariado), apresentando algumas desvantagens, como maior tempo gasto para otimização e a falta de avaliação com relação às interações entre as variáveis que afetam o processo em estudo (CUNICO *et al.*, 2008). Uma alternativa para evitar essas desvantagens é a realização de um planejamento experimental.

Segundo CUNICO *et al.* (2008), planejar experimentos é definir uma sequência de coletas de dados experimentais para atingir certos objetivos.

Atualmente existem vários tipos de softwares que efetuam os cálculos de planejamento experimental, no entanto, a grande maioria destes programas não é acessada gratuitamente e, muitas vezes, os resultados são bastante complexos para serem interpretados por um pesquisador sem boa experiência no assunto. Por outro lado, o uso de modelos de planilhas eletrônicas para cálculos de planejamento é mais prático no sentido da disposição e tratamento de dados e equações, proporcionando boa visualização dos resultados, fácil transferência de dados, gráficos e tabelas, sendo ótimas ferramentas para implementar e realizar diferentes tipos de cálculos relacionados a este assunto (TEÓFILO & FERREIRA, 2006).

Segundo BUTTON (2012), o planejamento experimental, também conhecido como delineamento experimental, corresponde a um conjunto de ensaios estabelecido com critérios científicos e estatísticos, com o intuito de determinar a influência de algumas variáveis (ou fatores) nos resultados de um determinado sistema ou processo. Segundo NETO *et al.*, (2010), um planejamento experimental consiste em projetar um experimento de forma que ele seja capaz de fornecer exatamente o tipo de informação que desejamos. Ainda segundo o autor, utilizando planejamentos experimentais os pesquisadores podem extrair do sistema em estudo o máximo de informações úteis, realizando o menor número possível de experimentos.

Um dos problemas mais comuns para quem realiza experimentos é determinar a influência de uma ou mais variáveis sobre outra variável de interesse, e conseqüentemente, sobre o resultado (NETO *et al.*, 2010), sendo que o objetivo principal do planejamento, segundo BUTTON (2012), consiste exatamente em determinar a influência dessas variáveis nos resultados. Este objetivo principal pode ser dividido em outros objetivos, de acordo com o propósito dos ensaios: (I) determinar quais variáveis são mais influentes nos resultados; (II) atribuir valores às variáveis influentes, deste modo, otimizando os resultados; (III) atribuir valores às variáveis influentes, minimizando a variabilidade dos resultados e (IV) atribuir valores às variáveis influentes minimizando a influência de variáveis incontroláveis. O autor também descreve alguns benefícios normalmente alcançados com a realização do planejamento: (I) definição das variáveis que influenciam no processo com redução do número de ensaios; (II) estudo simultâneo de diversas variáveis; (III)

determinação da confiabilidade dos resultados; (IV) possibilidade da realização dos experimentos em etapas, num processo de acréscimo de novos ensaios e (V) representação do processo por meio de expressões matemáticas (BUTTON, 2012).

Inicialmente é necessário definir as variáveis que são possíveis de serem estudadas e que provavelmente irão interferir no sistema para, em seguida, avaliar a metodologia experimental a ser adotada, de acordo com custos, tempo, materiais disponíveis, etc. As variáveis não selecionadas devem ser fixadas durante todo o experimento (TEÓFILO & FERREIRA, 2006). Segundo NETO *et al.* (2010) antes de iniciar o planejamento experimental, além das variáveis, também é necessário definir como serão expressas as respostas de interesse. As respostas são definidas pelos autores como as variáveis de saída do sistema e poderão ou não ser afetadas pelas modificações provocadas pelas variáveis. Definidas as variáveis e as respostas, o próximo passo é definir qual o objetivo que pretendemos alcançar com os experimentos, para em seguida escolher o modelo de planejamento mais adequado (NETO *et al.*, 2010).

Dentre os diferentes tipos de planejamento experimental, destaca-se o planejamento fatorial quando se deseja estudar os efeitos de duas ou mais variáveis de influência simultaneamente. No planejamento fatorial todas as possíveis combinações dos níveis de cada variável são investigadas e quando o efeito de uma variável depende do nível das outras variáveis, considera-se que há interação entre elas (BUTTON, 2012).

O planejamento fatorial envolve  $k$  variáveis, sendo que cada uma destas variáveis está presente em níveis diferentes. O caso mais simples ocorre quando cada variável  $k$  está presente em apenas dois níveis (denominado experimento fatorial  $2^k$ ). Quando realizado um experimento com  $k$  variáveis em dois níveis, são feitas  $2 \times 2 \times \dots \times 2$  ( $k$  vezes) (NEVES *et al.*, 2002). Por exemplo, se em um planejamento forem escolhidos 2 diferentes níveis para 3 fatores ( $2^3$ ), o número de experimentos diferentes a serem realizados será 8; para 2 diferentes níveis com 4 variáveis ( $2^4$ ), o número de experimentos será de 16 e assim por diante (CUNICO *et al.*, 2008).

No planejamento fatorial cada possível combinação dos níveis dos fatores precisa ser testada para se determinar o quanto o experimento em estudo é afetado por cada variável. O número de experimentos aumenta geometricamente com o

aumento do número de variáveis, de modo que este método não é usualmente prático quando são utilizadas acima de quatro variáveis (NEVES *et al.*, 2002).

Quando o número de variáveis é quatro ( $2^4$ ), avalia-se a interação entre quatro variáveis, totalizando 16 ensaios, pois são dois diferentes níveis para quatro variáveis. Além dos 16 ensaios, muitas vezes se faz necessária a realização de repetições de alguns ensaios para se ter uma estimativa de erros. Para isso, podem ser incluídos em qualquer planejamento fatorial alguns experimentos no centro do planejamento, normalmente em triplicata (TEÓFILO & FERREIRA, 2006; CUNICO *et al.*, 2008). Assim, o planejamento experimental  $2^4$  consiste de 16 ensaios com as quantidades projetadas, podendo ser acrescentados mais 3 ensaios de repetição do ponto central e ainda outros 8 de extrapolações das quantidades, totalizando 27 ensaios. Realizando ensaios em triplicata será possível determinar o erro experimental, sendo que a extensão desse erro é importante para decidirmos se existem ou não efeitos significativos que possamos atribuir à ação dos fatores (NETO *et al.*, 2010).

De forma geral, os níveis das variáveis quantitativas (por exemplo, temperatura, concentração de uma substância, valores de pH e massa de determinado reagente) são representados pelos sinais “-“ para o nível mais baixo e “+” para o nível mais alto. Para variáveis qualitativas (por exemplo, tipos de ácidos, tipos de catalisadores, tipo de adsorvente e solvente de eluição), como não existem valores altos ou baixos, fica a critério do analista nomear os níveis escolhidos (TEÓFILO & FERREIRA, 2006; NETO *et al.*, 2010).

Um exemplo de planejamento fatorial  $2^4$  sem repetições é dado na Tabela 2 (NETO *et al.*, 2010). Utilizando este tipo de planejamento, através das planilhas de dados, é possível calcular, além da média global dos efeitos, outros quinze: quatro efeitos principais, seis interações de dois fatores, quatro interações de três fatores e uma interação de quatro fatores (NETO *et al.*, 2010). CUNICO *et al.* (2008) conceituam efeito como a mudança ocorrida na resposta quando se muda do nível baixo (-) para o nível alto (+).

$$\text{Efeito} = R_+ - R_- \qquad \text{Equação (1)}$$

sendo

$R_+$  = média dos valores de resposta obtidos com valores altos (+) do fator

R. = média dos valores de resposta obtidos com valores baixo (-) do fator

Tabela 2 – Matriz de planejamento para planejamento fatorial  $2^4$  no estudo da influência de fatores no rendimento de uma reação.

<b>Fatores</b>		<b>(-)</b>	<b>(+)</b>
1	Temperatura (°C)	40	60
2	Catalisador (tipo)	A	B
3	Concentração (M)	1,0	1,5
4	pH	7,0	6,0

<b>Resposta: Rendimento (%)</b>				
<b>Ensaio</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
1	-	-	-	-
2	+	-	-	-
3	-	+	-	-
4	+	+	-	-
5	-	-	+	-
6	+	-	+	-
7	-	+	+	-
8	+	+	+	-
9	-	-	-	+
10	+	-	-	+
11	-	+	-	+
12	+	+	-	+
13	-	-	+	+
14	+	-	+	+
15	-	+	+	+
16	+	+	+	+

Para obter os sinais algébricos que irão ilustrar os efeitos de interação de 2ª ordem e de ordem superior entre todas as variáveis do planejamento, é preciso multiplicar, elemento a elemento, as colunas da matriz de planejamento. Primeiro devem ser multiplicadas duas a duas, depois três a três, e por final, o produto de

todas as quatro colunas. Desta maneira, a partir das planilhas de dados, é possível construir as colunas de sinais para todas as interações e, assim, elaborar a chamada matriz de coeficientes de contraste (TEÓFILO & FERREIRA, 2006; NETO *et al.*, 2010). A Tabela 3 demonstra os coeficientes de contraste de um planejamento  $2^4$ .

Partindo desta matriz (coeficientes de contraste), as planilhas de dados fornecem os efeitos para cada variável ou para a combinação das variáveis, que por sua vez, pode ser convertido em gráficos que apresentam a significância de cada efeito bem como a sua interação com outro(s), facilitando assim a determinação de quais variáveis são realmente significativas e de maior relevância no experimento (NETO *et al.*, 2010).

Tabela 3 – Matriz de coeficientes de contraste de planejamento fatorial  $2^4$ .

Exp.	1	2	3	4	12	13	14	23	24	34	123	124	134	234	1234
1	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+
2	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
3	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-
4	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+
5	-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	+	-
6	+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	+	+
7	-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+
8	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-
9	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-
10	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+
11	-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+
12	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-
13	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+
14	+	-	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-
15	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-
16	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Ferramentas como esta, baseadas no uso de modelos de planilhas eletrônicas para cálculos de planejamento, vêm ganhando mais espaço a cada dia, pois, de maneira geral, permitem verificar as interações entre as variáveis estudadas, promovendo a redução dos custos, diminuição de resíduos gerados e também melhor interpretação dos resultados (FACCO, 2013). No entanto, cabe ressaltar que no decorrer do processo as justificativas devem sempre ser

fundamentadas em argumentos técnicos relacionados ao processo em estudo (CUNICO *et al.*, 2008).

## 2.11 Métodos cromatográficos para determinação de resíduos de agrotóxicos

As concentrações de diversos agrotóxicos presentes em matrizes ambientais, como ar, água e solo, são extremamente baixas, o que torna necessário o uso de métodos analíticos com sensibilidade, seletividade, exatidão e precisão adequadas para quantificação desses contaminantes nessas matrizes. Nesse sentido, as técnicas cromatográficas estão entre as principais técnicas de separação, especialmente na análise de substâncias presentes em matrizes complexas, tais como fluidos biológicos, produtos naturais, sedimentos, poluentes de rios e outras (DONATO, 2012).

A Cromatografia Gasosa é uma técnica de separação com um ótimo poder de resolução, baseada na distribuição de substâncias da amostra entre uma fase estacionária e uma fase móvel (um gás), sendo esta aplicada à análise de compostos voláteis ou volatilizáveis, que sejam termicamente estáveis. Na cromatografia de gás-líquido, a fase estacionária é um líquido pouco volátil, espalhado ou imobilizado a um suporte sólido ou às paredes das colunas capilares e a separação baseia-se em mecanismos de partição das substâncias entre a fase líquida e a fase gasosa. Na cromatografia gás-sólido, a fase estacionária é um sólido com uma grande área superficial e a separação baseia-se em mecanismos de adsorção das substâncias nesse sólido (COLLINS *et al.*, 2006).

A Cromatografia Gasosa pode ser acoplada a diferentes sistemas de detecção clássicos, como por exemplo, Detecção por Condutividade Térmica (TCD, do inglês *Thermal Conductivity Detection*); Detecção por Ionização em Chama (FID, do inglês *Flame Ionization Detection*); Detecção por Captura de Elétrons (ECD, do inglês *Electron Capture Detection*) e Detecção de Nitrogênio e Fósforo (NPD, do inglês *Nitrogen Phosphorus Detection*). No entanto, atualmente muitos estudos baseiam-se no acoplamento de um cromatógrafo com Espectrometria de Massas (MS, do inglês *Mass Spectrometry*), o que traz diversas vantagens ao analista.

### 2.11.1 Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas

A cromatografia permite a identificação e/ou quantificação de alguns ou até mesmo todos os compostos que formam uma mistura. A identificação é alcançada com base nos tempos de retenção dos compostos (ou seja, por comparação), o que não é suficiente para permitir a identificação inequívoca dos analitos, pois há possibilidade de mais de um composto possuir o mesmo tempo de retenção, principalmente em análise de muitos compostos em uma matriz bastante complexa. Informações mais precisas normalmente requerem o uso de uma técnica auxiliar, a Espectrometria de Massas (ARDREY, 2003).

O acoplamento de um cromatógrafo com Espectrometria de Massas une as principais vantagens da cromatografia (seletividade e eficiência de separação) com as vantagens mais importantes da espectrometria de massas (possibilidade de obtenção de informação estrutural, massa molar e aumento adicional da seletividade, podendo distinguir entre diferentes substâncias com o mesmo tempo de retenção) (HARRIS, 2008; VÉKEY, 2001). Este acoplamento é relativamente simples, não havendo muitas limitações, tanto com relação ao cromatógrafo gasoso quanto com relação ao espectrômetro de massas, principalmente quando se utiliza colunas capilares (VÉKEY, 2001).

A Espectrometria de Massas é baseada na ionização de compostos orgânicos ou inorgânicos e posterior separação de acordo com a razão entre suas massas e suas cargas elétricas  $m/z$  (massa/carga), seguida da detecção desta  $m/z$  (HARRIS, 2008), sendo que a ionização pode ocorrer por diferentes processos. Um espectrômetro de massas é formado por um sistema de injeção da amostra; uma fonte de íons, um analisador/separador de massas e um detector. A Figura 3 demonstra um esquema geral de um Espectrômetro de Massas.

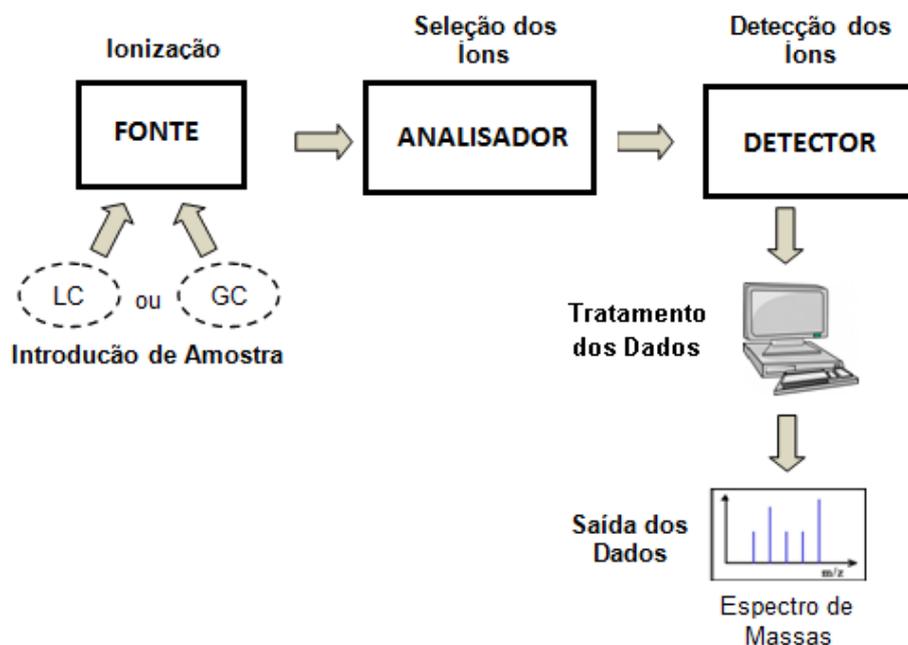


Figura 3 – Esquema da composição de um Espectrômetro de Massas. Adaptado de LANÇAS (2009).

A formação de íons é uma etapa fundamental em qualquer aplicação da Espectrometria de Massas. Independente do analisador empregado, a análise de massas precisa da formação de íons, sendo que uma das maneiras mais antigas de se converter moléculas neutras em íons é através da colisão com elétrons (BENASSI, 2009). Em GC-MS, os métodos de ionização empregados são Ionização por Elétrons, também conhecida por Ionização por Impacto de Elétrons (EI, do inglês *Electron Ionization*) e Ionização Química (CI, do inglês *Chemical Ionization*) (CHIARADIA *et al.*, 2008). Segundo BENASSI (2009), a técnica EI foi uma das primeiras fontes de ionização desenvolvidas e é a mais confiável atualmente, pois fornece um baixo espalhamento de energia e um feixe de elétrons ionizantes bem estável.

Na Ionização por Impacto de Elétrons (EI), um filamento aquecido (comparável a uma lâmpada incandescente) emite elétrons que são acelerados por um potencial de 70 eV. Na sequência, esses elétrons interagem com as moléculas do analito que chegam à fonte de íons, de maneira que algumas moléculas M do analito absorvem energia suficiente para ocorrer a seguinte ionização (HARRIS, 2008):



Figura 4 – Ionização por Impacto de Elétrons. Adaptado de HARRIS (2008).

A Figura 4 ilustra a perda de um elétron, resultando em um cátion com um elétron desemparelhado, representado por  $M^{+\bullet}$  (íon molecular). Após a ionização, o íon  $M^{+\bullet}$  normalmente possui energia residual interna suficiente para se fragmentar. Em seguida, aplica-se um pequeno potencial para deslocar os íons até o tubo analisador. A interação com um elétron de 70 eV de energia provavelmente removerá o elétron com a menor energia de ionização. Como o íon molecular resultante,  $M^{+\bullet}$ , se rompe em fragmentos, o pico correspondente do íon  $M^{+\bullet}$  será pequeno ou inexistente no espectro de massas. A energia de 70 eV é normalmente utilizada pois produz padrões de fragmentação reprodutíveis, que podem ser comparados com espectros provenientes do banco de dados (HARRIS, 2008).

Sendo assim, pode-se perceber que as principais vantagens do modo de ionização EI é a formação de um feixe de elétrons ionizantes bem estável e o grande número de fragmentos característicos que são gerados. Além disso, como o feixe de elétrons é energeticamente homogêneo, a ionização do tipo EI é compatível com qualquer analisador de massas, podendo ser usada sem precisar focalizar ou selecionar a velocidade dos íons produzidos (BENASSI, 2009). Por outro lado, pelo fato da fragmentação em EI ser bastante rápida, pode conduzir a não observação do íon molecular no espectro, perdendo-se uma informação importante (HARRIS, 2008; VÉKEY, 2001).

A Ionização Química (CI) é uma técnica que produz menos fragmentação que a Ionização por Elétrons e ao mesmo tempo aumenta a produção do íon molecular. Para ocorrer a ionização química, as moléculas do analito, em fase gasosa, são introduzidas na câmara de ionização do espectrômetro de massas, que contém um gás reagente (também chamado gás reativo), como metano, isobutano ou amônia. Esta mistura (moléculas do analito + gás reagente) é bombardeada com elétrons, assim como ocorre na EI, e a ionização ocorre. No entanto, como o gás reagente está em excesso em relação ao analito (normalmente em proporção maior que 1000:1), ele é ionizado quase que exclusivamente e passam a ocorrer reações entre

os íons em fase gasosa do gás reagente e as moléculas neutras do analito, promovendo a ionização do analito. Por este processo ser relativamente de baixa energia, quase não é observada fragmentação (ARDREY, 2003, HARRIS, 2008).

### 2.11.2 Analisadores de massas

Os analisadores de massas separam os íons de acordo com a relação existente entre suas massas e cargas, ou seja, a razão  $m/z$ . Atualmente existem diferentes analisadores que podem ser usados em espectrometria de massas, cada um com suas vantagens e desvantagens. A escolha do mais apropriado deve ser efetuada considerando-se a aplicação, desempenho (resolução) bem como o custo (ARDREY, 2003). Segundo VÉKEY (2001), a diferença mais importante entre os espectrômetros de massas é o tipo de analisador utilizado, sendo característica fundamental do instrumento, além disso, não pode ser modificado. Alguns exemplos são: quadrupolo, triplo quadrupolo, *íon trap*, tempo de voo e quadrupolo-tempo de voo.

O analisador do tipo quadrupolo é o analisador mais utilizado em espectrometria de massas em decorrência de sua simplicidade e baixo custo quando comparado a outros analisadores. Consiste de quatro hastes metálicas, dispostas em pares, conectadas eletricamente, conforme Figura 5. Uma combinação de corrente contínua (DC) e radiofrequência (Rf) alternante é aplicada nas barras. Ajustando-se apropriadamente as voltagens (DC e Rf), uma trajetória estável é criada para que os íons de certa razão  $m/z$  passem através do analisador e sejam detectados e os demais, com trajetórias instáveis, atingirão as barras ou serão eliminados pela bomba de vácuo (ARDREY, 2003, CORILO, 2009; HARRIS, 2008).

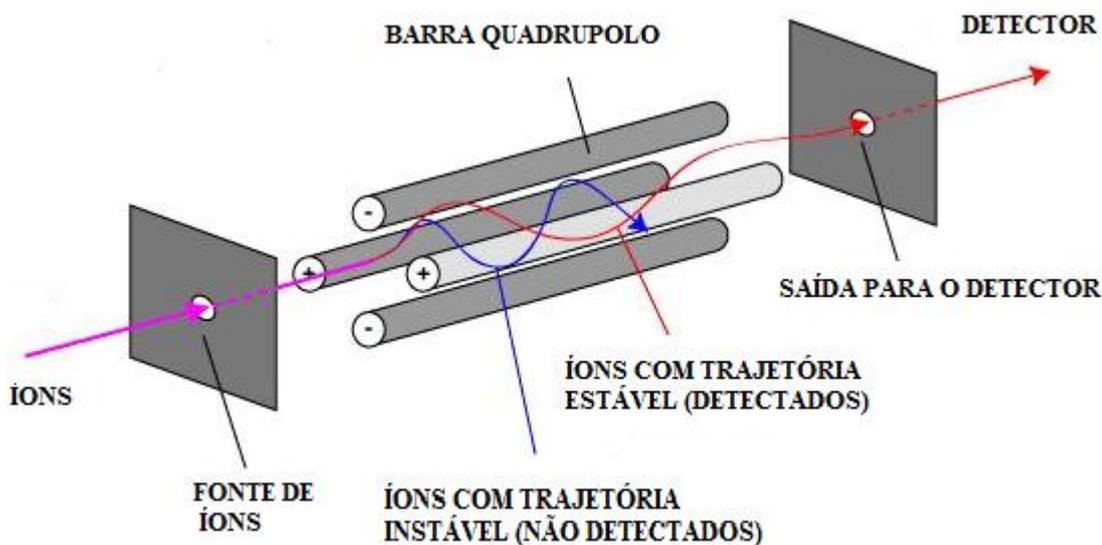


Figura 5 – Esquema de um analisador de massas do tipo quadrupolo. Adaptado de CORILO (2009).

O analisador do tipo triplo quadrupolo, como o nome sugere, é constituído por três quadrupolos em série, sendo que o segundo quadrupolo ( $Q_2$ ) é utilizado como cela de colisão, e não para separar íons de mesma razão  $m/z$ . Nessa cela de colisão ocorre a fragmentação dos íons selecionados no primeiro quadrupolo ( $Q_1$  ou  $MS_1$ ), geralmente por dissociação induzida por colisão com um gás inerte (CID, do inglês *collision-induced dissociation*), sendo também empregado como direcionador dos íons produzidos para o terceiro quadrupolo ( $Q_3$  ou  $MS_2$ ). Na cela de colisão, o íon precursor proveniente do primeiro quadrupolo é acelerado por um potencial elétrico para uma região de alto vácuo no segundo quadrupolo, onde ocorrem repetidas colisões com um gás inerte de elevada energia (normalmente argônio, hélio ou nitrogênio), resultando em um aumento de energia potencial deste íon até ocasionar sua fragmentação, conduzindo à formação dos íons produto (ARDREY, 2003; CHIARADIA *et al.*, 2008). A Figura 6 ilustra um analisador do tipo triplo quadrupolo.

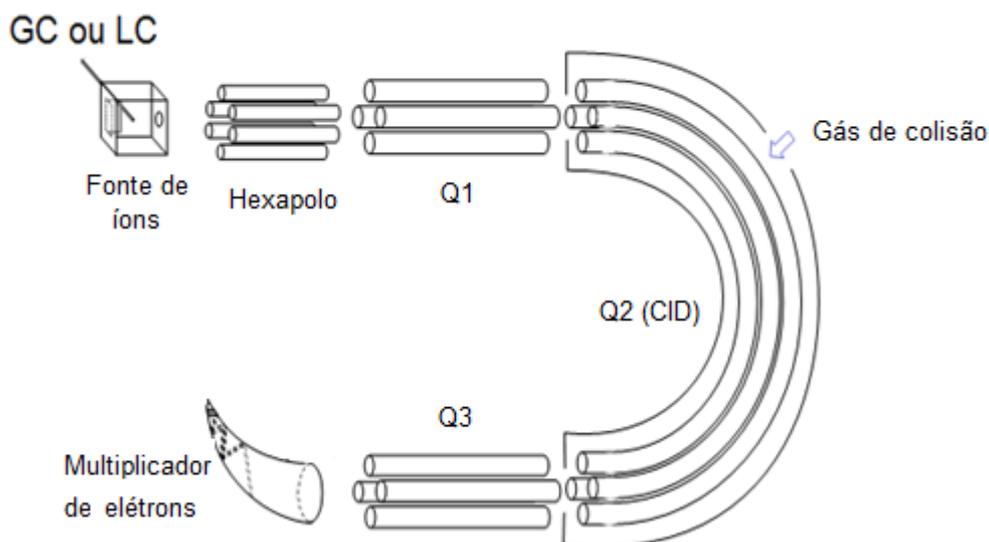


Figura 6 – Esquema de um analisador de massas, do tipo triplo quadrupolo. Adaptado de MARTINS (2010).

O analisador de tempo de voo (TOF, do inglês *Time-of-Flight*), baseia-se no princípio de que, idealmente, como todos os íons são gerados na mesma fonte de íons, possuem a mesma energia cinética, dessa maneira, suas velocidades serão apenas diferenciadas pelas suas massas. Assim, todos os íons que entram no analisador TOF recebem um pulso de energia igual, porém são acelerados de maneiras diferentes porque possuem diferentes razões  $m/z$ , chegando ao detector em tempos diferentes. Esses íons quando acelerados passam através de um tubo, conhecido como “tubo de voo” para então serem identificados. Os íons com menor razão  $m/z$  terão maior velocidade, portanto chegarão primeiro ao detector, e assim por diante. Dessa maneira, os íons são separados de acordo com a razão  $m/z$ , a partir da medida do chamado tempo de voo no tubo (ARDREY, 2003; SAWAYA, 2009).

Um analisador do tipo *ion trap* pode ser considerado um quadrupolo tridimensional, o que significa que os íons de todos os valores de  $m/z$  estão armazenados no interior do dispositivo. Os íons ficam “aprisionados” até que uma determinada radiofrequência é aplicada, deixando alguns íons de determinadas razão  $m/z$  instáveis. Os íons estáveis são então liberados e passam para o detector (ARDREY, 2003; CHIARADIA *et al.*, 2008). Portanto, o princípio do funcionamento de um analisador do tipo *ion trap* está baseado na criação de trajetórias estáveis

para os íons de certa razão  $m/z$  ou de uma faixa de razões  $m/z$  enquanto que os outros indesejáveis são removidos por colisão com a parede ou por ejeção axial do *trap* devido à instabilidade de trajetórias (COELHO, 2009).

O último módulo de um espectrômetro de massas é o detector, que registra a carga induzida ou a corrente produzida quando um íon atravessa uma superfície ou atinge sua superfície. Os mais empregados são as Chapas Fotográficas, Detector de Faraday e os detectores baseados na Multiplicação de Elétrons (EM, do inglês *Electron Multiplier*), sendo este último o mais utilizado atualmente para detecção de íons (LANÇAS, 2009).

Os detectores por multiplicação de elétrons utilizam como cátodo, um metal, óxido metálico ou liga que apresenta facilidade em perder elétrons quando atingida por íon. Sendo assim, quando um íon atinge o metal e remove elétrons, estes são direcionados para outro eletrodo por diferença de potencial retirando outros elétrons e assim sucessivamente. Este processo é, então, multiplicado em cascata em vários eletrodos colocados no tubo até que ao final do processo é coletado um grande número de elétrons, provenientes de cada íon que chegou inicialmente no cátodo. O fator de ampliação é de mais de  $10^6$  elétrons para um único íon incidente na Multiplicadora de Elétrons (LANÇAS, 2009).

### 2.11.3 Espectrometria de Massas em série (MS/MS)

A Espectrometria de Massas em Série utiliza mais de um estágio de espectrometria de massas ( $MS_1$  e  $MS_2$ ), ao invés de utilizar apenas um analisador de massas para separar os íons gerados na fonte de ionização. Nesse caso, um dos estágios é utilizado para isolar o íon de interesse e o outro para estabelecer uma relação entre este íon e outros íons gerados a partir da sua decomposição induzida. Os estágios da Espectrometria de Massas são dispostos de maneira a fornecer as informações analíticas desejadas (ARDREY, 2003). Segundo VÉKEY (2001) o uso de MS/MS aumenta de forma expressiva a seletividade do método, devido ao aumento da razão sinal/ruído.

O acoplamento MS/MS possibilita eliminar interferências espectrais e minimizar o problema de co-eluição de algumas substâncias, por isso é considerada uma ferramenta analítica essencial para análise e confirmação dos analitos de

interesse em níveis de traços (FRIGGI, 2012). Sendo assim, a Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas em Série (GC-MS/MS) é bastante utilizada na análise de contaminantes em matrizes ambientais, como ar, água e solo, pois apresenta ótima seletividade para a determinação de resíduos de agrotóxicos, tornando segura a identificação destes compostos.

Na aquisição de dados de um espectro de massas em MS e MS/MS, os analisadores de massas podem operar em diferentes modos (maneiras como o espectrômetro de massas pode ser programado para aquisição de dados), sendo que os principais modos estão descritos a seguir:

No modo Varredura Total (do inglês *Full Scan*), normalmente realizada utilizando analisadores do tipo quadrupolo (CORILO, 2009), o analisador de massas é programado para detectar todas as massas dentro de uma determinada faixa de razão  $m/z$  ao mesmo tempo (VÉKEY, 2001). Quando se tem um sistema MS/MS pode-se utilizá-lo também, utilizando somente o  $Q_1$ , realizando, assim, a varredura completa da amostra em uma faixa ampla de razões  $m/z$ . O cromatograma nessa condição é conhecido como cromatograma de íon total (TIC, do inglês *Total Ion Chromatogram*) (STASHENKO & MARTÍNEZ, 2010).

No modo Monitoramento do Íon Selecionado (SIM, do inglês, *Single Ion Monitoring*), o analisador de massas realiza a separação de somente um íon específico (ou alguns íons) dos analitos de interesse. Neste modo ocorre um aumento da sensibilidade, uma vez que os íons correspondentes ao ruído são ejetados sem chegar ao detector (VÉKEY, 2001). Quando se utiliza MS/MS, o segundo e o terceiro quadrupolo servem somente para transmitir os íons filtrados no primeiro quadrupolo (STASHENKO & MARTÍNEZ, 2010).

O modo de operação Monitoramento Seletivo de Reações (SRM, do inglês *Selected Reactions Monitoring*) consiste em selecionar uma reação de fragmentação, sendo que o primeiro analisador é programado a separar dois ou mais íons (modo SIM) e o segundo programado a fragmentá-los novamente (MS/MS). Nota-se que o modo SRM é similar ao modo SIM. A ausência de varredura permite que o equipamento focalize apenas o precursor e o fragmento, aumentando a sensibilidade para o monitoramento, que é associada a um aumento na seletividade (redução na resposta dos interferentes). Este modo de operação depende do tipo de espectrômetro de massas, de maneira que requer uma

instrumentação específica, como por exemplo, um analisador do tipo Triplo Quadrupolo (VEKEY, 2001; RICCIO, 2009).

## 2.12 Validação de métodos cromatográficos

Em geral, a validação de um método envolve a execução e a interpretação de uma série de experimentos planejados a fim de avaliar as características do método. Desta forma, todas as variáveis de um método devem ser consideradas, como: procedimento de amostragem, preparo da amostra, separação cromatográfica, detecção e avaliação dos dados (LANÇAS, 2004).

Há vários conceitos e definições relacionados à validação de métodos analíticos, provenientes de diferentes pesquisadores (BRITO *et al.*, 2003; LANÇAS, 2004; RIBANI *et al.*, 2004), agências e normas reguladoras nacionais, como a ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2003b), INMETRO – Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO, 2003) e internacionais como ICH – *International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use* (ICH, 2005), IUPAC – *International Union of Pure and Applied Chemistry* (THOMPSON *et al.*, 2002) e SANCO (2011).

De acordo com o Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO), a validação deve garantir, através de estudos experimentais, que o método atenda às exigências das aplicações analíticas, assegurando a confiabilidade dos resultados (INMETRO, 2011). RIBANI *et al.* (2004), afirmam que a validação de um método é um processo contínuo que inicia no planejamento da estratégia analítica, continuando ao longo de todo seu desenvolvimento. Segundo os mesmos autores, um método analítico é submetido ao processo de validação para garantir que forneça informações confiáveis sobre a amostra.

Para LANÇAS (2004), validação é o ato ou efeito de validar, dar validade, tornar válido, tornar legítimo ou legal. Segundo o autor, a validação do método analítico envolve um procedimento que prova que o método fornece os resultados esperados com credibilidade, precisão e exatidão adequadas. Para BRITO *et al.* (2003) a validação envolve um processo de avaliação que estime a eficiência de um método na rotina do laboratório.

Os parâmetros para validação de métodos têm sido definidos em diferentes grupos de trabalho de organizações nacionais e internacionais. Infelizmente, algumas definições são diferentes entre as diversas organizações, sendo assim, um grande esforço no sentido de harmonizar guias para recuperação de informação em medidas analíticas vindo sendo efetuado (RIBANI *et al.*, 2004). Apesar da falta de consenso quanto aos parâmetros utilizados para validação e suas definições, o INMETRO segue os seguintes parâmetros: seletividade, linearidade, faixa de trabalho e faixa linear, limite de detecção e quantificação, recuperação, precisão (repetitividade, precisão intermediária e reprodutibilidade) e robustez (INMETRO, 2011).

O INMETRO sugere que seja feito um planejamento da validação, considerando os seguintes itens: definição da aplicação, objetivo e escopo do método; definição dos parâmetros de validação e critérios de aceitação; verificação das características dos equipamentos; qualificação dos materiais; planejamento dos experimentos de validação e execução dos experimentos de validação (INMETRO, 2011).

Segundo RIBANI *et al.* (2004), é imprescindível que o processo de validação seja representativo e realizado de modo que a variação da faixa de concentração e os tipos de amostras sejam adequados. Por exemplo, um método para um composto majoritário requer um critério de aceitação e uma abordagem diferente de um método desenvolvido para análise de traços. Além disso, a frequência e a real intenção de uso do método também influenciam o tipo de estudo de validação que é necessário. Desta forma, os experimentos podem ser limitados para o que realmente é necessário.

Se um método já desenvolvido for modificado para atender a alguns requisitos específicos, ou um método novo for desenvolvido, o laboratório deve ser capaz de garantir que as características do método atendam aos requisitos para as aplicações analíticas pretendidas. O processo de validação de um método deve estar detalhado em um procedimento e a metodologia para determinar os parâmetros de desempenho deve ser realizada com equipamentos e instrumentos dentro das especificações, funcionando corretamente e adequadamente calibrados. No mesmo sentido, o operador que realiza os estudos deve ser competente na área de estudo e precisa ter conhecimento suficiente sobre o trabalho (INMETRO, 2011).

No Brasil, há guias de validação elaborados pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2003b), como a Resolução – RE nº 899, de 29 de maio de 2003, pelo INMETRO como o DOQ-CGCRE-008 (revisão 04) de julho de 2011 (INMETRO, 2011). Alguns órgãos internacionais também dispõem de guias como a Conferência Internacional em Harmonização (ICH, do inglês *International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use*) (ICH, 2005) e a União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC, do inglês *International Union of Pure and Applied Chemistry*) (THOMPSON *et al.*, 2002).

Neste trabalho, os parâmetros utilizados para a validação de método analítico foram: seletividade, curva analítica e linearidade, limite de detecção e limite de quantificação, precisão e exatidão, os quais foram avaliados seguindo as orientações sobre validação de métodos e ensaios químicos estabelecidos pela ANVISA (2003b) e INMETRO (2011).

#### 2.12.1 Seletividade

Segundo o INMETRO (2011), a matriz da amostra em estudo pode conter componentes que interferem no desempenho da medição, sendo que esses interferentes podem aumentar ou reduzir o sinal, e a intensidade desse efeito depende da concentração. Nesse sentido, RIBANI *et al.* (2004) definem a seletividade de um método como a capacidade de avaliar, de forma inequívoca, as substâncias em estudo na presença de componentes que podem interferir na determinação de uma amostra complexa. Portanto, a seletividade avalia o grau de interferência de outras espécies como impurezas, produtos de degradação, outro ingrediente ativo, excipientes, assim como outros compostos de propriedades similares que possam estar, porventura, presentes na matriz (RIBANI *et al.*, 2004). Se este parâmetro não for garantido, a linearidade, a exatidão e a precisão estarão bastante comprometidas (INMETRO, 2011).

A seletividade é o primeiro estudo na validação de um método analítico e deve ser reavaliada durante toda a validação e aplicação do método. Em alguns casos, algumas amostras podem sofrer degradação, gerando compostos que não

foram observados inicialmente, que podem co-eluir com a substância de interesse (RIBANI *et al.*, 2004).

A seletividade pode ser obtida por meio da comparação da amostra com e sem analito, sendo que, nesse caso, nenhum interferente deve eluir no tempo de retenção da(s) substância(s) de interesse, que deve estar bem separada dos demais compostos presentes na amostra (INMETRO, 2011; ICH, 2005).

### 2.12.2 Curva analítica e linearidade

A linearidade de um procedimento analítico pode ser definida como a capacidade de um método analítico de demonstrar que os resultados são diretamente proporcionais à concentração do analito na amostra, dentro de um intervalo específico (ANVISA, 2003b). Segundo o INMETRO (2011), a quantificação requer que se conheça a relação entre a resposta medida e a concentração do analito, sendo a linearidade formulada como uma expressão matemática usada para o cálculo da concentração do analito a ser determinado na amostra real. A expressão matemática (equação da reta) que relaciona duas variáveis é, representada pela Equação 2 (INMETRO, 2011):

$$y = a + bx \qquad \text{Equação (2)}$$

sendo:

y = resposta medida (absorbância, altura ou área do pico, etc.);

x = concentração;

a = interseção com o eixo y, quando x = 0;

b = inclinação da curva analítica = sensibilidade.

Observa-se que o método é mais sensível quando pequenas variações de concentração resultam em maior variação na resposta, ou seja, maior inclinação (b) (INMETRO, 2011).

Outro parâmetro importante no estudo da linearidade é o coeficiente de correlação linear r, o qual indica o quanto a reta pode ser considerada adequada como modelo matemático para o estudo (INMETRO, 2011). A regressão linear deve

ter alto coeficiente de correlação sem ou de determinação ( $r^2$ ). Este coeficiente permite uma estimativa da qualidade da curva obtida, pois quanto mais próximo de 1,0, menor a dispersão do conjunto de pontos experimentais e menor a incerteza dos coeficientes de regressão estimados (RIBANI *et al.*, 2004). Segundo a ANVISA (2003b) e INMETRO (2011), são recomendados valores de coeficiente de correlação iguais ou superiores a 0,99 e 0,90, respectivamente.

Para um método quantitativo existe uma faixa de concentrações do analito (ou valores da propriedade) no qual o método pode ser aplicado e essa faixa de trabalho deve cobrir a faixa de aplicação para a qual o ensaio vai ser usado. No limite inferior da faixa de concentração, o fator limitante é limite de quantificação. No limite superior, os fatores limitantes dependem do sistema de resposta do equipamento de medição (INMETRO 2011).

A ANVISA (2003b) e INMETRO (2011) indicam no mínimo cinco níveis de concentração para construir a curva analítica e o número de replicatas em cada nível de concentração deve ser o mais próximo possível daquele empregado na rotina do laboratório (INMETRO 2011).

A quantificação do composto de interesse pode ser obtido por diferentes métodos, ou seja, diferentes tipos de padronização para a construção da curva analítica, como por exemplo, padronização externa, padronização interna, superposição da matriz e adição padrão. O método escolhido irá depender do tipo e número de amostras, da complexidade da matriz, da possibilidade de automação e da disponibilidade de padrões. A escolha deverá fornecer as melhores exatidão e precisão possíveis, além de resultar em um menor tempo e quantidade de amostra possível, com mínimo envolvimento do operador (RIBANI *et al.*, 2004).

O método de padronização externa compara a área da substância a ser quantificada com as áreas obtidas com soluções de concentrações conhecidas preparadas a partir de um padrão. Para isso, preparam-se soluções da substância a ser quantificada em diversas concentrações, obtendo-se o cromatograma correspondente a cada uma delas. Em seguida, em um gráfico, relacionam-se as áreas obtidas com as concentrações. No método de padronização interna inicialmente também são preparadas soluções padrão de concentrações conhecidas da substância de interesse, no entanto, a essas soluções se adiciona a mesma quantidade conhecida de padrão interno. Após análise dessas soluções, constrói-se um gráfico, relacionando a razão das áreas (área da substância/ área do padrão

interno que tem concentração constante) com a concentração (variada) da substância. A amostra também é analisada após a adição da mesma quantidade conhecida do padrão interno. Através da razão de áreas obtidas no cromatograma tem-se a concentração da substância na amostra (RIBANI *et al.*, 2004).

O método de superposição da matriz é usado para compensar o efeito matriz ou efeito de possíveis interferentes. Consiste na adição do padrão da substância em diversas concentrações em uma matriz similar à da amostra, isenta da substância, e posterior construção do gráfico de calibração relacionando as áreas obtidas com as concentrações dos padrões. Este método pode ser utilizado para calibração, tanto com a padronização interna como com a padronização externa (RIBANI *et al.*, 2004).

Por último, o método de adição padrão, consiste na adição de quantidades conhecidas da substância de interesse que está sendo analisada a quantidades conhecidas da amostra, antes do seu preparo. Estas amostras com o padrão incorporado são utilizadas para a obtenção dos cromatogramas. Constrói-se uma curva analítica relacionando as quantidades da substância adicionada à amostra com as respectivas áreas obtidas. Este método é utilizado em amostras onde pode ocorrer efeito matriz e não se tem disponível uma matriz isenta da substância de interesse (RIBANI *et al.*, 2004).

### 2.12.3 Limite de Detecção (LOD) e de Quantificação (LOQ)

O limite de detecção (LOD, do inglês *Sensitive Detection*) representa o menor valor de concentração do analito em estudo que pode ser detectado pelo método, mas não necessariamente quantificada, utilizando um determinado procedimento experimental (INMETRO, 2011; ANVISA, 2003b). O LOD pode ser calculado por diferentes métodos: método visual, método relação sinal-ruído e método baseado em parâmetros da curva analítica, sendo o método baseado na relação sinal/ruído mais comumente utilizado (RIBANI *et al.*, 2004).

O limite de quantificação (LOQ, do inglês *Sensitive Quantification*) é o menor valor de concentração em que o analito pode ser quantificado com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas (ANVISA, 2003b). Este limite, após determinado, precisa ser testado com amostras independentes para averiguar se a exatidão e precisão são realmente satisfatórias (INMETRO,

2011). O INMETRO recomenda adotar o LOQ como a concentração mais baixa da curva analítica em análises em nível de traço (INMETRO, 2011). Os cálculos para determinação do LOQ seguem os mesmos critérios para os cálculos de LOD (ANVISA, 2003b).

#### 2.12.4 Exatidão (recuperação)

A exatidão de um método analítico é a proximidade dos resultados obtidos em relação ao valor considerado verdadeiro (ANVISA, 2003b). Os processos normalmente utilizados para avaliar a exatidão são o uso de materiais de referência certificados, participação em comparações interlaboratoriais ou realização de ensaios de recuperação. Quando a exatidão é aplicada a uma série de resultados de ensaio, resulta numa combinação de erros aleatórios e sistemáticos (tendência) (INMETRO, 2011).

Segundo o INMETRO (2011) a recuperação dos analitos pode ser estimada pela análise de amostras fortificadas com quantidades conhecidas deste analito. É indicado pela ANVISA e INMETRO que as amostras sejam fortificadas com os analitos em pelo menos três diferentes níveis de concentrações, baixa, média e alta (ANVISA, 2003b; INMETRO, 2011). A ANVISA estabelece um mínimo de 3 réplicas de cada fortificação (ANVISA, 2003b). A limitação desse procedimento é a de que o analito adicionado não está necessariamente na mesma forma que se apresenta na amostra, de maneira que analitos adicionados em uma forma mais facilmente detectável pode resultar em avaliações mais otimistas que os resultados reais (INMETRO, 2011).

Segundo INMETRO (2011), a recuperação é calculada utilizando a Equação 3:

$$R (\%) = \frac{C_1 - C_2}{C_3} \times 100 \quad \text{Equação (3)}$$

Sendo:

$C_1$ = concentração do analito na amostra fortificada;

$C_2$ = concentração do analito na amostra não fortificada;

$C_3$ = concentração do analito adicionada à amostra fortificada.

Os intervalos aceitáveis de recuperação para análises de resíduos, geralmente estão entre 70 e 120%, com precisão, em termos de RSD, menor ou igual a 20%. (HUBNER, 1998; SANCO, 2010). No entanto, dependendo da complexidade da amostra, este valor pode ser ampliado de 50 a 120%, com precisão, em termos de RSD, menor ou igual a 15% (RIBANI *et al.*, 2004).

#### 2.12.5 Precisão (repetitividade e precisão intermediária)

A precisão é um termo geral para avaliação da proximidade dos resultados obtidos em uma série de medidas de uma mesma amostra (ANVISA, 2003b). Do mesmo modo, para LANÇAS *et al.* (2004) precisão é a expressão da concordância entre vários resultados analíticos obtidos para uma mesma amostra. No processo de validação, a precisão pode ser avaliada em três níveis: repetitividade, precisão intermediária e reprodutibilidade (RIBANI *et al.*, 2004).

A repetitividade ou repetibilidade é a concordância entre os resultados sucessivos de um mesmo método obtidos sob as mesmas condições: curto intervalo de tempo, mesmo analista, mesma instrumentação usada sob as mesmas condições e mesmo local. A precisão intermediária é a concordância entre os resultados do mesmo laboratório, mas obtidos em dias diferentes, com analistas diferentes e/ou equipamentos diferentes. A reprodutibilidade, por sua vez, é a concordância entre os resultados obtidos em laboratórios diferentes em estudos colaborativos (ANVISA, 2003b; INMETRO, 2011). Apesar da reprodutibilidade não ser um parâmetro de validação de método executado em um único laboratório, é um fator importante quando um laboratório deseja verificar o desempenho dos seus métodos através de comparações interlaboratoriais (INMETRO, 2011).

A precisão de um método analítico pode ser expressa como o desvio padrão relativo (RSD), também conhecido como coeficiente de variação (CV) (ANVISA, 2003b; RIBANI *et al.*, 2004), expresso pela Equação 4:

$$\text{RSD (\%)} = \frac{s}{X_m} \times 100 \quad \text{Equação (4)}$$

onde:

s = estimativa do desvio padrão absoluto;

$$s = \{\sum(X_i - X_m)^2 / n - 1\}^{1/2}$$

$x_i$  = valores individuais;

$x_m$  = média das medidas em replicatas;

n = número de medidas.

Geralmente métodos que quantificam compostos em macro quantidades requerem um RSD de 1 a 2%. Por outro lado, em métodos de análise de traços ou impurezas, são aceitos RSD de até 20% (RIBANI *et al.*, 2004; HUBER, 1998).

#### 2.12.6 Padrão Interno

O padrão interno (PI) é adicionado ao extrato final da amostra, anterior à injeção, com o objetivo de garantir a correta análise para cada amostra, ou seja, é utilizado para avaliação da eficiência do instrumento utilizado (SANCO, 2011). O PI deve ser adicionado em cada amostra a ser analisada, bem como, em cada nível de calibração da curva analítica.

A seleção de um padrão interno (PI) deve ser uma substância similar à substância a ser quantificada, mas não deve fazer parte da amostra, deve ter tempo de retenção próximo a essas substâncias, não pode reagir com a substância ou outro componente da matriz e, quando separada por cromatografia não co-eluir com os agrotóxicos em estudo na amostra. Quando a detecção é feita por espectrometria de massas, este último requisito não é necessário, pois cada composto produz um espectro característico (RIBANI *et al.*, 2004; CUADROS-RODRÍGUEZ *et al.*, 2001).

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

O procedimento experimental consistiu no desenvolvimento e validação de um método baseado em amostragem ativa. Neste sistema, o ar é coletado e pré-concentrado pela passagem forçada no adsorvente, com auxílio de uma bomba de vácuo, baseado em um dispositivo de trapeamento *home-made*, com posterior extração dos analitos com solvente e determinação por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas em Série (GC-MS/MS).

No desenvolvimento deste trabalho, diferentes condições de amostragem foram testadas, como tempo e vazão de amostragem, temperatura para volatilização dos analitos e diferentes volumes de solvente para eluição dos analitos. As condições que apresentaram melhores resultados, em termos de exatidão e precisão para a maioria dos compostos avaliados, foram selecionadas para o estudo e realizou-se a validação e aplicação do método otimizado. O sorvente polimérico utilizado para trapeamento durante o trabalho foi Tenax TA, com sua estrutura demonstrada na Figura 7, e o solvente utilizado para eluição dos analitos foi acetona.

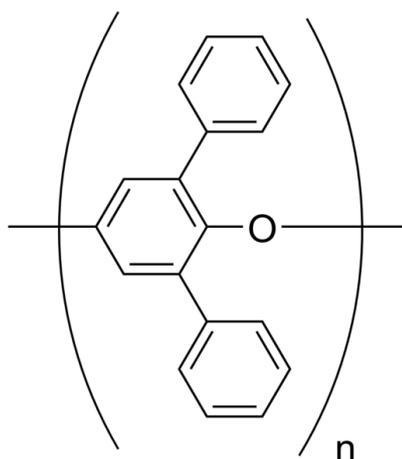


Figura 7 – Estrutura do sorvente polimérico Tenax TA = poli (óxido de 2,6-difenil-fenileno).

O uso de adsorvente polimérico em *traps* contendo lã de vidro nas extremidades para fixar o material resulta na coleta dos analitos em ambas as fases, gasosa e particulada, simultaneamente, sem a possibilidade de distingui-las.

Os parâmetros analíticos avaliados durante a validação foram: seletividade, curva analítica e linearidade, coeficiente de determinação ( $r^2$ ), limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ), exatidão (recuperação) e precisão (ANVISA, 2003b; INMETRO, 2011). Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Análise de Resíduos de Pesticidas (LARP) do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

### 3.1 Instrumentação

Os equipamentos utilizados no desenvolvimento deste trabalho estão descritos abaixo:

- ✓ Agitador Vortex – Biomixer Modelo QL-901 (Microtécnica, Brasil);
- ✓ Balança analítica de precisão AUW-220D (Shimadzu, Japão);
- ✓ Bomba de vácuo para SPE (Tecnal, Brasil);
- ✓ Bomba de vácuo para amostragem (Vacuubrand, Alemanha);
- ✓ Estufa para aquecimento do trap 1 durante amostragem (Heraeus, Alemanha);
- ✓ Estufa para condicionamento do sorvente polimérico (Tecnal, Brasil);
- ✓ Medidor de vazão modelo P *single flow 85omp rotameter* com capacidade de medida de 6,0 a 149,4 mL min<sup>-1</sup> (Aalborg, EUA);
- ✓ Micropipetadores automáticos com capacidade variável (Brand, Alemanha);
- ✓ Sistema *manifold* SPE (Varian, EUA);
- ✓ Sistema GC-MS/MS: equipado com:
  - Cromatógrafo a gás CP 3800 (Varian, EUA);
  - Detector de massas do tipo triplo quadrupolo (TQ) 1200, operando no modo SRM (Varian, EUA);
  - Amostrador automático CP 8400 (Varian, EUA);
  - Injetor 1079 com Programação de Temperatura de Vaporização – PTV (Varian, EUA);

- Sistema de aquisição de dados através do Software MS Workstation 6.6 (Varian, EUA);
- Coluna capilar VF-5-MS (5% fenil, 95% metilpolisiloxano), com 30 m de comprimento x 0,25 mm de d.i.; 0,25 µm de espessura de filme (Varian, EUA).

### 3.2 Gases Utilizados

- ✓ Gás de arraste: Hélio 99,9999% de pureza (White Martins e Air Products, Brasil);
- ✓ Gás de colisão no sistema GC-MS/MS: Argônio 99,999% de pureza (White Martins e Air Products, Brasil).

### 3.3 Reagentes, solventes e materiais utilizados

- ✓ Acetona, acetonitrila e metanol, todos grau HPLC (Mallinckrodt, EUA);
- ✓ Algodão de vidro silanizado (Labsynth, Brasil);
- ✓ Detergente Extran<sup>®</sup> neutro (Merck, Brasil);
- ✓ Filtro de nylon de 13 mm de diâmetro e porosidade de 0,2 µm (Vertical Chromatography, Tailândia);
- ✓ Frascos de vidro (*vial*) para amostrador automático, capacidade de 2,0 mL;
- ✓ Padrões sólidos dos agrotóxicos, conforme Tabelas 4 e 5;
- ✓ Seringas de 25, 50, 100 e 500 µL (Hamilton, Suíça);
- ✓ Sorvente polimérico Tenax TA malha 60/80 *mesh* (Supelco, Brasil);
- ✓ *Trap* de vidro com dimensões de 12,5 cm de comprimento x 3 mm de diâmetro interno x 5 mm de diâmetro externo;
- ✓ Tubos de polipropileno, com tampas rosqueadas, com capacidade de 50 mL (Sarstedt, Alemanha);
- ✓ Vidraria comum de laboratório.

### 3.4 Agrotóxicos selecionados

Os agrotóxicos avaliados neste trabalho pertencem a diferentes grupos químicos para verificar a eficiência do sistema de trapeamento utilizado neste método. Utilizando compostos de diferentes grupos químicos e conseqüentemente diferentes propriedades, pode-se investigar a possibilidade de abrangência do método desenvolvido.

Inicialmente, para escolha das condições de amostragem e eluição, os estudos foram realizados utilizando uma mistura de 12 analitos, listados na Tabela 4. Após avaliação e escolha das melhores condições de amostragem e eluição, o método foi ampliado para um total de 48 analitos. Neste segundo momento, além de agrotóxicos, também avaliou-se o comportamento de outros compostos, como por exemplo, oxirano, ketona e bromoketal, que são intermediários para fabricação de alguns agrotóxicos.

Os compostos selecionados para este estudo estão listados nas Tabelas 4 e 5, juntamente com suas fórmulas moleculares, grau de pureza, classe/tipo, grupo químico/aplicação, massa molar e algumas propriedades físico-químicas. Nas tabelas são indicadas as classes e grupos químicos para os agrotóxicos em estudo e o tipo e aplicação para as outras substâncias químicas. A Tabela 4 detalha os analitos utilizados na fase de otimização das condições de amostragem e eluição e a Tabela 5 os analitos que foram adicionados ao método, com o intuito de aumentar o escopo de compostos analisados, após definição destas condições. Dessa maneira, a validação do método foi realizada utilizando uma mistura de todos esses compostos.

Foram selecionados alguns intermediários da produção de alguns agrotóxicos, de forma a ampliar a possibilidade de aplicação do método em empresas que fabricam ou armazenam este tipo de material. Os compostos PCT (para-cloro-tolueno), PCBTF (para-cloro-benzo-tri-fluoreto), mononitro e dinitro são intermediários químicos para a produção da trifluralina; oxirano e ketona são utilizados na produção do tebuconazole e bromoketal é utilizado na produção de propiconazole (MARTINS, 2004; MARTINS, 2010; MARTINS *et al.*, 2013). Além destes intermediários para produção de agrotóxicos também foram estudados alguns metabólitos, como 2,4 DDD (dicloro-difenil-dicloroetano) e 4,4 DDE (dicloro-

difenil-dicloro-etileno), metabólitos do DDT; 3,4 dicloroanilina, metabólito do diuron; heptacloro hepóxido endo e exo, metabólitos do heptacloro e endossulfan sulfato, metabólito do endossulfan.

Tabela 4 – Agrotóxicos selecionados para avaliação das melhores condições de amostragem e eluição, indicando classe, grupo químico, massa molar ( $\text{g mol}^{-1}$ ), ponto de fusão e ebulição ( $^{\circ}\text{C}$ ) e pressão de vapor (mPa).

Nome do composto	Classe	Grupo químico	MM ( $\text{g mol}^{-1}$ )	PF ( $^{\circ}\text{C}$ )	PE ( $^{\circ}\text{C}$ )	PV (mPa/25 $^{\circ}\text{C}$ )
2,4 DDD	Metabólito	Organoclorado	320,0	78	193	0,258
Alacloro	Herbicida	Cloroacetamida	269,8	41	100	2,9
Aldrin	Inseticida	Organoclorado	364,9	104	145	3
Bifentrina	Inseticida/Acaricida	Piretróide	422,9	79,6	-	0,0178
DDT	Inseticida	Organoclorado	354,5	109	185	0,025
Dieldrin	Inseticida	Organoclorado	380,9	177	385	0,024
Endossulfan alfa	Inseticida/Acaricida	Organoclorado	406,9	109,2	401,3	0,83
Endossulfan beta	Inseticida/Acaricida	Organoclorado	406,9	80	-	0,83
Endossulfan sulfato	Metabólito	Organoclorado	422,9	-	-	-
Endrin	Inseticida	Organoclorado	380,9	200	-	0,09
HCH gama (lindano)	Inseticida/Acaricida	Organoclorado	290,8	112,9	323,4	4,4
Trifluralina	Herbicida	Dinitroanilina	335,3	47,2	-	9,5

Onde: PF = Ponto de Fusão; PE = Ponto de Ebulição; PV = Pressão de Vapor. Fonte: ANVISA, 2013; DONATO, 2012; FOOTPRINT. *Pesticide Properties Database*, 2013.

Tabela 5 – Agrotóxicos e compostos relacionados acrescentados ao método para aumento do escopo de analitos, indicando classe/tipo, grupo químico/aplicação, massa molar ( $\text{g mol}^{-1}$ ), ponto de fusão e ebulição ( $^{\circ}\text{C}$ ) e pressão de vapor (mPa).

Nome do composto	Classe/tipo	Grupo químico/ Aplicação	MM ( $\text{g mol}^{-1}$ )	PF ( $^{\circ}\text{C}$ )	PE ( $^{\circ}\text{C}$ )	PV (mPa)
1,2 diclorobenzeno	Solvente/Intermediário químico	Produção de agroquímicos	147,0	-17,6	180,5	$1,33 \times 10^5$ (20 $^{\circ}\text{C}$ )
2,4 D Éster	Herbicida	Fenoxiácido	277,1	-	250	
3,4 DCBTF	Intermediário químico	Produção de agroquímicos	215,0	-13	173-174	$2,13 \times 10^5$ (20 $^{\circ}\text{C}$ )
3,4 dicloroanilina	Metabólito	Fenil uréia	162,0	70-72,5	272	$1,33 \times 10^3$ (20 $^{\circ}\text{C}$ )
4,4 DDE	Metabólito	Organoclorado	318,0	88-90	316	
Atrazina	Herbicida	Triazina	215,7	175,8	-	0,039 (25 $^{\circ}\text{C}$ )
Bromofós- metílico	Inseticida	Organofosforado	366,0	53,0	-	17,07 (25 $^{\circ}\text{C}$ )
Bromoketal	Intermediário químico	Produção de agroquímicos	354,1	-	-	
Clorpirifos-etílico	Inseticida/Acaricida	Organofosforado	350,9	41,5	-	1,43 (25 $^{\circ}\text{C}$ )
Clorpirifos-metílico	Inseticida/Acaricida	Organofosforado	322,5	46	360	3,0 (25 $^{\circ}\text{C}$ )
Clorprofam	Herbicida	Carbamato	213,7	42	257	24 (25 $^{\circ}\text{C}$ )
Cresoxim-metílico	Fungicida	Estrobilurina	313,4	102	-	
Diclorvós	Inseticida	Organofosforado	221,0	-	-	2100 (25 $^{\circ}\text{C}$ )
Diuron	Herbicida	Fenil uréia	233,1	158-159	-	$1,15 \times 10^3$ (25 $^{\circ}\text{C}$ )
Dinitro	Intermediário de reação	Nitro-aromático halogenado	270,6	56-58	-	
Fentiona	Inseticida	Organofosforado	278,3	7,5	90	0,37 (25 $^{\circ}\text{C}$ )
HCH alfa	Inseticida/Acaricida	Organofosforado	290,8	158	288	4,4 (25 $^{\circ}\text{C}$ )
HCH beta	Inseticida/Acaricida	Organofosforado	290,8	309	-	4,4 (25 $^{\circ}\text{C}$ )

Nome do composto	Classe/tipo	Grupo químico/ Aplicação	MM (g mol <sup>-1</sup> )	PF (°C)	PE (C°)	PV (mPa)
HCH delta	Inseticida/Acaricida	Organofosforado	290,8			4,4 (25 °C)
Heptacloro	Inseticida	Organoclorado	373,3	95	-	53 (25 °C)
Heptacloro epóxido endo	Metabólito	Organoclorado				
Heptacloro epóxido exo	Metabólito	Organoclorado				
Hexaclorobenzeno	Fungicida	Organoclorado	284,8	226	325	1,45 (25 °C)
Ketona	Intermediário químico	Produção de agroquímicos	224,7	-	245	
Metalaxil	Fungicida	Fenilamida	279,3	67,9	-	0,75 (25 °C)
Mirex	Inseticida	Organoclorado	545,5	485	-	-
Mononitro	Intermediário de reação	Nitro-aromático halogenado	225,6	-	222,6	1,33x10 <sup>3</sup> (20 °C)
Oxirano	Intermediário químico	Produção de agroquímicos	238,8	-	180	
Parationa-etílica	Inseticida/Acaricida	Organofosforado	291,3	6,1	375	0,89 (25 °C)
PCBTF	Intermediário químico	Produção de agroquímicos	180,56	-36	136-138	1,06x10 <sup>6</sup> (20 °C)
PCT	Intermediário químico	Produção de agroquímicos	126,6	6-8	161,9	3,72x10 <sup>5</sup> (20 °C)
Pendimetalina	Herbicida	Dinitroanilina	281,3	58	330	1,94 (25 °C)
Pirimicarbe	Inseticida	Carbamato	238,4	91,6	-	0,43 (25 °C)
Pirimifós-metílico	Inseticida/Acaricida	Organofosforado	305,3	21	-	0,002 (25 °C)
Procimidona	Fungicida	Dicarboximida	284,1	164,5	478	0,023 (25 °C)
Propanil	Herbicida	Anilida	218,1	91	351	0,0193 (25 °C)

Onde: PF = Ponto de Fusão; PE = Ponto de Ebulição; MM = Massa molar; PV = Pressão de Vapor. Fonte: MARTINS, 2004; MARTINS, 2010; DONATO, 2012; FOOTPRINT. *Pesticide Properties Database*, 2013; ANVISA, 2013; MARTINS *et al.*, 2013.

### 3.4.1 Limites de exposição ocupacional dos compostos selecionados

Com o objetivo de garantir a qualidade do ar atmosférico quanto à presença de compostos poluentes a *Occupation Safety and Health Administration* (OSHA) e *Nacional Institute for Occupation Safety and Health* (NIOSH) dos Estados Unidos, estabelecem alguns limites de exposição, em termos de Limite de Tolerância Ponderado no Tempo (TWA). A WorkSafeBC, (*Workers Compensation Board*), Conselho canadense, também possui a autoridade de fornecer alguns limites de exposição ocupacional específicos. Além destas agências, existem outras, como a *American Conference of Governmental Industrial Hygienists* (ACGIH), que também publicam alguns limites, no entanto, a divulgação destes valores somente é efetuada em bibliografias comercializadas. A Tabela 6 demonstra os limites estabelecidos pela OSHA, NIOSH e WorkSafeBC para 16 dos compostos estudados.

Tabela 6 – Limites de exposição em termos de TWA estabelecidos pela OSHA, NIOSH e WorkSafeBC.

<b>ANALITO</b>	<b>TWA OSHA (<math>\mu\text{g m}^{-3}</math>)</b>	<b>TWA NIOSH (<math>\mu\text{g m}^{-3}</math>)</b>	<b>TWA WorkSafeBC (<math>\mu\text{g m}^{-3}</math>)</b>
2,4 D éster	--	--	10.000
Alacloro	--	--	1.000
Aldrin	250	250	50
Atrazina	--	--	5.000
Clorpirifós-etílico	--	200	100
DDT	1000	500	1.000
Diclorvós	--	--	100
Dieldrin	250	250	--
Diuron	--	--	10.000
Endossulfan	--	100	100
Endrin	100	100	100
Fentiona	--	--	50
HCH gama (lindano)	500	500	500
Heptacloro	500	500	500
Heptacloro epóxido	--	--	500
Parationa-etílica	100	50	50

\*Valores convertidos de  $\text{mg m}^{-3}$  para  $\mu\text{g m}^{-3}$ . Fontes: OSHA, 2013; WorkSafeBC, 2013.

### 3.5 Seleção do padrão interno

Como destacado na seção 2.12.6, o padrão interno (PI) é adicionado ao extrato final da amostra, antes de efetuar a injeção no cromatógrafo para avaliar a eficiência do instrumento utilizado (SANCO, 2011). Neste trabalho selecionou-se como padrão interno (PI) o composto trifenilfosfato (TPP) na concentração  $100 \mu\text{g L}^{-1}$ . No extrato final ( $180 \mu\text{L}$  colocados em *insert*), foram adicionados  $20 \mu\text{L}$  de uma solução contendo  $1 \text{ mg L}^{-1}$  de trifenilfosfato. O padrão interno não foi utilizado para fins de quantificação.

### 3.6 Preparo das soluções analíticas

Para o preparo das soluções analíticas, inicialmente preparou-se individualmente  $10,0 \text{ mL}$  da solução estoque de cada composto, na concentração de  $1000,0 \text{ mg L}^{-1}$ . Para isso, os padrões sólidos foram pesados individualmente, considerando a pureza de cada composto. A massa do padrão sólido foi transferida adequadamente para balões volumétricos, sendo em seguida, dissolvidos em  $10 \text{ mL}$  de acetonitrila grau HPLC e agitados em vortex por  $1 \text{ min}$  para completa dissolução.

A partir das soluções de  $1000,0 \text{ mg L}^{-1}$  de cada composto, preparou-se  $25 \text{ mL}$  da solução de trabalho (mistura de todos os compostos estudados) na concentração  $10,0 \text{ mg L}^{-1}$  em acetonitrila grau HPLC. Esta solução foi utilizada para os ensaios de fortificação durante a execução dos testes iniciais e no processo de validação.

Para avaliar a linearidade do método foi preparada uma solução na concentração de  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ . A partir desta, foram preparadas as soluções analíticas de trabalho nas concentrações de  $25,0$ ;  $50,0$ ;  $100,0$ ;  $150,0$ ;  $200,0$ ;  $250,0$  e  $500,0 \mu\text{g L}^{-1}$ . O solvente utilizado para preparo destas soluções foi acetona, o mesmo solvente utilizado na etapa de eluição dos compostos.

Para o preparo do padrão interno (TPP), solução estoque de  $1000,0 \text{ mg L}^{-1}$  foi inicialmente preparada. Em seguida, foi preparado  $10 \text{ mL}$  de uma solução de TPP na concentração de  $10,0 \text{ mg L}^{-1}$ . A partir dessa solução preparou-se  $1 \text{ mL}$  de uma solução na concentração de  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ , a qual foi utilizada para os ensaios.

Todas as soluções analíticas foram armazenadas em frascos âmbar a temperatura menor que -10 °C, sendo que, antes de serem utilizadas foram retiradas do freezer e deixadas atingir a temperatura ambiente.

### **3.7 Amostragem de ar para validação do método**

Para garantir que o ar amostrado durante a etapa de validação estava isento dos compostos em estudo, o método de amostragem foi otimizado e validado em ambiente fora do Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas (LARP), sendo selecionada uma sala pouco frequentada na Universidade Federal de Santa Maria para o estudo. Caso contrário, esta interferência poderia levar a falsos resultados na quantificação destes compostos.

Antes da validação do método, uma amostragem “branco” foi realizada, ou seja, sem fortificação com os agrotóxicos estudados, para confirmar a ausência destes compostos no ambiente selecionado para o estudo. O mesmo procedimento foi realizado a cada 6 análises com fortificação, para confirmar que o ambiente não havia sido contaminado. Além destas amostragens “branco” também foi efetuado um teste do sorvente polimérico utilizado, por meio do contato deste sorvente com o solvente de eluição por 5 min e posterior análise por GC-MS/MS para conferir a isenção dos agrotóxicos neste material.

### **3.8 Condicionamento do sorvente utilizado e limpeza dos *traps* de vidro**

Antes da utilização do adsorvente polimérico, o mesmo foi mergulhado em metanol por no mínimo 12 h, com agitação manual do frasco no momento do contato, por 1 min, para aumentar o contato entre o sorvente sólido e o solvente. Após este tempo, o metanol foi retirado e o adsorvente foi mergulhado em acetona, permanecendo em contato por 1 h, com agitações manuais a cada 10 min, para aumentar o contato do adsorvente polimérico com o solvente. Este procedimento foi realizado em tubos de polipropileno, com tampa rosqueada, com capacidade de 50 mL, sendo que a quantidade de solvente acrescentado ao sorvente polimérico foi sempre o dobro da quantidade de sólido presente no frasco (por exemplo, quando a

quantidade de sorvente no tubo estava na marca de 15 mL, adicionou-se solvente até a marca de 30 mL do tubo).

Após a retirada deste segundo solvente, o adsorvente foi aquecido em estufa com circulação de ar a 120 °C em cadinho de porcelana, por 1 h, para remover possíveis resíduos de compostos orgânicos voláteis. A temperatura utilizada para condicionamento do sorvente poderia ser mais elevada, caso fosse necessário, desde que respeitada a temperatura máxima de 350 °C, de acordo com a seção 2.6.3. Este procedimento foi realizado antes da primeira utilização do sorvente e também sempre que o material seria reutilizado, como processo de regeneração do sorvente. Após o processo de regeneração, o sorvente foi avaliado conforme descrito no item 3.7, para confirmação da inexistência de interferentes.

A limpeza dos *traps* foi realizada, inicialmente, com o mesmo procedimento de limpeza das demais vidrarias, utilizando detergente extran neutro 5%. No entanto, após limpeza normal, todos os *traps* foram lavados três vezes com metanol e três vezes com acetona e, em seguida, foram aquecidos em estufa por 1 h a 120 °C.

### **3.9 Otimização do sistema cromatográfico GC-MS/MS para determinação de resíduos de agrotóxicos e compostos relacionados em ar**

As análises foram realizadas empregando a Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas em Série (GC-MS/MS) no modo Monitoramento Seletivo de Reações (SRM, do inglês *Selected Reactions Monitoring*).

#### **3.9.1 Condições cromatográficas**

A escolha das condições cromatográficas baseou-se nas condições frequentemente utilizadas no LARP-UFSM, em trabalhos de pesquisa anteriores (MARTINS, 2010; MARTINS, 2013; DONATO, 2012).

Abaixo estão descritas as condições utilizadas para o sistema GC-MS/MS nas análises iniciais para avaliação das melhores condições de amostragem e eluição dos agrotóxicos. Estas condições foram utilizadas nos testes e no planejamento

experimental para estudo do comportamento dos 12 analitos inicialmente escolhidos (Tabela 4).

- Temperatura do injetor: 280 °C;
- Volume de injeção 2,0 µL (*splitless*);
- Programação da temperatura do forno da coluna: temperatura inicial de 45 °C (1,0 min), com incremento de temperatura de 30 °C min<sup>-1</sup> até 280 °C (4,17 min); logo após um incremento de 20 °C min<sup>-1</sup> até 300 °C (3 min);
- Vazão do gás de arraste (Hélio) constante em 1,2 mL min<sup>-1</sup>;
- Tempo total de corrida: 15 min.

Para o espectrômetro de massas, modo de ionização EI:

- Temperatura de *transfer line*: 250 °C;
- Temperatura da fonte de ionização: 210 °C;
- Modo de aquisição MS/MS;
- Pressão do gás argônio na cela de colisão: 2 mtorr.

As condições descritas a seguir foram utilizadas para o sistema GC-MS/MS após aumento do escopo de agrotóxicos, totalizando análise de 48 analitos (Tabela 4 e 5), condições estas, utilizadas durante o procedimento de validação do método. Dessa maneira, com o aumento do número de compostos analisados, o tempo de corrida passa de 15 para 30 min e as seguintes condições passam a ser utilizadas:

- Temperatura do injetor: temperatura inicial de 100 °C, mantida por 0,1 min, com incremento de temperatura de 200 °C min<sup>-1</sup> até 280 °C, mantida até o final da corrida cromatográfica;
- Volume de injeção: 5,0 µL (*splitless*);
- Programação da temperatura do forno da coluna: temperatura inicial de 50 °C (1,0 min), com incremento de temperatura de 10 °C min<sup>-1</sup> até 65 °C; logo após um incremento de 25 °C min<sup>-1</sup> até 180 °C; logo após novo incremento de 5 °C min<sup>-1</sup> até 280 °C (2,9 min);
- Vazão do gás de arraste (Hélio) constante em 1,0 mL min<sup>-1</sup>;
- Tempo total de corrida: 30 min.

Para o espectrômetro de massas, modo de ionização EI:

- Temperatura de *transfer line*: 250 °C;
- Temperatura da fonte de ionização: 210 °C;
- Modo de aquisição: MS/MS;

- Pressão do gás argônio na cela de colisão: 2 mtorr.

### 3.9.2 Otimização do sistema de detecção

Com o intuito de se obter as condições ótimas do sistema de detecção e também para obtenção do tempo de retenção de cada composto, primeiramente injetou-se cada composto de forma individual no modo *full scan*, na concentração  $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ . Após, realizou-se a identificação dos íons característicos para cada composto para posterior obtenção das fragmentações características de cada analito. Os íons selecionados foram monitorados no modo SIM no quadrupolo (Q1) e no quadrupolo (Q3) realizou-se o *full scan* no íon produto variando as energias de colisão entre 5 e 40 volts a fim de otimizar as melhores condições de detecção.

Com estes parâmetros foram então avaliadas as transições, no modo Monitoramento Seletivo de Reações (SRM) a serem utilizadas para a quantificação e confirmação dos compostos estudados. A transição de maior intensidade foi utilizada para a quantificação do analito e a segunda de maior intensidade para a confirmação do mesmo.

### 3.10 Avaliação e otimização do método de amostragem de ar por meio do trapeamento com sorvente polimérico

Conforme ilustrado na Figura 8, o sistema de trapeamento de ar utilizado para amostragem foi baseado em um sistema de amostragem ativa, onde o ar é forçado a passar pelos *traps* com a ajuda de uma bomba de vácuo. O sistema consiste de uma bomba para forçar a passagem do ar pelos *traps* e um medidor de vazão para controle do volume de ar amostrado. Considerando que vários compostos estudados possuem média volatilidade utilizou-se uma estufa para aquecimento do primeiro *trap*, onde é realizada a fortificação com os compostos em estudo. Um conjunto de três *traps* de vidro com dimensões de 12,5 cm de comprimento x 3 mm de diâmetro interno x 5 mm de diâmetro externo, conectados por meio de conectores de silicone, completam o dispositivo utilizado. Os conectores são acoplados aos *traps* externamente, de maneira que não entram em contato com o ar enquanto a

amostragem é realizada. A estufa para aquecimento e o *trap* 1 são utilizados apenas em laboratório, não sendo necessários quando o método é aplicado.

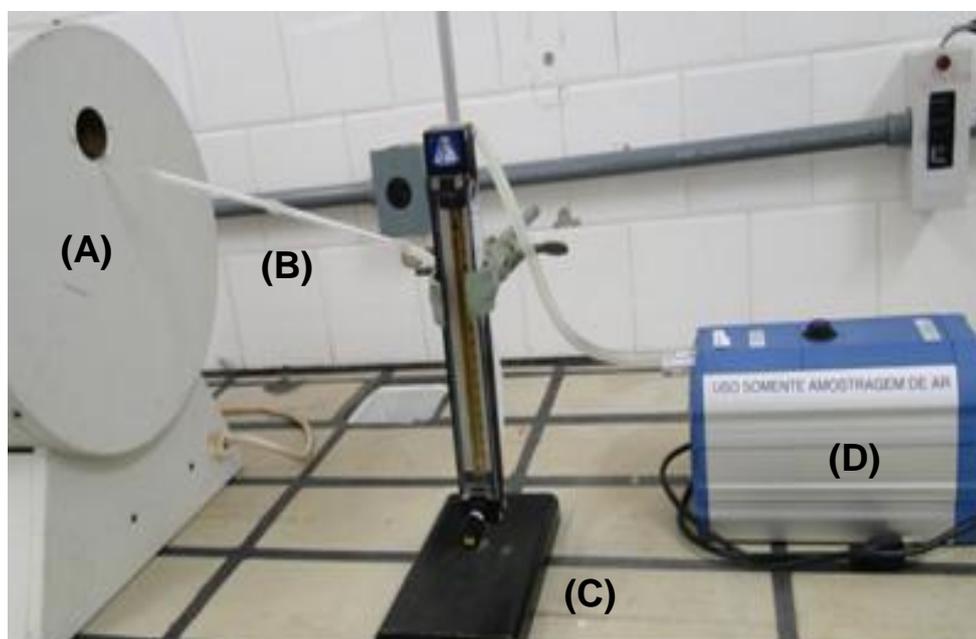


Figura 8 – Foto ilustrativa do sistema de amostragem de ar, sendo (A) estufa para aquecimento do *trap* 1; (B) conjunto de 3 *traps* unidos por conectores de silicone (*trap* 1 encontra-se dentro da estufa para aquecimento); (C) medidor de vazão e (D) bomba de vácuo.

A Figura 9 esquematiza os três *traps* conectados em série, onde o *trap* 1 corresponde ao *trap* vazio, *trap* 2 é o *trap* analítico e *trap* 3 chamado *trap* de segurança. A Figura 10 esquematiza o processo de migração e trapeamento dos analitos através dos *traps*.

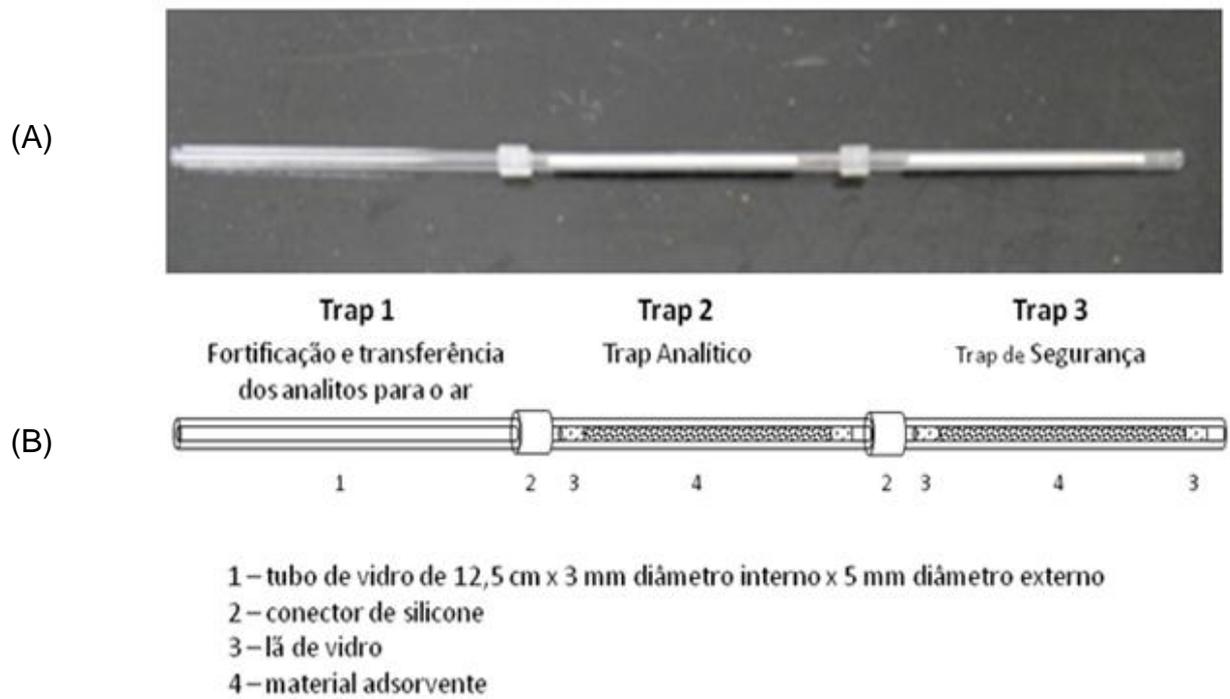


Figura 9 – (A) Foto ilustrativa dos três *traps* conectados em série; (B) Esquema dos três *traps* conectados em série, onde *trap 1* corresponde ao *trap* vazio, onde ocorre a fortificação e transferência dos analitos para o ar; *trap 2* é o *trap* analítico e *trap 3* chamado *trap* de segurança.

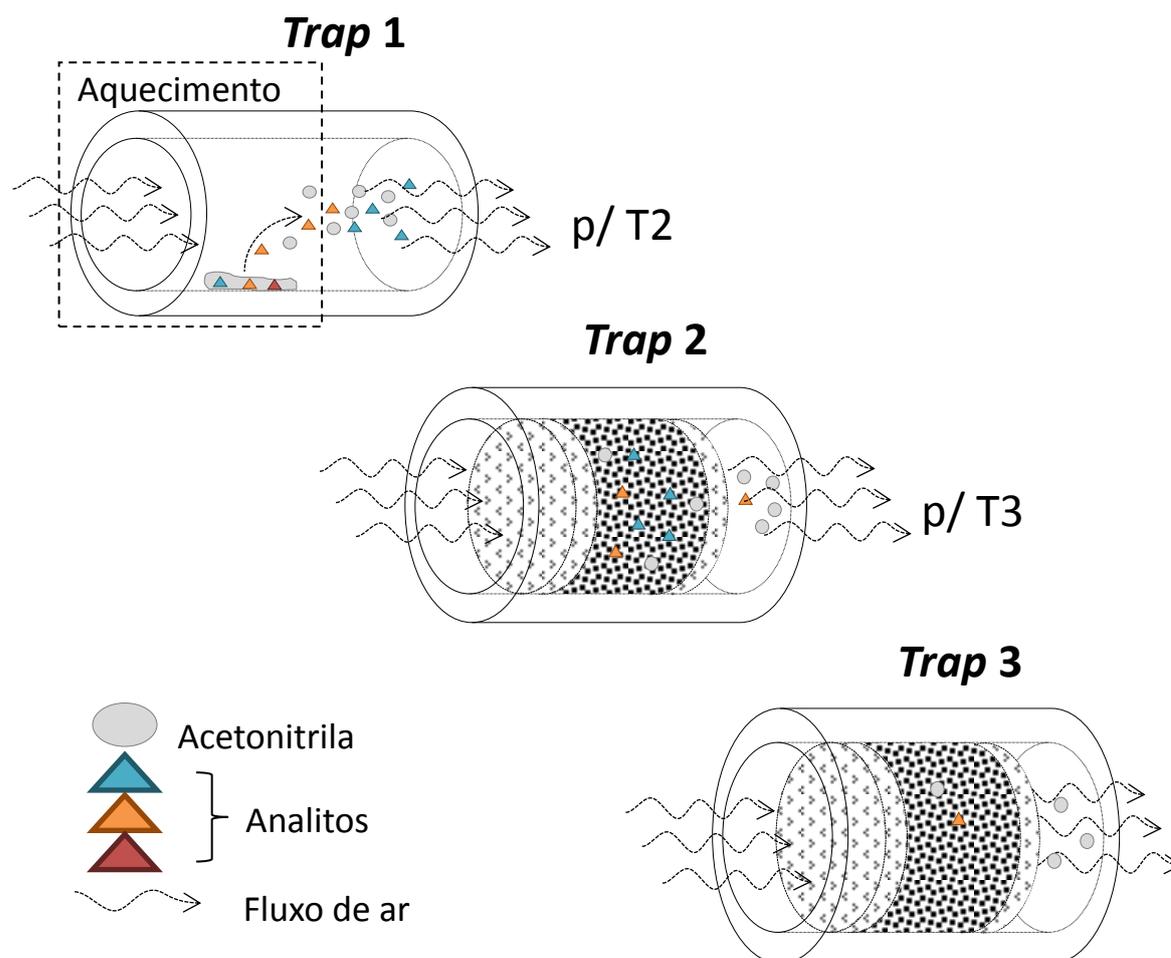


Figura 10 – Esquema do processo de amostragem de ar, demonstrando a migração e o trapeamento dos analitos através dos *traps* 1, 2 e 3.

O *trap* 1 é utilizado como local para fortificação com a mistura dos agrotóxicos, não sendo preenchido com nenhum tipo de material adsorvente, como pode ser observado nas Figuras 9 e 10. Este *trap* é colocado dentro da estufa aquecida logo após ter sido realizada a fortificação. O fato de manter este *trap* em aquecimento garante que os analitos em questão passem para a fase gasosa, forçando-os a migrar para o *trap* 2. Caso contrário, muitos compostos poderiam ficar aderidos ao *trap* 1.

A utilização do *trap* 1, bem como o aquecimento deste é um procedimento experimental, sendo utilizado para a etapa de fortificação, e o aquecimento é realizado para garantir que os compostos estejam na fase gasosa durante a amostragem. Na prática, quando o método é aplicado, são utilizados 2 *traps* (*trap* 2

e 3) e o aquecimento não é necessário, pois estes compostos já estarão disponíveis na atmosfera.

Por sua vez, o *trap 2*, também chamado *trap* analítico, é preenchido com o adsorvente, sendo neste *trap* que os agrotóxicos são retidos com a ajuda de uma bomba de vácuo que força a passagem de ar pelo dispositivo à uma vazão controlada por meio de um medidor de vazão. O *trap 3*, denominado neste trabalho como *trap* de segurança, é utilizado para avaliar a possível passagem dos analitos diretamente através do *trap 2*, ou seja, caso estes não fiquem totalmente retidos no *trap* analítico durante todo o procedimento de amostragem. Essa migração dos analitos do *trap 2* para o *trap 3* é conhecida como “*breakthrough*”, isto é, o avanço dos analitos de uma seção para outra, o que possibilita a identificação de falhas no processo de amostragem (FREIXO *et al.*, 2013). Em cada extremidade dos *traps 2* e *3* foi adicionado um pequeno pedaço de algodão de vidro silanizado para evitar perdas do adsorvente. Os *traps 2* e *3* foram preenchidos com 150 mg de sorvente Tenax TA em todos os ensaios realizados, ocupando, desta maneira, o máximo da capacidade do *trap*, como é ilustrado na Figura 9.

Neste trabalho optou-se por não realizar estudo da influência de parâmetros temporais, como umidade, temperatura e velocidade do vento durante as amostragens, pois estas foram realizadas em ambientes internos e, além disso, o adsorvente selecionado para o estudo possui a vantagem de ter baixa afinidade por água (RAINA & HALL, 2010).

Depois de transcorrido o tempo de amostragem, os *traps* contendo as amostras e/ou ensaios de fortificação (*trap 1*, *2* e *3* no caso de ensaios de fortificação e *traps 2* e *3* para aplicações do método) são transferidos para um dispositivo utilizado para Extração em Fase Sólida (SPE, do inglês *Solid Phase Extraction*). Esse sistema utiliza um dispositivo chamado *manifold*, que é composto por uma caixa de vácuo. Os *traps* são adaptados nos espaços reservados para conexão de cartuchos utilizando pequenos conectores de silicone, conforme ilustrado na Figura 11. Com os *traps* adaptados na posição vertical, o solvente de eluição é adicionado diretamente nos *traps* utilizando pipetador automático. O solvente utilizado para eluição foi acetona, sendo que não foram realizados testes com outros solventes.

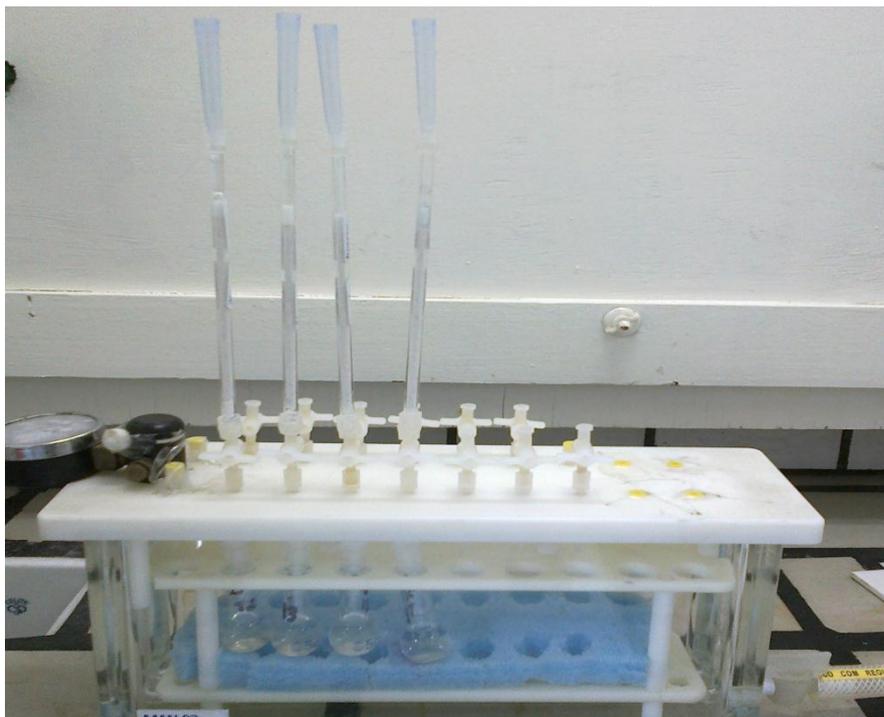


Figura 11 – Sistema de eluição dos compostos em estudo utilizando dispositivo *manifold*.

A passagem do solvente ocorre por sucção em função da utilização de uma bomba de vácuo e é controlada individualmente para cada cartucho através de válvulas. Baseado em trabalho realizado por DONATO (2012), o qual fez uso de dispositivo *manifold* para percolação de água, adotou-se uma vazão na faixa de 2,0 a 4,0 mL min<sup>-1</sup> para a passagem de solvente pelos *traps*. Quando a eluição é realizada com 2 mL de solvente, esse volume é adicionado em 4 porções de 0,5 mL, deixando o solvente em contato com o *trap* por 1 min a cada volume adicionado. No mesmo sentido, quando a eluição é realizada com 5 mL de solvente, este volume é adicionado em 5 porções de 1 mL, também deixando o solvente em contato com o *trap* por 1 min a cada passagem de 1 mL do solvente.

Após eluição dos analitos, as soluções dos *traps* 1, 2 e 3 foram filtradas em filtro de nylon de 0,2 µm para eliminar possíveis resíduos de algodão de vidro e/ou adsorvente. Após o processo de filtração, as soluções estão prontas para as análises por GC-MS/MS. Um esquema do processo de amostragem e preparo de amostra é demonstrado na Figura 12.

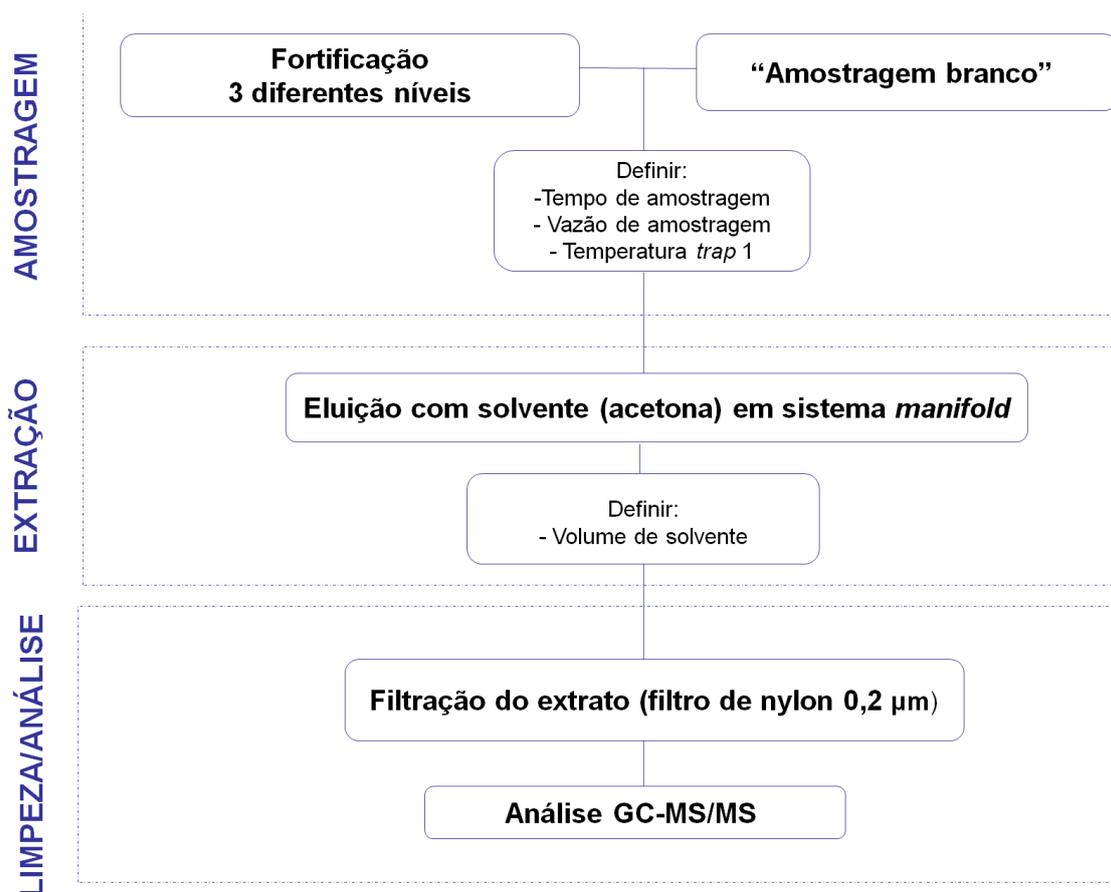


Figura 12 – Fluxograma geral representando as principais etapas envolvidas na amostragem e preparo da amostra usando trapeamento em sorvente polimérico.

### 3.10.1 Cálculos para determinação da concentração e recuperação dos analitos

Após cada amostragem todos os *traps* são analisados e a concentração dos compostos é determinada. A eluição é realizada utilizando o mesmo procedimento para todos os *traps*. A concentração de cada analito que não evaporou, permanecendo no *trap 1*, deve ser subtraída da concentração inicial, de maneira que essa diferença é utilizada para os cálculos de recuperação dos analitos. Em outras palavras, considera-se como 100% (ou concentração inicial) a diferença entre a concentração fortificada e a concentração que permanece no *trap 1* (o que corresponde à concentração que efetivamente passou para a fase gasosa).

A seguir são detalhados os cálculos realizados para determinação da concentração e recuperação dos analitos nos *trap 2* e *3*:

1. Inicialmente é necessário determinar a concentração de cada analito no *trap* 1, que representa a fração de analito que não foi transferida para a fase gasosa. Neste trabalho, esta concentração foi determinada pela comparação com a área do padrão de mesma concentração em todos os testes realizados e por meio da curva analítica durante a validação do método.
2. Em seguida, é determinada a concentração dos analitos transferida para a fase gasosa pela diferença entre a concentração inicial (concentração fortificada) e a concentração no *trap* 1 (calculada no item 1).
3. O próximo passo é determinar a concentração e a recuperação dos analitos no *trap* 2. O cálculo de recuperação no *trap* 2 é realizado considerando a concentração de analitos que foi transferida para o ar, determinada no item 2.
4. Para finalizar, a concentração e recuperação dos analitos no *trap* 3 é calculada seguindo o mesmo procedimento descrito no item 3.
5. A recuperação total de cada analito é determinada pela soma das recuperações nos *traps* 2 e 3.

### 3.10.2 Testes iniciais para otimização das condições de amostragem e eluição

Os primeiros testes realizados para otimização do sistema de amostragem e eluição de agrotóxicos por meio do trapeamento em sorvente polimérico estão demonstrados na Tabela 7. Estes testes foram realizados utilizando uma mistura de 12 agrotóxicos, conforme Tabela 4. No primeiro teste não foi realizado nenhum aquecimento do *trap* 1 (onde é realizada a fortificação); no teste 2, o *trap* 1 foi aquecido a 30 °C; e no teste 3, realizou-se aquecimento a 60 °C.

Tabela 7: Condições experimentais dos ensaios preliminares para otimização do processo de amostragem de ar.

Teste	Temperatura da estufa	Tempo de amostragem	Vazão de amostragem*	Volume de acetona para eluição
Teste 1	Sem aquecimento	2 h	87,5 mL min <sup>-1</sup>	2 mL
Teste 2	30 °C	2 h	87,5 mL min <sup>-1</sup>	2 mL
Teste 3	60 °C	2 h	87,5 mL min <sup>-1</sup>	2 mL

\* A vazão é obtida através de valores tabelados disponibilizados pelo fornecedor do medidor de vazão, que relacionam a vazão com o valor lido na escala do aparelho.

A etapa de aquecimento foi baseada no trabalho de BORRÁS *et al.* (2011), onde os autores realizaram o aquecimento dos agrotóxicos para introduzi-los na fase gasosa. No entanto, o estudo desses autores foi realizado em um simulador atmosférico de grande volume, onde os agrotóxicos foram aquecidos até volatilização.

Estes testes iniciais foram realizados utilizando vazão de 87,5 mL min<sup>-1</sup> e tempo de amostragem de 2 h para que o volume total de ar amostrado fosse no mínimo de 10 L, uma vez que volumes menores poderiam resultar em limites de detecção e quantificação muito altos. No entanto, nos testes e ensaios seguintes, esses valores foram variados para verificar o comportamento do sistema.

Para realização das fortificações adicionou-se 25 µL de uma mistura dos agrotóxicos em estudo na concentração de 10 mg L<sup>-1</sup> utilizando seringa de vidro. Após eluição, o volume final foi aferido para 5 mL em balão volumétrico, resultando em uma concentração final de 50 µg L<sup>-1</sup>. Dessa maneira, para cálculos de recuperação um padrão foi preparado no solvente na mesma concentração, sendo que os cálculos de recuperação foram realizados pela comparação com a área deste padrão. Os resultados destes testes estão detalhados no item 4.3.1.

Realizados os testes iniciais, conforme detalhado na Tabela 7, o próximo passo foi a realização do planejamento fatorial 2<sup>4</sup> (avaliação da interação entre quatro variáveis ou fatores, em dois diferentes níveis cada), a fim de definir as variáveis que poderiam ter influência no método e encontrar as condições mais adequadas de amostragem e eluição.

### 3.10.3 Planejamento Experimental

Como discutido no item 2.10, o planejamento experimental fatorial tem como objetivo ajudar a identificar as variáveis que apresentam maior influência dentro de um sistema e, conseqüentemente, definir as condições ideais. Nesse trabalho, o planejamento experimental permitiu identificar, dentre as variáveis selecionadas, as que demonstraram ser mais críticas para o método de amostragem e eluição, além de auxiliar na definição das melhores condições para estas etapas. Neste trabalho, foram definidas, inicialmente, como variáveis influentes para o método, a temperatura da estufa, tempo de amostragem, vazão de amostragem e volume de solvente de eluição.

Dessa maneira, o planejamento experimental consistiu na variação de quatro fatores (ou variáveis), com a geração de 27 ensaios: 16 ensaios com as quantidades projetadas, 3 de repetição do ponto central e outros 8 de extrapolações das quantidades. O planejamento foi realizado utilizando a mistura de 12 agrotóxicos, detalhados na Tabela 4.

Conforme pode ser visualizado na Tabela 8, que demonstra os 16 ensaios gerados pela combinação das variáveis, a vazão de amostragem foi estudada em 40 e 87,5 mL min<sup>-1</sup>; o tempo de amostragem em 3 e 6 h; o volume de acetona em 2 e 5 mL e a temperatura do *trap* 1 em 30 e 60 °C.

Tabela 8 – Demonstração das 16 possíveis combinações das 4 variáveis definidas para o planejamento fatorial 2<sup>4</sup>.

<b>Variáveis</b>		<b>(-)</b>	<b>(+)</b>
<b>1</b>	Vazão (mL min <sup>-1</sup> )	40	87,5
<b>2</b>	Tempo (h)	3	6
<b>3</b>	Volume acetona (mL)	2	5
<b>4</b>	Temperatura (°C)	30	60

<b>Ensaio</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
1	-	-	-	-
2	+	-	-	-
3	-	+	-	-
4	+	+	-	-

5	-	-	+	-
6	+	-	+	-
7	-	+	+	-
8	+	+	+	-
9	-	-	-	+
10	+	-	-	+
11	-	+	-	+
12	+	+	-	+
13	-	-	+	+
14	+	-	+	+
15	-	+	+	+
16	+	+	+	+

A Tabela 9 esquematiza as condições experimentais do planejamento 2<sup>4</sup>, incluindo valores médios e valores extrapolados, totalizando 27 ensaios.

Tabela 9 – Condições experimentais do planejamento 2<sup>4</sup>, incluindo valores médios e valores extrapolados.

	Vazão (mL min <sup>-1</sup> )	Tempo (h)	Volume acetona (mL)	Temperatura (°C)
Ensaio	1	2	3	4
1	40,0	3,0	2,0	30
2	87,5	3,0	2,0	30
3	40,0	6,0	2,0	30
4	87,5	6,0	2,0	30
5	40,0	3,0	5,0	30
6	87,5	3,0	5,0	30
7	40,0	6,0	5,0	30
8	87,5	6,0	5,0	30
9	40,0	3,0	2,0	60
10	87,5	3,0	2,0	60
11	40,0	6,0	2,0	60
12	87,5	6,0	2,0	60

	Vazão (mL min <sup>-1</sup> )	Tempo (h)	Volume acetona (mL)	Temperatura (°C)
Ensaio	1	2	3	4
13	40,0	3,0	5,0	60
14	87,5	3,0	5,0	60
15	40,0	6,0	5,0	60
16	87,5	6,0	5,0	60
17	64,0	4,5	3,5	45
18	64,0	4,5	3,5	45
19	64,0	4,5	3,5	45
20	15,0	4,5	3,5	45
21	113,0	4,5	3,5	45
22	64,0	1,5	3,5	45
23	64,0	7,5	3,5	45
24	64,0	4,5	0,5	45
25	64,0	4,5	6,5	45
26	64,0	4,5	3,5	15
27	64,0	4,5	3,5	75

Quando o volume de acetona para eluição foi 0,5, 2 ou 5 mL, para realização das fortificações, adicionou-se 25 µL de uma mistura dos agrotóxicos em estudo na concentração 10 mg L<sup>-1</sup> utilizando seringa de vidro. Neste caso, o volume final foi aferido para 5 mL em balão volumétrico, resultando em uma concentração final de 50 µg L<sup>-1</sup>. Quando o volume de acetona utilizado para eluição foi de 6,5 mL (ensaio 25), adicionou-se 50 µL da mistura dos agrotóxicos na concentração 10 mg L<sup>-1</sup> e o volume final foi aferido para 10 mL em balão volumétrico, resultando também na concentração final de 50 µg L<sup>-1</sup>.

Baseado no fato de que o ensaio 16 apresentou melhores resultados de recuperação para a maioria dos compostos em estudo, optou-se por seguir os estudos utilizando as condições deste ensaio, o qual utiliza maior vazão e maior tempo de amostragem, dentre os 16 ensaios principais, possibilitando maior concentração dos analitos e, conseqüentemente, resultando em menores limites de detecção e quantificação para o método. Os resultados para cada ensaio do planejamento fatorial são demonstrados no item 4.3.2.

### 3.10.4 Confirmação dos resultados do planejamento experimental e teste final para otimização das condições de amostragem e eluição

O ensaio 16 do planejamento experimental foi repetido para confirmação dos resultados. Logo após, um último teste (teste 4) foi realizado antes de definir as melhores condições, conforme Tabela 10. Optou-se por verificar se, alterando o tempo de amostragem de 6 para 8 h e mantendo as demais condições de amostragem, os resultados se mantinham, para que o método desenvolvido pudesse ser aplicado em estudos de exposição ocupacional de trabalhadores que estão em contato com esses compostos e os resultados, por sua vez, comparados com os Limite de Tolerância Ponderado no Tempo (TWA). O valor TWA é a exposição média permitida ao longo de um período de tempo especificado, normalmente 8 h (considerando jornada de 40 h semanais) (PEDROZA, 2011; PORTAL ISEGNET, 2013).

As fortificações foram realizadas como descritas no item 3.10.2, resultando em uma concentração final de  $50 \mu\text{g L}^{-1}$ . Novamente para cálculos de recuperação um padrão foi preparado no solvente na mesma concentração. Os resultados de recuperação de cada composto encontram-se no item 4.3.3.

Tabela 10 – Condições de amostragem do Ensaio 16 do planejamento experimental e Teste 4, onde o tempo de amostragem passou de 6 para 8 h.

	<b>Temperatura da estufa</b>	<b>Tempo de amostragem</b>	<b>Vazão de amostragem</b>	<b>Volume de acetona para eluição</b>
Ensaio 16	60 °C	6 h	87,5 mL min <sup>-1</sup>	5 mL
Teste 4	60 °C	8 h	87,5 mL min <sup>-1</sup>	5 mL

### 3.10.5 Aumento do escopo de agrotóxicos e escolha das melhores condições para amostragem e eluição

Antes de iniciar a validação do método, optou-se por ampliar o número de compostos estudados, sendo que, além dos 12 compostos que estavam sendo

estudados, adicionou-se mais 36 compostos (Tabelas 4 e 5), totalizando 48 analitos. As condições de amostragem e eluição foram definidas pelo Teste 4 (Tabela 10). Dessa maneira, um novo teste (Teste 5) foi realizado utilizando a nova mistura de agrotóxicos e compostos relacionados. As fortificações foram realizadas como descritas no item 3.10.2, resultando em uma concentração final de  $50 \mu\text{g L}^{-1}$ . Novamente os cálculos de recuperação foram realizados pela comparação do resultado com um padrão no solvente no mesmo nível. Nas condições definidas pelo Teste 4, o volume total de ar amostrado foi de 42 L. Os resultados de recuperação de cada analito encontram-se no item 4.3.4.

### **3.11 Validação de método para determinação de resíduos de agrotóxicos e compostos relacionados em ar utilizando sorvente polimérico para trapeamento**

Definidas as melhores condições cromatográficas de separação dos compostos desejados (item 3.9.1) e as condições mais adequadas para amostragem e eluição dos compostos em estudo (Tabela 10, Teste 4), realizou-se a validação do método proposto, utilizando a mistura de 48 analitos. Os parâmetros utilizados para validação foram: seletividade, curva analítica e linearidade, coeficiente de determinação ( $r^2$ ), limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ), exatidão (recuperação) e precisão (ANVISA, 2003b; INMETRO, 2011).

#### **3.11.1 Seletividade**

Conforme descrito no item 2.12.1, a seletividade pode ser obtida por meio da comparação da amostra com e sem analito (s), sendo que nenhum interferente deve eluir no tempo de retenção da(s) substância(s) de interesse, as quais devem estar bem separadas dos demais compostos presentes na amostra (INMETRO, 2011).

Neste trabalho, a seletividade foi avaliada através da injeção de amostras sem a presença dos compostos em estudo (amostras branco) e amostras fortificadas ao nível de  $12 \mu\text{g m}^{-3}$  com o objetivo de verificar a presença de algum interferente no mesmo tempo de retenção e com mesmos íons de quantificação e confirmação para

cada analito. Desta forma, compararam-se os cromatogramas obtidos por injeções no sistema GC-MS/MS de “amostras branco” com amostras fortificadas.

O estudo e análise do “branco” em ar atmosférico não são muito discutidos na literatura, mesmo assim, optou-se por realizar uma chamada “amostragem branco”, conforme descrito no item 3.7 deste trabalho. Esta amostragem consistiu em deixar o dispositivo de amostragem em funcionamento durante 8 h, ou seja, o ar passando forçadamente através dos *traps*, nas mesmas condições dos estudos de recuperação, no entanto, sem a adição dos compostos em estudo. Este procedimento foi realizado em uma sala pouco frequentada nas dependências da Universidade Federal de Santa Maria, no entanto, fora do Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas (LARP). Como destacado no item 3.7, além destas amostragens “branco”, também foram efetuados testes do sorvente polimérico utilizado, por meio do contato deste sorvente com o solvente de eluição por 5 min e posterior análise por GC-MS/MS para comprovar a ausência dos analitos neste material. Este procedimento avalia a ocorrência de co-eluição entre os compostos de interesse e possíveis interferentes resultantes do processo de amostragem, do solvente utilizado ou do sorvente polimérico.

### 3.11.2 Determinação da linearidade das curvas analíticas

A linearidade das curvas analíticas foi avaliada a partir das soluções analíticas preparadas em solvente (acetona), conforme descrito no item 3.11.2 nas concentrações de 25,0 50,0; 100,0; 150,0; 200,0; 250,0 e 500,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Cada ponto das curvas analíticas foi injetado três vezes e os dados de regressão linear foram obtidos com o auxílio do programa Microsoft Excel<sup>®</sup>.

A partir desses dados foi calculada a média das áreas, o RSD (%) do equipamento, o coeficiente de determinação ( $r^2$ ) e a faixa de linearidade através da regressão linear para cada composto analisado por GC-MS/MS, com o auxílio do programa Microsoft Excel<sup>®</sup>.

### 3.11.3 Limite de Detecção e Limite de Quantificação do instrumento e do método

O LOD do instrumento ( $LOD_i$ ) e o LOQ do instrumento ( $LOQ_i$ ) para cada composto foi estimado a partir da relação sinal/ruído calculada pelo *software* do GC-MS/MS, considerando no mínimo 3 e 10 vezes a razão do sinal pela linha de base (ruído), respectivamente. Os limites instrumentais foram obtidos pela injeção de soluções analíticas de diferentes concentrações preparadas em acetona.

Os limites de detecção e quantificação instrumentais foram expressos em  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Já os limites de detecção e quantificação do método,  $LOD_m$  e  $LOQ_m$ , foram expressos em  $\mu\text{g m}^{-3}$ , mesma unidade que são fornecidos os limites de tolerância desses compostos no ar, de acordo com o item 2.5.

Para estimar  $LOD_m$  e  $LOQ_m$  a partir do  $LOD_i$  e  $LOQ_i$  (ou simplesmente efetuar a conversão das concentrações de  $\mu\text{g L}^{-1}$  para  $\mu\text{g m}^{-3}$ ), considera-se o volume de acetona utilizado para eluição, que foi de 5 mL, o volume total de ar amostrado de 42 L ( $0,042 \text{ m}^3$ ), obtido considerando a vazão de amostragem de  $87,5 \text{ mL min}^{-1}$  e tempo de amostragem de 8 h.

Os resultados dos limites de detecção e quantificação do instrumento e do método para cada composto estudado são detalhados no item 4.4.3.

### 3.11.4 Ensaios de fortificação para avaliação da exatidão do método

Neste trabalho, para o estudo da exatidão do método, foram realizados ensaios de fortificação de acordo com o método otimizado, avaliando-se, dessa maneira, a recuperação dos compostos em estudo. Os níveis de fortificação dependem do LOQ de cada composto, sendo definido o nível 1 como 1 LOQ, nível 2 como 2 LOQ e nível 3 como 4 LOQ.

Para cada nível de fortificação foram realizadas três replicatas, injetando três vezes cada, obtendo-se um  $n=9$  (3 extrações x 3 injeção cada).

A exatidão foi calculada de acordo com a equação da reta de cada analito sendo o resultado expresso em percentagem de recuperação, determinado através da Equação 5:

$$R (\%) = \frac{C_1 - C_2}{C_3} \times 100 \quad \text{Equação (5)}$$

Sendo:

$C_1$ = concentração do analito na amostra fortificada;

$C_2$ = concentração do analito na amostra não fortificada;

$C_3$ = concentração do analito adicionada à amostra fortificada.

Como as fortificações são realizadas em dias diferentes, para cada nível de fortificação foi preparada uma nova curva analítica, seguindo os mesmos critérios destacados no item 3.11.2, ou seja, nas concentrações de 25,0 50,0; 100,0; 150,0; 200,0; 250,0 e 500,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Os resultados obtidos devem estar em uma margem de 70 a 120% de recuperação e ter um RSD menor ou igual a 20% para serem aceitos como satisfatórios, segundo HUBNER (1998) e SANCO (2010).

As fortificações foram realizadas a partir de uma solução contendo uma mistura dos compostos estudados na concentração 10  $\text{mg L}^{-1}$  para os três maiores níveis de fortificação (volumes de 25, 50 e 100  $\mu\text{L}$ , respectivamente) e utilizando uma solução na concentração 5  $\text{mg L}^{-1}$  para o menor nível de fortificação (volume de 25  $\mu\text{L}$ ). Após fortificação no *trap* 1, o mesmo foi colocado dentro de estufa à 60 °C e o dispositivo foi acionado, ou seja, a bomba de vácuo ligada e o ar forçado a passar pelos *traps* numa vazão de 87,5  $\text{mL min}^{-1}$  durante 8 h. Transcorrido este tempo, realizou-se a eluição dos analitos com 5 mL de acetona, sendo os *traps* conectados em dispositivo *manifold* com conectores de silicone. A solução foi filtrada em filtro de nylon de 0,2  $\mu\text{m}$  e em seguida realizada análise por GC-MS/MS da solução resultante de cada *trap*. Os níveis de fortificação para cada analito estudado, assim como os resultados de recuperação estão detalhados no item 4.4.4.

### 3.11.5 Precisão (repetitividade e precisão intermediária)

A precisão foi calculada através do RSD, expresso pela Equação 6:

$$\text{RSD} (\%) = \frac{s}{X_m} \times 100 \quad \text{Equação (6)}$$

Onde:

s = estimativa do desvio padrão absoluto;

$$s = \{\sum(X_i - X_m)^2/N-1\}^{1/2};$$

X<sub>m</sub> = média das medidas em replicatas;

N = número de medidas.

A precisão do instrumento foi estudada injetando-se no sistema GC-MS/MS, três vezes cada nível de concentração das soluções preparadas no solvente (acetona). A avaliação da precisão do método foi realizada através do RSD<sub>pi</sub>, uma vez que as fortificações são realizadas sempre em dias diferentes, não sendo possível obter precisão do método em termos de RSD<sub>r</sub>. Portanto, a precisão intermediária (RSD<sub>pi</sub>) do método foi avaliada em todos os níveis de fortificação estudados.

### 3.12 Aplicação do método

Considerando o amplo crescimento do número de indústrias para fabricação de agrotóxicos, assim como o crescimento do número de empresas que comercializam esses produtos com o intuito de atender a produção e demanda mundial, o método desenvolvido e validado foi aplicado para a determinação de resíduos de agrotóxicos e compostos relacionados em ar em empresa que armazena e comercializa agrotóxicos. As amostras foram coletadas em três diferentes ambientes: na sala de armazenamento destes compostos (sala 1); em sala ao lado deste depósito, onde são armazenados os micronutrientes comercializados por esta empresa e onde se localiza a porta de acesso para o depósito de agrotóxicos (sala 2) e, por último, na sala onde trabalham alguns dos funcionários desta empresa (sala 3). Na sala de armazenamento dos agrotóxicos e no ambiente que dá acesso a este depósito, as coletas foram realizadas a uma altura de 1,7 m do chão, correspondendo à altura média dos funcionários da empresa. Já na sala onde funcionários da empresa trabalham, a coleta foi realizada a uma altura de 1,2 m do chão, correspondendo à altura média dos trabalhadores

quando sentados em suas mesas de trabalho. Foi realizada uma coleta em cada uma das salas mencionadas.

A Figura 13 esquematiza os ambientes de amostragem na empresa selecionada para o estudo, demonstrando as medidas das salas, bem como a disposição dos móveis e a localização do amostrador. A área total e volume de cada sala também são detalhados (considerando altura das salas de 5 m). A sala onde são depositados os agrotóxicos é equipada com exaustor elétrico, no entanto, nenhuma destas salas é equipada com climatizador. As amostras foram coletadas em setembro de 2013.

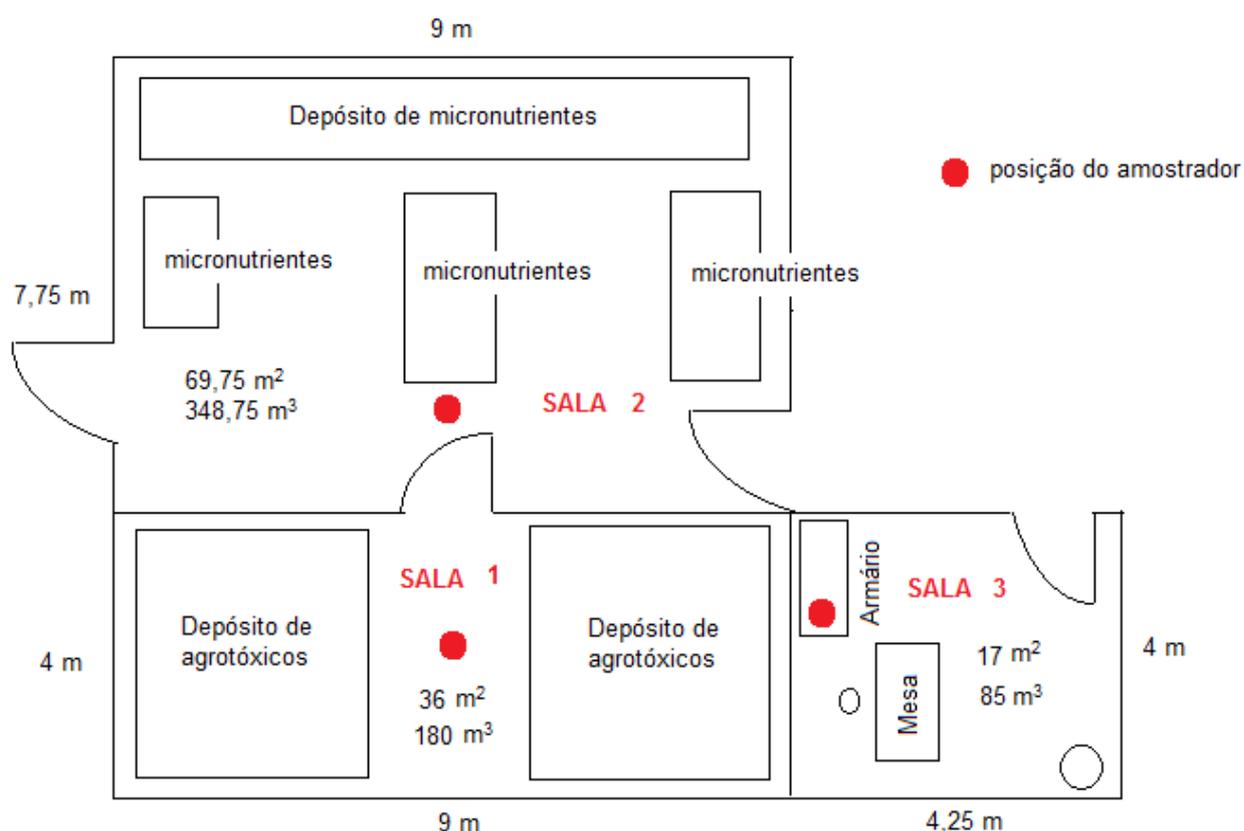


Figura 13 – Esquema das salas em empresa que armazena e comercializa agrotóxicos onde foram realizadas as coletas de ar para análise de agrotóxicos e compostos relacionados.

O método também foi aplicado em laboratório de análise de agrotóxicos. A coleta foi realizada na sala de preparo de padrões do laboratório a uma altura de 1

m do chão, que corresponde à altura da bancada onde as soluções de trabalho são preparadas pelos analistas. A sala é equipada com sistema de exaustão e também possui climatizador. A Figura 14 esquematiza este ambiente de coleta, demonstrando as medidas da sala, bem como a disposição dos móveis e a localização do amostrador. A área total da sala é de 9 m<sup>2</sup> e o volume de 32,85 m<sup>3</sup> (considerando altura da sala de 3,65 m). As amostras também foram coletadas em setembro de 2013.

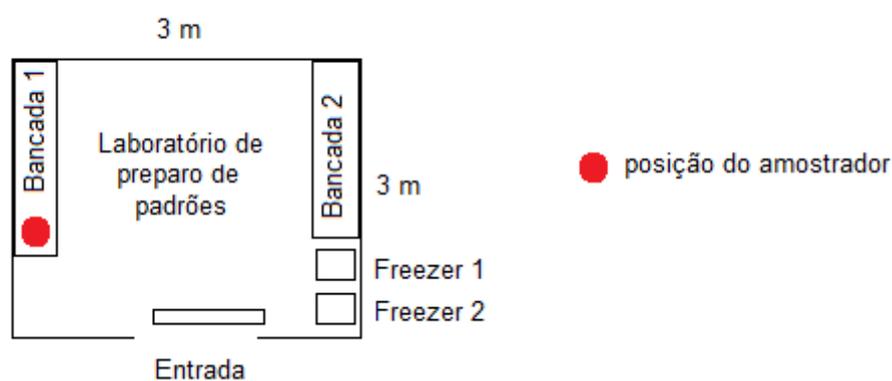


Figura 14 – Esquema do laboratório de preparo de padrões de agrotóxicos onde foi realizada a coleta de ar para análise de agrotóxicos e compostos relacionados.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 4.1 Condições cromatográficas para determinação de agrotóxicos e compostos relacionados em ar

As condições cromatográficas de referência citadas no item 3.9.1 foram ajustadas no desenvolvimento deste trabalho. Para otimização das condições de amostragem e eluição utilizou-se uma mistura de 12 compostos, sendo inicialmente otimizadas as condições cromatográficas para estes analitos. Em seguida, o número de compostos foi ampliado para 48, de maneira que diferentes condições cromatográficas foram otimizadas e utilizadas durante o procedimento de validação do método.

A Figura 15 demonstra em (A) um cromatograma obtido para uma amostra “branco” (obtida conforme descrito no item 3.7) onde nota-se a ausência de picos que possam interferir na análise dos compostos em estudo, e em (B) um cromatograma modo SRM dos compostos na concentração  $100 \mu\text{g L}^{-1}$ , preparado em solvente e obtido por meio das condições cromatográficas descritas no item 3.9.1, destacando o pico cromatográfico referente à bifentrina com seus respectivos íons.

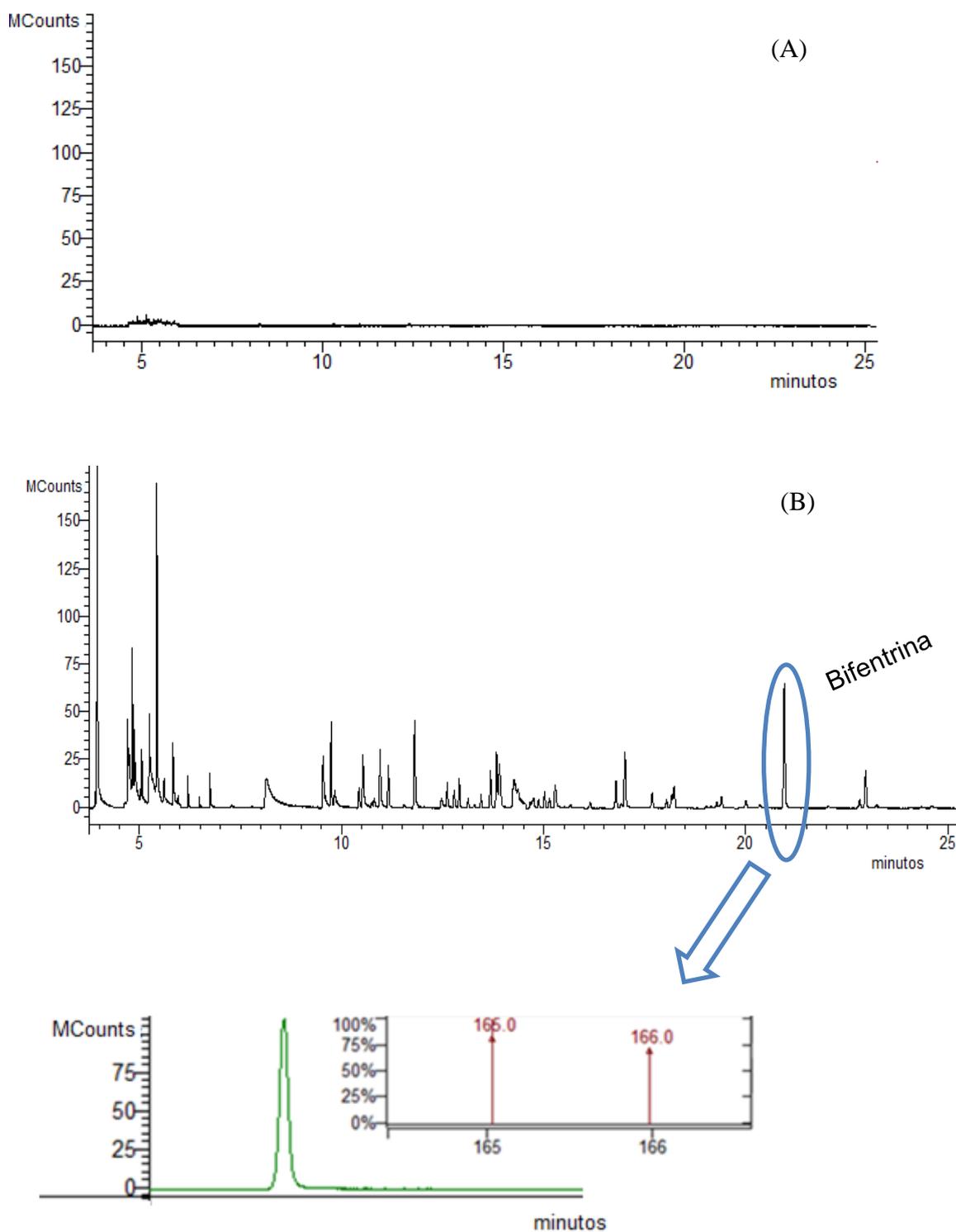


Figura 15 – Cromatograma modo SRM obtido por GC-MS/MS para (A) amostra “branco” da matriz e (B) solução analítica preparada em solvente, contendo os compostos em estudo na concentração de  $100 \mu\text{g L}^{-1}$ . Destacando o pico cromatográfico referente à bifentrina com seus respectivos íons.

## **4.2 Condições de análise por GC-MS/MS para determinação de agrotóxicos e compostos relacionados em ar**

A Tabela 11 apresenta os agrotóxicos e compostos relacionados determinados por GC-MS/MS, utilizando o modo de ionização EI, no modo de aquisição SRM com seus respectivos tempos de retenção ( $t_R$ ), segmentos de análise, íons precursores e íons produtos para quantificação e confirmação de cada substância em estudo. De acordo com esta tabela, o tempo de corrida foi dividido em 15 segmentos programados de acordo com o tempo de retenção de cada analito. Para cada composto estudado, adotaram-se duas transições características, sendo a de maior intensidade destinada para a quantificação e a outra para a confirmação dos íons.

Tabela 11 – Agrotóxicos determinados por GC-MS/MS, utilizando o modo de ionização EI, no modo SRM com seus respectivos segmentos de análise, tempos de retenção ( $t_R$ ), íons precursores e produtos para a quantificação e confirmação.

Seg	Compostos	$t_R$ (min)	Íon precursor (m/z)	1ª Transição – quantificação		2ª Transição – confirmação	
				Íon produto (m/z)	Energia de colisão (eV)	Íon produto (m/z)	Energia de colisão (eV)
1	PCBTF	3,95	180	145	20	130	20
	PCT	4,82	126	91	22	65	22
2	3,4 DCBTF	5,05	179	144	20	143	20
	1,2 Diclorobenzeno	5,42	146	75	20	111	20
	Mononitro	6,20	179	144	18	143	18
3	Diuron	6,20	143	93	20	93	20
	Diclorvós	6,75	185	93	10	63	15
	Dinitro	7,77	159	124	8	73	8
4	3,4 Dicloroanilina	8,16	161	99	16	126	16
5	Ketona	9,53	139	77	15	103	15
	Trifluralina	9,73	306	264	10	206	15

	Clorprofam	9,84	213	127	20	171	10
	HCH alfa	10,42	219	147	20	109	25
	Hexaclorobenzeno	10,51	284	214	35	249	30
	Clorpirifós-metilico	10,51	288	286	10	93	20
6	Atrazina	10,82	215	200	10	173	10
	HCH beta	10,92	219	147	20	109	25
	Oxirano	10,94	138	103	12	77	12
	HCH gama (lindano)	11,14	219	147	20	109	25
7	HCH delta	11,79	219	147	20	109	25
	Pirimicarbe	11,80	166	96	15	83	18
	2,4D Éster	12,49	185	155	18	143	18
8	Alacloro	12,60	188	160	10	130	40
	Metalaxil	12,76	206	132	20	162	10
	Propanil	12,89	161	99	20	126	20

	Heptacloro	12,90	274	239	20	237	20
	Pirimifós-metílico	13,11	290	151	15	180	10
	Clorpirifós-etílico	13,68	314	258	15	286	15
	Fentiona	13,85	278	109	20	125	18
9	Aldrin	13,88	263	193	30	191	30
	Parationa-etílica	13,90	291	109	20	81	25
	Bromofós-metílico	14,35	331	93	40	287	40
	Pendimetalina	14,64	252	161	15	191	10
	Bromoketal	14,77	259	173	8	69	8
10	Heptacloro epóxido endo	15,00	353	263	15	282	15
	Procimidona	15,28	283	96	10	67	20
	Heptacloro epóxido exo	15,06	272	141	30	237	18
	Endossulfan alfa	16,14	241	206	10	170	20
	4,4 DDE	16,78	318	176	40	246	25
11	Cresoxim-metílico	16,98	206	116	10	130	18
	Dieldrin	16,99	277	206	15	241	10
	2,4 DDD	17,00	235	165	20	199	20

	Endrin	17,68	263	193	30	191	30
12	Endossulfan beta	18,01	241	170	20	206	10
	DDT I	18,18	235	165	10	199	20
13	Endossulfan sulfato	19,27	272	235	10	237	15
	DDT II	19,37	235	165	10	199	20
14	Trifenilfosfato (PI)	19,97	325	226	18	169	18
	Bifentrina	20,93	181	166	10	165	20
15	Mirex	22,95	272	237	10	143	40

A Figura 16 apresenta cromatogramas empregando MS/MS no modo SRM de soluções analíticas preparadas no solvente acetona na concentração  $100 \mu\text{g L}^{-1}$  com suas respectivas transições de quantificação e confirmação para os compostos hexaclorobenzeno e bifentrina. Destaca-se a alta seletividade da técnica empregando MS/MS no modo SRM.

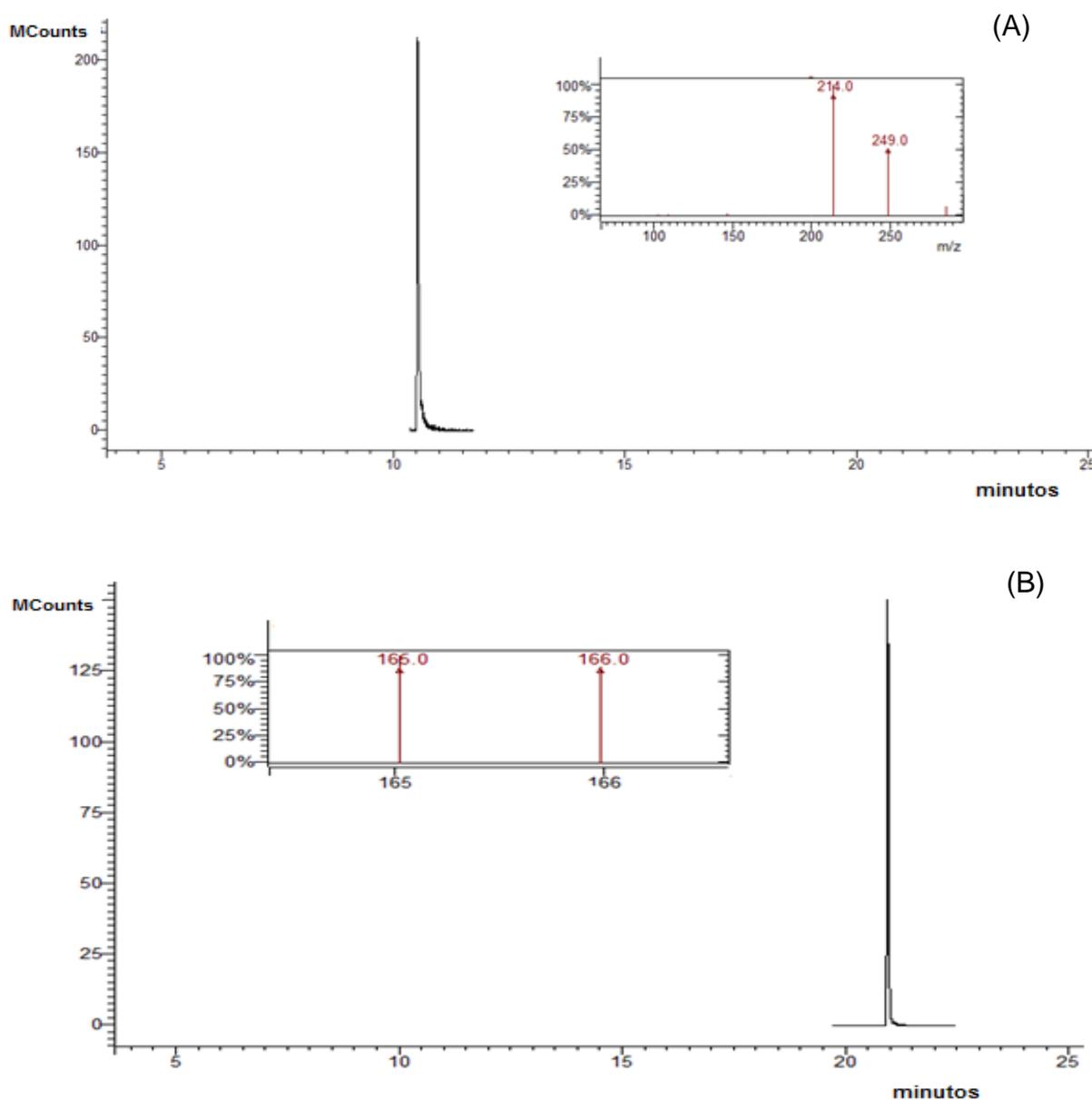


Figura 16 – Cromatograma SRM obtido por GC-MS/MS para uma solução analítica  $100 \mu\text{g L}^{-1}$  preparada em solvente para os analitos: (A) hexaclorobenzeno e (B) bifentrina, com destaque para os respectivos íons.

### 4.3 Desenvolvimento e otimização do método de amostragem e eluição de agrotóxicos e compostos relacionados em ar

O desenvolvimento e otimização do método de amostragem de ar e eluição dos analitos usando trapeamento em sorvente polimérico foi realizado em quatro etapas diferentes. Inicialmente foram realizados três testes preliminares, variando a temperatura de aquecimento do *trap* 1. A partir desses resultados, foi realizado o planejamento experimental, utilizando mais três variáveis, seguido de mais alguns testes para confirmar esses resultados. Por último, após analisar os resultados obtidos com os 12 analitos estudados, o número de compostos em estudo foi ampliado para um total de 48 compostos. Os resultados e discussão de cada uma destas etapas estão descritas a seguir.

#### 4.3.1 Testes iniciais para otimização das condições de amostragem e eluição.

Os resultados dos primeiros testes realizados para otimização do sistema de amostragem e eluição de agrotóxicos estão demonstrados na Tabela 12. Na execução destes testes, a única condição variada foi a temperatura de aquecimento do *trap* 1, mantendo-se constante o tempo e vazão de amostragem (2 h e 87,5 mL min<sup>-1</sup>, respectivamente) e volume de acetona para eluição (2 mL), conforme detalhado na Tabela 7 do item 3.10.2. Os resultados estão descritos em termos de número de compostos que obtiveram recuperação entre 70 e 120%,

Tabela 12: Resultados dos ensaios preliminares realizados para a otimização do processo de amostragem de ar.

<b>Teste</b>	<b>Temperatura da estufa</b>	<b>Resposta*</b>
Teste 1	Sem aquecimento	5
Teste 2	30 °C	5
Teste 3	60 °C	10

\*Resposta: número de compostos recuperados entre 70 e 120%.

Finalizando os testes preliminares, verificou-se que sem aquecimento do trap 1, muitos compostos permaneciam neste *trap*, ou seja, não eram transferidos para o ar e, portanto, não eram transferidos para o *trap* analítico. Baseado nestes resultados e no trabalho de BORRÁS *et al.* (2011), onde os agrotóxicos foram aquecidos até volatilização, o *trap* 1 foi aquecido dentro de uma estufa, logo após ter sido efetuada a fortificação, facilitando e/ou garantindo a passagem dos analitos para a fase gasosa. Analisando a Tabela 12, percebe-se que o aquecimento do *trap* 1, a 60 °C, garantiu a recuperação de 10 dos 12 agrotóxicos estudados na faixa de 70 a 120%, enquanto que sem aquecimento, ou com aquecimento de 30 °C, apenas 5 compostos foram recuperados nesta faixa.

#### 4.3.2 Planejamento experimental

Finalizados e analisados os três testes preliminares, foram escolhidas as variáveis e seus diferentes níveis para execução do planejamento fatorial 2<sup>4</sup>. A Tabela 13 demonstra as variáveis utilizadas e seus níveis, juntamente com a resposta de cada ensaio. Assim como nos testes iniciais, a resposta de cada ensaio é dada em termos de número de compostos recuperados entre 70 e 120%.

A Figura 17 esquematiza os resultados obtidos pelo planejamento experimental.

Tabela 13 – Condições experimentais do planejamento 2<sup>4</sup> com resposta obtida para cada ensaio.

	Vazão (mL min <sup>-1</sup> )	Tempo (h)	Volume de acetona (mL)	Temperatura (°C )	
Ensaio	1	2	3	4	Resposta*
1	40,0	3,0	2,0	30	5
2	87,5	3,0	2,0	30	5
3	40,0	6,0	2,0	30	4
4	87,5	6,0	2,0	30	6

	<b>Vazão (mL min<sup>-1</sup>)</b>	<b>Tempo (h)</b>	<b>Volume de acetona (mL)</b>	<b>Temperatura (°C )</b>	
<b>Ensaio</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>Resposta*</b>
5	40,0	3,0	5,0	30	3
6	87,5	3,0	5,0	30	6
7	40,0	6,0	5,0	30	4
8	87,5	6,0	5,0	30	5
9	40,0	3,0	2,0	60	6
10	87,5	3,0	2,0	60	8
11	40,0	6,0	2,0	60	6
12	87,5	6,0	2,0	60	5
13	40,0	3,0	5,0	60	9
14	87,5	3,0	5,0	60	8
15	40,0	6,0	5,0	60	8
16	87,5	6,0	5,0	60	12
17	64,0	4,5	3,5	45	6
18	64,0	4,5	3,5	45	8
19	64,0	4,5	3,5	45	7
20	15,0	4,5	3,5	45	1
21	113,0	4,5	3,5	45	8
22	64,0	1,5	3,5	45	5
23	64,0	7,5	3,5	45	9
24	64,0	4,5	0,5	45	6
25	64,0	4,5	6,5	45	7
26	64,0	4,5	3,5	15	3
27	64,0	4,5	3,5	75	8

\*Resposta: número de compostos recuperados na faixa de 70 a 120%.

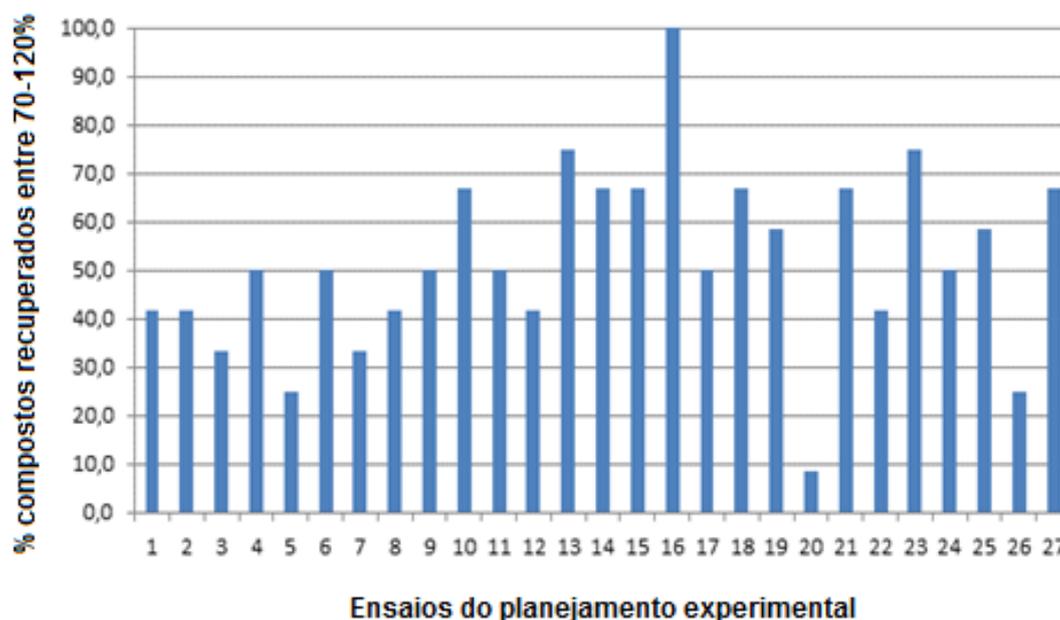


Figura 17 – Gráfico demonstrando o percentual de compostos que apresentaram recuperação entre 70 e 120% para os 27 ensaios do planejamento fatorial.

De acordo com a Tabela 13 e Figura 17, com as condições do ensaio 16 foi possível recuperar todos os agrotóxicos na faixa entre 70 e 120%. Portanto, optou-se por seguir os estudos utilizando as condições deste ensaio, o qual utiliza a maior vazão e maior tempo de amostragem, além do maior volume de acetona, dentre as condições estudadas.

Outra observação importante na Figura 17 é de que os ensaios com menor percentual de compostos recuperados na faixa indicada são os ensaios 20 e 26. O ensaio 20 utiliza a menor vazão de todos os ensaios ( $15 \text{ mL min}^{-1}$ ), o que provavelmente explica que apenas um dos compostos foi recuperado na faixa indicada, ou seja, a baixa vazão do ar através dos *traps* não favorece a volatilização dos compostos do *trap* 1. Já no ensaio 26, a provável explicação para recuperação de apenas 3 compostos na faixa é a baixa temperatura de aquecimento do *trap* 1 ( $15 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Além disso, pode-se afirmar que os 8 primeiros ensaios do planejamento pertencem ao grupo de ensaios que utiliza temperatura de  $30 \text{ }^{\circ}\text{C}$  para o *trap* 1, sendo que, neste caso, nenhum resultado apresentou mais de 6 compostos recuperados entre 70 e 120%.

Conforme detalhado no item 2.10, a partir da Tabela 13 é possível construir a matriz de coeficientes de contrastes, a qual apresenta os sinais para todas as possíveis interações entre os níveis das variáveis. Para obter esses sinais algébricos é preciso multiplicar, elemento a elemento, as colunas da matriz de planejamento. Primeiro devem ser multiplicadas duas a duas, depois três a três, e por final, o produto de todas as quatro colunas (TEÓFILO & FERREIRA, 2006; NETO *et al.*, 2010), lembrando que os níveis das variáveis quantitativas são representados pelos sinais “-“ para o nível mais baixo e “+” para o nível mais alto. A Tabela 14 demonstra os coeficientes de contraste do planejamento realizado neste estudo.

Tabela 14 – Coeficientes de contraste para o planejamento fatorial 2<sup>4</sup>.

1	2	3	4	12	13	14	23	24	34	123	124	134	234	1234
-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+
+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
-	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-
+	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+	+	+
-	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	+	-
+	-	+	-	-	+	-	-	+	-	-	+	-	+	+
-	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+
+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-
-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-
+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+
-	+	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-	+
+	+	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-
-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+
+	-	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	+	-	-
-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Com o auxílio da planilha de dados, esta matriz de coeficientes de contraste é convertida em gráficos que apresentam a significância de cada variável, bem como a sua interação com outra(s), possibilitando a determinação das variáveis realmente significativas no experimento (NETO *et al.*, 2010). A Figura 18 ilustra o gráfico dos

efeitos das variáveis, onde se observa que a variância do erro padrão, obtido pela reprodução do ponto central, foi de  $\pm 2,48\%$ .

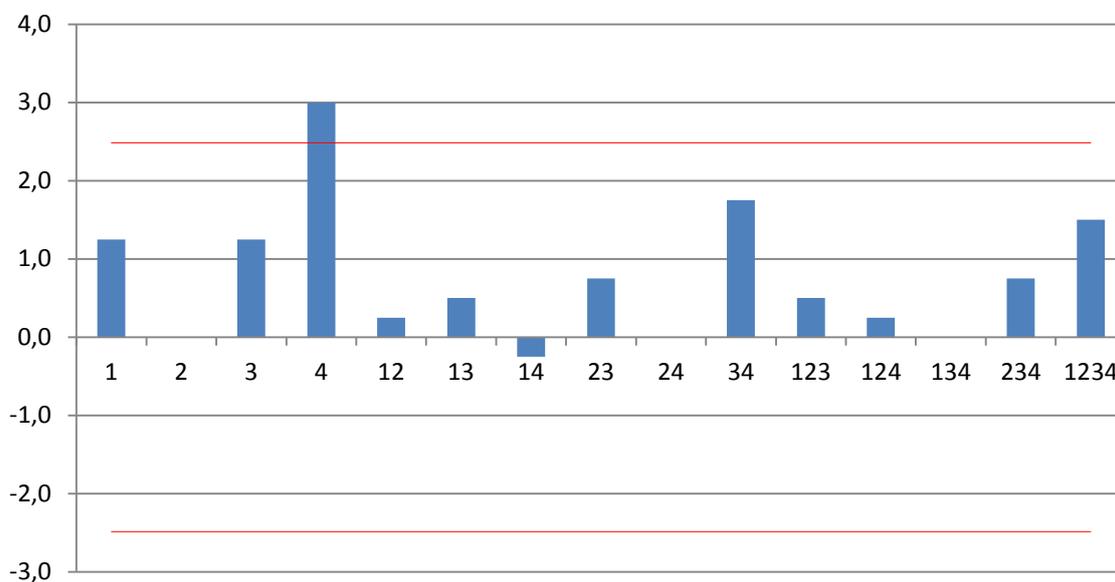


Figura 18 – Gráfico dos efeitos das variáveis: (1) vazão de amostragem ( $\text{mL min}^{-1}$ ); (2) tempo de amostragem (h); (3) volume de acetona para eluição (mL) e (4) temperatura de aquecimento do *trap* 1 ( $^{\circ}\text{C}$ ).

Conforme a Figura 18, podemos observar que individualmente apenas a variável 4 (temperatura de aquecimento do *trap* 1) tem efeito significativo sobre o processo (está fora dos limites do erro padrão). No entanto, ao modificarmos mais de uma variável (2, 3 ou 4 variáveis), este efeito deixa de ser significativo (nenhum destes está fora dos limites do erro padrão), demonstrando que o fator que tem mais influência sobre o processo de amostragem de ar em estudo é a temperatura de aquecimento do *trap* 1. Como discutido em outros momentos, sem aquecimento do *trap* 1, muitos compostos permanecem neste *trap*, ou seja, não são transferidos para a fase gasosa e, portanto, não são transferidos para o *trap* analítico.

#### 4.3.3 Confirmação dos resultados do planejamento experimental e teste final para otimização das condições de amostragem de ar

Para confirmação dos resultados obtidos no planejamento experimental, o ensaio 16, que resultou em todos os compostos recuperados entre 70 e 120%, foi repetido, e, para finalizar, um último teste (Teste 4) foi realizado antes de definir as melhores condições. A única condição alterada no Teste 4 foi o tempo de amostragem, que passou de 6 h, utilizado no Ensaio 16, para 8 h. Detalhes das condições destes testes encontram-se no item 3.10.4.

A Tabela 15 detalha a recuperação para cada agrotóxico estudado no ensaio 16 do planejamento experimental e teste 4. Os testes foram realizados em duplicata, portanto, a tabela demonstra os resultados da média de recuperação (%) e o RSD (%).

Tabela 15 – Resultados de recuperação média de cada composto para o Ensaio 16 do planejamento experimental e Teste 4, conforme condições descritas no item 3.10.4.

COMPOSTOS	Ensaio 16		Teste 4	
	rec (%)	RSD (%)	rec (%)	RSD (%)
2,4 DDD	83,6	0,2	82,1	3,6
Alacloro	77,8	10,9	92,0	14,5
Aldrin	76,2	10,4	102,1	2,6
Bifentrina	86,1	11,7	72,5	1,4
DDT	85,9	0,4	82,7	2,3
Dieldrin	86,5	5,1	97,9	0,8
Endossulfan alfa	74,5	4,4	97,0	8,8
Endossulfan beta	78,7	11,1	73,8	13,2
Endossulfan sulfato	82,8	10,6	70,0	2,2
Endrin	87,5	4,8	85,8	3,5
HCH gama (lindano)	80,3	7,9	93,1	13,2
Trifluralina	83,6	10,0	111,2	4,7

Observa-se que em ambos os casos, todos os compostos foram recuperados em uma faixa adequada. No Ensaio 16 as recuperações médias ficaram entre 74,5 e 87,5% com RSD  $\leq$  11,7. Para o Teste 4, quando o tempo de amostragem variou de 6 para 8 h, com as demais condições mantidas, as recuperação médias ficaram entre 70,0 e 111,2% com RSD  $\leq$  14,5%.

Como em ambos os casos, os resultados ficaram dentro das faixas indicadas, optou-se por seguir os estudos utilizando as condições do Teste 4, onde a amostragem é realizada por 8 h (maiores detalhes no item 3.10.4).

#### 4.3.4 Aumento do escopo de compostos analisados e escolha das melhores condições para amostragem e eluição

Definidas as condições de amostragem e eluição de agrotóxicos em ar como sendo as referentes ao Teste 4 e verificando que nestas condições os compostos tiveram recuperações entre 70,0 e 111,2% e valores de RSD  $\leq$  14,5%, optou-se por ampliar o número de compostos estudados antes de iniciar o processo de validação do método, por meio do Teste 5, como detalhado no item 3.10.5. Nesse caso, o número de compostos foi ampliado para 48 analitos. A Tabela 16 esquematiza as condições definidas para este último teste e os resultados em termos de número de compostos recuperados entre 70 e 120%. Como o teste foi realizado em duplicata a resposta é a média dos dois testes realizados.

Tabela 16 – Resumo das condições de amostragem e eluição para o Testes 5 com resposta em termos de número de compostos com recuperação entre 70 e 120%.

<b>Teste</b>	<b>Temperatura da estufa</b>	<b>Tempo de amostragem</b>	<b>Vazão de amostragem</b>	<b>Volume de acetona</b>	<b>Resposta*</b>
Teste 5	60 °C	8 h	87,5 mL min <sup>-1</sup>	5 mL	41

\*Resposta: número de compostos recuperados na faixa de 70 a 120%

A Tabela 16 informa que 41 de um total de 48 compostos foram recuperados entre 70 e 120%, o que corresponde a 85,4% dos compostos analisados.

A Tabela 17 detalha os resultados de recuperação para cada composto analisado. O teste foi realizado em duplicata, portanto, a tabela apresenta a recuperação média e o RSD (%).

Tabela 17 – Recuperação média de cada composto e RSD (%) para o Teste 5, conforme condições descritas na Tabela 16

<b>COMPOSTOS</b>	<b>rec (%)</b>	<b>RSD (%)</b>
1,2 diclorobenzeno	82,5	12,7
2,4 DDD	116,0	2,4
2,4 D éster	121,3	2,8
3,4 DCBTF	81,3	17,8
3,4 dicloroanilina	68,4	30,6
4,4 DDE	107,9	29,0
Alacloro	118,8	0,9
Aldrin	98,5	7,8
Atrazina	111,2	11,0
Bifentrina	92,0	0,8
Bromofós-metílico	130,9	0,9
Bromoketal	112,8	14,4
Clorpirifós-etílico	117,7	9,9
Clorpirifós-metílico	93,7	1,0
Clorprofam	107,1	12,4
Cresoxim-metílico	102,1	6,8
Diuron	86,6	13,6
DDT	123,2	1,3
Diclorvós	76,5	19,5
Dieldrin	103,1	5,3
Dinitro	82,0	10,7
Endossulfan alfa	103,6	5,3
Endossulfan beta	117,8	1,5

<b>COMPOSTOS</b>	<b>rec (%)</b>	<b>RSD (%)</b>
Endossulfan sulfato	106,2	7,0
Endrin	134,4	5,9
Fentiona	126,6	1,0
HCH alfa	99,7	10,8
HCH beta	111,8	5,3
HCH delta	95,7	21,1
HCH gama (lindano)	89,5	8,1
Heptacloro	104,3	5,8
Heptacloro epóxido endo	97,6	6,5
Heptacloro epóxido exo	101,2	4,8
Hexaclorobenzeno	100,0	2,3
Ketona	98,1	18,1
Metalaxil	110,4	5,1
Mirex	107,6	3,0
Mononitro	85,6	14,7
Oxirano	106,0	17,5
Parationa-etílica	123,4	6,5
PCBTF	115,4	4,2
PCT	89,5	14,3
Pendimetalina	110,2	15,2
Pirimicarbe	107,6	14,6
Pirimifós-metílico	116,5	8,8
Procimidona	118,4	3,2
Propanil	103,7	6,9
Trifluralina	96,0	11,4

As informações da Tabela 17 demonstram que apenas um composto teve recuperação média abaixo de 70%, correspondendo ao metabólito 3,4 dicloroanilina. Possivelmente, nesse caso, ocorreram perdas do analito durante o procedimento de amostragem e eluição, uma vez que o valor de RSD (%) ficou acima de 20%, o que indica uma diferença bastante acentuada entre os resultados dos dois ensaios de

fortificação. O resultado abaixo de 70% também pode ser resultado de problemas relacionados com a estabilidade deste composto, sendo possível, por exemplo, a ocorrência de interações com o próprio solvente de eluição (acetona).

Com recuperações acima de 120% encontram-se 6 compostos. Segundo HUBER (1998) e SANCO (2010), os intervalos aceitáveis de recuperação para análises de resíduos estão entre 70 e 120%, com RSD (%) de até 20%.

A Figura 19 apresenta estes resultados em termos de percentual de compostos recuperados em três diferentes faixas. Podemos observar que apenas 2,1% dos compostos apresentaram recuperação abaixo de 70%; 12,5% dos compostos apresentaram recuperações acima de 120% e 85,4% com recuperação na faixa de 70 a 120%.

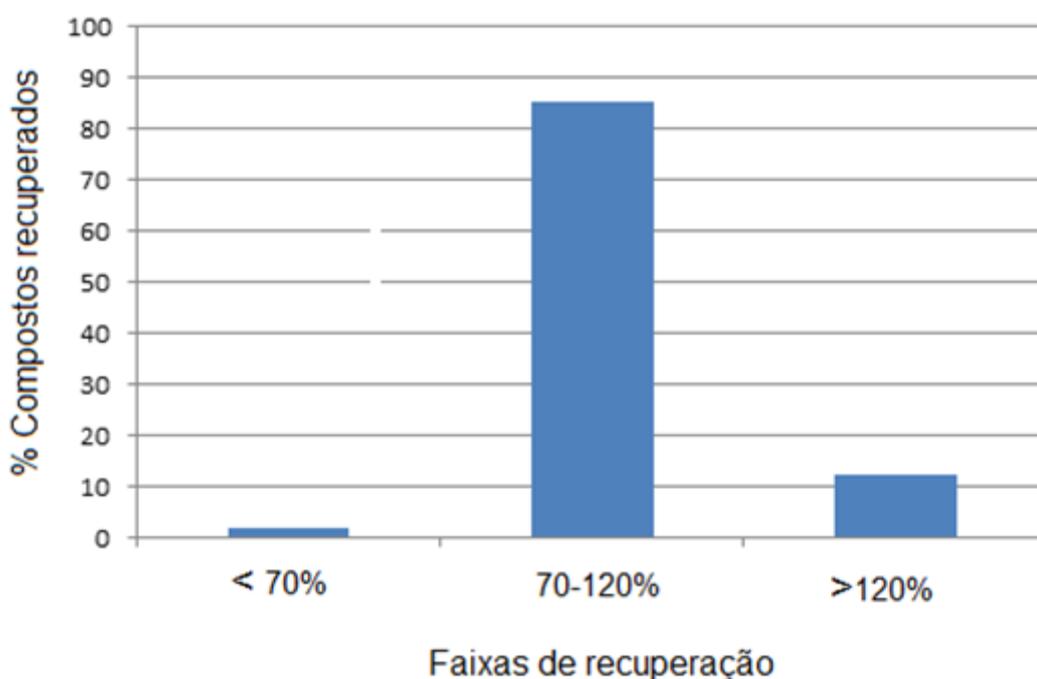


Figura 19 – Percentual de compostos que apresentaram recuperações médias nas seguintes faixas: menor que 70%, entre 70 e 120% e acima de 120% para o Teste 5.

Analisando os resultados de precisão em termos de RSD (%) na Tabela 17, observam-se 3 resultados acima de 20%, correspondendo aos compostos 3,4 dicloroanilina (30,6%), 4,4 DDE (29,0%) e HCH delta (21,1%), resultados estes que não estão de acordo com o que é recomendado para a validação de método. Estes

valores de RSD superiores a 20% possivelmente são resultados de perdas durante o procedimento de amostragem e eluição dos analitos, resultando em uma diferença bastante pronunciada entre os dois ensaios, ou então resulta de problemas relacionados com a estabilidade destes compostos. Como citado anteriormente, é possível também a ocorrência de interações com o próprio solvente de eluição.

A Figura 20 apresenta os resultados de precisão em termos de RSD (%) em três diferentes faixas. Podemos observar que 61% dos resultados de RSD foram menores que 10%, 33% ficaram entre 10 e 20% e 6% ficaram fora da faixa indicada, ou seja, valores maiores que 20%. Sendo assim, podemos concluir que 94% dos resultados encontram-se na faixa indicada.

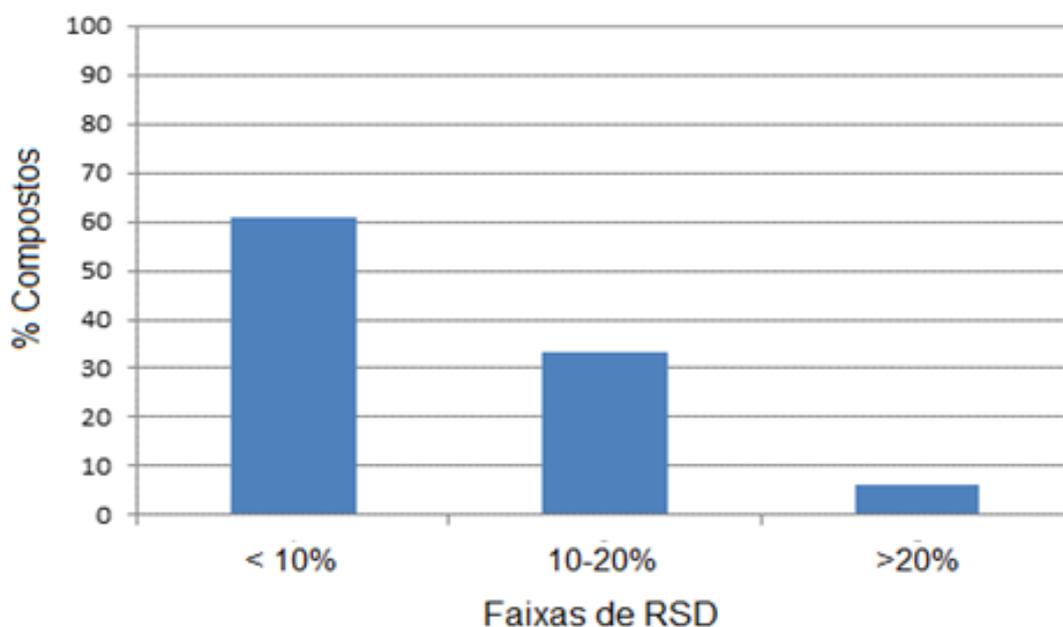


Figura 20 – Percentual de compostos que apresentaram RSD (%) nas seguintes faixas: menor que 10%, entre 10 e 20% e acima de 20% para o Teste 5.

#### **4.4 Validação do método para determinação de resíduos de agrotóxicos e compostos relacionados em ar**

A validação do método foi realizada utilizando GC-MS/MS, seguindo o procedimento descrito na Figura 21. Os compostos estudados estão relacionados nas Tabelas 4 e 5. Todas as soluções analíticas empregadas neste estudo foram

preparadas no solvente acetona. Foram avaliados os seguintes parâmetros de validação: seletividade, curva analítica e linearidade, coeficiente de determinação ( $r^2$ ), limite de detecção (LOD), limite de quantificação (LOQ), exatidão (recuperação) e precisão.

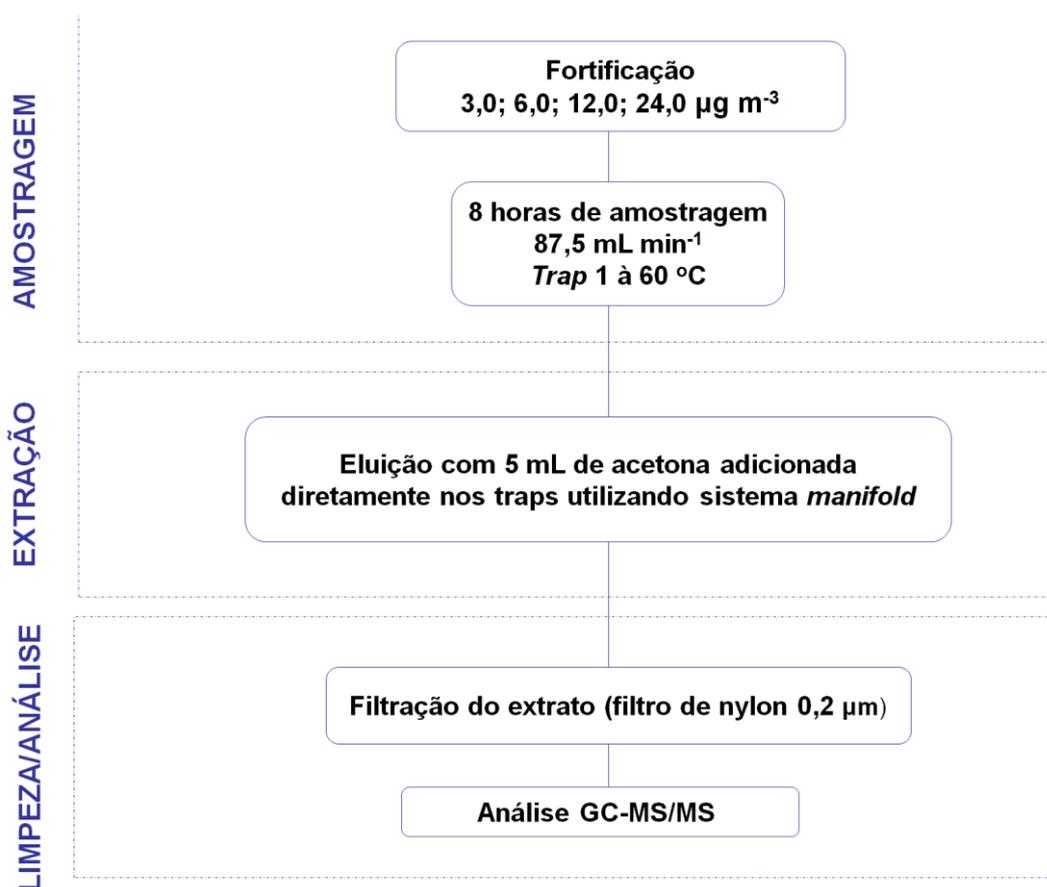


Figura 21 – Fluxograma do método de amostragem e eluição otimizado para determinação de agrotóxicos e compostos relacionados em ar.

#### 4.4.1 Seletividade e análise de solventes e reagentes

A seletividade do método foi assegurada, uma vez que não há interferentes com os mesmos íons de quantificação e confirmação nos mesmos tempos de retenção de cada agrotóxico nas amostras “branco”, conforme observado na Figura 22. Nesta figura observa-se o cromatograma da amostra “branco”, obtida após amostragem de 8 h sem fortificação, conforme detalhado no item 3.7 no modo SRM.

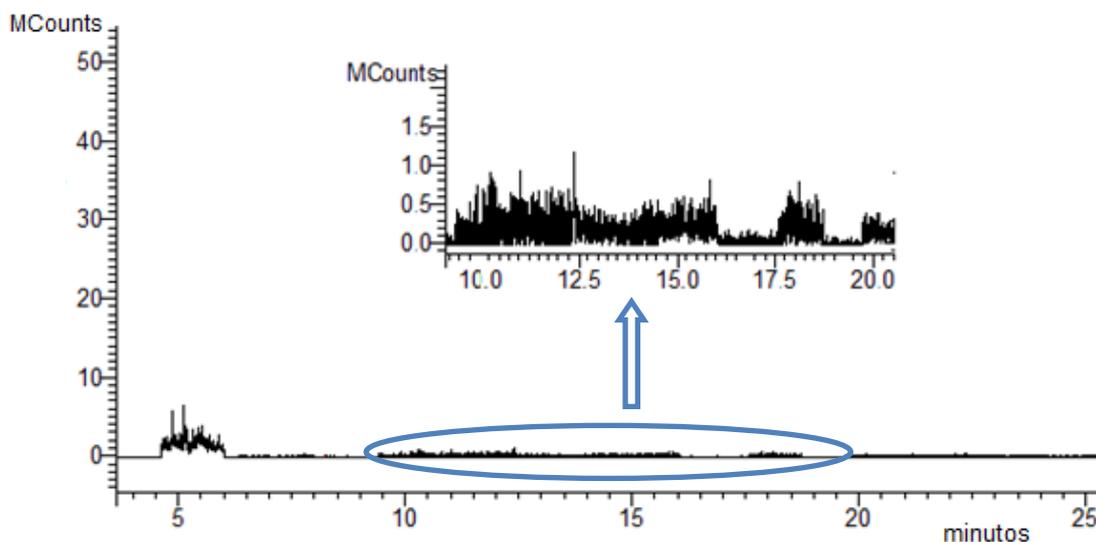


Figura 22 – Cromatograma amostra “branco” obtido utilizando GC-MS/MS no modo SRM.

Na Figura 22 observa-se que nas amostras “branco” não existem picos interferentes, ou seja, picos com os mesmos íons de quantificação e confirmação nos mesmos tempos de retenção de cada agrotóxico, sendo que se observam sinais mais intensos apenas próximo aos 5 min de corrida que correspondem aos sinais resultantes do solvente acetona. Nota-se, no entanto, um ruído relativamente grande, como demonstrado em visão ampliada do cromatograma. Conforme detalhado no item 3.7 também foi analisado o “branco” do adsorvente, obtido pelo contato do adsorvente com acetona por 5 min, sendo que os cromatogramas resultantes foram bastante semelhantes ao observado na Figura 22, com ruídos com praticamente as mesmas intensidades. Nota-se, portanto, que apesar de não existirem picos interferentes, o ruído é expressivo, o que pode explicar alguns resultados de recuperação acima de 120% apresentados na Tabela 17. Dessa maneira, pode-se afirmar que apesar da limpeza realizada no adsorvente polimérico através do procedimento descrito no item 3.8, o ruído observado nos cromatogramas pode afetar alguns resultados de recuperação, principalmente em compostos que possuem picos cromatográficos menos intensos, devido à dificuldade na integração destes picos.

## 4.4.2 Curva analítica e linearidade

A Tabela 18 apresenta as equações das curvas analíticas e seus respectivos coeficientes de determinação ( $r^2$ ), bem como a faixa de concentração linear para cada composto estudado.

Tabela 18 – Faixa de concentração linear, equações das curvas analíticas e respectivos coeficientes de determinação ( $r^2$ ) para cada composto estudado.

Compostos	Faixa de concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	Equação da Curva	$r^2$
1,2 diclorobenzeno	25 – 250	$y = 6,59 \times 10^6 x + 2,51 \times 10^7$	0,9919
2,4 DDD	25 – 250	$y = 1,29 \times 10^6 x - 1,40 \times 10^7$	0,9921
2,4 D Ester	50 – 500	$y = 3,53 \times 10^5 x - 1,67 \times 10^7$	0,9965
3,4 DCBTF	25 – 250	$y = 1,33 \times 10^6 x + 7,70 \times 10^6$	0,9911
3,4 dicloroanilina	25 – 250	$y = 9,28 \times 10^5 x - 2,66 \times 10^6$	0,9978
4,4 DDE	25 – 250	$y = 6,84 \times 10^5 x - 1,87 \times 10^6$	0,9943
Alacloro	25 – 250	$y = 2,18 \times 10^5 x - 3,76 \times 10^6$	0,9941
Aldrin	25 – 250	$y = 8,91 \times 10^5 x + 4,62 \times 10^6$	0,9910
Atrazina	50 – 500	$y = 1,82 \times 10^5 x - 7,28 \times 10^6$	0,9978
Bifentrina	25 – 250	$y = 1,24 \times 10^6 x - 2,29 \times 10^7$	0,9973
Bromofós-metílico	50 – 500	$y = 2,18 \times 10^5 x - 8,19 \times 10^6$	0,9987
Bromoketal	50 – 500	$y = 4,01 \times 10^5 x - 5,05 \times 10^6$	0,9986
Clorpirifos-etílico	25 – 250	$y = 1,11 \times 10^6 x - 3,23 \times 10^7$	0,9932
Clorpirifos-metílico	50 – 500	$y = 1,36 \times 10^5 x - 2,79 \times 10^5$	0,9970
Clorprofam	50 – 500	$y = 2,39 \times 10^5 x - 1,07 \times 10^7$	0,9929
Cresoxim-metílico	25 – 250	$y = 1,11 \times 10^5 x - 3,36 \times 10^6$	0,9900
Diuron	25 – 250	$y = 1,08 \times 10^5 x - 1,83 \times 10^5$	0,9959
DDT	25 – 250	$y = 7,81 \times 10^5 x - 1,05 \times 10^7$	0,9978
Diclorvós	25 – 250	$y = 3,31 \times 10^5 x - 1,81 \times 10^6$	0,9961
Dieldrin	25 – 250	$y = 6,75 \times 10^4 x - 1,02 \times 10^6$	0,9975
Dinitro	50 – 500	$y = 6,53 \times 10^4 x - 2,76 \times 10^6$	0,9903

<b>Compostos</b>	<b>Faixa de concentração (<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>	<b>Equação da Curva</b>	<b><math>r^2</math></b>
Endossulfan alfa	25 – 250	$y = 5,98 \times 10^4 x - 2,65 \times 10^5$	0,9971
Endossulfan beta	25 – 250	$y = 8,49 \times 10^4 x - 3,14 \times 10^5$	0,9971
Endossulfan sulfato	50 – 500	$y = 5,24 \times 10^4 x - 2,24 \times 10^6$	0,9931
Endrin	25 – 250	$y = 1,55 \times 10^5 x - 7,71 \times 10^5$	0,9989
Fentiona	50 – 500	$y = 2,00 \times 10^6 x - 1,22 \times 10^8$	0,9904
HCH alfa	25 – 250	$y = 4,56 \times 10^5 x - 1,79 \times 10^6$	0,9944
HCH beta	25 – 250	$y = 4,89 \times 10^5 x - 2,38 \times 10^6$	0,9972
HCH delta	25 – 250	$y = 1,96 \times 10^5 x - 3,07 \times 10^6$	0,9970
HCH gama (lindano)	25 – 250	$y = 5,10 \times 10^5 x - 1,49 \times 10^6$	0,9958
Heptacloro	25 – 250	$y = 8,04 \times 10^5 x - 9,57 \times 10^6$	0,9971
Heptacloro epóxido endo	25 – 250	$y = 4,89 \times 10^5 x - 3,82 \times 10^6$	0,9965
heptacloro epóxido exo	25 – 250	$y = 6,49 \times 10^5 x + 1,21 \times 10^7$	0,9905
Hexaclorobenzeno	25 – 250	$y = 2,43 \times 10^6 x + 5,75 \times 10^6$	0,9915
Ketona	25 – 250	$y = 9,08 \times 10^5 x - 9,74 \times 10^6$	0,9972
Metalaxil	25 – 250	$y = 2,38 \times 10^5 x - 3,91 \times 10^6$	0,9972
Mirex	25 – 250	$y = 1,06 \times 10^6 x + 2,66 \times 10^6$	0,9948
Mononitro	25 – 250	$y = 2,89 \times 10^5 x - 4,53 \times 10^5$	0,9960
Oxirano	25 – 250	$y = 1,69 \times 10^6 x - 1,39 \times 10^7$	0,9983
Parationa-etílica	50 – 500	$y = 4,41 \times 10^5 x - 2,33 \times 10^7$	0,9908
PCBTF	25 – 250	$y = 4,27 \times 10^6 x + 1,15 \times 10^7$	0,9906
PCT	25 – 250	$y = 3,45 \times 10^6 x + 2,65 \times 10^7$	0,9899
Pendimetalina	50 – 500	$y = 2,32 \times 10^5 x - 9,93 \times 10^6$	0,9935
Pirimicarbe	25 – 250	$y = 2,24 \times 10^5 x - 4,44 \times 10^6$	0,9955
Pirimifós-metílico	50 – 500	$y = 2,53 \times 10^5 x - 8,98 \times 10^6$	0,9969
Procimidona	50 – 500	$y = 1,12 \times 10^6 x - 1,84 \times 10^7$	0,9989
Propanil	50 – 500	$y = 4,51 \times 10^4 x + 1,17 \times 10^6$	0,9910
Trifluralina	25 – 250	$y = 1,03 \times 10^6 x - 1,88 \times 10^7$	0,9978

O primeiro ponto da curva analítica de cada analito corresponde ao Limite de Quantificação do instrumento para este composto, sendo assim, para alguns

compostos as curvas analíticas foram preparadas de 25 a 250  $\mu\text{g L}^{-1}$  e para outros compostos de 50 a 500  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Considerando o volume de acetona utilizado para eluição, 5 mL, e o volume total de ar amostrado de 42 L (0,042  $\text{m}^3$ ), essa faixa corresponde, no método, a concentrações entre 3 e 30  $\mu\text{g m}^{-3}$  e entre 6 e 60  $\mu\text{g m}^{-3}$ , respectivamente.

Todos os compostos apresentaram coeficientes de determinação ( $r^2$ ) maiores que 0,99, o que está de acordo com as orientações da ANVISA (2003b) e INMETRO (2011).

A precisão do instrumento foi estudada durante a construção das curvas analíticas injetando-se no sistema GC-MS/MS, três vezes cada nível de concentração das soluções preparadas no solvente (acetona), sendo que todos os resultados de RSD (%) ficaram abaixo de 20%.

Outro fator importante é que durante as análises não foi observada variação maior de 20% da área do padrão interno, trifenilfosfato (TPP), o que assegura a estabilidade da resposta obtida com o instrumento.

#### 4.4.3 Determinação dos valores de LOD e LOQ do instrumento e do método

A Tabela 19 apresenta os valores de Limite de Detecção e Quantificação do instrumento ( $\text{LOD}_i$  e  $\text{LOQ}_i$ ), em  $\mu\text{g L}^{-1}$ , e do método ( $\text{LOD}_m$  e  $\text{LOQ}_m$ ), em  $\mu\text{g m}^{-3}$ . Os valores de LOD e LOQ foram obtidos através da relação sinal/ruído conforme descrito no item 3.11.3. Para estimar  $\text{LOD}_m$  e  $\text{LOQ}_m$  a partir do  $\text{LOD}_i$  e  $\text{LOQ}_i$  considera-se o volume de acetona utilizado para eluição, que foi de 5 mL, o volume total de ar amostrado de 42 L (0,042  $\text{m}^3$ ), obtido considerando a vazão de amostragem de 87,5  $\text{mL min}^{-1}$  e tempo de amostragem de 8 h.

Tabela 19: Limites de detecção e quantificação do instrumento e do método.

Compostos	Instrumental ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )		Método ( $\mu\text{g m}^{-3}$ )	
	LOD	LOQ	LOD	LOQ
1,2 diclorobenzeno	7,5	25,0	0,9	3,0
2,4 DDD	7,5	25,0	0,9	3,0
2,4 D Ester	15,0	50,0	1,8	6,0
3,4 DCBTF	7,5	25,0	0,9	3,0
3,4 dicloroanilina	7,5	25,0	0,9	3,0
4,4 DDE	7,5	25,0	0,9	3,0
Alacloro	7,5	25,0	0,9	3,0
Aldrin	7,5	25,0	0,9	3,0
Atrazina	15,0	50,0	1,8	6,0
Bifentrina	7,5	25,0	0,9	3,0
Bromofós-metílico	15,0	50,0	1,8	6,0
Bromoketal	15,0	50,0	1,8	6,0
Clorpirifos-etílico	7,5	25,0	0,9	3,0
Clorpirifos-metílico	15,0	50,0	1,8	6,0
Clorprofam	15,0	50,0	1,8	6,0
Cresoxim-metílico	7,5	25,0	0,9	3,0
Diuron	7,5	25,0	0,9	3,0
DDT	7,5	25,0	0,9	3,0
Diclorvós	7,5	25,0	0,9	3,0
Dieldrin	7,5	25,0	0,9	3,0
Dinitro	15,0	50,0	1,8	6,0
Endossulfan alfa	7,5	25,0	0,9	3,0
Endossulfan beta	7,5	25,0	0,9	3,0
Endossulfan sulfato	15,0	50,0	1,8	6,0
Endrin	7,5	25,0	0,9	3,0
Fentiona	15,0	50,0	1,8	6,0
HCH alfa	7,5	25,0	0,9	3,0
HCH beta	7,5	25,0	0,9	3,0
HCH delta	7,5	25,0	0,9	3,0
HCH gama (lindano)	7,5	25,0	0,9	3,0

Compostos	Instrumental ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )		Método ( $\mu\text{g m}^{-3}$ )	
	LOD	LOQ	LOD	LOQ
Heptacloro	7,5	25,0	0,9	3,0
Heptacloro epóxido endo	7,5	25,0	0,9	3,0
heptacloro epóxido exo	7,5	25,0	0,9	3,0
Hexaclorobenzeno	7,5	25,0	0,9	3,0
Ketona	7,5	25,0	0,9	3,0
Metalaxil	7,5	25,0	0,9	3,0
Mirex	7,5	25,0	0,9	3,0
Mononitro	7,5	25,0	0,9	3,0
Oxirano	7,5	25,0	0,9	3,0
Parationa-etílica	15,0	50,0	1,8	6,0
PCBTF	7,5	25,0	0,9	3,0
PCT	7,5	25,0	0,9	3,0
Pendimetalina	15,0	50,0	1,8	6,0
Pirimicarbe	7,5	25,0	0,9	3,0
Pirimifós-metílico	15,0	50,0	1,8	6,0
Procimidona	15,0	50,0	1,8	6,0
Propanil	15,0	50,0	1,8	6,0
Trifluralina	7,5	25,0	0,9	3,0

Observa-se que os compostos se dividem em dois grupos com relação aos valores de LOD e LOQ. Do total de 48 compostos quantificados, 34 apresentaram  $\text{LOD}_i$  e  $\text{LOQ}_i$  de 7,5 e 25  $\mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente. O restante dos compostos, que possuem picos cromatográficos menos intensos, apresentaram  $\text{LOD}_i$  e  $\text{LOQ}_i$  de 15,0 e 50,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente. As soluções analíticas utilizadas para esta avaliação foram preparadas em solvente acetona.

Os valores de LOD e LOQ do método, por sua vez, foram, respectivamente, 0,9 e 3,0  $\mu\text{g m}^{-3}$  para os 34 compostos que possuem picos cromatográficos mais intensos e 1,8 e 6,0  $\mu\text{g m}^{-3}$ , para os compostos com picos cromatográficos menos intensos. Estes valores de LOD e LOQ são considerados adequados, comparando com os valores de limites de exposição em termos de Limite de Tolerância Ponderado no Tempo (TWA) estabelecidos pela OSHA, NIOSH e *WorkerSafeBC*,

detalhados no item 3.4.1 (OSHA, 2013; WorkSafeBC, 2013). Todos os Limites de Quantificação encontrados no método ficaram muito abaixo dos Limites estabelecidos por estas agências. Sendo assim, para aplicações do método em amostras reais é preciso estudar cada caso para verificar a necessidade de uma etapa de diluição dos extratos antes da injeção no sistema GC-MS/MS para ajustar a faixa linear do equipamento.

Na literatura (BARROS *et al.*, 2006; BOUVIER *et al.*, 2006; YOSHIDA, 2009; GAGOULIA *et al.*, 2012; FREIXO *et al.*, 2013) os limites de quantificação normalmente encontrados são ainda mais baixos que os valores de Limites de Tolerância Ponderado no Tempo (TWA). Os autores buscam reduzir ao máximo a concentração possível de ser quantificada para que o menor risco de contato com substâncias tóxicas seja determinado. Em geral o volume de ar amostrado é grande, sendo possível, muitas vezes, detectar e quantificar concentrações muito baixas.

GAGOULIA *et al.* (2012), por exemplo, realizaram estudos para amostragem e determinação de difenilamina em ar coletado dentro de locais de armazenamento de maçãs e o LOQ alcançado para o método foi de  $2 \mu\text{g m}^{-3}$  quando o volume de ar amostrado foi 60 L. A concentração máxima encontrada, quando o método foi aplicado, foi de  $580 \mu\text{g m}^{-3}$ . Limites de quantificação ainda mais baixos foram encontrados em estudo realizado por FREIXO *et al.* (2013) para determinação de endossulfan alfa e beta utilizando uma câmara de volatilização,  $0,32$  e  $0,34 \mu\text{g m}^{-3}$ , respectivamente. O volume total de ar amostrado nesse estudo foi de 720 L. Em estudo realizado por YOSHIDA, em 2009, para determinação de 18 agrotóxicos piretróides em residências após o uso destes como repelentes, os Limites de Detecção alcançados variaram entre  $0,4$  e  $1,7 \text{ ng m}^{-3}$ . Nesse caso, a amostragem foi realizada durante 24 h, resultando em um volume total de ar de  $4,32 \text{ m}^3$ . As concentrações encontradas para estes agrotóxicos variaram entre  $0,15$  e  $150 \mu\text{g m}^{-3}$ .

#### 4.4.4 Ensaio de fortificação para avaliação da exatidão do método

A Tabela 20 apresenta os níveis de fortificação utilizados para cada composto, sendo definido o nível 1 como 1 LOQ, nível 2 como 2 LOQ e nível 3 como 4 LOQ. Para cada nível de fortificação foram realizadas três replicatas, injetando três vezes cada replicata ( $n= 9$ ).

Tabela 20 – Níveis de fortificação para cada composto estudado.

<b>ANALITO</b>	<b>nível 1 1 LOQ<sub>m</sub> (<math>\mu\text{g m}^{-3}</math>)</b>	<b>nível 2 2 LOQ<sub>m</sub> (<math>\mu\text{g m}^{-3}</math>)</b>	<b>nível 3 4 LOQ<sub>m</sub> (<math>\mu\text{g m}^{-3}</math>)</b>
1,2 diclorobenzeno	3,0	6,0	12,0
2,4 DDD	3,0	6,0	12,0
2,4 D Ester	6,0	12,0	24,0
3,4 DCBTF	3,0	6,0	12,0
3,4 dicloroanilina	3,0	6,0	12,0
4,4 DDE	3,0	6,0	12,0
Alacloro	3,0	6,0	12,0
Aldrin	3,0	6,0	12,0
Atrazina	6,0	12,0	24,0
Bifentrina	3,0	6,0	12,0
Bromofós-metílico	6,0	12,0	24,0
Bromoketal	6,0	12,0	24,0
Clorpirifos-etílico	3,0	6,0	12,0
Clorpirifos-metílico	6,0	12,0	24,0
Clorprofam	6,0	12,0	6,0
Cresoxim-metílico	3,0	6,0	12,0
Diuron	3,0	6,0	12,0
DDT	3,0	6,0	12,0
Diclorvós	3,0	6,0	12,0
Dieldrin	3,0	6,0	12,0
Dinitro	6,0	12,0	24,0
Endossulfan alfa	3,0	6,0	12,0
Endossulfan beta	3,0	6,0	12,0
Endossulfan sulfato	6,0	12,0	24,0
Endrin	3,0	6,0	12,0
Fentiona	6,0	12,0	24,0
HCH alfa	3,0	6,0	12,0
HCH beta	3,0	6,0	12,0
HCH delta	3,0	6,0	12,0
HCH gama (lindano)	3,0	6,0	12,0

ANALITO	nível 1	nível 2	nível 3
	1 LOQ <sub>m</sub> ( $\mu\text{g m}^{-3}$ )	2 LOQ <sub>m</sub> ( $\mu\text{g m}^{-3}$ )	4 LOQ <sub>m</sub> ( $\mu\text{g m}^{-3}$ )
Heptacloro	3,0	6,0	12,0
Heptacloro epóxido endo	3,0	6,0	12,0
heptacloro epóxido exo	3,0	6,0	12,0
Hexaclorobenzeno	3,0	6,0	12,0
Ketona	3,0	6,0	12,0
Metalaxil	3,0	6,0	12,0
Mirex	3,0	6,0	12,0
Mononitro	3,0	6,0	12,0
Oxirano	3,0	6,0	12,0
Parationa-etílica	6,0	12,0	24,0
PCBTF	3,0	6,0	12,0
PCT	3,0	6,0	12,0
Pendimetalina	6,0	12,0	24,0
Pirimicarbe	3,0	6,0	12,0
Pirimifós-metílico	6,0	12,0	24,0
Procimidona	6,0	12,0	24,0
Propanil	6,0	12,0	24,0
Trifluralina	3,0	6,0	12,0

A Tabela 21 demonstra os resultados de recuperação média (%) e RSD (%) para cada um dos 48 compostos que foram fortificados no dispositivo desenvolvido para amostragem de ar e extraídos com solvente acetona. Como o tempo estipulado para amostragem foi de 8 h, as fortificações foram realizadas sempre em dias diferentes, dessa maneira, a precisão do método foi avaliada sempre em termos de precisão intermediária.

Os valores de recuperação foram calculados utilizando as curvas analíticas preparadas no solvente. Neste trabalho, seguiu-se a recomendação de validação de métodos cromatográficos, na qual os valores de recuperação devem estar entre 70 e 120% (RIBANI *et al.*,2004; SANCO, 2010).

Tabela 21 – Recuperações percentuais médias e RSD (%) em termos de precisão intermediária do método

Compostos	Níveis de Fortificação ( $\mu\text{g m}^{-3}$ )							
	3,0		6,0		12,0		24,0	
	rec (%)	RSD (%)	rec (%)	RSD (%)	rec (%)	RSD (%)	rec (%)	RSD (%)
1,2 diclorobenzeno	102,4	9,1	90,0	7,7	84,1	7,6	86,0	6,8
2,4 DDD	103,9	13,0	87,3	12,3	75,8	9,1	99,0	3,2
2,4 D Ester	---	---	118,6	1,2	88,5	10,3	106,8	0,5
3,4 DCBTF	87,9	6,2	84,0	13,3	84,8	18,2	81,4	3,8
3,4 dicloroanilina	66,9	13,9	72,0	20,4	70,0	12,2	84,5	8,9
4,4 DDE	105,1	10,2	93,0	19,3	84,4	12,9	96,0	0,8
Alacloro	128,4	19,3	107,1	11,4	68,1	6,2	98,1	3,1
Aldrin	100,2	4,1	94,6	9,5	77,0	19,6	92,8	5,7
Atrazina	---	---	98,9	15,2	68,3	11,1	69,2	8,8
Bifentrina	87,6	6,6	108,7	0,4	87,3	6,9	106,5	4,0
Bromofós-metílico	---	---	128,7	14,3	81,8	4,8	88,6	4,2
Bromoketal	---	---	84,0	9,1	77,0	1,4	98,7	8,8
Clorpirifós-etílico	127,8	9,5	99,1	12,9	93,7	6,3	94,8	5,6
Clorpirifós-metílico	---	---	92,1	11,8	72,5	3,6	91,7	10,1
Clorprofam	---	---	110,2	2,1	76,6	11,0	97,1	2,3
Cresoxim-metílico	121,7	5,5	76,6	8,4	78,6	15,5	99,2	12,6
Diuron	102,5	9,2	85,2	22,6	77,9	10,1	94,3	1,7

Compostos	Níveis de Fortificação ( $\mu\text{g m}^{-3}$ )							
	3,0		6,0		12,0		24,0	
	rec (%)	RSD (%)	rec (%)	RSD (%)	rec (%)	RSD (%)	rec (%)	RSD (%)
DDT	108,0	8,3	86,9	0,4	88,7	3,0	109,0	9,8
Diclorvós	98,7	14,7	83,8	23,7	67,5	10,3	87,4	0,3
Dieldrin	107,3	12,0	84,7	3,4	70,8	9,3	92,0	1,6
Dinitro	---	---	104,9	17,9	72,3	12,8	93,1	17,3
Endossulfan alfa	108,6	11,4	83,4	12,8	79,6	10,0	99,1	6,5
Endossulfan beta	102,9	12,2	80,0	15,6	78,5	18,0	100,8	2,8
Endossulfan sulfato	---	---	86,5	2,2	87,9	14,6	94,0	3,1
Endrin	133,6	0,9	105,0	14,3	97,1	6,2	115,3	7,0
Fentiona	---	---	123,2	5,9	83,6	7,0	92,9	0,6
HCH alfa	104,2	15,6	98,2	17,2	75,8	16,8	96,0	8,2
HCH beta	121,5	22,1	90,0	3,4	68,2	13,5	96,0	3,2
HCH delta	117,6	7,9	106,6	8,7	71,0	13,5	96,0	2,7
HCH gama (lindano)	109,6	9,2	73,4	0,3	75,1	15,5	95,3	0,9
Heptacloro	113,8	7,1	104,6	10,7	75,2	12,1	93,0	1,9
Heptacloro epóxido endo	98,5	15,1	77,9	6,8	74,6	8,2	85,8	1,4
heptacloro epóxido exo	80,8	0,1	91,9	7,7	70,0	13,5	91,5	4,9
Hexaclorobenzeno	101,8	12,9	92,4	6,2	78,9	16,5	92,1	9,1
Ketona	110,5	2,6	76,8	2,6	72,0	9,4	104,1	6,3

Compostos	Níveis de Fortificação ( $\mu\text{g m}^{-3}$ )							
	3,0		6,0		12,0		24,0	
	rec (%)	RSD (%)	rec (%)	RSD (%)	rec (%)	RSD (%)	rec (%)	RSD (%)
Metalaxil	99,0	14,4	83,2	17,1	75,7	8,2	101,9	1,4
Mirex	75,4	12,2	77,0	11,9	73,0	7,4	88,6	1,3
Mononitro	98,7	9,5	72,2	0,2	71,8	13,4	97,1	4,9
Oxirano	107,3	8,5	82,4	4,2	92,4	10,2	98,2	3,3
Parationa-etílica	---	---	127,9	4,8	71,9	4,1	81,5	3,9
PCBTF	84,0	16,3	81,7	12,5	79,4	11,5	82,5	7,1
PCT	108,4	6,8	83,8	14,8	76,2	10,6	76,0	1,3
Pendimetalina	---	---	118,1	2,6	81,3	1,8	81,7	1,3
Pirimicarbe	108,2	16,6	96,7	9,9	101,2	5,6	101,8	1,9
Pirimifós-metílico	---	---	111,2	4,4	80,2	5,1	85,2	0,9
Procimidona	---	---	72,5	17,2	81,2	5,1	92,0	5,7
Propanil	---	---	89,5	1,5	68,7	12,8	92,2	3,2
Trifluralina	120,0	6,7	84,7	13,1	76,0	7,0	86,9	8,4

\* n= 9 (3 extrações x 3 injeção de cada extrato)

A Tabela 21 demonstra que no primeiro nível de fortificação ( $3,0 \mu\text{g m}^{-3}$ ), de um total de 34 compostos fortificados, 28 tiveram recuperações entre 70 e 120%, o que corresponde a 82,4%. No segundo nível de fortificação ( $6,0 \mu\text{g m}^{-3}$ ), do total de 48 compostos, 45 tiveram recuperação nesta faixa, representando 93,8% dos compostos. Já no nível  $12,0 \mu\text{g m}^{-3}$ , 44 compostos de um total de 48, tiveram recuperações nesta faixa, o que representa 91,7% dos compostos. O nível  $24,0 \mu\text{g m}^{-3}$  corresponde ao último nível de fortificação dos compostos que possuem LOQ de  $6,0 \mu\text{g m}^{-3}$  (portanto, nível correspondente a 4 LOQ), no entanto, optou-se por demonstrar os resultados deste nível para todos os compostos, uma vez que a fortificação foi realizada com a mistura de todos os analitos. Dessa maneira, alguns compostos apresentam 4 níveis de fortificação. Neste último nível, nota-se que 100% dos compostos apresentaram recuperações entre 70 e 120%. Estes dados demonstram que 93,3% de todos os resultados de recuperações ficaram entre 70 e 120%.

A Figura 23 ilustra os resultados da Tabela 21, demonstrando-os em termos de percentual de compostos recuperados em três diferentes faixas.

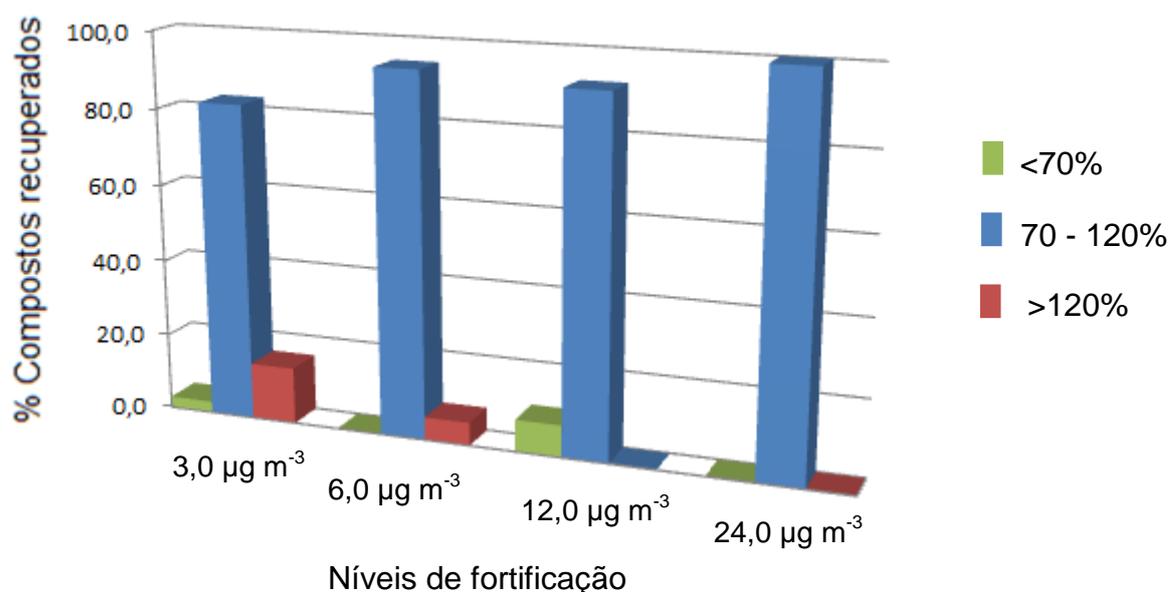


Figura 23 – Percentual de compostos que apresentaram recuperações médias nas seguintes faixas: menor que 70%; entre 70 e 120% e acima de 120% em quatro diferentes níveis de fortificação.

Podemos observar que no nível  $3,0 \mu\text{g m}^{-3}$ , um composto apresentou recuperação abaixo de 70%, que corresponde a 2,9% dos resultados. Por outro lado, 14,7% dos compostos resultaram em recuperações acima de 120% e o restante, 82,4%, com recuperações na faixa de 70 a 120%. No nível  $6,0 \mu\text{g m}^{-3}$ , observamos novamente que nenhum composto apresentou recuperação abaixo de 70%; enquanto que 6,2% dos compostos resultaram em recuperações acima de 120% e 93,8% com recuperação na faixa indicada de 70 a 120%. O nível  $12,0 \mu\text{g m}^{-3}$ , apresentou os seguintes resultados: 8,3% dos compostos com recuperações abaixo de 70%, nenhum composto com recuperação acima de 120% e 91,7% com recuperações entre 70 e 120%. Por último, no nível  $24,0 \mu\text{g m}^{-3}$ , observamos que todos os compostos apresentaram recuperações na faixa de 70 a 120%.

Os possíveis motivos para os resultados acima de 120% (o que ocorreu normalmente nos menores níveis de fortificação) foram mencionados no item 4.4.1, onde é verificado que os cromatogramas resultantes de amostras “branco” apresentam expressivo ruído, podendo afetar alguns resultados de recuperação, principalmente em compostos que possuem sinais mais baixos, devido à dificuldade na integração desses picos. Por outro lado, os resultados de recuperação abaixo de 70% possivelmente são resultados de perdas durante a amostragem e/ou eluição dos compostos ou então devido a problemas relacionados com a estabilidade desses compostos.

Analisando os resultados de precisão em termos de RSD (%) na Tabela 21, observa-se que quatro resultados estão acima de 20%, que corresponde ao composto HCH beta (22,1%) no nível  $3,0 \mu\text{g m}^{-3}$ , e os compostos 3,4 dicloroanilina (20,4%), Diuron (22,6%) e Diclorvós (23,7%), no nível  $6,0 \mu\text{g m}^{-3}$ , resultados estes, que não estão de acordo com o que é recomendado para a validação de método. Os resultados obtidos demonstram que 97,8% de todos os resultados de RSD (%) estão na faixa adequada, ou seja, abaixo de 20%.

A Figura 24 ilustra estes resultados em três diferentes faixas.

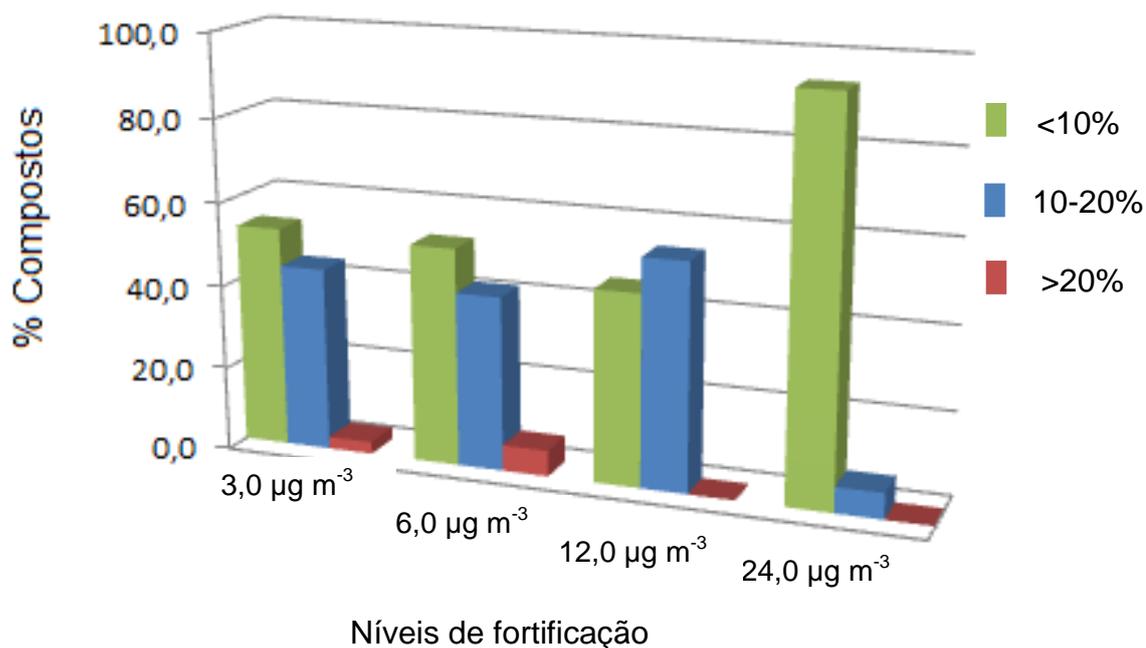


Figura 24 – Percentual de compostos que apresentaram RSD (%) nas seguintes faixas: menor que 10%; entre 10 e 20% e acima de 20% em quatro diferentes níveis de fortificação.

Observando a Figura 24, nota-se que no nível  $3,0 \mu\text{g m}^{-3}$ , 53,0% dos resultados de RSD ficaram abaixo de 10%, 44,1% entre 10 e 20% e apenas 2,9% dos resultados ficaram acima de 20%, portanto neste nível, 97,1% dos resultados ficaram dentro da faixa indicada. No nível  $6,0 \mu\text{g m}^{-3}$ , 52,1% dos resultados de RSD ficaram abaixo de 10%, 41,7% entre 10 e 20% e 6,2% acima de 20%. No nível  $12,0 \mu\text{g m}^{-3}$ , 45,8% dos resultados ficaram abaixo de 10% e 54,2% entre 10 e 20%, portanto, nenhum resultado ficou acima da faixa indicada. No último nível de fortificação,  $24,0 \mu\text{g m}^{-3}$ , 93,8% dos resultados ficaram abaixo de 10% e 6,2% entre 10 e 20%, portanto, novamente nenhum resultado ficou acima da faixa indicada, ou seja, valores maiores que 20%. Nota-se que os valores de RSD (%) acima de 20% foram verificados apenas nos dois menores níveis de fortificação, sendo que nos níveis  $12,0$  e  $24,0 \mu\text{g m}^{-3}$  nenhum valor ultrapassou 20%.

#### 4.4.5 Avaliação da recuperação dos analitos no *trap* 3 (*trap* de segurança)

Como mencionado no item 3.10.1, todos os *traps* são analisados para quantificação dos analitos, de maneira que a recuperação total média de cada analito é realizada pela soma das recuperações no *trap* 2 (*trap* analítico) e no *trap* 3 (*trap* de segurança). A Tabela 21, discutida anteriormente, traz a recuperação percentual média de cada analito considerando a soma das recuperações nos *traps* 2 e 3, sem detalhar separadamente quanto foi recuperado em cada *trap*.

A Tabela 22 detalha os analitos que foram encontrados no *trap* 3, destacando a concentração e recuperação médias para estes analitos no *trap* de segurança. Os compostos que não aparecem nesta tabela não foram encontrados no *trap* 3 em nenhum dos níveis de fortificação estudados.

Tabela 22 – Concentração e recuperação médias para cada analito no *trap 3* (*trap* de segurança).

Compostos	Níveis de Fortificação ( $\mu\text{g m}^{-3}$ )							
	3,0		6,0		12,0		24,0	
	conc.	rec (%)	conc.	rec (%)	conc.	rec (%)	conc.	rec (%)
	<i>Trap 3</i>	<i>trap 3</i>	<i>Trap 3</i>	<i>trap 3</i>	<i>Trap 3</i>	<i>trap 3</i>	<i>Trap 3</i>	<i>trap 3</i>
1,2 diclorobenzeno	0,0	0,0	<LOQ	0,0	<LOQ	0,0	<LOQ	0,0
Alacloro	0,0	0,0	0,0	0,0	<LOQ	0,0	0,0	0,0
Clorpirifós-etílico	0,0	0,0	0,0	0,0	<LOQ	0,0	0,0	0,0
HCH beta	0,0	0,0	<LOQ	0,0	<LOQ	0,0	<LOQ	0,0
Ketona	0,0	0,0	0,0	0,0	<LOQ	0,0	0,0	0,0
Metalaxil	0,0	0,0	0,0	0,0	<LOQ	0,0	0,0	0,0
PCBTF	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	<b>3,2</b>	13
Procimidona	---	---	0,0	0,0	<LOQ	0,0	0,0	0,0

\*Concentração no *trap 3* dada em  $\mu\text{g m}^{-3}$

Na Tabela 22 observa-se que no primeiro nível de fortificação ( $3,0 \mu\text{g m}^{-3}$ ) nenhum composto foi detectado no *trap 3* (*trap* de segurança), sendo que todos os resultados presente na Tabela 21 são resultados do *trap 2*. Já no nível  $6,0 \mu\text{g m}^{-3}$  e  $12 \mu\text{g m}^{-3}$ , foram encontrados 2 e 7 compostos no *trap 3*, respectivamente. No entanto, todos os resultados estão abaixo do  $\text{LOQ}_m$ , ou seja, os analitos foram apenas detectados, mas em concentração muito baixa para serem quantificados. Sendo assim, da mesma maneira que no nível  $3,0 \mu\text{g m}^{-3}$ , os resultados de recuperações da Tabela 21 são provenientes apenas do *trap 2*.

No nível de fortificação mais alto,  $24 \mu\text{g m}^{-3}$ , 3 compostos foram encontrados no *trap 3*. Neste caso, o composto PCBTF, intermediário químico para a produção da trifluralina, foi encontrado em concentração acima do  $\text{LOQ}_m$  ( $3,2 \mu\text{g m}^{-3}$ ), o que corresponde a 13% do total recuperado, que foi de 82,5%, conforme descrito na Tabela 21.

Os resultados demonstram que a maioria dos compostos encontrados no *trap 3* está nos dois maiores níveis de fortificação, demonstrando que ocorreu pequena saturação do *trap 2* nestes casos. No entanto, a maioria dos resultados está abaixo do  $\text{LOQ}_m$ , sendo que, apenas para PCBTF, a concentração encontrada no nível de fortificação mais alto foi acima do  $\text{LOQ}_m$ . A propriedade que melhor explica este comportamento, ou seja, o fato deste composto ter sido encontrado no *trap 3*, é a Pressão de Vapor (PV), cujos valores encontram-se nas Tabelas 4 e 5. PCBTF possui a maior pressão de vapor dentre os compostos estudados ( $1,06 \times 10^6 \text{ mPa}$ ), sendo assim, com o aquecimento do *trap 1*, onde foi realizada a fortificação, todo o analito passou facilmente para o *trap 2* e durante o período de amostragem, uma pequena quantidade migrou para o *trap* de segurança.

Como mencionado, o *trap 3* é utilizado para avaliar a possível passagem dos analitos através do *trap 2*, podendo atingir o *trap 3* durante a amostragem. Segundo FREIXO *et al.* (2013), essa migração dos analitos do *trap 2* para o *trap 3* é conhecida como “*breakthrough*”, isto é, o avanço dos analitos de uma seção para outra, o que possibilita a identificação de falhas no processo de amostragem, demonstrando a ocorrência de saturação do meio de adsorção (FREIXO *et al.*, 2013). Estes resultados demonstram a importância da utilização dos dois *traps* durante a amostragem de ar, para ser possível acompanhar a ocorrência ou não de “*breakthrough*”.

#### 4.4.6 Avaliação da concentração dos analitos no *trap* 1

Além dos *traps* 2 e 3, o *trap* 1 também foi analisado, sendo determinada a concentração de cada analito neste *trap* em cada nível de concentração. Como destacado no item 3.10, o *trap* 1 é utilizado como local para fortificação com a mistura dos analitos, não sendo preenchido com nenhum tipo de material adsorvente.

A concentração encontrada no *trap* 1 corresponde à concentração de cada analito que não passou para a fase gasosa, portanto, deve ser subtraída da concentração inicial, de maneira que essa diferença é utilizada para os cálculos de recuperação dos analitos (mais detalhes no item 3.10.1). A Tabela 23 informa os compostos encontrados no *trap* 1 em cada nível de fortificação estudado. Os compostos que não aparecem nesta tabela não foram encontrados no *trap* 1 em nenhum dos níveis de fortificação estudados.

Tabela 23 – Concentração e percentual médios de cada analito que permaneceu no *trap* 1 nos diferentes níveis de fortificação.

Compostos	Níveis de Fortificação ( $\mu\text{g m}^{-3}$ )							
	3,0		6,0		12,0		24,0	
	conc. <i>Trap</i> 1*	% <i>trap</i> 1	conc. <i>Trap</i> 1 *	% <i>trap</i> 1	conc. <i>Trap</i> 1*	% <i>trap</i> 1	conc. <i>Trap</i> 1*	% <i>trap</i> 1
1,2 diclorobenzeno	0,0	0,0	<LOQ	0,0	<LOQ	0,0	<LOQ	0,0
2,4 DDD	0,0	0,0	<LOQ	0,0	<LOQ	0,0	<LOQ	0,0
3,4 DCBTF	0,0	0,0	<LOQ	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
3,4 dicloroanilina	<LOQ	0,0	<LOQ	0,0	<LOQ	0,0	<LOQ	0,0
4,4 DDE	0,0	0,0	<LOQ	0,0	0,0	0,0	<LOQ	0,0
Bifentrina	<LOQ	0,0	<b>3,1</b>	52,0	<b>3,2</b>	26,8	<LOQ	0,0
Bromoketal	0,0	0,0	<LOQ	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Cresoxim-metílico	0,0	0,0	0,0	0,0	<LOQ	0,0	<LOQ	0,0
DDT	<LOQ	0,0	0,0	0,0	<LOQ	0,0	<LOQ	0,0
Endossulfan beta	0,0	0,0	<LOQ	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
HCH beta	<LOQ	0,0	<LOQ	0,0	<LOQ	0,0	0,0	0,0
Heptacloro epóxido endo	0,0	0,0	<LOQ	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Heptacloro epóxido exo	0,0	0,0	<LOQ	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Metalaxil	0,0	0,0	<LOQ	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
Mirex	<LOQ	0,0	<LOQ	0,0	<LOQ	0,0	<LOQ	0,0
PCT	0,0	0,0	0,0	0,0	<LOQ	0,0	0,0	0,0
Procimidona	0,0	0,0	<LOQ	0,0	<LOQ	0,0	<LOQ	0,0

\*concentração no *trap* 1 dada em  $\mu\text{g m}^{-3}$ .

Na Tabela 23 observa-se que no primeiro nível de fortificação ( $3,0 \mu\text{g m}^{-3}$ ) 5 compostos foram encontrados no *trap* 1, no entanto, todas as concentrações estão abaixo do LOQ<sub>m</sub>.

Já no nível  $6,0 \mu\text{g m}^{-3}$ , o número de compostos encontrados no *trap* 1 subiu para 14 e, nesse caso, um composto foi encontrado em concentração acima do LOQ<sub>m</sub>. Bifentrina foi encontrada na concentração  $3,1 \mu\text{g m}^{-3}$ , o que corresponde a 53,0% da concentração total fortificada.

No nível  $12,0 \mu\text{g m}^{-3}$ , novamente a bifentrina foi o único composto encontrado acima do LOQ<sub>m</sub>, numa concentração de  $3,2 \mu\text{g m}^{-3}$ , o que corresponde a 26,8% do total fortificado. Além da bifentrina, mais 9 compostos foram encontrados no *trap* 1 neste nível, no entanto, todos abaixo do LOQ<sub>m</sub>.

No último nível de fortificação,  $24 \mu\text{g m}^{-3}$ , observa-se que 9 compostos foram encontrados no *trap* 1, todos em concentrações abaixo do LOQ<sub>m</sub>.

Estes resultados demonstram que os compostos que foram encontrados no *trap* 1 em todos os níveis de fortificação foram bifentrina, 3,4 dicloroanilina e mirex, sendo a bifentrina encontrada em maior concentração. Em seguida, destacam-se os seguintes compostos: 1,2 diclorobenzeno, 2,4 DDD, DDT, HCH beta e procimidona.

Observa-se que a bifentrina, dentre os compostos estudados, possui um dos menores valores de pressão de vapor ( $0,0178 \text{ mPa}$ ), sendo o único composto encontrado no *trap* 1 em concentrações acima do LOQ<sub>m</sub>. Destaca-se que valores baixos de pressão de vapor ocorrem para todos os piretróides, portanto, comportamento semelhante poderia ser esperado se outros piretróides tivessem sido estudados.

#### 4.5 Cromatogramas para demonstração da eficiência de amostragem

Os cromatogramas das Figuras 25, 26 e 27 ilustram três diferentes exemplos de resultados para as amostragens realizadas. Para esta ilustração, foram selecionados três diferentes analitos, trifluralina, bifentrina e PCBTF, pois cada um destes compostos teve comportamento diferente com relação às quantidades encontradas nos *traps* 1, 2 e 3.

A Figura 25 demonstra os cromatogramas do composto trifluralina em (A) cromatograma do padrão preparado no solvente na concentração  $200 \mu\text{g L}^{-1}$ , (B) cromatograma resultante do *trap* 1 no nível de fortificação  $24,0 \mu\text{g m}^{-3}$ , (C) cromatograma do *trap* 2 no nível  $24,0 \mu\text{g m}^{-3}$  e (D) cromatograma do *trap* 3 no nível  $24,0 \mu\text{g m}^{-3}$ .

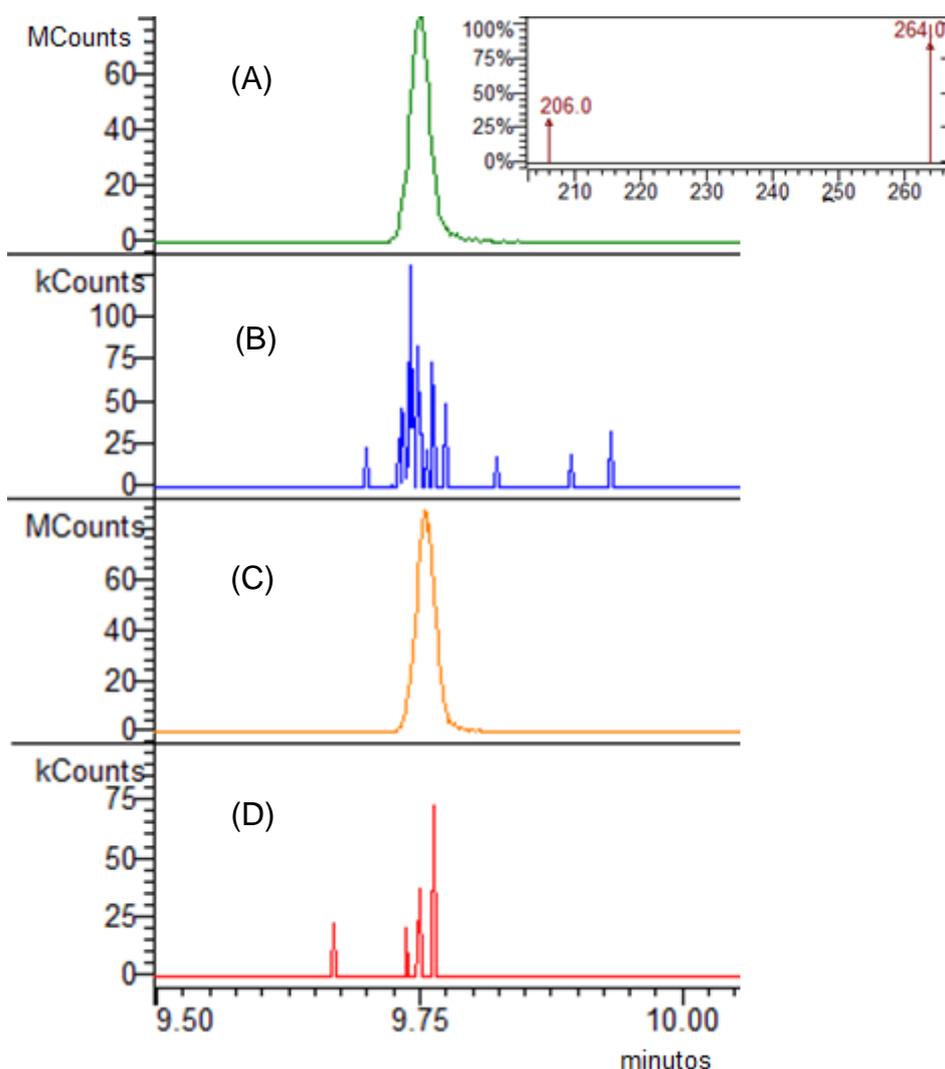


Figura 25 – Cromatogramas no modo SRM do herbicida trifluralina em (A) cromatograma do padrão preparado no solvente na concentração  $200 \mu\text{g L}^{-1}$ , destacando os íons monitorados, (B) cromatograma resultante do *trap* 1 no nível de fortificação  $24,0 \mu\text{g m}^{-3}$ , (C) cromatograma do *trap* 2 no nível  $24,0 \mu\text{g m}^{-3}$  e (D) cromatograma do *trap* 3 no nível  $24,0 \mu\text{g m}^{-3}$ .

Os cromatogramas da Figura 25 comprovam que todo o analito foi quantificado no trap analítico (*trap 2*), ou seja, não houve transferência para o *trap 3*. Além disso, observa-se que nenhum percentual do analito permaneceu no *trap 1*, o que demonstra que o aquecimento realizado neste *trap* foi suficiente para evaporação do analito e passagem deste para o ar. Estes cromatogramas ilustram a situação ideal, onde todo o analito fortificado no *trap 1* migrou para o *trap* analítico e neste foi recuperado.

Por outro lado, a Figura 26 ilustra um exemplo onde parte do analito é recuperado no *trap 3*. A Figura demonstra os cromatogramas do composto PCBTF sendo: (A) cromatograma do padrão preparado no solvente na concentração  $200 \mu\text{g L}^{-1}$ , (B) cromatograma resultante do *trap 1* no nível de fortificação  $24,0 \mu\text{g m}^{-3}$ , (C) cromatograma do *trap 2* no nível  $24,0 \mu\text{g m}^{-3}$  e (D) cromatograma do *trap 3* no nível  $24,0 \mu\text{g m}^{-3}$ . Dessa maneira, a recuperação final do analito neste nível foi obtida pela soma da recuperação no *trap 2* e no *trap 3*. Observa-se, neste caso, que nada foi quantificado deste analito no *trap 1*.

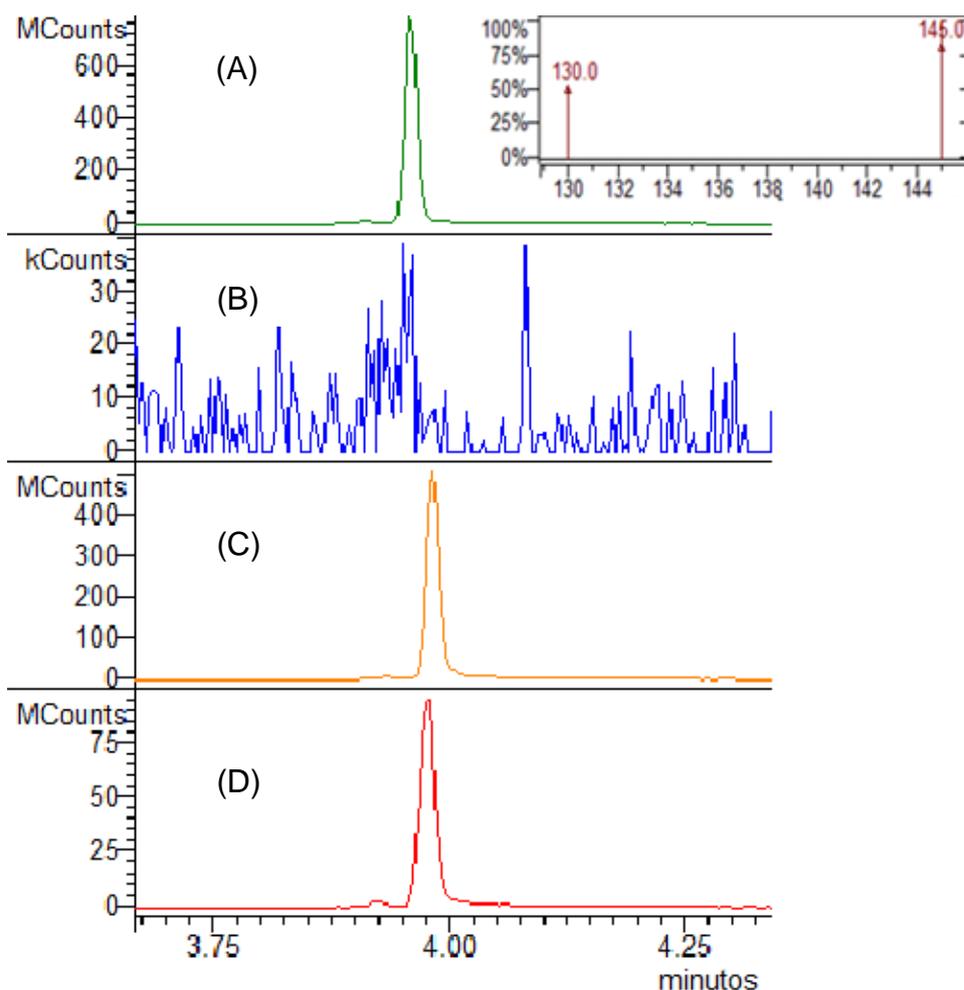


Figura 26 – Cromatogramas no modo SRM do analito PCBTF em (A) cromatograma do padrão preparado no solvente na concentração  $200 \mu\text{g L}^{-1}$ , destacando os íons monitorados, (B) cromatograma resultante do *trap* 1 no nível de fortificação  $24,0 \mu\text{g m}^{-3}$ , (C) cromatograma do *trap* 2 no nível  $24,0 \mu\text{g m}^{-3}$  e (D) cromatograma do *trap* 3 no nível  $24,0 \mu\text{g m}^{-3}$ .

Por último, a Figura 27 ilustra os cromatogramas do agrotóxico bifentrina, exemplificando um caso onde determinada quantidade do composto permanece no *trap* 1. Neste caso, nota-se que a recuperação do analito ocorreu apenas no *trap* 2.

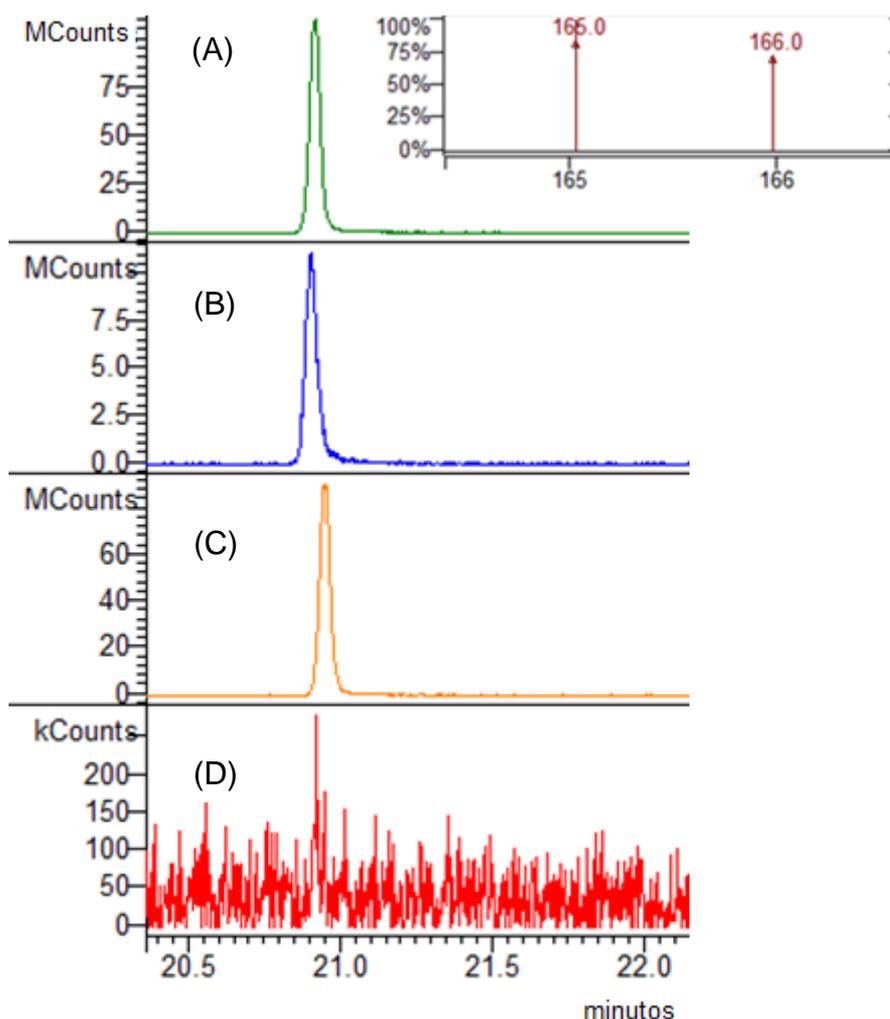


Figura 27 – Cromatogramas no modo SRM do analito bifentrina em (A) cromatograma do padrão preparado no solvente na concentração 100 µg L<sup>-1</sup>, destacando os íons monitorados, (B) cromatograma resultante do *trap* 1 no nível de fortificação 12,0 µg m<sup>-3</sup>, (C) cromatograma do *trap* 2 no nível 12,0 µg m<sup>-3</sup> e (D) cromatograma do *trap* 3 no nível 12,0 µg m<sup>-3</sup>.

#### 4.6 Aplicação do método

O método desenvolvido foi aplicado para a determinação de resíduos de agrotóxicos em ar em 4 ambientes diferentes, sendo 3 salas localizadas em empresa que armazena e comercializa agrotóxicos e uma sala localizada em laboratório de análises de agrotóxicos, que corresponde à sala de preparo de

padrões deste laboratório. Em nenhuma das amostras coletadas foram encontrados resíduos acima do Limite de Detecção do método.

Destaca-se que na empresa onde as coletas foram realizadas, os frascos dos agrotóxicos comercializados encontravam-se devidamente lacrados e corretamente armazenados, além do fato de que a sala é equipada com sistema de exaustão. A empresa possui licenciamento ambiental para depósito de agrotóxicos, seguindo os requisitos exigidos pela FEPAM (Fundação Estadual de Proteção Ambiental) em Procedimentos e Critérios Técnicos para o Licenciamento Ambiental de Depósitos de Agrotóxicos (FEPAM, 2011). O Anexo III detalha os principais tópicos destes procedimentos para licenciamento de depósitos de agrotóxicos.

No momento da coleta no depósito de agrotóxicos, dentre os 48 compostos analisados, os seguintes estavam armazenados na sala: atrazina, bifentrina, clorpirifós, cresoxim-metílico e metalaxil. Nota-se, dessa maneira, que a variedade de compostos era reduzida no momento da coleta, dificultando a detecção de contaminação do ar.

Situação semelhante ocorre no laboratório de análises onde foi realizada a coleta. Na sala de preparo de padrões são seguidas as instruções da norma NBR/ISO/IEC 17025, pois se trata de laboratório acreditado pelo INMETRO. A sala é equipada com capela de exaustão e todos os analistas autorizados a utilizar a sala são devidamente treinados para realizar os procedimentos necessários para evitar a exposição. Estes procedimentos realizados nos ambientes analisados provavelmente minimizam ou até mesmo evitam a contaminação do ambiente interno.

## 5 CONCLUSÃO

Embora existam diversos trabalhos na literatura com relação a agrotóxicos em ar, a maioria estuda um número reduzido de compostos e enfatiza os agrotóxicos mais voláteis, com pouca atenção aos agrotóxicos de uso mais recente. Assim, ainda são necessários novos trabalhos para aprimorar os procedimentos de amostragem, extração e quantificação destes analitos. Estes estudos devem ser utilizados para avaliar a exposição humana a estes compostos e para criar sistemas ou mecanismos para reduzir os danos causados pelo contato com estes compostos.

O método de amostragem de agrotóxicos e compostos relacionados em ar otimizado e validado neste trabalho, utilizando *trap* contendo sorvente sólido Tenax TA mostrou-se eficaz para a maioria dos compostos estudados. Do total de ensaios de recuperação realizados, 93,3% tiveram resultados entre 70 e 120%, sendo que o maior número de resultados fora desta faixa foi observado no nível de concentração mais baixo ( $3,0 \mu\text{g m}^{-3}$ ), onde 14,7% dos resultados ficaram fora desta faixa. A precisão do método também foi adequada na maioria dos casos estudados, sendo que apenas 4 resultados ficaram acima de 20%.

A quantificação dos compostos por GC-MS/MS triplo quadrupolo operando no modo SRM apresentou sensibilidade e seletividade adequadas. Com relação aos valores de  $r^2$ , todos os compostos apresentaram coeficiente maior que 0,99, o que está de acordo com as orientações do INMETRO e ANVISA.

A possibilidade de eluição direta com solvente, sem a necessidade de retirar o sólido dos *traps* de vidro, tornou a extração simples e rápida, com menor número de etapas, estando sujeito a menor probabilidade de erros analíticos. O solvente é retirado posteriormente para limpeza e reutilização do mesmo. Essa possibilidade de montagem dos *traps* em laboratório e reutilização do sólido reduz os custos e os resíduos gerados com o método. Além disso, o método não demanda a aquisição de sistemas caros de dessorção. Dessa maneira, as principais vantagens do método apresentado são: praticidade, simplicidade e baixo custo.

Quanto aos sorventes disponíveis, pode-se observar que há uma variada gama de sólidos que podem ser utilizados em procedimentos de amostragem, possibilitando diversos estudos relacionados, principalmente, à comparação quanto

à eficiência e custos destes materiais. Nesse sentido, este estudo demonstrou que o sorvente Tenax TA permite adequada retenção e eluição de compostos orgânicos.

Em comparação aos métodos oficiais publicados pela OSHA, NIOSH e EPA, o método desenvolvido possui a vantagem de utilizar menores quantidades de sorvente e a possibilidade de montagem dos próprios *traps* com reutilização do sorvente utilizado. Além disso, no método desenvolvido a vazão estudada é menor que a indicada nestes métodos oficiais, gerando um volume total de 42 L de ar amostrado, o que está de acordo com o indicado pela agência NIOSH no *NIOSH Manual of Analytical Methods*. Mesmo com a utilização de menores quantidades de sorvente, menor vazão de amostragem e, conseqüentemente, menor volume de ar amostrado em comparação aos métodos oficiais, os limites de quantificação alcançados para o método (3,0 e 6,0  $\mu\text{g m}^{-3}$ ) foram satisfatórios comparando com os Limites de Exposição permitidos pelas agências regulamentadoras.

A aplicação do método em empresa que comercializa e armazena agrotóxicos e em laboratório de análise de agrotóxicos possibilitou avaliar a qualidade do ar destes ambientes. Em nenhuma das amostras coletadas foram encontrados resíduos acima do Limite de Detecção do método. Destaca-se, portanto, que os ambientes avaliados seguem normas e critérios para evitar contaminações do ar, como por exemplo, sistema de exaustão e funcionários devidamente treinados para execução de suas funções.

Finalmente, pode-se dizer que o método desenvolvido pode ser aplicado para avaliar não apenas a exposição de trabalhadores em empresas que armazenam e comercializam agrotóxicos, mas também em indústrias, onde ocorre maior manipulação destes compostos, ou ainda na avaliação da exposição direta durante a aplicação e manipulação destes produtos.

Sendo assim, considerando os resultados obtidos na etapa de validação do método, pode-se afirmar que os objetivos traçados para este trabalho foram atingidos e que o método pode ser aplicado em análises de rotina.

O trabalho desenvolvido foi pioneiro com relação à amostragem de ar no Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas (LARP) e os resultados demonstram a possibilidade deste tipo de dispositivo ser utilizado como alternativa aos métodos oficiais para análise de alguns agrotóxicos e compostos relacionados. A partir desse momento, outros trabalhos deverão dar continuidade ao assunto, ampliando as pesquisas e aplicações deste método.

## **ENCAMINHAMENTO DOS RESÍDUOS GERADOS**

No decorrer das atividades laboratoriais é inevitável a geração de quantidades significativas de resíduos líquidos e sólidos, os quais precisam ser tratados ou descartados de forma adequada para que não ocorra contaminação do ambiente, nem tampouco prejuízos à saúde da população.

Sendo assim, os resíduos gerados durante o desenvolvimento desse trabalho foram armazenados em recipientes adequados e encaminhados ao almoxarifado do Departamento de Química (DQ) da UFSM. O DQ é responsável pela destinação dos resíduos gerados que serão posteriormente tratados por uma empresa terceirizada capacitada nessa área.

## SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Ampliar o escopo de agrotóxicos a serem avaliados em ar utilizando GC-MS/MS;
- Otimizar método cromatográfico utilizando a técnica de Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massas para a determinação de resíduos de agrotóxicos em ar não passíveis de análise por GC-MS/MS;
- Ampliar as aplicações do método desenvolvido para outras empresas que comercializam e armazenam agrotóxicos, bem como empresas que produzem ou manipulam produtos comerciais com tais compostos;
- Otimizar o método de amostragem para aplicação em ambientes “*outdoor*”, realizando, para isso, estudo da influência de parâmetros como umidade, vento e temperatura, bem como emprego de vazões mais altas para amostragens mais rápidas;
- Realizar estudo detalhado da possibilidade de efeito matriz com a amostra ar, o que pode resultar no aumento ou redução da resposta cromatográfica.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABHO (Associação Brasileira de Higienistas Ocupacionais), 2013. Disponível em <http://www.abho.org.br>. Acesso em 27 jun. 2013.

ACGIH (American Conference of Governmental Industrial Hygienists), 2013. Disponível em [www.acgih.org](http://www.acgih.org). Acesso em 27 jun. 2013.

ALEGRIA, H.; BIDLAMAN, T. F.; FIGUERO A, M. S. Organochlorine pesticides in the ambient air of Chiapas, Mexico. **Environmental Pollution**, v. 140, p. 483-491, 2006.

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), 2000. Resolução – RE nº 176, de 24 de outubro de 2000. **Determina a publicação de Orientação Técnica elaborada por Grupo Técnico Assessor, sobre Padrões Referenciais de Qualidade do Ar Interior, em ambientes climatizados artificialmente de uso público e coletivo.**

Disponível em <http://www.anvisa.gov.br/scriptsweb/anvisalegis/VisualizaDocumento.asp?ID=136&Versao=1>. Acesso em 11 nov. 2013.

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), 2003. Resolução – RE nº 09, de 16 de janeiro de 2003. **Determina a publicação de Orientação Técnica elaborada por Grupo Técnico Assessor, sobre Padrões Referenciais de Qualidade do Ar Interior, em ambientes climatizados artificialmente de uso público e coletivo.**

Disponível em [http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/d094d3004e5f8dee981ddcd762e8a5ec/Resolucao\\_RE\\_n\\_09.pdf?MOD=AJPERES](http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/d094d3004e5f8dee981ddcd762e8a5ec/Resolucao_RE_n_09.pdf?MOD=AJPERES). Acesso em 11 nov. 2011.

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), 2003b. Resolução – RE nº 899, de 29 de maio de 2003. **Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos.**

Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/re/899\\_03re.htm](http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/re/899_03re.htm). Acesso em 26 jan. 2013.

ANVISA (Agência Nacional de Vigilância Sanitária). **Agrotóxicos e Toxicologia. Monografias de Agrotóxicos**, 2013. Disponível em <http://portal.anvisa.gov.br/wps/168ompativ/Anvisa+Portal/Anvisa/Inicio/Agrotoxicos+e+Toxicologia/Assuntos+de+Interesse/Monografias+de+Agrotoxicos>. Acesso em 08 ago. 2013.

APTI (Air Pollution Training Institute). **Principles and Practices of Air Pollution Control**. Student Manual APTI Course 452, 2003. Disponível em <http://www.4cleanair.org/apti/452combined.pdf>. Acesso em 27 jun. 2013.

ARDREY, R. E.; **Liquid Chromatography-Mass Spectrometry: An Introduction**, 2003. Disponível em <http://www.bidvb.com:2300/+biblioteca%20dos%20bidvinianos/+exatas%20e%20administra%C3%A7%C3%A3o/Quimica.Analitica.%20+Varios.Livros/Wiley%20Liquid%20Chromatography%20Mass%20Spectrometry%20An%20Introduction%202003.pdf>. Acesso em 19 jul. 2013.

BAILEY, R.; BELZER, W. Large volume cold on-column injection for gas chromatography-negative chemical ionization-mass spectrometry analysis of selected pesticides in air samples. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 1150-1155, 2007.

BARBOSA, L. C. A. **Os pesticidas, o homem e o meio ambiente**. Viçosa: UFV. 215 p, 2004.

BARRO, R.; GARCIA-JARES, C; LLOMPART, M; BOLLAIN, M. H.; CELA, R; Rapid and sensitive determination of pyrethroids indoors using active sampling followed by Ultrasound-assisted Solvent Extraction and Gas Chromatography **Journal of Chromatography A**, v.1111, p. 1-10, 2006.

BENASSI, M. **Técnicas de Ionização: Ionização por Elétrons**, 2009. Disponível em:

<http://www.espectrometriademassas.com.br/capitulos/assuntos/assunto.asp?codcapitulo=4&codassunto=45&numero=6>. Acesso 19 jul. 2013.

BORRAS, E.; SANCHEZ, P.; MUNOZ, A.; TORTAJADA-GENARO, L. A.. Development of a gas chromatography-mass spectrometry method for the determination of pesticides in gaseous and particulate phases in the atmosphere. **Analytica Chimica Acta**, v.699, p. 57- 65, 2011.

BOUVIER, G.; BLANCHARD, O.; MOMAS, I.; SETA, N. Pesticide exposure of non-occupationally exposed subjects compared to some occupational exposure: A French pilot study **Science Total Environmental**, v. 366, p. 4-91, 2006.

BRASIL. **Decreto nº 4.074, de 04 de janeiro de 2002**. Regulamenta a Lei no 7.802, de 11 de julho de 1989, que dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. Disponível em:

<http://www.inpev.org.br/responsabilidades/169ompativei/images/Decreto.PDF>>. Acesso em 03 mar. 2013.

BRASIL. **Lei nº 6.938 de 31 de agosto de 1981**. Dispõe sobre a Política Nacional do Meio Ambiente, seus fins e mecanismos de formulação e aplicação, e dá outras providências. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/l6938.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l6938.htm). Acesso em 25 jun. 2013.

BRASIL. **Norma Regulamentadora nº 15** – Atividades e operações insalubres. Ministério do Trabalho e Emprego – Secretaria de Inspeção do Trabalho. Diário Oficial da União. 06 jul. 1978. Disponível em: <http://www.guiatrabalhista.com.br/170ompativei/nr/nr15.htm>. Acesso em 11 jul. 2013.

BRASIL. **Lei nº 6.514 de 22 de dezembro de 1977**. Altera o Capítulo V do Título II da Consolidação das Leis do Trabalho, relativo a segurança e medicina do trabalho e dá outras providências. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/leis/l6514.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/l6514.htm). Acesso em 11 jul. 2013.

BRITO, N. M.; DE AMARANTE JUNIOR, O. P.; POLESE, L.; RIBEIRO, M. L. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 13, p. 129-146, 2003.

BUTTON, S. T. **Metodologia para planejamento experimental e análise de resultados**. 2005. <http://www.fem.unicamp.br/~sergio1/pos-graduacao/IM317/apostila.pdf>. Acesso em 15 jul. 2013.

CARNEIRO, F. F.; PIGNATI, W.; RIGOTTO, R. M.; AUGUSTO, L. G. S.; RIZOLLO, A.; MULLER, N. M.; ALEXANDRE, V. P.; FRIEDRICH, K.; MELLO, M. S. C. Dossiê ABRASCO – **Um alerta sobre os impactos dos agrotóxicos na saúde**. ABRASCO, Rio de Janeiro, abril de 2012. 1ª Parte. 98 p.

CAVALCANTI, P. M. P. S. Modelo de gestão da qualidade do ar – abordagem preventiva e corretiva. **Tese de Doutorado** (Doutorado em Planejamento Energético) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, 2010, 252 p. Disponível em [http://www.ppe.ufrj.br/ppes/production/tesis/paulina\\_maria.pdf](http://www.ppe.ufrj.br/ppes/production/tesis/paulina_maria.pdf). Acesso em 19 nov. 2013.

CDC (Centers for Disease Control and Prevention). **About NIOSH**, 2013. Disponível em <http://www.cdc.gov/niosh/about.html>. Acesso em 27 jun. 2013.

CETESB (Companhia de Tecnologia de Saneamento Ambiental). **Poluentes**, 2013<sup>a</sup>. Disponível em <http://www.cetesb.sp.gov.br/ar/informa??es-b?sicas/21-poluentes>. Acesso em 27 jun 2013.

CHIARADIA, M. C.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F. O estado da arte da cromatografia associada à Espectrometria de Massas acoplada à Espectrometria de massas na análise de compostos tóxicos em alimentos, **Química Nova**, v. 31, p. 623-636, 2008.

COELHO, M. B. **Analisadores de Massa: Íon Trap**, 2009. Disponível em: [http://www.espectrometriademassas.com.br/170ompative/assuntos/assunto.asp?cod\\_capitulo=8&codassunto=25&numero=5](http://www.espectrometriademassas.com.br/170ompative/assuntos/assunto.asp?cod_capitulo=8&codassunto=25&numero=5). Acesso em 20 jul. 2013.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. **Fundamentos de Cromatografia**. São Paulo: Editora Unicamp, 2006.

CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente). **Resolução CONAMA n° 003 de 28 de junho de 1990**. Dispõe sobre conceitos como padrões de qualidade do ar e poluente atmosférico. Disponível em [http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/171ompat\\_03\\_90\\_padroes\\_de\\_qualidade\\_do\\_ar.pdf](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/171ompat_03_90_padroes_de_qualidade_do_ar.pdf). Acesso em 26 abr. 2013.

CONAMA (Conselho Nacional do Meio Ambiente). **Resolução CONAMA n° 005 de 15 de junho de 1989**. Dispõe sobre a instituição do Programa Nacional de Controle da Qualidade do Ar – PRONAR. Disponível em <http://www.mma.gov.br/port/171ompat/res/res89/res0589.html>. Acesso 26 abr. 2013.

CORILO, Y. E. **Analisadores de Massa: Quadrupolos**, 2009. Disponível em: <http://www.espectrometriademassas.com.br/capitulos/assuntos/assunto.asp?codcapitulo=8&codassunto=17&numero=2>. Acesso 20 jul. 2013.

COSCOLLÀ, C.; CASTILLO, M.; PASTOR, A.; YUSÀ, V. Determination of 40 currently used pesticides in airborne particulate matter (PM 10) by microwave-assisted extraction and gas chromatography coupled to triple quadrupole mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 693, p. 72-81, 2011.

COSCOLLÀ, C.; HART, E.; PASTOR, A.; YUSÀ, V. LC-MS Characterization of contemporary pesticides in PM10 of Valencia Region, Spain. **Atmospheric Environment**, v. 77, p. 394-403, 2013.

COSCOLLÀ, C.; YUSÀ, V.; BESER, M. I.; PASTOR, A. Multi-residue analysis of 30 currently used pesticides in fine airborne particulate matter (PM 2.5) by microwave-assisted extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, p. 8817-8827, 2009.

CUADROS-RODRÍGUEZ, L.; GÁMIZ-GRACIA, L.; ALMANSA-LÓPEZ, E. M.; BOSQUE-SENDRA, J. M. Calibration in chemical measurement processes. II. A methodological approach. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 20, p. 620-636, 2001.

CUNICO, M. W. M.; CUNICO, M. M.; MIGUEL, O. G.; ZAWADZKI, S. F.; PERALTA-ZAMORA, P.; VOLPATO, N. **Planejamento fatorial: uma ferramenta estatística valiosa para a definição de parâmetros experimentais empregados na pesquisa científica**. Visão Acadêmica, v. 9, p. 23-32, 2008.

DOBSON, R.; SCHEYER, A.; RIZET, A. L.; MIRABEL, O.; MILLET, M. Comparison of the efficiencies of different types of adsorbents at trapping currently used pesticides in the gaseous phase using the technique of high-volume sampling. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, v. 386, n. 6, p. 1781-1789, 2006.

DONATO, F. F. Resíduos de agrotóxicos em água potável usando SPE e determinação rápida por LC-MS/MS E GC-MS/MS. **Dissertação de mestrado** (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 148f. 2012.

EPA (Environmental Protection Agency). **National Ambient Air Quality Standards (NAAQS)**, 2013. Disponível em: <http://www.epa.gov/air/criteria.html>. Acesso em 11

jul. 2013.

EPA (Environmental Protection Agency). **Compendium Method TO-10A**, 1999. Disponível em <http://www.epa.gov/ttnamti1/files/ambient/airtox/to-10ar.pdf>. Acesso em 15 set. 2013.

FACCO, J. de F. Agrotóxicos em milho: otimização e validação de método multirresíduo empregando GC-MS/MS. **Dissertação de mestrado** (Mestrado em química) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 118f. 2013.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). **FAOStat – Concepts search**, 2013. Disponível em: <http://faostat.fao.org/site/379/DesktopDefault.aspx?PageID=379> Acesso em 20 abr. 2013.

FENIK, J., MACIEJ, T., BIZIUK, M. Properties and determination of pesticides in fruits and vegetables. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 30, p. 814-826, 2011.

FEPAM (Fundação Estadual de Proteção Ambiental). **Procedimentos e critérios técnicos para o licenciamento ambiental de depósitos de agrotóxicos**, 2011. Disponível em [http://www.fepam.rs.gov.br/central/diretrizes/diret\\_dep\\_agrot.pdf](http://www.fepam.rs.gov.br/central/diretrizes/diret_dep_agrot.pdf). Acesso em 19 nov. 2013.

FOOTPRINT. **Pesticide Proprieties Database**, 2013. Disponível em <<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/footprint/index2.htm>>. Acesso em: 20 jun. 2013.

FREIXO, J. L.; SILVA, D. B. da; DORES, E. F. G. de C; VILLA, R. D. Câmara de volatilização: uma alternativa para avaliação da eficiência de amostragem de  $\alpha$ - e  $\beta$ -endossulfam em fase gasosa. **Química Nova**, v. 36, n. 7, p. 1038-1043, 2013.

FRIGGI, C. do A. Determinação multiclasse de resíduos de agrotóxicos e medicamentos veterinários em carnes empregando LC-MS/MS. **Tese de doutorado** (Doutorado em Química) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, 151f. 2012.

GAGOULIA, A. G.; AMVRAZI, E. G.; TSIROPOULOS, N. G. Determination of diphenylamine in contaminated air of agricultural building using active sampling on solid sorbents. **International Journal of Environmental Analytical Chemistry**, v. 92, p. 1457-1469, 2012.

HARNER, T.; POZO, K.; GOUIN, T.; MACDONALD, A.; HUNG, H.; CAINEY, J.; PETERS, A. Global pilot study for persistent organic pollutants (POPs) using PUF disk passive air samplers. **Environmental Pollution**, v. 144, p. 445-452, 2006.

HARRIS, D. C. **Análise Química Quantitativa**. Rio de Janeiro: Editoria LTC, 2008.

HOLMQVIST, N.; STENROTH, P.; BERGLUND, O.; NYSTROM, P.; OLSSON, K.; JELLYMAN, D.; MCINTOSH, A. R.; LARSSON, P. Low levels of persistent organic pollutants (POPs) in New Zealand eels reflect isolation from atmospheric sources. **Environmental Pollution**, v. 141, p. 532-538, 2006.

HONÓRIO, A. Estudo de Aumento de Capacidade da Planta de Britagem da Usina I de Germano – Samarco Mineração S.A.. **Monografia de pós-graduação** (Pós-Graduação em Engenharia de Minas) – Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, MG. 62p, 2010.

HUBER, L. Validation of analytical methods: Review and strategy. **LC-GC Europe**, v. 11, p 96, 1998.

HUNG, H.; MACLEOD, M.; GUARDANS, R.; SCHERINGER, M.; BARRA, R.; HARNER, T.; ZHANG, G. Towards the Next Generation of Air Quality Monitoring: Persistent Organic Pollutants (POPs). **Atmospheric Environment**. No prelo.

ICH – International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use. **Validation of analytical procedures: text and methodology**, Q2(R1), 2005. Disponível em: [http://www.ich.org/fileadmin/Public\\_Web\\_Site/ICH\\_Products/Guidelines/Quality/Q2\\_R1/Step4/Q2\\_R1\\_\\_Guideline.pdf](http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1__Guideline.pdf). Acesso em 26 jan. 2012.

INMETRO (INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL); **Orientações sobre Validação de Métodos de Ensaio Químicos**, DOQ-CGCRE-008, ver. 4, 2011.

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

JOKANOVIC M. Biotransformation of organophosphorus compounds. **Toxicology**, v. 60, p. 166-139, 2001.

KOSIKOWSKA, M.; BIZIUK, M. Review of the determination of pesticides residues in ambient air. **Trend in Analytical Chemistry**, v. 29, p. 1064-1072, 2010.

LANÇAS, F. M. A Cromatografia Líquida Moderna e a Espectrometria de Massas: finalmente “173compatíveis”? **Scientia Chromatographica**, v. 1, p. 35-61, 2009.

LANÇAS, F. M. **Validação de Métodos Cromatográficos de Análise**. São Carlos: RiMa, 2004, 62p.

LARA, W. H.; BATISTA, G. C. de. Pesticidas. **Química Nova**, v. 15, p. 161-166, 1992.

LEPRI, L.; DESIDERE, P.; CINI, R.; MASI, F.; VAN ERK, M. S. Transport of organochlorine pesticides across the air/sea interface during the aerosol process. **Analytica Chimica Acta**, v. 317, p. 149-160, 1995.

MAPA (Ministério Da Agricultura Pecuária e Abastecimento), **Agrotóxicos**, 2013. Disponível em:<<http://www.agricultura.gov.br/vegetal/agrotoxicos>>. Acesso em 03 mar. 2013.

MARTINS, M. L. Determinação de pesticidas e compostos relacionados em água de superfície e efluente industrial empregando extração em fase sólida e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. **Dissertação de mestrado** (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 144p, 2004.

MARTINS, M. L. Determinação de resíduos de compostos orgânicos em água por micro extração líquido-líquido dispersiva (DLLME) e GC-(TQ)MS/MS. **Tese de doutorado** (Doutorado em Química) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 161p, 2010.

MARTINS, M. L.; DONATO, F. F.; PRESTES, O. D.; ADAIME, M. B.; ZANELLA, R. Determination of pesticide residues and related compounds in water and industrial effluent by solid-phase extraction and gas chromatography coupled to triple quadrupole mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, v. 405, p. 7697–7709, 2013.

MICHULEC, M.; WARDENCKI, W.; PARTYKA, M.; NAMIESNIK, J. Analytical techniques used in monitoring of atmospheric air pollutants. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 35. P. 117-133, 2005.

MMA (Ministério do Meio Ambiente). **Padrões de qualidade do ar - Experiência comparada Brasil, EUA e União Européia**, 2012. Disponível em [http://www.mma.gov.br/port/conama/processos/C1CB3034/Estudo\\_Padrees\\_Qualidade\\_Ar.pdf](http://www.mma.gov.br/port/conama/processos/C1CB3034/Estudo_Padrees_Qualidade_Ar.pdf). Acesso em 20 nov. 2013.

NETO, B. de B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos**. 4ª ed., Bookman, 2010.

NEVES, C. F. C., SCHVARTZMAN, M. M. A. M.; Técnica para seleção de variáveis aplicada à separação de gases. **Química Nova**, v.25, p.327-329, 2002.

NMAM (NIOSH Manual of Analytical Methods). **Chlorinated and organonitrogen herbicides (air sampling) – 5602**. 1998. Disponível em <http://www.emedco.info/nmam/pdfs/5602.pdf>. Acesso em 25 jul. 2013.

ONU BR (Organização das Nações Unidas no Brasil). **Consequências da poluição do ar são piores do que estimativas anteriores, alerta OMS**. 2013. Disponível em <http://www.onu.org.br/consequencias-da-poluicao-do-ar-sao-piores-do-que-estimativas-antiores-alerta-oms>. Acesso em 27 jun. 2013.

OPAS/OMS (Organização Pan-Americana da Saúde/Organização Mundial da Saúde). **Manual de Vigilância da Saúde de Populações Expostas a Agrotóxicos**. Brasília: Representação do Brasil, 1996.

OSHA (Occupation Safety and Health Administration). 2013. Disponível em <http://www.osha.gov/chemicaldata>. Acesso em 20 abr. 2013.

OSHA (Occupation Safety and Health Administration). 2013b. Disponível em <http://www.osha.gov>. Acesso em 20 abr. 2013.

OSHA (Occupation Safety and Health Administration). 2013c. Disponível em

<https://www.osha.gov/dts/sltc/methods/organic/org062/org062.html>. Acesso em 14 set. 2013.

PEDROZA, Ana Carolina; Aretha Sessa Rodrigues; Carolina Francisquette de Sousa; Fabriciano Pinheiro. Limites de Exposição Ocupacional: estudo comparativo entre valores aplicados no Brasil e EUA. **RevInter- Revista Intertox de Toxicologia, Risco Ambiental e Sociedade**, v. 4, n. 3, p. 20-29, out. 2011.

PORTAL BRASIL. **Climas**. 2013. Disponível em: <http://www.brasil.gov.br/sobre/meio-ambiente/climas>. Acesso em 20 jun. de 2013.

PNQA (Plano Nacional de Qualidade do Ar). **PNQA - Plano Nacional de Qualidade do Ar (2009) - SUBSÍDIOS À ELABORAÇÃO DA 1ª CONFERÊNCIA NACIONAL DE SAÚDE AMBIENTAL**. Volume 1. 2009. Disponível em <http://pt.scribd.com/doc/79570808/PNQA-Plano-Nacional-de-Qualidade-do-Ar-2009-SUBSIDIOS-A-ELABORACAO-DA-1%C2%AA-CONFERENCIA-NACIONAL-DE-SAUDE-AMBIENTAL>. Acesso em 11 nov. 2013.

PORTAL ISEGNET, 2013. **Avaliação de agentes ambientais químicos e físicos**. 2013. Disponível em [http://www.isegnet.com.br/siteEdit/site/site\\_antigo/arquivosartigos/AGENTES\\_AMBIENTAIS.pdf](http://www.isegnet.com.br/siteEdit/site/site_antigo/arquivosartigos/AGENTES_AMBIENTAIS.pdf). Acesso em 20 abr. 2013.

RAINA, R. & HALL, P. Field Evaluation of Solid Sorbents for Ambient Air Sampling of Pesticides. **Air, Soil and Water Research**, v. 03, p. 57-66, 2010.

RAINA, R.; HALL, P.; SUN, L. Occurrence and relationship of organophosphorus insecticides and their degradation products in the atmosphere in western Canada agricultural regions. **Environmental Science and Technology**, v. 44, p. 8541-8546, 2010.

RICCIO, M. F. **Analisadores de Massas: Triplo Quadrupolo**. Disponível em: <http://www.espectrometriademassas.com.br/capitulos/assuntos/assunto.asp?codcapitulo=8&codassunto=63&numero=9>. Acesso em 28 jul. 2013.

SANCHES, S. M. et al. Pesticidas e seus respectivos riscos associados a contaminação da água. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v.13, p.53-58, 2003.

SANCO (EUROPEAN COMMISSION), **Method validation and quality control Procedures for pesticide residues analysis in food and feed**, 3ª Edição, Documento N° SANCO/12495/2011, 1º de janeiro de 2012. Disponível em [http://ec.europa.eu/food/plant/plant\\_protection\\_products/guidance\\_documents/docs/qualcontrol\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/food/plant/plant_protection_products/guidance_documents/docs/qualcontrol_en.pdf). Acesso em 26 jan. 2013.

SANJUÁN-HERRÁEZ, D.; RODRÍGUEZ-CARRASCO, Y.; JUAN-PEIRÓ, L.; PASTOR, A.; de la GUARDIA, M. Determination of indoor air quality of a phytosanitary plant. **Analytica Chimica Acta**, v. 694, p. 67-74, 2011.

SANTOS, L. G. dos; CARVALHO DORES E. F. G. de; LOURENCETTI, C. Análise de resíduos de pesticidas em ar atmosférico. **Revista Uniara**, v. 12, n. 02, p.185-204, 2009. Disponível em [http://www.uniara.com.br/revistauniara/pdf/23/denilson\\_14.pdf](http://www.uniara.com.br/revistauniara/pdf/23/denilson_14.pdf). Acesso em 19 nov.

2013.

SAWAYA, A. C. H. F. **Analisadores de Massa: TOF**. 2009. Disponível em: <http://www.espectrometriademassas.com.br/capitulos/assuntos/assunto.asp?codcapitulo=8&codassunto=24&numero=1>. Acesso em 20 jul. 2013.

SCHEYER, A.; MORVILLE, S.; MIRABEL, P.; MILLET, M. Variability of atmospheric pesticide concentrations between urban and rural areas during intensive pesticide application. **Atmospheric Environment**, v. 41, p. 3604-3618, 2007.

SCHUMMER, C.; MOTHIRON, E.; APPENZELLER, B. M. R.; RIZET, A.; WENNIG, R.; MILLET, M. Temporal variations of concentrations of currently used pesticides in the atmosphere of Strasbourg, France. **Environmental Pollution**, v. 158, p. 576–584, 2010.

SIGMA-ALDRICH. 2013. Disponível em: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/xad2?lang=pt&region=BR>. Acesso em 23 abr. 2013.

SIGMA-ALDRICH. 2013b. Disponível em: [http://www.sigmaaldrich.com/etc/medialib/docs/Supelco/Product\\_Information\\_Sheet/4802.Par.0001.File.tmp/4802.pdf](http://www.sigmaaldrich.com/etc/medialib/docs/Supelco/Product_Information_Sheet/4802.Par.0001.File.tmp/4802.pdf). Acesso em 23 abr. 2013

SIGMA-ALDRICH. 2013C. Disponível em: <http://www.sigmaaldrich.com/analytical-chromatography/analytical-products.html?TablePage=14540718>. Acesso em 07 jul. 2013.

SISWEB (Scientific Instrument Services). 2013. Disponível em <http://www.sisweb.com/index/referenc/resins.htm>. Acesso em 23 abr. 2013.

SISWEB (Scientific Instrument Services). 2013b. Disponível em <http://www.sisweb.com/index/referenc/resin2.htm>. Acesso em 23 abr. 2013.

SKC Inc. **OSHA Versatile Sampler Tubes – OVS tubes**. Disponível em <http://www.skcinc.com/prod/226-30-16.asp>. Acesso em 25 jul. 2013.

STASHENKO, E. E.; MARTINEZ, J. R. GC-MS: Mas de um Analizador de Masas, para que? **Scientia Chromatographica**, v. 2, p. 25-33, 2010.

SYNGENTA. **Inseticidas**. 2013. Disponível em <http://www.syngenta.com/country/br/pt/NossaOferta/NossosProdutos/ProtecaodeCultivos/Pages/Inseticidas.aspx>. Acesso em 20 jun. 2013.

TEÓFILO, R. F.; FERREIRA, M. M. C. Quimiometria II: Planilhas eletrônicas para cálculos de planejamentos experimentais, um tutorial. **Química Nova**, v. 29, p. 338-350, 2006.

THOMPSON, M.; ELLISON, S. L. R.; WOOD, R. Harmonized guidelines for single laboratory validation of methods of analysis (IUPAC Technical Report). **Pure and Applied Chemistry**, v. 74, p. 835, 2002.

UFBA - Universidade Federal da Bahia. Disponível em [http://www.transportedegraneis.ufba.br/Apostila/CAP3\\_CaracMateriais.pdf](http://www.transportedegraneis.ufba.br/Apostila/CAP3_CaracMateriais.pdf). 2013. Acesso em 05 jul. 2013.

UFBA - Universidade Federal da Bahia. Disponível em: [http://www.transportedegraneis.ufba.br/arquivos/Tabela\\_Mesh.PDF](http://www.transportedegraneis.ufba.br/arquivos/Tabela_Mesh.PDF). 2013b. Acesso em 07 jul.2013.

Van den BERG, F.; KUBIAK, R.; BENJEY, W. G.; MAJEWSKI, M. S.; YATES, S. R.; REEVES, G. L.; SMELT, J. H.; VAN DER LINDEN, A. M. A. Emission of pesticides into the air. **Water, Air and Soil Pollution**, v. 115,n. 1-4, p. 195-218, 1999.

Van JAARVELD, J. A.; Van PUL, W. A. J. Modelling of atmospheric transport and deposition of pesticides. **Water, Air and Soil Pollution**, v. 115. p. 167-182, 1999,

VÉKEY, K.; Mass spectrometry and mass-selective detection in chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 921, p. 227-236, 2001.

WANG, J.; TUDURI, L.; MERCURY, M.; MILLET, M.; BRIAND, O.; MONTURY, M.. Sampling atmospheric pesticides with SPME: Laboratory developments and field study. **Environmental Pollution**, v.157, p. 365-370, 2009.

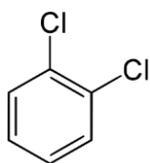
WANIA, F.; SHEN, L.; LEI, Y. D.; MUIR, D. C. G. Development and calibration of a Resin-based passive sampling system for monitoring persistent organic pollutants in the atmosphere. **Environmental Science and Technology**, v. 37, p. 1352-1359, 2003.

WorkSafeBC (Workers' Compensation Board). **Table of exposure limits for chemical and biological substances**. 2013. Disponível em [http://www2.worksafebc.com/PDFs/regulation/exposure\\_limits.pdf](http://www2.worksafebc.com/PDFs/regulation/exposure_limits.pdf). Acesso em 02 set. 2013.

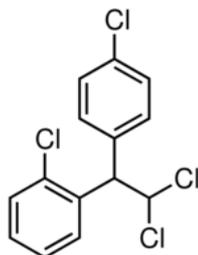
YOSHIDA, T. Simultaneous determination of 18 pyrethroids in indoor air by gas chromatography/mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, p. 5069-5076, 2009.

## ANEXOS

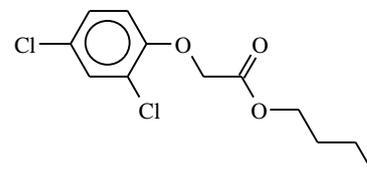
### Anexo I – Fórmulas estruturais dos agrotóxicos estudados nesse trabalho



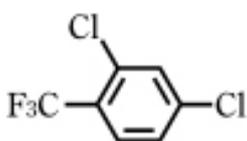
1,2 diclorobenzeno



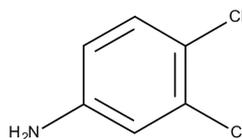
2,4 DDD



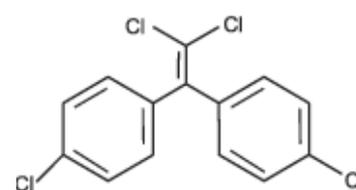
2,4 D éster



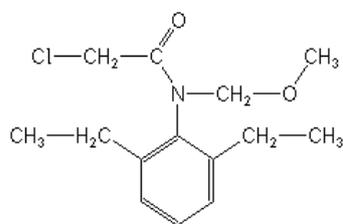
3,4 DCBTF



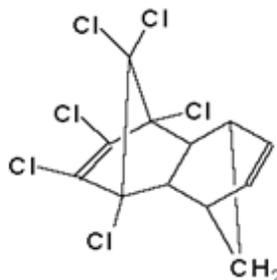
3,4 dicloroanilina



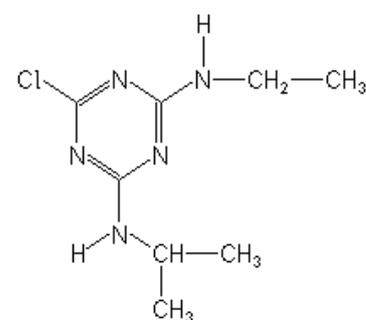
4,4 DDE



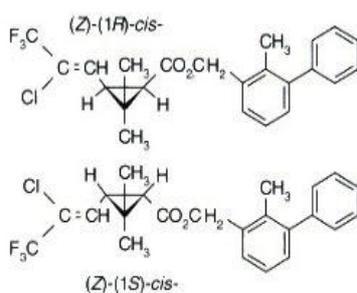
Alaclopro



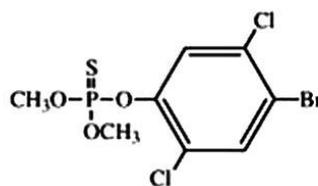
Aldrin



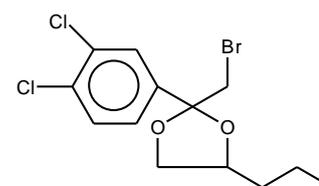
Atrazina



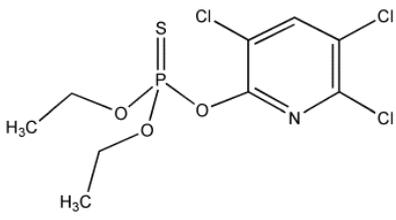
Bifentrina



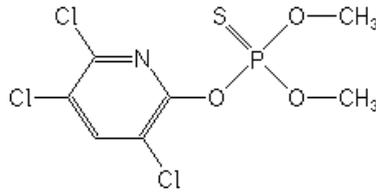
Bromofós-metílico



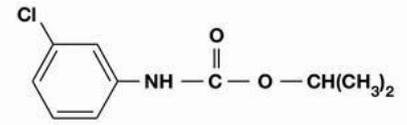
Bromoketal



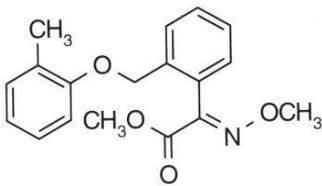
Clorpirifós-etílico



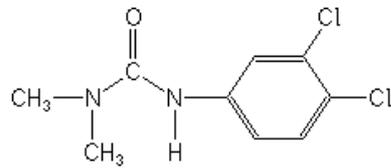
Clorpirifós-metílico



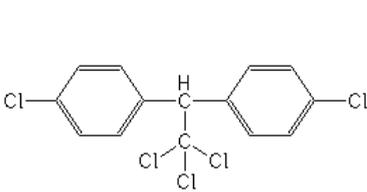
Clorprofam



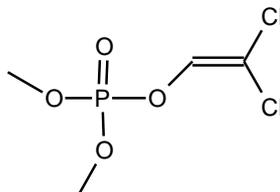
Cresoxim-metílico



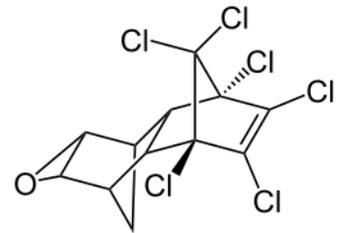
Diuron



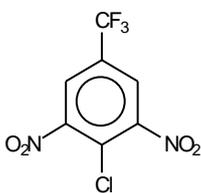
DDT



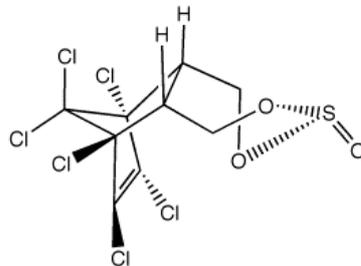
Diclorvós



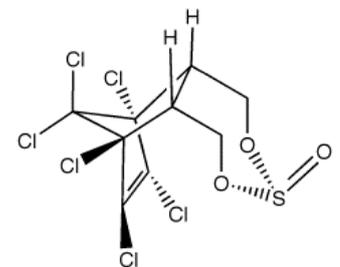
Dieldrin



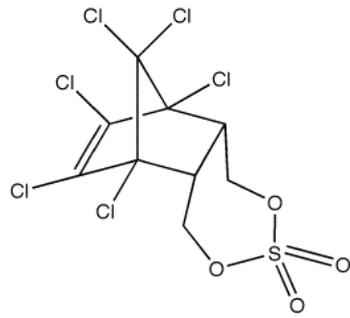
Dinitro



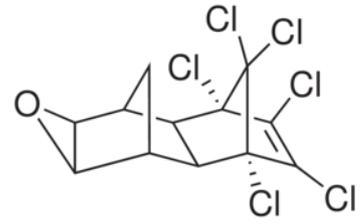
Endossulfan alfa



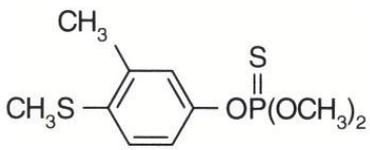
Endossulfan beta



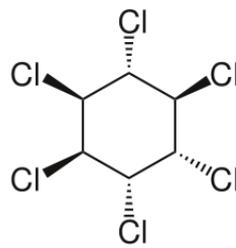
Endossulfan sulfato



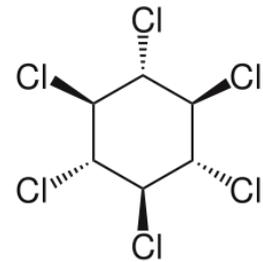
Endrin



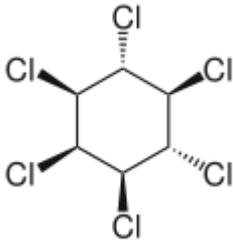
Fentiona



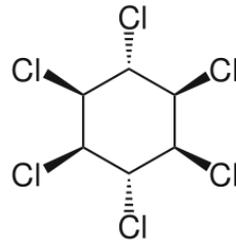
HCH alfa



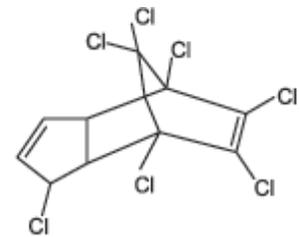
HCH beta



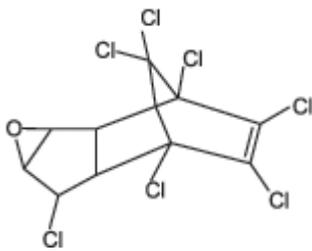
HCH delta



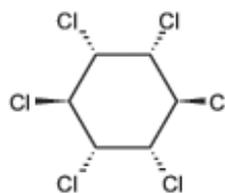
HCH gamma (lindano)



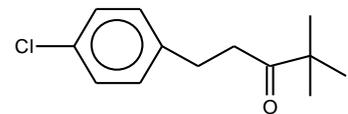
Heptacloro



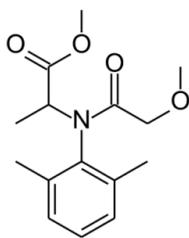
Heptacloro epóxido



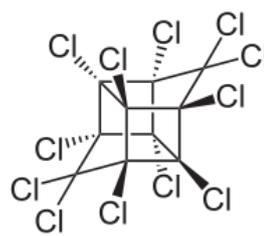
Hexaclorobenzeno



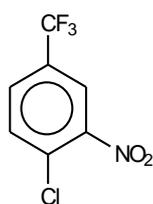
Ketona



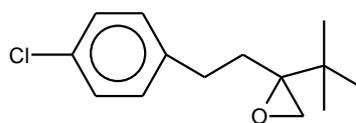
Metalaxil



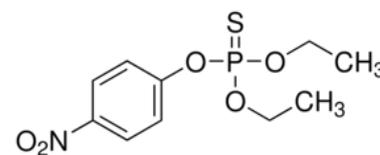
Mirex



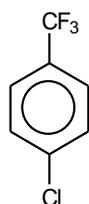
Mononitro



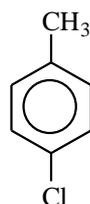
Oxirano



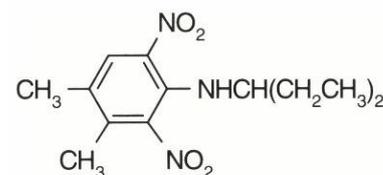
Parationa-etílica



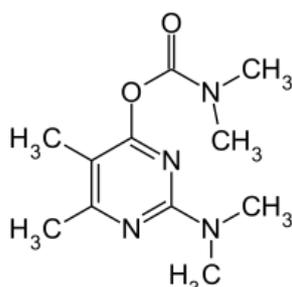
PCBTF



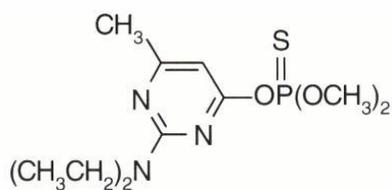
PCT



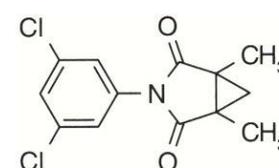
Pendimetalina



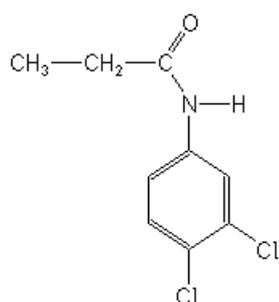
Pirimicarbe



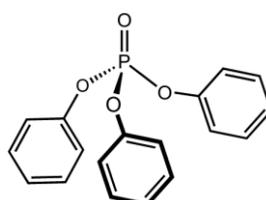
Pirimifós-metílico



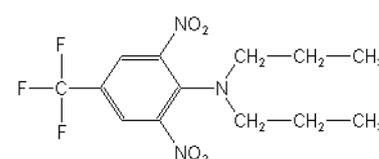
Procimidona



Propanil



Trifenilfosfato



Trifluralina

## Anexo II - Escala *Mesh* para definição do tamanho de partículas do adsorvente

*Mesh* é a unidade de medida para granulometria, ou seja, é a escala usada para determinar o tamanho das partículas de um material granular. A origem da escala *mesh* é definida na malha das peneiras, padronizadas internacionalmente (UFBA, 2013):

Cada peneira tem um número de aberturas por polegada (que corresponde a 25,4 mm), denominado *mesh* (HONÓRIO, 2010). Logo, quanto maior o *mesh*, maior o número de aberturas e, conseqüentemente, mais fino deverá ser o grão para que passe por ela.

Conversões do sistema *mesh* para o sistema métrico.

<b>Mesh (peneira)</b>	<b>Abertura (mm)</b>	<b>Mesh (peneira)</b>	<b>Abertura (mm)</b>
1	25,40	18	1
7/8	22,60	20	0,841
3/4	19,00	25	0,707
5/8	16,00	30	0,595
1/2	13,50	35	0,5
1/2	12,70	40	0,42
7/16	11,20	45	0,354
3/8	9,51	50	0,297
1/3	8,00	60	0,25
1/4	6,73	70	0,21
1/4	6,35	80	0,177
3 1/2	5,66	100	0,149
4	4,76	120	0,125
5	4,00	140	0,105
6	3,36	170	0,088
7	2,83	200	0,074
8	2,38	230	0,063
10	2,00	270	0,053
12	1,68	325	0,044
14	1,41	400	0,037

Fonte: UFBA, 2013b.

Especificamente, com relação aos adsorventes utilizados para amostragem de analitos em fase gasosa, normalmente são identificados da seguinte maneira: Tenax TA malha 60/80 *mesh*, por exemplo, significa que todos os grãos passam por uma peneira de 60 *mesh* (partículas menores que 0,250 mm) e nenhum grão passa através de uma peneira de 80 *mesh* (partículas maiores que 0,177 mm). Partículas estão entre 0,250 e 0,177 mm.

Anexo III - Procedimentos e critérios técnicos para o licenciamento ambiental de depósitos de agrotóxicos segundo a Fundação Estadual de Proteção Ambiental (FEPAM) – maio de 2011.

## CRITÉRIOS DE LOCALIZAÇÃO

Licença Prévia – Somente em área não residencial de acordo com o plano diretor do município, código de postura do município ou legislação municipal similar. Em prédios que somente desenvolvam atividades relacionadas com a comercialização, armazenamento de agrotóxicos, ou outras substâncias tóxicas, e insumos agrícolas.

As atividades de depósito de agrotóxicos não poderão estar localizadas em:

- Áreas de Preservação Permanente;
- Unidades de Conservação, sua zona de amortecimento e/ou corredores ecológicos;
- áreas de manancial de abastecimento público, numa distância inferior a 500 m adjacente de mananciais de captação de água;
- áreas com lençol freático aflorante ou com solos alagadiços;
- áreas onde as condições geológicas não oferecem condições para a construção de obras civis.

Distâncias mínimas de residências, escolas, hospitais, creches, instalações para criações de animais e depósitos de alimentos, para evitar que os mesmos sejam contaminados em caso de eventuais acidentes:

- trinta metros para depósitos até 100 m<sup>2</sup>;
- cinquenta metros para depósitos de 100 a 1000 m<sup>2</sup>;
- cem metros para depósitos acima de 1000 m<sup>2</sup> (somente em área industrial).

A área escolhida para a construção do depósito deverá estar:

- preferivelmente em terreno plano e possuir sistema de controle de águas pluviais e de erosão do solo adequado às características do terreno;
- distante no mínimo 100 metros de qualquer curso d'água;
- distante no mínimo 100 metros de nascentes, ainda que intermitentes, e dos chamados “olhos d'água”;
- distante no mínimo 100 metros de banhados ou áreas inundáveis, a partir do limite brejoso e encharcado;

- distante no mínimo 15 metros do passeio público, salvo maior exigência de legislação municipal específica.

- A área escolhida para a construção do depósito deverá dispor de pátio pavimentado ou com brita que possibilite a manobra de veículos transportadores de produtos e outros, sem ocasionar poeira;

Licença de Operação de Regularização – Somente no caso de empresas que estejam implantadas sem Licença Prévia. Os depósitos estabelecidos em prédios residenciais, de uso coletivo, com residências a menos de 30 metros ou que apresentem outros aspectos restritivos/impeditivos deverão ser realocados em prazo a ser determinado, sendo esta nova alternativa locacional submetida ao processo de licenciamento regular (Licença Prévia, Licença de Instalação e Licença de Operação).

## CRITÉRIOS DE CONSTRUÇÃO

A construção do depósito de agrotóxicos e afins deverá apresentar no mínimo as seguintes características:

- área compatível com o volume de produtos a serem estocados;
- cobertura com caimento adequado de modo a impedir qualquer tipo de infiltração;

- paredes, inclusive as divisórias internas, em alvenaria, com acabamento impermeável, pintura com tinta lavável não absorvente;

- piso plano, impermeabilizado, com barreira nas portas de acesso (rampa, lombada, mureta), de modo a servir de contenção em caso de vazamento ou derrame acidental, executado com material impermeável, liso e lavável.

- ventilação facilitada por intermédio de aberturas executadas com elementos vazados, cerâmicos ou de concreto, localizadas nas porções inferiores e superiores das paredes. Se admite, como opção, a execução de telhados com ventilação (com lanternin, telhado sobreposto, etc.) ou com emprego de ventilação forçada (exaustores de ar eólicos ou elétricos);

- todas as aberturas deverão ser protegidas com telas ou grades para impedir o acesso de animais e pessoas não autorizadas;

- prateleiras, quando houver, devem ser de material não absorvente, metal pintado ou madeira pintada com tinta impermeável;

- boa iluminação que permita a fácil leitura dos rótulos, podendo haver aporte de iluminação natural por telhas translúcidas.

## CRITÉRIOS DE PROTEÇÃO E SEGURANÇA

- A norma NR-23, da Proteção contra Incêndios, deverá ser atendida na sua íntegra;
- Saídas de emergência e extintores de incêndio deverão ser demarcados e seus acessos mantidos livres;
- Placas afixadas na porta do depósito deverão conter os dizeres “perigo – agrotóxicos, proibida a entrada de pessoas não autorizadas”;
- Placas de não fumar e de não portar ou consumir alimentos deverão ser afixadas em locais visíveis, tanto no interior como no exterior do depósito;
- Areia, calcário, serragem e bambonas ou outros recipientes plásticos forrados com sacos plásticos deverão estar à disposição para recolhimento de eventuais vazamentos. Tais resíduos deverão ser devolvidos ao fabricante, conforme Decreto Federal no 4.074/02, após comunicação à FEPAM;
- O depósito deverá dispor de vestiário e armários individuais para Equipamento de Proteção Individual (EPI);
- O depósito deverá dispor de lava-olho e chuveiro em local de fácil acesso;
- O depósito deverá ser cercado em toda sua extensão e seu portão mantido fechado.

## CRITÉRIOS DE OPERACIONALIZAÇÃO

- O armazenamento dos produtos dentro dos depósitos de agrotóxicos deverá seguir as orientações da NBR 9843:2004 da ABNT, respeitando a distância mínima de 1 m do teto e 0,5 m das paredes laterais para uma boa ventilação;
- O depósito de agrotóxicos deverá ter um supervisor responsável técnico.
- Todos os funcionários deverão ter treinamento periódico, específico para as atividades previstas no local, inclusive para manejo de eventuais acidentes de trabalho;
- Os funcionários deverão utilizar EPI nas operações de descarregamento, armazenamento e transporte;

- O material para atendimento de situações de acidente/emergência deverá estar claramente identificado e em local de fácil acesso;
- O plano de emergência deverá ser afixado no quadro de avisos na entrada do depósito, contendo telefones de emergência, tais como do corpo de bombeiros, Centro de Informações toxicológicas, hospital, médico e pronto socorro mais próximos, e do fabricante dos agrotóxicos comercializados e outras informações relevantes;
- As fichas de emergência e bulas dos agrotóxicos deverão estar em local de fácil acesso, para consulta em casos de acidentes;
- Os vazamentos de agrotóxicos e afins deverão ser registrados em planilha, com especificação de data, tipo e quantidade de produto, por marca comercial e fabricante;
- Os resíduos decorrentes de eventuais vazamentos deverão ser devolvidos ao fabricante conforme art. 53, parág. 4 do Decreto Federal 4.074/02, observando o competente licenciamento ambiental da empresa transportadora, bem como do empreendimento responsável pelo destino final dos resíduos.

Obs.: As situações não previstas nestes critérios serão analisadas especificamente no processo de licenciamento.

Fonte: FEPAM, 2011.