



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

**AVALIAÇÃO DA TÉCNICA DE EXTRAÇÃO POR SPE
E GC-(EI)-MS/MS NA ANÁLISE DE AGROTÓXICOS
EM ÁGUA DE LAVOURA DE ARROZ IRRIGADO**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Mateus Brum Pereira

Santa Maria - RS, Brasil

2012

**AVALIAÇÃO DA TÉCNICA DE EXTRAÇÃO POR SPE
E GC-(EI)-MS/MS NA ANÁLISE DE AGROTÓXICOS
EM ÁGUA DE LAVOURA DE ARROZ IRRIGADO**

por

Mateus Brum Pereira

Dissertação 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
MESTRE EM QUÍMICA

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Martha Bohrer Adaime

Santa Maria – RS, Brasil

2012

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

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**AVALIAÇÃO DA TÉCNICA DE EXTRAÇÃO POR SPE E GC-
(EI)-MS/MS NA ANÁLISE DE AGROTÓXICOS EM ÁGUA DE
LAVOURA DE ARROZ IRRIGADO**

elaborada por

Mateus Brum Pereira

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

Comissão Examinadora

Prof^a. Dr^a. Martha Bohrer Adaime

(Orientador – Presidente)

Prof. Dr. Fábio Ferreira Gonçalves

(FURG)

Prof. Dr. Manoel Leonardo Martins

(UFSM)

Santa Maria, 14 de fevereiro de 2012.

DEDICATÓRIA

Dedico esta conquista a toda a minha família!
Muito obrigado pelo apoio e
pelos ensinamentos que me passaram!
Amo vocês!

A vida me ensinou...
A dizer adeus às pessoas que amo, sem tirá-las do meu coração;
Sorrir às pessoas que não gostam de mim,
Para mostrá-las que sou diferente do que elas pensam;
Fazer de conta que tudo está bem quando isso não é verdade, para que
eu possa acreditar que tudo vai mudar;
Calar-me para ouvir; aprender com meus erros.
Afinal eu posso ser sempre melhor.
A lutar contra as injustiças; sorrir quando o que mais desejo é gritar todas
as minhas dores para o mundo.
A ser forte quando os que amo estão com problemas;
Ser carinhoso com todos que precisam do meu carinho;
Ouvir a todos que só precisam desabafar;
Amar aos que me machucam ou querem fazer de mim depósito de suas
frustrações e desafetos;
Perdoar incondicionalmente, pois já precisei desse perdão;
Amar incondicionalmente, pois também preciso desse amor;
A alegrar a quem precisa;
A pedir perdão;
A sonhar acordado;
A acordar para a realidade (sempre que fosse necessário);
A aproveitar cada instante de felicidade;
A chorar de saudade sem vergonha de demonstrar;
Me ensinou a ter olhos para "ver e ouvir estrelas",
embora nem sempre consiga entendê-las;
A ver o encanto do pôr-do-sol;
A sentir a dor do adeus e do que se acaba, sempre lutando para
preservar tudo o que é importante para a felicidade do meu ser;
A abrir minhas janelas para o amor;
A não temer o futuro;
Me ensinou e está me ensinando a aproveitar o presente,
como um presente que da vida recebi, e usá-lo como um diamante que eu
mesmo tenha que lapidar, lhe dando forma da maneira que eu escolher.

(Charles Chaplin)

AGRADECIMENTOS

À Professora Dr. Martha B. Adaime, pela dedicação e comprometimento durante a execução deste trabalho.

Ao Professor Dr. Renato Zanella pela orientação durante a iniciação científica e pelas oportunidades a mim ofertadas.

Ao Professor Dr. Fábio Ferreira Gonçalves pela participação na banca examinadora da dissertação e ao Professor Dr. Osmar Damian Prestes pela participação no exame de qualificação.

Ao Professor Dr. Manoel Leonardo Martins pela participação na banca examinadora da dissertação bem como no exame de qualificação, muito obrigado pela ajuda na complementação deste trabalho. Agradeço especialmente pelo incentivo, pela torcida, pela paciência e disponibilidade em me ajudar. Que Deus te retribua sempre!!!

Aos colegas de LARP pela convivência durante este período. Tudo que vivemos juntos foi um aprendizado que valerá para toda a vida.

Aos professores e funcionários do departamento de química, em especial à Valéria e ao Ademir, obrigado pelos ensinamentos e pelas ajudas recebidas durante o curso.

À Janice Facco, Gabriela M. Zemolin, Franciéle K. Schons, Michele C. de Vicari, Sandra C. Peixoto, Juliana P. Cogo e Cristiéle Fröemining pelos bons momentos que passamos ao longo desse período que estivemos juntos, vocês tornaram essa caminhada mais fácil, me apoiando, incentivando e ajudando. Não tenho palavras para agradecer, espero contar sempre com a amizade de vocês! Vocês são muito importantes para mim!

Ao amigo Gustavo M. Teló pela ajuda durante a execução de todo o trabalho, obrigado pela disponibilidade em ajudar e pela companhia durante as análises.

Aos colegas de Instituto Federal Farroupilha, Campus São Vicente do Sul: Franciéle, Aida Bárbara, Mariele, Márcio, Marcelo, Franciane e todos os meus alunos. Obrigado pela acolhida, pela amizade, companheirismo, compreensão. Vocês são pessoas muito especiais e trabalhar com vocês é um prazer e uma honra. Sucesso para nós!!!!

Aos meus ex-colegas e amigos de graduação (Ananda, Débora, Fabiane, Estefânia, Guilherme e Lucas) pela amizade que mesmo com o passar dos anos permanece a mesma. Obrigado pelo apoio e pelos momentos felizes que vivemos.

À minha família, a parte mais importante da minha vida e a principal responsável por esse momento, quero agradecer por tudo. Por mais que eu escrevesse não conseguiria dizer o que vocês significam para mim. Vocês são meus exemplos, minha razão de viver e meu porto seguro. Amo vocês!!!!

À Deus por ter colocado pessoas tão especiais em minha vida e ter me proporcionado todos os momentos que vivi!!!

RESUMO

Dissertação de mestrado
Programa de Pós-Graduação em Química
Universidade Federal de Santa Maria

AVALIAÇÃO DA TÉCNICA DE EXTRAÇÃO DE SPE E GC-(EI)-MS/MS NA ANÁLISE DE AGROTÓXICOS EM ÁGUA DE LAVOURA DE ARROZ IRRIGADO

AUTOR: MATEUS BRUM PEREIRA
ORIENTADOR: PROF^a. DR^a. MARTHA BOHRER ADAIME
Data e Local da defesa: Santa Maria, 14 de fevereiro de 2012.

O uso intensivo de agrotóxicos, especialmente herbicidas e inseticidas, associados ao manejo inadequado da água de irrigação pode resultar no escoamento destes compostos para os rios e lagoas. Ressalta-se que, o cultivo de arroz é feito preferencialmente em áreas que possuem grandes volumes de água disponíveis.

Considerando-se a importância da água para a natureza e para a saúde humana, bem como, a escassez dos recursos hídricos e a produção em larga escala de arroz indispensável como alimento para a população, este estudo tem como objetivo desenvolver e validar um método para a determinação de 62 agrotóxicos em água de lavoura de arroz irrigado.

Num primeiro momento, os analitos foram extraídos das amostras utilizando o método de extração em fase sólida (SPE) e a determinação simultânea dos agrotóxicos selecionados foi realizada por um GC-(EI) - MS/MS. Em seguida, para cada composto, duas transições MRM foram monitoradas: uma para quantificação e outra para confirmação, como o previsto pelas diretrizes internacionais e legislações.

Em continuidade, na validação do método, os resultados foram satisfatórios para os requisitos exigidos, sendo que os valores de r^2 para as curvas analíticas foram maiores que 0,99. O valor do LOQ do método para todos os compostos foi estabelecido em $0,2 \mu\text{g L}^{-1}$. As recuperações apresentaram valores entre 70 e 120% com RSD inferior a 20% para a maioria dos compostos estudados.

Finalmente, os resultados indicam que o método proposto para a análise de 32 agrotóxicos - incluindo uma etapa de extração e quantificação por SPE-GC- (EI) -MS/MS - é eficiente e seletiva, permitindo a quantificação de baixos níveis de concentração. Esses índices tornam a técnica adequada para o monitoramento destes compostos em água de lavoura de arroz irrigado. Além disso, os parâmetros de validação atendem aos requisitos mínimos para a validação de métodos cromatográficos, resultado que permitiu a aplicação do método desenvolvido e validado.

Palavras-chave: agrotóxicos; água; GC-(EI)-MS/MS.

ABSTRACT

Master Dissertation
Programa da Pós-Graduação em Química
Universidade Federal de Santa Maria

EVALUATION OF THE EXTRACTION TECHNIQUE SPE GC-(EI) - MS/MS FOR THE ANALYSIS OF PESTICIDES IN IRRIGATED CROP OF RICE WATER

AUTHOR: MATEUS BRUM PEREIRA
ADVISOR: PROF^a. DR^a. MARTHA BOHRER ADAIME
Date and Place of the defense: February 14th, 2012, Santa Maria

It is known that heavy use of pesticides, especially herbicides and insecticides, associated with the improper management of irrigation water can result in pesticide runoff out the crops to the waters streams, rivers or ponds, since the cultivation of rice is preferably done in areas that have large volumes of water available.

Considering the importance of water for nature and human health, the low uncontaminated water resources available today and a large scale production of rice, this study aimed to develop and validate a method for the determination of pesticides in water from irrigated rice crop.

Pesticides were extracted from samples of river water using the method of solid phase extraction (SPE). The simultaneous determination of selected pesticides in this study was made by a GC-(EI)-MS/MS. For each analyte, two MRM transitions were optimized, one for quantification and one for confirmation, as predicted by international guidelines and legislations.

In the method validation the results were satisfactory for validation requirements, and the analytical curves of r^2 values are greater than 0.99. The value of the method LOQ for all compounds was established at $0.2 \mu\text{g L}^{-1}$. Recoveries for real water samples showed values between 70 and 120% with RSD values lower than 20% for most compounds studied.

The results indicate that the proposed method for the analysis of 32 pesticides, including a step of SPE extraction and quantification by GC-(EI)-MS/MS is efficient and selective, allowing the quantification of low levels of concentration appropriate for monitoring these compounds in water. In addition, the validation parameters meet the minimum requirements for the validation of chromatographic methods, which enables the application of the method.

Keywords: pesticides; water; GC-(EI)-MS/MS.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Representação das regiões produtoras de arroz no estado do Rio Grande do Sul.....	02
Figura 2.	Mapa Hidrográfico dos Estados de: A) Rio Grande do Sul; B) Santa Catarina e C) Paraná.....	06
Figura 3.	Reação de copolimerização do estireno com o divinilbenzeno.....	17
Figura 4.	Sistema comercial de SPE.....	43
Figura 5.	Cromatograma obtido por GC-(EI)-MS/MS para uma amostra branco da matriz, alcançados por meio das condições cromatográficas descritas no item 4.5.....	54
Figura 6.	Cromatograma obtido por GC-(EI)-MS/MS para uma solução analítica no extrato da matriz contendo os agrotóxicos em estudo na concentração de $25 \mu\text{g L}^{-1}$, obtidos nas condições descritas no item 4.5.....	55
Figura 7.	A- Cromatograma obtido por GC-(EI)-MS/MS para uma solução analítica ($200 \mu\text{g L}^{-1}$) preparada em extrato de água de lavoura de arroz irrigado e sinais individuais da b-hexaclorobenzeno, c-tiametoxam e d- azoxistrobina com as respectivas transições de quantificação.....	61
Figura 8.	Representação esquemática do método de análise de resíduos de agrotóxicos em lavoura de arroz irrigado, utilizando o método de extração em fase sólida (SPE).....	67
Figura 9.	Gráfico que relaciona a porcentagem de agrotóxicos em cada nível de fortificação com as três faixas de recuperação.	73
Figura 10.	Gráfico obtido pela média das recuperações para o nível de fortificação $1,6 \mu\text{g L}^{-1}$ em função do volume de amostra fortificado com a mesma quantidade de analito.....	79
Figura 11.	Cromatograma obtido por GC-(EI)-MS/MS de uma amostra fortificada com a mistura dos agrotóxicos no nível de $0,4 \mu\text{g L}^{-1}$, obtido nas condições cromatográficas citadas no item 4.5.....	80

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Esquema genérico empregado na escolha da natureza química da fase sólida apropriada em SPE para analitos orgânicos solúveis em solvente orgânico.....	14
Tabela 2.	Esquema genérico empregado na escolha da natureza química da fase sólida apropriada em SPE para analitos orgânicos solúveis em água.....	14
Tabela 3.	Exemplos de sorventes utilizados em SPE com sua abreviatura, nome e estrutura.....	15
Tabela 4.	Aplicação do método SPE em amostras ambientais.....	21
Tabela 5.	Lista dos agrotóxicos estudados, classe, grupo químico e propriedades físico-químicas.....	36
Tabela 6.	Informações dos padrões sólidos.....	39
Tabela 7.	Ensaio realizado para otimização do preparo de amostra utilizando extração em fase sólida.....	45
Tabela 8.	Tratamentos realizados para este trabalho e seus respectivos princípios ativos.....	53
Tabela 9.	Agrotóxicos analisados por GC-(EI)-MS/MS, com seus respectivos t_R , íons monitorados e segmento.....	56
Tabela 10.	Agrotóxicos analisados por GC-(EI)-MS/MS, com seus íons de quantificação e confirmação.....	57
Tabela 11.	Recuperações no nível de $0,2 \mu\text{g L}^{-1}$ para o teste 18, descrito no item 3.10, realizado para a otimização do método de extração utilizado para água de lavoura de arroz irrigado, variando-se o volume de eluição.....	65
Tabela 12.	Recuperações no nível de $0,2 \mu\text{g L}^{-1}$ para alguns dos testes descritos no item 3.10, realizados para a otimização do método de extração utilizado para água de lavoura de arroz irrigado.....	66
Tabela 13.	Parâmetros relativos às curvas analíticas, obtidos para os agrotóxicos no extrato das águas de lavoura de arroz irrigado e analisados por GC-(EI)-MS/MS.....	69

Tabela 14.	Valores de LOD e LOQ do instrumento e do método.....	71
Tabela 15.	Resultados dos testes de recuperação em termos de percentuais de recuperação e RSD para a repetitividade do método.....	74
Tabela 16.	Percentuais de recuperação e RSD para a precisão intermediária do método.....	77
Tabela 17.	Concentrações residuais dos agrotóxicos em $\mu\text{g L}^{-1}$ em água de lavoura de arroz irrigado.....	82

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

A - Acaricida

Ar - Argônio

C - Canteiro

CONAMA - Conselho Nacional de Meio Ambiente

DDA - Dias após a aplicação

d. i. - Diâmetro interno

DIC - Colisão com um gás inerte

DVB - Estireno com o divinilbenzeno

IE - Ionização por impacto de elétrons

IQ - Ionização química

IT - Troca iônica

IUPAC - União Internacional de Química Pura e Aplicada

F - Fungicida

GC - Cromatografia Gasosa

GC-ECD - Cromatografia gasosa acoplada com detector de captura de elétrons

GC-MS - Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas

GC-NPD - Cromatografia gasosa acoplada com detector nitrogênio e fósforo

°GL - graus Gay Lussac

H - Herbicida

He - Hélio

HPLC-DAD - Cromatografia líquida de alta eficiência acoplada com detector de arranjo de fotodiodos

I - Inseticida

K_{oc} - Coeficiente de adsorção a matéria orgânica do solo.

K_{ow} - Coeficiente de partição octanol água

LC - Cromatografia Líquida

LC-MS - Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas

LOD - Limite de detecção

LODi - Limite de detecção do instrumento
LODm - Limite de detecção do método
LOQ - Limite de quantificação
LOQi - Limite de quantificação do instrumento
LOQm - Limite de quantificação do instrumento
LS - Partição líquido-sólido
MIP - Polímero impresso molecularmente
mL - Mililitro
M M - Massa molar
MRC - Material de referência certificado
m/z - Razão massa carga
N₂ - Nitrogênio
NP - Fase Normal
PE - Ponto de ebulição
PF - Ponto de fusão
PTV - Vaporização com temperatura programada
PTFE - Politetrafluoretileno
PV - Pressão de vapor
Q1 - Quadrupolo 1
Q3 - quadrupolo 2
r - Coeficiente de correlação
*r*² - Coeficiente de determinação
RP - Fase Reversa
RSD - Desvio padrão relativo
S - Segmento
SPE - Extração em fase sólida
S/R - Relação sinal ruído
T - Tratamento
t_R - Tempo de retenção.
TV- Tratamento Veterinário
UFMS - Universidade Federal de Santa Maria

LISTA DE ANEXOS

ANEXO A.	Relação dos princípios ativos estudados, sua nomenclatura segundo a IUPAC e respectivo número CAS.....	94
ANEXO B.	Estrutura dos agrotóxicos.....	97

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	05
2.1 Características da região de estudo.....	05
2.2 O destino dos agrotóxicos utilizados na lavoura arrozeira no meio ambiente.....	08
2.3 O tema água na Constituição da República Federativa do Brasil.....	09
2.4 Os agrotóxicos e a preocupação com a saúde.....	11
2.5 Preparo da amostra utilizando extração em fase sólida para a determinação dos agrotóxicos em estudo.....	12
2.6 Ocorrência de agrotóxicos na lavoura de arroz irrigado.....	18
2.7 Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas.....	25
2.8 Validação.....	27
2.8.1 Linearidade.....	28
2.8.2 Exatidão.....	29
2.8.3 Precisão intermediária.....	31
2.8.4 Seletividade.....	31
2.8.5 Sensibilidade.....	32
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	33
3.1 Instrumentação.....	33
3.2 Gases Utilizado.....	34
3.3 Materiais	34
3.4 Solventes e Reagentes.....	34
3.5 Agrotóxicos selecionados.....	35
3.6 Amostras branco.....	35
3.7 Preparo dos padrões analíticos utilizados.....	39
3.8 Condições cromatográficas.....	41
3.9 Otimização do sistema GC(EI)-MS/MS.....	41
3.10 Seleção do Padrão Interno.....	42
3.11 Otimização do sistema SPE.....	42
3.11.1 Escolha do adsorvente.....	43
3.11.2 Escolha do solvente de condicionamento do cartucho.....	43
3.11.3 Escolha do solvente de eluição dos analitos de interesse....	44
3.12 Validação do método de SPE para análise de agrotóxicos em água de lavoura de arroz irrigado.....	49
3.12.1 Determinação da Linearidade das Curvas Analíticas.....	49
3.12.2 Limite de detecção e limite de quantificação.....	50
3.12.3 Precisão.....	50
3.12.4 Exatidão.....	51
3.13 Aplicação do método desenvolvido em água de lavoura de arroz irrigado.....	52
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	54
4.1 Condições cromatográficas otimizadas para a determinação dos agrotóxicos em estudo por GC-(EI)-MS/MS.	54

4.1.1 Seleção dos íons.....	55
4.2 Seleção do padrão interno.....	63
4.3 Otimização da etapa de extração com SPE.....	63
4.4 Método de extração otimizado.....	67
4.5 Validação do método de SPE e GC-(EI)-MS/MS para a determinação de agrotóxicos em água de lavoura de arroz irrigado.....	68
4.5.1 Curva analítica.....	68
4.5.2 Determinação dos valores de LOD e LOQ, do instrumento e do método.....	71
4.5.3 Ensaio de fortificação para avaliação da exatidão e precisão (repetitividade e precisão intermediária).....	73
4.6 Aplicação do método.....	80
5. CONCLUSÃO.....	83
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	85
TRATAMENTO DE RESÍDUOS GERADOS.....	92
SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	93
ANEXOS.....	94

1. INTRODUÇÃO

Cultiva-se e consome-se o arroz em todos os continentes, ressaltando-se seu papel estratégico, tanto no aspecto econômico quanto social. Desta forma, este produto torna-se destaque pela relação entre a produção e a área de cultivo, sendo considerado o cultivo alimentar de maior relevância em muitos países em desenvolvimento, principalmente os localizados no continente Asiático (EMBRAPA, 2005; Vicari, 2009). Neste contexto, o Brasil destaca-se como o maior produtor fora deste continente.

Além disso, a lavoura orizícola é de suma importância para a economia brasileira, pois é o quinto produto com maior valor comercial, ficando atrás somente da soja, do milho, do café e da cana-de-açúcar. É uma cultura extremamente versátil, pois se adapta a diferentes condições de solo e clima e é considerada a espécie que apresenta maior potencial para o combate à fome no mundo (EMBRAPA, 2005).

No entanto, a produção mundial de arroz não vem acompanhando o crescimento do consumo. Nos últimos treze anos, esta aumentou cerca de 1,09% ao ano, enquanto que a população cresceu 1,32% e o consumo 1,27%, havendo, assim, grande preocupação em relação à estabilização da produção (EMBRAPA, 2005). Com o propósito de ampliar o cultivo desse alimento, empregam-se algumas estratégias e destaca-se entre elas o uso de agrotóxicos, também denominados pesticidas, que têm por objetivo impedir, destruir, repelir ou mitigar qualquer praga na agricultura que possa diminuir a produtividade da lavoura (Jardim, 2009). Sabe-se que o uso intensivo de agrotóxicos, especialmente herbicidas e inseticidas, associados ao manejo inadequado da água de irrigação, pode resultar em carreamento destes produtos para fora das lavouras, contaminando as águas dos riachos, dos rios ou das lagoas. Tal fato decorre, uma vez que o cultivo de arroz é feito preferencialmente em áreas que apresentem grandes volumes de água disponível (Peixoto, 2007).

As várzeas subtropicais, localizadas nos estados do Rio Grande do Sul (RS), Santa Catarina (SC) e Paraná (PR), são muito utilizadas para o

cultivo do arroz. No RS, encontram-se cerca de 5,4 milhões de hectares de várzeas e, em SC, aproximadamente 684 mil hectares. Já no PR, estima-se que existam cerca de 400 mil hectares, o que totaliza uma área de cerca de 6,5 milhões de hectares de várzeas na Região Sul do Brasil. Nessas várzeas, anualmente, são cultivados cerca de 1,1 milhão de hectares de arroz irrigado, cuja produção supre mais de 50% da demanda nacional (EMBRAPA, 2005).

Ademais, o sistema de cultivo de arroz irrigado, tradicionalmente utilizado na Região Sul do Brasil, vem contribuindo, em média, com 53% da produção nacional, sendo o RS o maior produtor brasileiro (EMBRAPA, 2005). A lavoura de arroz irrigado no RS gera anualmente cerca de cinco milhões de toneladas, sendo considerada estabilizadora da safra nacional, responsável por cerca de 50% da produção brasileira, a maior entre os Estados da Federação (EMBRAPA, 2005).

As regiões produtoras de arroz irrigado no RS são: Fronteira Oeste, Depressão Central, Campanha, Zona Sul, Planície Costeira Externa da Lagoa dos Patos e Planície Costeira Interna da Lagoa dos Patos (Figura 01).

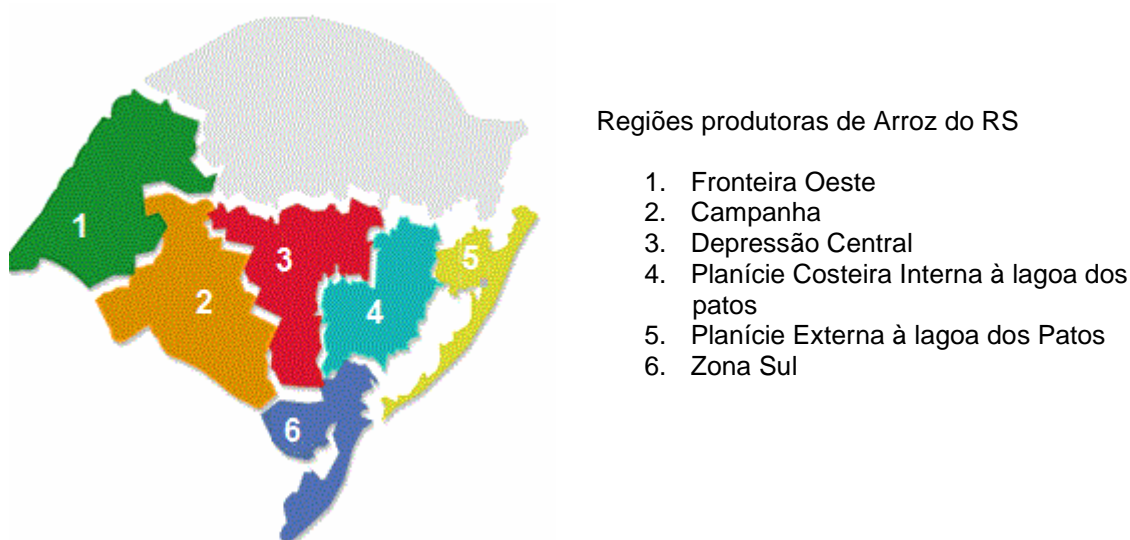


Figura 01: Representação das regiões produtoras de arroz no estado do Rio Grande do Sul. Fonte: Agrolink, 2011.

Na produção de arroz, o uso de agrotóxicos está muito difundido, conforme apontado anteriormente. Além disso, sabe-se que os inseticidas e os herbicidas são normalmente aplicados, em pelo menos uma das fases do desenvolvimento das plantas.

A partir do emprego indiscriminado dos agrotóxicos, surge a preocupação com a contaminação dos ambientes aquáticos próximos às regiões lavoureiras, principalmente, no que diz respeito à utilização desta água também para o consumo humano. Deste modo, a Comunidade Européia por meio da COUNCIL DIRECTIVE (1980) estabeleceu em $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ a concentração máxima admissível de qualquer agrotóxico em águas destinadas ao consumo humano e em $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$ para o total de resíduos, sem deixar claro se deve-se, ou não, considerar também produtos de transformação (CERDEIRA, 2002). No Brasil, o controle de qualidade da água para abastecimento público é regulamentado pela portaria 2914, de 14 de dezembro de 2011, do Ministério da Saúde e, estabelece-se procedimentos e responsabilidades relativas a essa prática para o controle humano, além dos padrões de potabilidade (Ministério da Saúde, 2011). Na legislação brasileira, são instituídos valores máximos para alguns grupos de agrotóxicos mas, apesar disso, o número de ingredientes ativos monitorados por ela é muito pequeno se comparado com a quantidade dessas substâncias que atualmente se encontram em uso (Cappelini, 2008).

Contudo, para o monitoramento dos agrotóxicos em água necessita-se de métodos que tenham sensibilidade para a determinação desses compostos nas amostras. A Cromatografia Gasosa (GC, do inglês *Gas Chromatography*) ou a Cromatografia Líquida (LC, do inglês *Liquid Chromatography*), são técnicas de separação dos constituintes de uma matriz, cuja aplicação permite a análise qualitativa e quantitativa de uma amostra com grande seletividade quando acopladas à espectrometria de massas.

Em análise última, considerando-se a importância da água no mundo, bem como a sua possibilidade de escassez, a alta produtividade do arroz irrigado, uso de agrotóxicos nessa cultura e a necessidade de

monitorar a concentração destes na água, este trabalho tem como objetivo desenvolver e validar um método para a determinação de 62 agrotóxicos em água de lavoura de arroz irrigado, e aplicá-lo em amostras de um experimento realizado no Campus da UFSM.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Características da região de estudo

A princípio, o método proposto neste trabalho foi desenvolvido visando ao monitoramento de agrotóxicos presentes na água de lavoura de arroz irrigado.

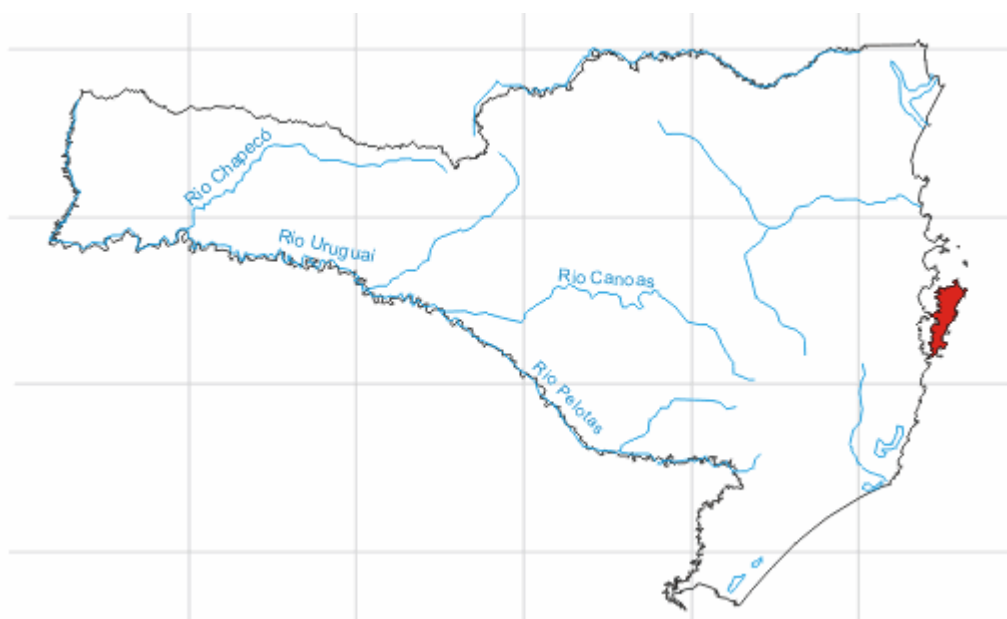
Conforme o Ministério do Meio Ambiente (2006) a região denominada bioma pampa é caracterizada pela vegetação do tipo estepe, suas formações florestais são pouco expressivas e restringem-se à vertente leste do planalto sul-rio-grandense e às margens dos principais rios e afluentes da depressão central.

A região delimita-se com o bioma Mata Atlântica e é subdividida em quatro áreas: planalto da campanha, depressão central, planalto sul-rio-grandense e planície costeira.

No planalto da campanha, predomina o relevo suave ondulado originário do derramamento basáltico com cobertura vegetal do tipo gramínea. A depressão central compreende, sobretudo, terrenos sedimentares, sendo caracterizada por um campo arbustivo-herbáceo associado a florestas de galeria degradadas. O planalto sul-rio-grandense compreende o bloco pré-cambriano isolado entre a planície e a depressão central, que alcança altitudes superiores a 400 m. Seus terrenos, de maior elevação no contexto regional, recebem um volume maior de chuvas devido à influência marinha, resultando em cobertura vegetal mais complexa. De modo geral, atualmente na região predominam pastagens naturais ou manejadas.

A planície costeira compreende terrenos sedimentares de origem tanto fluvial quanto marinha, ocupando a faixa oriental do Estado do Rio Grande do Sul desde a fronteira do Uruguai até a divisa com Santa Catarina. São áreas aplainadas ou deprimidas, com solos em geral arenosos, principalmente, por formações arbustivo-herbáceas, típicas de complexo lagunar, onde se destacam as Lagoas dos Patos, Mirim e

B)



C)



Figura 02: Mapa Hidrográfico dos Estados de: A) Rio Grande do sul; B) Santa Catarina e C) Paraná.

2.2 O destino dos agrotóxicos utilizados na lavoura arrozeira no meio ambiente

Aplicam-se os agrotóxicos no campo com o uso de pulverizadores, bombas ou aviões. Vale lembrar que o spray formado durante a aplicação possui partículas de vários tamanhos, e, por isso a influência dos ventos não pode ser evitada. No mesmo sentido, o aerossol carregado pelo vento pode atingir diretamente as águas superficiais. Conforme Rocha *et al.* (2009) vários fatores influem na dispersão do agrotóxico, são eles:

- a) tamanho da gota (tensão superficial, tamanho do orifício de saída e pressão do líquido);
- b) dosagem, formulação e volume do spray, e solventes utilizados no preparo;
- c) condições ambientais (velocidade e direção dos ventos, umidade, temperatura);
- d) altura da plantação (a dispersão aumenta com a altura da plantação) e altura do spray.

Os agrotóxicos depois de aplicados na lavoura são lixiviados pelas águas pluviais podendo atingir a zona insaturada da coluna de solo ao serem transportados por gravidade/capilaridade até as águas do subsolo. Enxurradas e erosões constituem fontes adicionais as quais facilitam as contaminações, este fator é potencializado quando ocorrem fortes chuvas logo após as aplicações (Ribeiro *et al.* 2007; Rocha *et al.* 2009) . De igual forma, outras fontes de contaminação de águas por práticas agriculturáveis são as lavagens de utensílios diretamente nos mananciais ou a disposição inadequada de embalagens nas margens. Com a publicação e entrada em vigor da Resolução Conama nº 334, de 3 de abril de 2003, estas práticas tendem a reduzir, uma vez que dispõe sobre os procedimentos de licenciamento ambiental de estabelecimentos destinados ao recebimento de embalagens vazias de agrotóxicos.

Além disso, as rotas de poluentes para as águas de subsolo geralmente são diferentes daquelas para as águas superficiais. A natureza química das rochas através das quais se movem influencia nas

características das águas. O autor afirma ainda que as principais rotas para contaminação de águas de subsolo são:

- a) disposição inadequada de lixos (domésticos, industriais, de mineração, agricultura), incluindo ampla variedade de contaminantes orgânicos e inorgânicos;
- b) lixiviação de produtos utilizados na agricultura;
- c) acidificação (chuvas ácidas).

2.3 O tema água na Constituição da República Federativa do Brasil

A Constituição da República Federativa do Brasil de 1988, além de ser dotada de um capítulo próprio para as questões ambientais, traduz, em vários dispositivos, o que pode ser considerado um dos sistemas mais abrangentes e atuais do mundo sobre a tutela do meio ambiente. Ela determina que o meio ambiente se constitui em direito de todos e bem de uso comum do povo (Pes, 2005).

A princípio, o tema água, especificamente, foi tratado pelas diversas constituições brasileiras, porém, foi a Constituição de 1988, dentre todas as Cartas Políticas brasileiras, aquela que mais profundamente tratou das águas sobre os mais variados aspectos.

É inegável que, a primeira constituição brasileira, ou seja, a Constituição Política do Império do Brasil de 1824 foi completamente omissa sobre o tema. No período Republicano, a Constituição da República dos Estados Unidos do Brasil de 1981 também foi omissa quanto ao tema tratado. O Código Civil brasileiro de 1916, elaborado sob aquela ordem constitucional, dedicou espaço considerável ao trato de questões referentes à utilização e ao regime das águas (Pes, 2005).

Em seguida, a constituição de 1934 foi a primeira que enfrentou o tema das águas de forma clara, inclusive definindo explicitamente a competência e o domínio. A água foi considerada elemento essencial para a geração de riquezas econômicas e desenvolvimento, especialmente como fonte de energia elétrica.

Depois, a Constituição dos Estados Unidos do Brasil de 1937 atribuiu competência privativa à União para legislar sobre os bens de domínio federal, águas e energia hidráulicas (Pes, 2005).

Posteriormente, com a redemocratização do País, a Constituição de 1946 determinou ser competência da União legislar sobre águas, mas, não excluía a legislação estadual (Pes, 2005).

Logo após o Golpe Militar, a Constituição do Brasil de 1967, que foi emendada em 1969, passou a se chamar Constituição da República Federativa do Brasil. A competência legislativa federal sobre as águas foi alterada em relação ao sistema anterior, pois ficou estabelecida a competência privativa da União, excluía a competência supletiva dos Estados (Pes, 2005).

Finalmente, após o longo período de autoritarismo, surge a Nova República e, com ela, a Constituição da República Federativa do Brasil de 1988, também denominada de Constituição Cidadã. Além disso, com um capítulo específico destinado ao meio ambiente, ainda com definições relativas ao domínio dos bens da União e dos Estados, competência para legislar e competência administrativa dos entes federados. Essa constituição alterou profundamente o domínio das águas no Brasil, que passaram a ser públicas, dos Estados ou da União somente. É inegável que, com as alterações, acabaram-se as águas públicas de uso comum pertencentes aos municípios, bem como as águas particulares ou comuns, previstas no Código Civil e no Código de Águas. Várias são as normas brasileiras de proteção às águas, pois, além do Código de Águas, das disposições constitucionais e da Lei da Política Nacional de Recursos Hídricos, há leis, decretos, resoluções e regulamentos (Pes, 2005).

A lei nº. 8.171 de 17/01/1991, por exemplo, dispõe sobre a Política Agrícola, no art. 20, citou a importância das bacias hidrográficas “As bacias hidrográficas constituem-se e unidades básicas de planejamento do uso, da conservação e da recuperação dos recursos naturais” (Pes, 2005).

2.4 Os agrotóxicos e a preocupação com a saúde

Os trabalhadores da agricultura familiar fazem parte do grupo mais vulnerável aos efeitos nocivos dos agrotóxicos. Isso se dá em razão de diversos determinantes, segundo elucidou Peres (2009), dentre os quais:

- a) a baixa assistência técnica recebida por estes indivíduos para o manuseio correto desses agentes químicos, agravada pelo fato de, em algumas localidades, essa assistência ser prestada exclusivamente por técnicos ligados ao comércio de agrotóxicos;
- b) as práticas exploratórias de venda desses insumos químicos, que ignoram qualquer alternativa de controle de pragas menos agressivas à saúde e ao ambiente;
- c) a não-clareza de informações contidas nos rótulos e bulas de agrotóxicos, associada aos baixos índices de escolaridade observados no grupo de usuários;
- d) a pressão recebida para a entrega de um produto aparentemente perfeito, mesmo que, para isso, desconsiderem-se os períodos de carência e as indicações de dosagem durante as pulverizações;
- e) a pressão exercida pelos proprietários de terras sobre os parceiros (meeiros, arrendatários, etc.) para que se reproduza o uso desses insumos nas áreas arrendadas, mesmo que essa pressão não venha acompanhada da devida orientação técnica;
- f) a carência observada nos mecanismos de controle e fiscalização sobre a comercialização, a venda e o descarte desses agentes químicos por pequenos produtores.

Em análise última, pelos fatores acima mencionados, é visível a necessidade de se formar profissionais que conheçam a realidade dos produtores e, com base em seus conhecimentos científicos auxiliem, os mesmos a utilizarem os agrotóxicos de maneira segura tanto do ponto de

vista de sua saúde como do ponto de vista ambiental para que garantam uma melhor qualidade de vida a toda população.

2.5 Preparo da amostra utilizando extração em fase sólida para a determinação dos agrotóxicos

Como se observa, durante o desenvolvimento de métodos cromatográficos, associa-se diversas etapas prévias para preparação das amostras. Estas etapas contemplam a extração dos analitos da matriz, o enriquecimento destes, a limpeza ou fracionamento, concentração e em certos casos a derivatização, podendo estes procedimentos envolver até cerca de 80% do tempo analítico despendido (Almeida *et al.*, 2004).

Ademais, o principal objetivo dos métodos de preparo de amostras é transferir os analitos de interesse da matriz original, numa forma mais adequada para introdução na instrumentação cromatográfica. No mesmo sentido, pode a análise ser direta no caso de estar-se em presença de teores significativos ou com recursos a estratégias para o enriquecimento da concentração dos analitos através de uma etapa de pré-concentração, no sentido de ganho de sensibilidade (Almeida *et al.*, 2004).

A extração em fase sólida (SPE, do inglês *solid phase extraction*) é uma técnica de separação em que analitos contidos numa matriz aquosa são extraídos, juntamente com os compostos interferentes, após passarem por um cartucho contendo sorvente. Um solvente orgânico seletivo é geralmente utilizado para remover os interferentes e então, outro solvente é usado para lavar os analitos de (Grossi, 2009; Lanças, F, M. e Barrinonuevo, 2001). Estes materiais ficam no interior de cartuchos, nas formas de barril ou seringa, e os mecanismos de retenção são idênticos àqueles envolvidos em cromatografia líquida em coluna. Um cartucho típico é formado por um tubo de polipropileno contendo cerca de 50 a 500 mg de sorvente, com 40-60 µm de tamanho de partícula, fixado no tubo através de dois filtros (Queiroz, 2001).

Segundo Lingeman (1997) a técnica de SPE consiste basicamente em 5 etapas:

- i) ativação do sorvente para deixar os sítios ativos disponíveis;
- ii) condicionamento do sorvente com solvente adequado para ajustar as forças do solvente de eluição com o solvente da amostra;
- iii) introdução da amostra, quando ocorre a retenção do analito e às vezes de alguns interferentes;
- iv) limpeza da coluna para retirar os interferentes menos retidos que o analito;
- v) eluição e coleção do analito.

A Tabela 01 apresenta um esquema para a escolha da fase sólida apropriada para os analitos orgânicos solúveis em água e a tabela 02 apresenta um esquema para a escolha da fase sólida apropriada para os analitos orgânicos solúveis em solventes orgânicos. Os analitos solúveis em solvente orgânico são então classificados de acordo com a sua polaridade (a polaridade do solvente no qual é solúvel) em: polares, moderadamente polares e apolares. Em razão disso, as amostras solúveis inicialmente são divididas em iônicas e não iônicas. Consequentemente, as iônicas serão classificadas em troca catiônica (para cátions) ou troca aniônica (para ânions). As amostras solúveis em água, porém não iônicas, ou que formam pares de íons seguem as mesmas diretrizes da usada na escolha da fase sólida para compostos solúveis em solvente orgânico (Lanças, 2004).

Tabela 01: Tabelas com dados da natureza química da fase sólida apropriada em SPE para analitos orgânicos solúveis em solvente orgânico.

Polaridade do solvente	Mecanismo de separação	Fase estacionária	Eluente
Polar (metanol, acetonitrila, acetato de etila)	NP	Ciano Diol Amino	Hexano Clorofórmio Diclorometano Acetona Metanol
Moderadamente polar	LS	Sílica gel Florisil Alumina	Hexano Clorofórmio Diclorometano Acetato de etila Metanol
Não polar (hexano, heptano, éter etílico)	RP	Octadecil Octil Ciclohexil Fenil Ciano	Hexano Diclorometano Acetona Acetonitrila Metanol Água

Onde: NP: Fase Normal; LS: Partição Líquido-sólido; RP: Fase Reversa

Fonte: Adaptado de Lanças (2004)



Tabela 02: Tabela com dados da natureza química da fase sólida apropriada em SPE para analitos orgânicos solúveis em água.

Polaridade do solvente	Mecanismo de separação	Fase estacionária	Eluente
Iônica	Catiônica	IE	Ciano Ácido carboxílico Ácido sulfônico
	Aniônica	IE	Amino 1°, 2°-Amino Amina quaternária
Não iônica	Polar	NP	Ciano Diol Amino 1°, 2°-Amino
		LS	Sílica gel Florisil Alumina
	Não polar	RP	Octadecil Octil Ciclohexil Fenil Ciano

Onde: IE: Troca iônica; NP: Fase Normal; LS: Partição líquido-sólido; RP: Fase Reversa. Fonte: Adaptado de Lanças (2004)

Como pode ser observado nas tabelas anteriores, a SPE é utilizada para compostos com baixa, média e alta polaridade, dependendo do adsorvente utilizado. Frequentemente, são utilizados cartuchos de extração empacotados com sílica modificada quimicamente com os grupos octil e octadecil (C8, C18) ou copolímeros de estireno-divinilbenzeno (Grossi, 2009). Pode-se citar ainda, carvão ativado, alumina, sílica gel, silicato de magnésio (Florisil). Na tabela 03 estão listados alguns dos principais adsorventes e sua estrutura.

Tabela 03 Exemplos de sorventes utilizados em SPE com sua abreviatura, nome e estrutura.

Sigla	Nome	Estrutura
NÃO POLARES		
C18	Octadecilsilano	$\equiv\text{Si}-(\text{CH}_2)_{17}-\text{CH}_3$
C8	Octilsilano	$\equiv\text{Si}-(\text{CH}_2)_7-\text{CH}_3$
C2	Etilsilano	$\equiv\text{Si}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$
C1	Metilsilano	$\equiv\text{Si}-\text{CH}_3$
PH	Fenilsilano	$\equiv\text{Si}-$ 
CH	Cicloexilsilano	$\equiv\text{Si}-$ 
POLARES		
FL	Florisil	MgO_3Si
AL	Alumina	Al_2O_3
Si	Sílica	$\equiv\text{Si}-\text{OH}$
CN	Cianopropilsilano	$\equiv\text{Si}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CN}$
2OH	Diolsilano	$\equiv\text{Si}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-\underset{\text{OH}}{\text{CH}}-\underset{\text{OH}}{\text{CH}_2}$
NH ₂	Aminopropilsilano	$\equiv\text{Si}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_2$
PSA	N-Propietilenodiaminossilano	$\equiv\text{Si}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}_2$

Sigla	Nome	Estrutura
TROCA IÔNICA		
SCX	Benzenossulfonilpropilsilano	$\equiv \text{Si} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{C}_6\text{H}_5 - \text{SO}_3\text{H}^+$
PRS	Sulfonilpropilsilano	$\equiv \text{Si} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{SO}_3^- \text{Na}^+$
CBA	Carboximetilsilano	$\equiv \text{Si} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{COOH}$
DEA	Dietilaminopropilsilano	$\equiv \text{Si} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{N}(\text{CH}_2 - \text{CH}_3)_2$
SAX	Trimetilaminopropilsilano	$\equiv \text{Si} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{N}^+(\text{CH}_3)_3 \text{Cl}^-$
PSA	N-Propietilenodiaminossilano	$\equiv \text{Si} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{NH} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{NH}_2$
COVALENTE		
PBA	Ácido fenilburônico	$\equiv \text{Si} - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{NH} - \text{C}_6\text{H}_4 - \text{B}(\text{OH})_2$

Fonte: Queiroz *et al.* 2001.

Vale lembrar que, as fases poliméricas possuem maior capacidade que a sílica e seletividades usualmente superiores àquelas obtidas com fases derivadas de sílica gel. Além disso, podem utilizar-se em toda a faixa útil de pH e com todos os solventes, o que facilita sua limpeza e reaproveitamento para outras análises. São baseadas em poli-estireno-divinil-benzeno e, a partir disso, várias novas fases estão disponibilizadas comercialmente, com diferentes grupos funcionais e mecanismos mistos de ação. Uma das principais vantagens dessas fases é o fato da recuperação não ser afetada pelo tempo de secagem entre a etapa de condicionamento e equilíbrio, enquanto para as fases do tipo C-18 isto pode ser crítico, diminuindo a recuperação (Lanças, 2004). A reação abaixo (Figura 03) ilustra copolimerização do estireno com o divinilbenzeno (DVB) que resulta no poliestireno entrecrucado com DVB, se tornando um sorvente versátil.

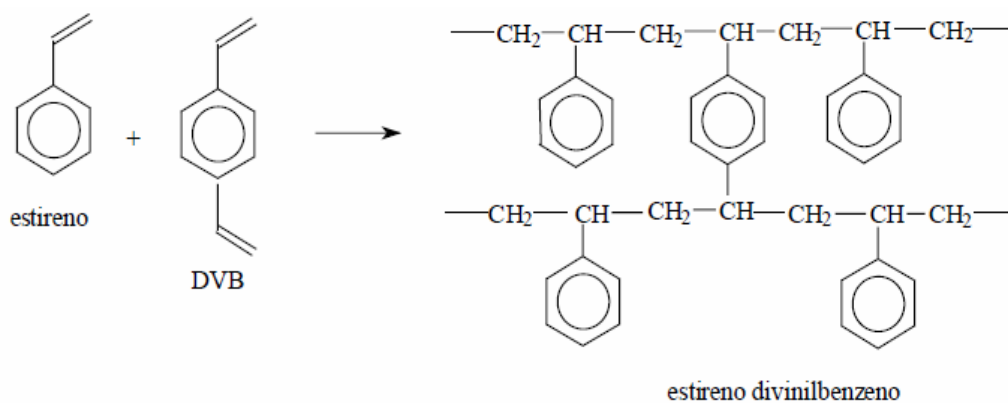


Figura 03: Reação de copolimerização do estireno com o divinilbenzeno (DVB) que resulta no poliestireno entrecruzado com DVB. Fonte: Faria, 2004.

Do exposto, as pesquisas mais recentes em SPE têm como objetivo extrações altamente seletivas baseadas em colunas recheadas com suportes contendo um anticorpo ou polímeros impressos molecularmente, conhecidos como MIP. No mesmo sentido, as etapas de extração, concentração e isolamento são possíveis em um único passo. Obtêm-se os MIP através da preparação de polímeros com sítios de reconhecimento sintéticos e têm uma seletividade pré-determinada para um ou mais analitos. Como se observa, estes sítios de reconhecimento são obtidos pelo arranjo de monômeros funcionais polimerizáveis ao redor das moléculas do analito. Assim, formam-se complexos, através de interação molecular, entre o analito e o monômero precursor. Os complexos são fixados através de reações de entrecruzamento de polímeros. A remoção dos compostos de interesse da matriz polimérica forma lacunas (sítios de reconhecimento) que irão exibir afinidade pelo analito. Finalmente, o potencial deste tipo de material é alto, uma vez que oferece resistência mecânica à alta temperatura e à pressão e é inerte frente a condições extremas de ácidos, bases, íons metálicos e solventes orgânicos (Queiroz, 2001).

2.6 Ocorrência de agrotóxicos na lavoura de arroz irrigado

A princípio, recomenda-se o uso de agrotóxicos na lavoura arrozeira para o controle de plantas daninhas e insetos. Porém, sua utilização pode acarretar uma série de efeitos em organismos não alvos, como por exemplo, os peixes. Deste modo, vários pesquisadores buscam analisar os dados existentes sobre os efeitos desses compostos utilizados no cultivo de arroz, de modo a propor estratégias que minimizem seu impacto.

Em seguida, uma das alternativas é utilizar-se a dose mínima recomendada, e manter-se estática a lâmina de água do cultivo por um período mínimo de duas semanas após a aplicação, de modo que o princípio ativo seja degradado, reduzindo a toxicidade. Além disso, o manejo integrado de pragas bem como a rizipiscicultura, a qual evita a utilização dos agrotóxicos e em alguns casos pode promover um rendimento semelhante (Copatti, *et al.*, 2009).

No mesmo sentido, a presença destes compostos em água de rio foi estudada por Marchezan *et al.* (2010), através da determinação de resíduos dos herbicidas clomazona, quincloraque, propanil, bentazona, 2,4-D e imazetapir e dos inseticidas carbofurano e fipronil nos rios Vacacaí e Vacacaí- Mirim, situados na Depressão Central do Rio Grande do Sul, nas safras de 2003/04 a 2007/08. Realizaram-se as coletas de novembro a fevereiro durante a época de cultivo do arroz. Depois, as análises dos herbicidas e do carbofurano foram realizadas por HPLC-DAD, e a análise do fipronil foi realizada por GC-ECD.

Ao considerar-se a Resolução CONAMA n° 357, de 17 de março de 2005, e a portaria no 518, de 25 de março de 2004, do Ministério da Saúde, nenhuma das amostras ultrapassou as concentrações máximas estabelecidas para 2,4-D e propanil, os agrotóxicos contemplados pelas normativas e investigados neste estudo. Por outro lado, se for observado o estabelecido pela União Europeia (COUNCIL DIRECTIVE, 1980), 89,6% das amostras de água que apresentaram resíduos de agrotóxicos do rio Vacacaí e 91,0% das amostras do rio Vacacaí-Mirim nas safras 2003/04 a

2007/08, respectivamente, ultrapassaram a concentração permitida, que é de $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$.

Em razão disso, os pesquisadores, por sua vez, constataram que houve variação entre as safras agrícolas quanto à presença de agrotóxicos nos rios. Este fato revela a importância de se efetuar o monitoramento contínuo dos mananciais hídricos das regiões que possuem alto uso agrícola.

Em outro estudo, Colpo *et al.* (2009) compararam a qualidade da água que sai de uma área com cultivo de arroz irrigado (água de drenagem) com a água de irrigação, oriunda do Rio Gravataí, em um ponto na grande Porto Alegre. Este estudo de monitoramento foi conduzido em uma Estação Experimental do Arroz, ao longo da safra de 2006/2007. Em seguida, a abundância, riqueza e biodiversidade das amostras foram avaliadas e comparadas entre os pontos amostrados. Vale lembrar que, tais parâmetros ecológicos demonstraram uma comunidade mais estruturada e complexa no canal de drenagem, que no canal de irrigação e no Rio Gravataí. Conseqüentemente, indica a melhor qualidade ambiental no ponto que recebe a água que passa pela lavoura que nos pontos de entrada da água na mesma. Portanto, sugere-se que os efluentes produzidos pelas cidades e indústrias, como os presentes na bacia hidrográfica do Rio Gravataí, em especial a Grande Porto Alegre, são mais agressivos aos ambientes aquáticos que aqueles drenados de uma lavoura manejada de acordo com as recomendações técnicas para a cultura.

Outrossim, a persistência do herbicida clomazone aplicado diretamente na lâmina d'água de arroz irrigado foi avaliada por Noldin *et al.* (2001) em três experimentos conduzidos na Estação Experimental da EPAGRI em Itajaí-SC. Os experimentos com arroz irrigado em sistema pré-germinado foram conduzidos, durante 3 anos consecutivos, nas safras de 1996/97 a 98/99; o herbicida foi quantificado em solo e água, antes e após a aplicação, sendo após a aplicação retiradas diversas amostras de solo e água para análise até a colheita da cultura do arroz. No ano de 1996/97 o herbicida clomazone foi detectado no solo até oito

dias após a aplicação (DAA) e, na água, até 32 DAA. Na safra 1996/97 os teores de herbicida na água aos 16 dias foram em torno de 3% da quantidade aplicada. Esses resultados sugerem que até de 3 a 4 semanas após a aplicação do herbicida, a água deve manter-se dentro dos quadros, a fim de minimizar os riscos de arraste do produto para fora da lavoura e a conseqüente contaminação das águas superficiais (Noldin *et al.*, 2001).

Em última análise, Quintana *et al.* (2001) avaliaram a contaminação das águas da região de Barcelona, no norte da Espanha, e verificaram presença de simazina e atrazina em dois rios desta região. Para este fim utilizaram SPE no preparo de amostra e GC-MS com vistas à separação/detecção dos compostos em estudo.

A Tabela 04 mostra métodos de preparo de amostra utilizando SPE que foram aplicados em amostras de águas ambientais para a verificação do grau de contaminação dos mananciais hídricos.

Tabela 04: Aplicação do método SPE em amostras ambientais

Referência	Volume de Amostra (mL)	Condicionamento do cartucho	Eluição	Adsorvente	Técnica de separação-Detecção	Analitos
Vidal <i>et al.</i> (2000)	500	10 mL de acetonitrila:dicloro metano (50:50) + 5 mL de metanol + 3 mL de água	5 mL de acetonitrila:diclorometano + 2 mL de n-hexano, evaporado e redissolvido em 1 mL de uma mistura acetona:n-hexano (10:90)	C18	GC-ECD, GC-MS e GC-MS/MS	12 Agrotóxicos
Sabik e Jeannot (2000)	1000	6 mL de acetato de etila + 20 mL de solução de ácido ascórbico 20 g L ⁻¹ acidificada a pH 2 com HCl	50 mL de acetato de etila, evaporado e redissolvido em 500 µL de hexano.	Carbono grafitizado	GC-NPD	Organofosforados
Ollers <i>et al.</i> (2001)	1000	2 mL da mistura acetato de etila:acetona (50:50) + 2 mL de metanol + 3 mL de água	6 mL de acetato de etila:acetona (50:50), evaporado e redissolvido em 150 µL de hexano.	Waters Oasis HLB	GC-MS	Fármacos e Agrotóxicos

Referência	Volume de Amostra (mL)	Condicionamento do cartucho	Eluição	Adsorvente	Técnica de separação-Detecção	Analitos
Blanco <i>et al.</i> (2002)	100	5 mL de metanol + 10 mL de água	5 mL de hexano, evaporado e redissolvido em 1 mL de acetato de etila	C18	GC-ECD	α e β endossulfan
Nogueira <i>et al.</i> (2003)	50	3 mL de metanol/acetonitrila (50:50) + 3mL de metanol + 6 mL de água	3 x 1 mL de metanol/acetonitrila, evaporado e redissolvido em 200 μ L de água	C18 Oasis HLB	LC-MS	12 Agrotóxicos
Zhou (2007)	250	10 mL de metanol + 10 mL de água	10 mL de diclorometano, evaporado e redissolvido em 1 mL de metanol	Nanotubos de carbono	LC-MS	Cianazina, Clorotoluron e Clorobenzuron
Vigna <i>et al.</i> (2006)	200 (pH ajustado a 2,5)	3 mL de acetato de etila + 3mL de água + 3 mL de água acidificada a pH 3,0	5 mL de acetonitrila + 2 mL de acetato de etila, evaporado e redissolvido em 1 mL de acetonitrila	Poli(metiloctilsiloxano)	HPLC-DAD	5 Agrotóxicos

Referência	Volume de Amostra (mL)	Condicionamento do cartucho	Eluição	Adsorvente	Técnica de separação-Detecção	Analitos
Wang <i>et al.</i> (2007)	500	5 mL de metanol + 3 mL de água	8 mL de acetona: <i>n</i> -hexano (50:50 v/v), evaporado e redissolvido em 1 mL de acetona	Nanotubos de carbono	GC-MS	Multiresíduo de agrotóxicos
Rodrigues <i>et al.</i> (2007)	400	6 mL de metanol:acetona (60:40) + 3 mL de metanol + 3 mL de água	4 + 2 + 2 mL de metanol:acetona (60:40) e evaporado até 500 µL	C18	LC-MS	14 Agrotóxicos
Ferrer e Thurman (2007)	100	6 mL de metanol + 6 mL de água	3 mL de acetato de etila, evaporado e redissolvido em 300 µL de fase móvel	C18	LC/TOF-MS	101 Agrotóxicos
Pinxteren <i>et al.</i> (2009)	13	3 mL de metanol/acetonitrila (50:50) + 3 mL de metanol + 6 mL de água	3 x 1 mL de metanol/acetonitrila, evaporado e redissolvido em 200 µL de água	C18	LC-MS/MS	10 Agrotóxicos

Referência	Volume de Amostra (mL)	Condicionamento do cartucho	Eluição	Adsorvente	Técnica de separação-Detecção	Analitos
Demoliner <i>et al.</i> (2010)	250 (acidificada a pH 3,0 com ácido fosfórico 50:50 a pH 3,0)	3 mL de metanol + 3 mL de água + 3 mL de água acidificada a pH 3,0 com ácido fosfórico 50:50 pH 3,0	2 x 500 µL de metanol	C18	LC-MS/MS	18 Agrotóxicos + 2 Metabólitos
Mansilha <i>et al.</i> (2010)	500 (pH ajustado a 2,5)	7 mL de acetato de etila + 7 mL de metanol + 7 mL de água	2 x 2,5 mL de metanol + 2 x 2,5 mL de acetonitrila, evaporado e redissolvido em 500 µL de acetonitrila	Strata X C18	GC-MS	Disruptores endócrinos e agrotóxicos
Avila <i>et al.</i> (2011)	1000	10 mL de hexano + 10 mL de diclorometano + 15 mL de água	10 mL de diclorometano/hexano (50:50) + 10 mL de diclorometano/acetona (50:50), evaporado e redissolvido em 100 µL de acetato de etila	Oasis HLB	GC-MS/MS	PCBs, PAHs, e agrotóxicos organoclorados

2.7 Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas

A combinação da cromatografia gasosa com a espectrometria de massas é relativamente simples, uma vez que as características de funcionamento do cromatógrafo a gás são suficientemente compatíveis com a necessidade de alto vácuo do espectrômetro de massas (Chiaradia, 2008).

Ademais, os espectrômetros de massas possuem quatro partes: um sistema de manipulação para introduzir a amostra desconhecida no equipamento; uma fonte de íon, na qual é produzido um feixe de partículas proveniente da amostra; um analisador que separa partículas de acordo com a massa; um detector, no qual os íons separados são recolhidos e caracterizados (Chiaradia, 2008).

Os métodos de ionização mais empregados em CG-MS são ionização por impacto de elétrons ("*electron ionization*") - IE e a ionização química ("*chemical ionization*") - IQ. Na IE o analito de interesse, em fase gasosa, é bombardeado com elétrons de alta energia (geralmente 70 eV). As moléculas do analito absorvem essa energia desencadeando vários processos, dentre os quais o mais simples é aquele em que o analito é ionizado pela remoção de um único elétron ($M+\bullet$) (Vékey, 2001).

Com efeito, a IQ é a técnica que desenvolveu-se especialmente para aumentar a produção do íon molecular e reduzir-se as fragmentações associadas à ionização por elétrons e conseqüentemente a perda de informações analíticas do composto em análise. Nessa técnica, as moléculas do analito, em fase gasosa, são introduzidas na câmara de ionização do espectrômetro de massas, que contém um gás reagente. Essa mistura (moléculas do analito + gás reagente) é bombardeada com elétrons, assim como na IE. Mas, como o gás reagente está em excesso em relação ao analito, 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, dando origem aos íons pseudomoleculares do analito $[M+H]^+$. Por este processo ser

relativamente de baixa energia, quase não observa-se fragmentação (Vékey,2001).

Aliás, para que os átomos e as moléculas neutras possam ser analisados por espectrometria de massas eles devem ser ionizados. Após a ionização, os íons são separados de acordo com a sua relação massa/carga. Os analisadores dependem em geral da aceleração deles, por isso os separam de acordo com a relação massa-carga (m/z), e não apenas em função de suas massas (Chiaradia, 2008).

Vale lembrar que a MS/MS é a técnica espectrométrica que utiliza dois analisadores de massas para separar os íons de mesma razão m/z gerados na fonte de ionização,ou seja, constitui-se de dois estágios de espectrometria de massas (MS1 e MS2). Por conseguinte, um deles é usado para isolar o íon de interesse e o outro é usado para estabelecer uma relação entre este íon de interesse isolado e outros íons que foram gerados a partir da sua decomposição induzida (Alexiou *et al.*, 2006).

Neste trabalho aborda-se-á somente o analisador triplo quadrupolo, que consta de três quadrupolos em série, sendo que o segundo quadrupolo não é utilizado para separar íons de mesma razão m/z , mas sim como cela de colisão, na qual ocorre a fragmentação dos íons selecionados no primeiro quadrupolo geralmente por dissociação induzida por colisão com um gás inerte (“*collision-induced dissociation*”) - DIC, e também é empregado como direcionador dos íons produzidos ao terceiro quadrupolo (Chiaradia, 2008).

Na DIC, o íon precursor proveniente do primeiro quadrupolo é acelerado por um potencial elétrico para uma região de alto vácuo no interior do segundo quadrupolo, onde sofre repetidas colisões com um gás inerte de elevada energia (geralmente Ar, He ou N₂), o que leva a um aumento na energia potencial deste íon até ocasionar sua fragmentação, conduzindo à formação dos íons produto. Quando DIC é realizada em baixa energia, as reações de fragmentação levam geralmente à perda de fragmentos neutros, dependendo da natureza do íon precursor. Essa perda de fragmentos neutros é muito importante na determinação

estrutural da molécula do analito, uma vez que fornece informações acerca de grupos funcionais presentes na molécula (Chiaradia, 2008).

Por conseguinte, quando a DIC realiza-se sob elevada energia, as reações de fragmentação geram informações estruturais mais significativas, uma vez que pode levar à quebra das moléculas em posições características. Porém, quando a energia é muito elevada pode levar a uma fragmentação descontrolada (Chiaradia, 2008).

2.8 Validação

A princípio, após o desenvolvimento de um método analítico, e antes de sua aplicação na análise de amostras de interesse, o mesmo precisa ser validado de forma a assegurar que, nas condições em que utilizar-se gere os resultados esperados (Lanças, 2004). Em outras palavras, a validação é o processo que prova que um método analítico é aceitável para os propósitos a que ele se destina (Harris, 2009). Além disso, a importância da validação na análise química tornou-se mais acentuada, a partir da constatação, na década de 1970, da enorme variabilidade de resultados obtidos em análise toxicológicas de amostras submetidas a estudos interlaboratoriais por órgãos do governo americano.

Apesar de ainda, passados mais de 40 anos, (Ribani, 2004; Brito *et al.* 2003) não existir um consenso sobre quais parâmetros devem ser incluídos no processo de validação de um método analítico, os seguintes são, normalmente, apontados:

- Recuperação ou exatidão;
- Precisão;
- Linearidade;
- Limite de detecção e limite de quantificação;
- Sensibilidade;
- Seletividade.

2.8.1 Linearidade

Antes de tudo, a linearidade mede o quanto um gráfico da resposta analítica contra a concentração (ou quantidade) do analito segue uma linha reta (Harris, 2003), ou seja, é expressa pela sua habilidade em gerar resultados que sejam diretamente proporcionais às concentrações dos analitos nas amostras, correspondentes a uma determinada faixa de concentração (INMETRO, 2007).

Na prática, determina-se a linearidade por intermédio de gráficos de calibração, seguidos de um tratamento estatístico. No caso de gráficos de calibração, ou curvas de calibração, deve-se construir um gráfico relacionado à resposta do equipamento em função de várias concentrações do analito em estudo, como mostrado na equação 1 (Lanças, 2004).

Matematicamente, a estimativa dos coeficientes de uma curva analítica a partir de um conjunto de medições experimentais pode ser efetuada usando o método matemático de regressão linear. Além dos coeficientes de regressão **a** e **b**, também é possível calcular-se, a partir dos pontos experimentais, o coeficiente de correlação, **r**. Esse parâmetro 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. Um coeficiente de regressão maior que 0,999 é considerado como evidência de um ajuste ideal dos dados para a linha de regressão. A ANVISA recomenda um coeficiente de correlação igual a 0,99 e o INMETRO um valor acima de 0,90. e os valores do coeficiente de determinação r^2 são tidos como satisfatórios a partir de 0,98 (RIBANI., 2004).

Além disso, constroe-se a curva de calibração preparando-se as soluções analíticas dos agrotóxicos, em solvente ou no extrato da matriz. A curva preparada em solvente relaciona o sinal do instrumento com a concentração do analito, sem considerar a interferência da matriz (Orso, 2011).

O número mínimo de pontos geralmente aceitos nos gráficos de calibração varia entre 5 e 6 pontos, (ANVISA, 2003) ou mais que 6 (INMETRO, 2007).

No mesmo sentido, a faixa linear dinâmica, descrita pela equação abaixo, só é válida em intervalos de concentrações ou massas no qual se pode construir uma curva analítica linear. A faixa de aplicação corresponde ao intervalo entre o valor superior e inferior da substância em exame, que atenda aos requisitos de precisão e exatidão.

$$y = ax + b \text{ (Equação 1)}$$

Onde:

y = resposta medida (área do pico);

x = concentração do analito;

a = coeficiente angular - inclinação da curva analítica = sensibilidade;

b = coeficiente linear - intersecção com o eixo y, quando x = 0.

2.8.2 Exatidão

A princípio, define-se a exatidão como a concordância entre o valor real do analito na amostra e o estimado pelo processo analítico, que constitui a chave para o propósito da validação. Os quatro principais métodos propostos para o estudo da exatidão são baseados no uso de material de referência certificado (MRC), na comparação do método proposto com um método de referência, no uso de ensaios de recuperação na matriz e em estudos colaborativos. Os MRC (quando disponíveis) são os materiais de controle preferidos, pois estão diretamente relacionados com padrões internacionais. Por conseguinte, o processo de avaliação por meio de MRC consiste em analisar número suficiente de replicatas desse material e comparar os resultados obtidos com o valor certificado. Entretanto, o alto custo do MRC e a abrangência limitada de matrizes e analitos restringem seu uso (Ribani, 2004).

Como se observa, a exatidão também estabelece-se mediante comparação entre os valores obtidos pelo método proposto com os valores obtidos para as mesmas amostras com outro método validado (método com precisão e exatidão avaliadas). Após análise de diferentes amostras com ambos os métodos, as diferenças obtidas para cada amostra são calculadas e comparadas com o valor desejado (nesse caso, a diferença deve ser zero). Determina-se, então, o nível de confiança de acordo com o intervalo de concentração (menores valores de concentração causam maior dispersão dos dados aumentando o limite de confiança). Entretanto, nem sempre se encontra método de referência preexistente, impossibilitando a utilização desse tipo de proposta (INMETRO, 2007).

Outrossim, estudos colaborativos implicam na aceitação de pelo menos oito laboratórios (número mínimo) a desenvolver determinado método. Somente quando for impossível reunir-se tal número de laboratórios, o estudo poderá ser conduzido com o mínimo absoluto de cinco participantes. A maior dificuldade frequentemente encontra-se quando se tenta estabelecer a exatidão do método por meio de estudos colaborativos que envolvem a garantia de estabilidade do analito (assegurar que a concentração do analito, a ser determinada na amostra, permaneça estável durante o decorrer do estudo). Isso torna-se particularmente difícil com compostos lábeis (Brito *et al.*, 2003).

Vale lembrar que, na falta de MRC's o ensaio de recuperação constitui o método mais utilizado para validação de processos analíticos. A recuperação está relacionada com a exatidão, pois reflete a quantidade de determinado analito, recuperado no processo, em relação à quantidade real presente na amostra. Assim, exatidão é expressa como erro sistemático percentual, inerente ao processo. O erro sistemático ocorre pela perda da substância devido à baixa recuperação da extração, medidas volumétricas imprecisas ou substâncias interferentes na amostra (entre outros). Do exposto, este estudo consiste na "fortificação" da amostra branco da matriz, ou seja, na adição de soluções com diferentes

concentrações do analito de interesse seguida pela determinação da concentração do analito adicionado (Brito *et al.*, 2003).

Deve-se ressaltar, que o processo de fortificação tenta simular condições reais, não interferindo significativamente nas interações que ocorrem na própria amostra. Isso nem sempre é possível, visto que a solução de fortificação é preparada com solventes orgânicos, geralmente não-presentes na matriz. Por essa razão, tenta-se usar volume reduzido de solução de fortificação e condições que alterem a amostra o mínimo possível (Brito *et al.*, 2003).

2.8.3 Precisão intermediária

Com efeito, a precisão intermediária é a precisão intercorrida, ou seja, refere-se à concordância entre os resultados do mesmo laboratório, mas obtidos em dias diferentes, e/ou com analistas diferentes e/ou equipamentos diferentes. Para a determinação da precisão intermediária, recomenda-se um mínimo de dois dias diferentes, com analistas diferentes. Ademais, existem vários métodos para determinação e controle desse parâmetro de qualidade, como por exemplo, por meio de gráfico de controle de amplitude, que poderão ser aplicados para replicatas de amostra e para padrões estáveis ao longo do tempo (Silva e Alves, 2006).

2.8.4 Seletividade

No mesmo sentido, é a medida do grau de sobreposição entre o sinal da espécie de interesse e os interferentes presentes na amostra indicando, também, a parte do sinal que é perdida por essa sobreposição (Valderrama *et al.*, 2009). A tradução da definição do texto da IUPAC (União Internacional de Química Pura e Aplicada) propõe-se: seletividade refere-se a uma parte do método que pode ser aplicada para determinar uma espécie em particular, na mistura, ou matrizes, sem sofrer

interferências de outras espécies de comportamento similar (Leite, 2008; Valderrama, Braga e Poppi, 2009).

2.8.5 Sensibilidade

Em verdade, expressa a fração de sinal que acresce-se quando a concentração da espécie de interesse tem seu valor elevado em uma unidade. Geralmente, faz-se uma regressão, pelo método de mínimos quadrados, entre os valores instrumentais em função da concentração (calibração clássica) e a sensibilidade é determinada pela inclinação (coeficiente angular) (Valderrama, Braga e Poppi, 2009). Assim, quanto maior foi esta inclinação mais sensível é o método e uma pequena diferença de concentração do analito causa grande variação no valor do sinal analítico medido.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

O desenvolvimento experimental consistiu na otimização e validação de um método de Extração em Fase Sólida (SPE) para a extração de agrotóxicos em amostras de água de lavoura de arroz irrigado e a verificação de seu desempenho na avaliação da dissipação destes compostos após a aplicação no cultivo de arroz. A quantificação realizou-se por GC-(EI)-MS/MS.

Os parâmetros analíticos avaliados durante a validação foram: linearidade, precisão (repetitividade e precisão intermediária), exatidão, limite de detecção e quantificação.

3.1 Instrumentação

A instrumentação utilizada no desenvolvimento deste trabalho está descrita a seguir:

- ✓ Sistema GC(EI)-MS/MS: Cromatógrafo a gás CP 3800 (Varian, EUA) equipado com:
 - Amostrador automático CP 8400 (Varian, Holanda);
 - Injetor modelo 1079, com insersor de vidro silanizado, d. i. de 3,4 mm, contendo cerca de 0,5 cm de carbofrita;
 - Coluna capilar CP VF-5 MS (5% fenil e 95% metilpolisiloxano) de sílica fundida, 30 m de comprimento; 0,25 mm de d.i. e 0,25 µm de espessura de filme (Varian, EUA);
 - Detector MS Triplo Quadrupolo 1200, operando no modo MRM (Varian, EUA);
 - Sistema de aquisição de dados através do *software MS Workstation 6.9.2* (Varian, EUA);
- ✓ Sistema de purificação de água Milli-Q - resistividade 18,2 mΩ cm, Millipore (Molsheim, França);
- ✓ Balança analítica Modelo:AUW220D (Shimadzu, Brasil)
- ✓ Agitador Vortex – Biomixer Modelo QL 901 (Microtécnica, Brasil);

- ✓ Micropipetadores automáticos com capacidade variável (Brand, Alemanha);
- ✓ Bomba à vácuo (Tecnal, Brasil);
- ✓ Sistema de manifold SPE (Varian, EUA);
- ✓ pHmetro modelo pH 500 Series Cole Parmer equipado com eletrodo de vidro combinado (Vernon Hills, EUA).

3.2 Gases Utilizados

- ✓ Gás de arraste: Hélio 99,999% de pureza (White Martins e Air Products, Brasil);
- ✓ Argônio 99,9992% de pureza (Air Products, Brasil).

3.3 Materiais

- ✓ Vidraria comum de laboratório analítico;
- ✓ Detergente neutro Extran® (Merck, Brasil)
- ✓ Seringas de volume de 50, 100 e 1000 µL (Hamilton, Suíça).

3.4 Solventes e Reagentes

- ✓ Tolueno, grau pesticida (Mallinckrodt, EUA);
- ✓ Acetonitrila, grau HPLC (J.T. Baker, EUA);
- ✓ Metanol grau HPLC (Mallinckrodt, EUA);
- ✓ Acetona grau HPLC (Mallinckrodt, EUA);
- ✓ Hexano grau HPLC (Mallinckrodt, EUA);
- ✓ Clorofórmio com 99-99,4% de pureza, (Merck, Brasil);
- ✓ Padrões sólidos dos agrotóxicos, conforme Tabela 5.
- ✓ Água purificada em sistema Milli-Q (resistividade de 18,2 MΩ cm);
- ✓ Ácido fosfórico p.a. 85% (Merck, Brasil);

- ✓ Água destilada e água deionizada;
- ✓ Extran neutro e Extran alcalino (Merck, Brasil);
- ✓ Cartuchos para SPE Strata C18 500 mg / 3,0 mL;
- ✓ Álcool etílico hidratado 92,8 °GL;
- ✓ Cartuchos Nexus (Varian, EUA)
- ✓ Cartuchos Strata SDBL (PHENOMENEX, EUA)

3.5 Agrotóxicos selecionados

A tabela 05 relaciona os compostos estudados no presente trabalho a sua classe e grupo químico e algumas propriedades físicas.

3.6. Amostras Branco

Obteve-se as amostras branco de água, utilizadas para a etapa de validação, de um açude localizado na cidade de Itaara, estado do Rio Grande do Sul. A área encontra-se afastada de regiões de cultivo de arroz fato pelo qual as amostras não apresentaram resíduos de agrotóxicos.

Para a coletas das amostras utilizou-se frascos de vidro âmbar de 1 L de capacidade, transportou-se sobre refrigeração até o laboratório onde foram armazenados na geladeira até a etapa de extração para o processo de validação.

Tabela 05: Lista dos agrotóxicos estudados, classe, grupo químico e propriedades físico-químicas.

Nome do composto	Grupo químico	Classe	pka	P. F. (°C)	P. E. (°C)	M. M. (g mol ⁻¹)	Solubilidade em água		PV (mPa)	K _{oc} (ml g ⁻¹)
							(mg L ⁻¹)	log K _{ow}		
Alaclor	Cloroacetamida	H	-	41	100	269,7	240	3,09	2,9	124
Aldrin	Ciclodienos	I	-	104	145	364,9	0,027	6,5	3	17500
Azoxistrobina	Estrobilurina	F	-	116	360	403,4	6,7	2,5	1.10 X 10 ⁻⁰⁷	482
Bifentrina	Piretróide	I, A	-	69,3	-	422,9	0,001	7,3	0.0178	236610
Bromofós metílico	Organofosforados	I	-	53	-	366	40	5,21	17	17
Captan	Ftalamida	F	-	178	-	300,6	3,3	2,8	1,3	27853
Cialotrina lambda	Piretróides	I	>9	49,2	-	449,9	0,005	6,9	0.0002	157000
Ciflutrina beta	Piretróides	I	-	93,5	-	434,3	0,0012	5,9	0.000056	64300
Cipermetrina	Piretróides	I,TV	-	41,2	-	416,3	0,009	5,3	0.00023	85572
Clorpirifós etílico	Organofosforados	I	-	41,5	-	350,9	1,05	4,7	1,43	8151
Clorpirifós metílico	Organofosforados	I, A	-	46	360	322,5	2,74	4,00	3,0	4645
Clorotalonil	Cloronitrila	F	-	252,1	350	265,9	0,81	2,94	0,076	850
Cresoxim metílico	Estrobilurina	F	-	102	-	313,3	2	3,4	2,30 X 10 ⁻⁰³	308
DDT	Organoclorado	I	-	108-109	185-187	354,5	< 1,0	-	0,025	-
Deltametrina	Piretróides	I, TV	-	101	-	505,2	0,0002	4,6	0,0000124	10240000
Diazinona	Organofosforado	I	2,6	83-84	-	304,3	40	3,3	0,097	-
Dicofol	Organoclorado	A	-	78-79	193	370,5	0,8	4,3	0,053	42788
Dieldrin	Hidrocarbonetos clorados	I	-	177	385	380,9	0,14	3,7	0,024	12000
Difenoconazole	Triazole	F	1,1	82-83	-	406,3	15	4,4	3,3 X 10 ⁻⁵	3759
Dimetoato	Organofosforado	I,A	2,0	50-51,5	117	229,3	23,3	0,704	0,5	-
Endossulfan alfa	Organoclorados	I, A	-	109,2	401,28	406,9	0,32	4,74	6,22 x 10 ⁻⁶	11500
Endossulfan beta	Organoclorados	I, A	-	80	-	406,9	0,32	4,75	0,83	11500
Endossulfan sulfato	Organoclorado	M	-	-	-	422,9	0,48	3,66	-	5194
Endrin	Organoclorados	I	-	200	-	380,9	0.24	3,2	0,09	10000

Nome do composto	Grupo químico	Classe	pka	P. F. (°C)	P. E. (°C)	M. M. (g mol ⁻¹)	Solubilidade		PV (mPa)	K _{oc} (ml g ⁻¹)
							em água (mg L ⁻¹)	log K _{ow}		
Epoxiconazole	Triazole	F	-	136,2	-	329,8	6,63 x 10 ⁻⁴	3,44	<0,01	957
Esfenvalerato	Piretróide	I	-	50-62	151-167	419,9	0,002	6,22	2 X 10 ⁻⁴	5300
Fenarimol	Pirimidina	F	-	117-119	-	331,2	13,7	3,69	0,065	-
Fenitrotiona	Organofosforado	I, A	-	0,3	140-145	277,2	14	3,43	18	2380
Fenvalerato	Piretróide	I	-	39-53	-	419,9	<10 x 10 ⁻³	5,01	1,92X10 ⁻²	-
Fluvalinato	Fenilpirazol	I, TV	-	90	-	503,9	1,03 x 10 ⁻³	4,3	13	-
Fipronil	Fenilpirazol	I	-	203	-	437,1	3,78	3,75	0,002	577
HCH,alfa	Organoclorado	I	-	158	288	209,9	2		4,5 x 10 ⁻²	
Heptacloro	Não classificado Hidrocarboneto	M	-	95	-		0,056	4,85	53	24000
Heptacloro epóxido	Aromático Clorado	F	-	-	-	389,3	02	4,98	-	22485
Hexaclorobenzeno	Organoclorados	I	-	226	325	284,8	0,0047	3,93	1,47 x 10 ⁻⁵	50000
Lindano	Organofosforados	I, A	-	113	323	290,8		3,17	5,6 x 10 ⁻⁵	22,1
Malationa	Organofosforado	I, A	-	-20	-	330,3	148	2,75	3,1	217
Metidationa	Organofosforado	I, A	-	39-40	-	302,3	200	2,2	0,25	47243
Tetradifona	Neonocotinóides	A	-	146	-	356,0	0,078	4,61	3,20 x 10 ⁻⁰⁵	100
Tebuconazole	Triazole	F	-	105	-	307,8	36	3,7	1,7 X 10 ⁻³	-
Tiametoxam	Organofosforados	I	-	139,1	-	291,7	4,1	-0,13	6,6 x 10 ⁻⁶	-
Triclorfom	Organofosforado	I	-	80	-	257,4	12	0,43	0,21	10
Trifloxistrobina	Dinitroanilina	H	-	72,9	-	408,3	0,61	4,5	3,40 X 10 ⁻⁰³ 1,33 x 10 ⁻² a	2377
Trifluralina	Dinitroanilina	H	-	48,5-49	-	335,5	0,221	4,83	1,33 10 ⁻⁴	7000
Paration metílico	Organofosforado	I	-	35-36	154	263,2	55	3,83	0,2	-
Paration etílico	Organofosforado	I, A	-	6,1	150	291,3	11	3,83	0,89	3,83
Permetrina	Piretróide	I	-	34,5	200	391,3	0,2	6,1	0,002	100000
Pirimifós metílico	Organofosforado	I, A	4,3	15-18	-	305,3	11	4,2	2	-

Nome do composto	Grupo químico	Classe	pka	P. F. (°C)	P. E. (°C)	M. M. (g mol ⁻¹)	Solubilidade			K _{oc} (ml g ⁻¹)
							em água (mg L ⁻¹)	log K _{ow}	PV (mPa)	
Procimidona	Dicarboximida Hidrocarboneto aromático +	F	-	166- 166,5	-	284,1	4,5	3,14	18	-
Quintozeno	Nitrofenil + Cloro	F	-	143	328	295,3	0,4	4,46	12,7	4498

Onde: I = Inseticida; F = Fungicida; H = Herbicida; A = Acaricida; TV = Tratamento Veterinário; PF = Ponto de fusão; PE = Ponto de ebulição; M M = Massa molar; PV = Pressão de vapor; K_{ow} = Coeficiente de partição octanol água; K_{oc} = Coeficiente de adsorção a matéria orgânica do solo.

Fonte: Pesticide Manual (2000-2001).

3.7 Preparo dos padrões analíticos utilizados

A princípio, preparou-se, individualmente, 10,0 mL da solução estoque 1000,0 mg L⁻¹ de cada agrotóxico, em acetonitrila grau HPLC, partindo da dissolução do padrão sólido de referência. Efetuou-se a correção das pesagens, considerando a pureza dos padrões, conforme recomendado na literatura (INMETRO, 2007; Ribani, 2004).

As informações dos padrões analíticos utilizados estão listadas na Tabela 06.

Tabela 06: Informações dos padrões sólidos

Princípio ativo	Pureza (%)	Fornecedor
Alaclor	99,5	Dr. Ehrenstorfer
Aldrin	97	Dr. Ehrenstorfer
Azoxistrobina	99,5	Dr. Ehrenstorfer
Bifentrina	95,5	Dr. Ehrenstorfer
Bromofós metílico	99,5	Dr. Ehrenstorfer
Cialotrina lambda	98	Dr. Ehrenstorfer
Ciflutrina beta	98,5	Dr. Ehrenstorfer
Cipermetrina	92	Dr. Ehrenstorfer
Clorpirifós etílico	99,5	Dr. Ehrenstorfer
Clorpirifós metílico	97	Dr. Ehrenstorfer
Clorotalonil	98,5	Dr. Ehrenstorfer
Cresoxim metílico	99,5	Dr. Ehrenstorfer
DDT	99	Dr. Ehrenstorfer
Deltametrina	99	Dr. Ehrenstorfer
Diazinona	96	Dr. Ehrenstorfer
Dicofol	98,8	Dr. Ehrenstorfer
Dieldrin	97,5	Dr. Ehrenstorfer
Difenoconazole	99	Dr. Ehrenstorfer
Dimetoato	98	Dr. Ehrenstorfer
Endossulfan alfa	96	Dr. Ehrenstorfer
Endossulfan beta	98	Dr. Ehrenstorfer
Endossulfan sulfato	99,5	Dr. Ehrenstorfer
Endrin	99,5	Dr. Ehrenstorfer
Epoxiconazole	99	Dr. Ehrenstorfer
Esfenvalerato	98	Dr. Ehrenstorfer
Fenarimol	97,5	Dr. Ehrenstorfer
Fenitrotiona	97,5	Dr. Ehrenstorfer
Fenvalerato	98	Dr. Ehrenstorfer
Fluvalinato	93	Dr. Ehrenstorfer
Fipronil	97,5	Dr. Ehrenstorfer

Princípio ativo	Pureza (%)	Fornecedor
HCH,alfa	97,5	Dr. Ehrenstorfer
HCH,beta	98,4	Dr. Ehrenstorfer
HCH,delta	99	Dr. Ehrenstorfer
Heptacloro	98,5	Dr. Ehrenstorfer
Heptacloroepóxido	99	Dr. Ehrenstorfer
Hexaclorobenzeno	99,5	Dr. Ehrenstorfer
Lindano	99	Dr. Ehrenstorfer
Malationa	98,5	Dr. Ehrenstorfer
Metidationa	98,5	Dr. Ehrenstorfer
Miclobutanil	99,5	Dr. Ehrenstorfer
Mirex	99	Dr. Ehrenstorfer
Tetradifona	99	Dr. Ehrenstorfer
Tebuconazole	98,8	Dr. Ehrenstorfer
Tiametoxam	98	Dr. Ehrenstorfer
Triclorfom	97	Dr. Ehrenstorfer
Trifenilfosfato	99,5	Dr. Ehrenstorfer
Trifloxistrobina	99	Dr. Ehrenstorfer
Trifluralina	97,5	Dr. Ehrenstorfer
Paration metílico	98,5	Dr. Ehrenstorfer
Paration etílico	99	Dr. Ehrenstorfer
Permetrina cis	96	Dr. Ehrenstorfer
Permetrina trans	97	Dr. Ehrenstorfer
Pirazofós	97	Dr. Ehrenstorfer
Pirimifós metílico	99	Dr. Ehrenstorfer
Procimidona	98	Dr. Ehrenstorfer
Propiconazole	96,5	Dr. Ehrenstorfer
Quintozeno	96	Dr. Ehrenstorfer
2,4 DDD	97,5	Dr. Ehrenstorfer
4,4 DDE	98,5	Dr. Ehrenstorfer

Depois, a partir das soluções estoques prepararam-se soluções analíticas de concentrações $10,0 \text{ mg L}^{-1}$, de cada princípio ativo. Posteriormente aprontaram-se as soluções analíticas utilizadas para a otimização das condições cromatográficas.

A partir da solução analítica de $1000,0 \text{ mg L}^{-1}$, arranhou-se uma mistura de todos os compostos na concentração de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$. Esta solução foi empregada para a obtenção da curva analítica. Todas as soluções analíticas foram preparadas em acetonitrila grau HPLC.

3.8 Condições cromatográficas

Abaixo estão apresentadas as condições utilizadas para o sistema GC-EI-MS/MS, para análise dos 62 agrotóxicos validados para análise em amostras de água.

Para o cromatógrafo a gás:

- ✓ Programação de temperatura do injetor por vaporização com temperatura programada (PTV): temperatura inicial de 100 °C (0,1 min), com incremento de temperatura de 200 °C min⁻¹ até 300 °C (28 min), logo após resfriamento até 100°C (35,0 min);
- ✓ Programação da válvula do *split* do injetor PTV: inicialmente válvula do *split* aberta na razão 1/50, após 0,01 min válvula do *split* fechada, e após, 2,0 min válvula do *split* aberta na razão 1/20;
- ✓ Volume de injeção: 2 µL;
- ✓ Programação da temperatura do forno da coluna: temperatura inicial de 50 °C (1,0 min), com incremento de temperatura de 10 °C min⁻¹ até 65 °C (2,5 min); logo após um incremento de 25 °C min⁻¹ até 18 °C (7,0 min) e posteriormente de 5 °C min⁻¹ até 280 °C;
- ✓ Vazão do gás de arraste (hélio) constante em 1,0 mL min⁻¹;
- ✓ Tempo total de corrida: 35 min.

Para o espectrômetro de massas, modo EI positivo:

- ✓ Temperatura de *transfer line*: 250 °C;
- ✓ Temperatura da fonte de ionização: 210 °C;
- ✓ Modo de aquisição MS/MS;
- ✓ Modo de ionização EI positivo, com argônio a pressão de 2 torr;

3.9 Otimização do sistema GC-(EI)-MS/MS

A princípio, para a otimização das condições cromatográficas injetaram-se, individualmente, 2 µL das soluções analíticas de 1,0 mg L⁻¹

dos agrotóxicos selecionados para este estudo, observando-se o tempo de retenção de cada composto.

Após esse procedimento, foi preparada uma solução contendo todos os agrotóxicos em estudo, na concentração de 1 mg L^{-1} , para verificar a separação cromatográfica dos mesmos.

3.10 Seleção do Padrão Interno

A seleção de um padrão interno deve obedecer aos seguintes critérios: “Idealmente, a substância usada como padrão interno deve apresentar características físico-químicas similares às substâncias a serem quantificadas, bem como ter tempo de retenção próximo a essas substâncias, não reagir com as substâncias ou outro componente da matriz, não fazer parte da amostra e, quando cromatografada não coeluir com os agrotóxicos estudados da amostra. Este último requisito não é necessário quando a detecção faz-se por espectrometria de massas, na qual cada composto produz um espectro característico” (Krull e Swartz, 1998; Cuadros-Rodríguez *et al.*, 2001).

Além disso, a substância usada como padrão interno deve ter o seu uso proibido na cultura a ser monitorada, e dessa maneira, não se encontrando presente nas amostras encaminhadas para análise. Testou-se três compostos como padrão interno: quintozeno, lindano e tetradifona.

3.11 Otimização do sistema SPE

Evidencia-se que no sistema comercial utiliza-se um dispositivo manifold, que é um sistema formado por uma caixa de vácuo. As amostras, colocadas em balões volumétricos, são transferidas para os cartuchos SPE através de tubulações de politetrafluoretileno (PTFE), conforme figura 04. Vale lembrar, que a transferência ocorre por sucção em função do vácuo, controlado para cada cartucho através das torneiras

e válvulas, que é aplicado no sistema (Vicari, 2009). Adotou-se uma vazão na faixa de 3,0 a 5,0 mL min⁻¹ para a pré-concentração das amostras.

Para a etapa de otimização da extração SPE utilizou-se amostras de água ultra-pura.



Figura 04: Sistema comercial de SPE. Fonte: Peixoto (2007).

3.11.1 Escolha do adsorvente

No mesmo sentido, para a escolha do adsorvente que recheia o cartucho, deve-se considerar as informações do analito de interesse e a natureza da matriz, bem como as suas capacidades de interação.

No interior dos cartuchos SPE utilizados neste trabalho os materiais adsorventes contidos foram: C18, Strata SDBL e Nexus.

3.11.2 Escolha do solvente de condicionamento do cartucho

A princípio, o condicionamento dos cartuchos tem a função de ativar o material adsorvente existente dentro do cartucho e, o solvente a ser utilizado dependerá desse material. Um dos fatores mais importantes nesta etapa para obter-se boa reprodutibilidade na extração, é não deixar

que todo o solvente seja eliminado. Dependendo do material utilizado como fase móvel, a secagem do cartucho pode criar vários problemas, dentre os quais a formação de caminhos preferenciais, comprometendo a separação. Assim, neste trabalho testou-se, conforme a Tabela 07, diferentes solventes e volumes necessários para um melhor desempenho do método.

3.11.3 Escolha do solvente de eluição dos analitos de interesse

O solvente de eluição deve eluir de forma eficiente os analitos de interesse e permitir que os interferentes contidos na amostra permaneçam retidos no cartucho. O ideal é eluir-se os compostos de interesse em um pequeno volume, de forma que os analitos estejam em uma concentração adequada para ser injetada no sistema cromatográfico.

A escolha do solvente de eluição depende da polaridade relativa do solvente e da sua capacidade em remover os analitos da fase sólida adsorvente. Ainda, para adsorventes menos polares como o C18 e C8, o solvente de eluição precisa ter características bem polares, como por exemplo, o metanol, a acetonitrila e o acetato de etila.

Finalmente, os solventes de eluição testados estão listados na tabela 07. Nesta tabela, encontram-se descritos os ensaios realizados para otimização da extração SPE com diferentes solventes de condicionamento e eluição, bem como variação do volume destes.

Tabela 07: Ensaios realizados para otimização do preparo de amostra utilizando extração em fase sólida.

Ensaio	Volume de Amostra (mL)	Condicionamento do cartucho	Eluição	Adsorvente	Referência
Ensaio 1	250	10 mL de hexano	10 mL de Acetonitrila	C18	Lanças, Barrionero (2001)
Ensaio 2	100	3 mL de metanol + 3 mL de água	2 mL de hexano : acetato de etila (70:30)	C18	Maroneze (2004)
Ensaio 3	100	3 mL de metanol + 3 mL de água	2 mL de hexano : acetato de etila (70:30)	Nexus	-
Ensaio 4	250	10 mL de hexano + 3 mL de água	10 mL de Acetonitrila	C18	Lanças, Barrionero (2001)
Ensaio 5	250	3 mL de metanol + 3 mL de água	2 mL de acetonitrila	C18	-

Ensaio	Volume de Amostra (mL)	Condicionamento do cartucho	Eluição	Adsorvente	Referência
Ensaio 6	250	5 mL de isoctano + 5 mL de acetato de etila + 5 mL de metanol + 10 mL de água	3 X de 500 µL de acetato de etila + 3 X de 500 µL isoctano	C18	Colina <i>et al.</i> (1995)
Ensaio 7	100	3 mL de metanol + 3 mL de água	1 mL de diclorometano	C18	Martins (2004)
Ensaio 8	100	3 mL de metanol + 3 mL de água	1 mL de diclorometano	Nexus	-
Ensaio 9	100	3 mL de metanol + 3 mL de água	1 mL de diclorometano/ hexano (50:50)	C18	-
Ensaio 10	100	3 mL de metanol + 3 mL de água	5 mL de diclorometano/ hexano (50:50)	C18	-
Ensaio 11	100	6 mL de metanol + 3 mL de água	2 mL de metanol:diclorometano (20:80)	Strata SDBL	-

Ensaio	Volume de Amostra (mL)	Condicionamento do cartucho	Eluição	Adsorvente	Referência
Ensaio 12	100	6 mL de metanol + 3 mL de água	2 mL de acetato de etila	Strata SDBL	-
Ensaio 13	100	6 mL de metanol + 3 mL de água	2 mL de acetato de etila	C18	-
Ensaio 14	100	6 mL de metanol + 3 mL de água	2 mL de metanol:diclorometano (20:80)	C18	-
Ensaio 15	100	6 mL de metanol + 3 mL de água	2 mL de acetato de etila	C18	-
Ensaio 16	100	3 mL de metanol + 3 mL de água	1 mL de diclorometano	C18	-
Ensaio 17	250	10 mL de hexano + 3 mL de água	10 mL de acetato de etila	C18	Lanças, Barrionuero (2001)

Ensaio	Volume de Amostra (mL)	Condicionamento do cartucho	Eluição	Adsorvente	Referência
Ensaio 18	250	3 mL de metanol + 3 mL de água	2 mL de uma acetona:isooctano (50:50)	C18	-

3.12 Validação do método de SPE para análise de agrotóxicos em água de lavoura de arroz irrigado

Depois de serem definidas as melhores condições de separação cromatográfica do método analítico realizou-se a validação do método proposto.

No mesmo sentido, neste trabalho, os parâmetros analíticos utilizados para a validação do método foram: curva analítica e linearidade, precisão (repetitividade e precisão intermediária), exatidão, limite de detecção e limite de quantificação. Estes termos são conhecidos como parâmetros de desempenho analítico, características de desempenho, e, algumas vezes, como figuras analíticas de mérito.

3.12.1 Determinação da Linearidade das Curvas Analíticas

Antes de tudo, avaliou-se a linearidade das curvas analíticas a partir das soluções analíticas preparadas conforme descrito no item 3.6, no extrato da água ultra pura e na mistura de solventes isoctano:acetona, nas concentrações de 25, 50, 100, 200 e 250 $\mu\text{g L}^{-1}$ e cada solução analítica foi injetada três vezes.

Logo depois, realizou-se a confecção das curvas analíticas para cada composto em estudo analisado por GC(EI)-MS/MS, obtendo-se os cálculos da média das áreas do pico cromatográfico, do RSD (%), da equação da curva analítica, bem como do coeficiente de determinação (r^2). Obteve-se as curvas analíticas com o auxílio do programa Microsoft Office® Excel 2010.

Outrossim, como forma geral, não se deve quantificar amostras cuja concentração do analito esteja abaixo dos limites de detecção e quantificação que foram determinados experimentalmente durante o estudo do método (Peixoto, 2007).

Finalmente, recomenda-se utilizar, no mínimo, 5 (cinco) concentrações diferentes para a construção da curva analítica. Assim, quando houver linearidade, os resultados devem ser analisados por métodos estatísticos

apropriados, como por exemplo, o cálculo da regressão linear pelo método dos mínimos quadrados. (ANVISA, Portaria nº 724 de março de 2002).

3.12.2 Limite de detecção e limite de quantificação

Neste trabalho, o LOD e o LOQ foram estabelecidos com base na razão do sinal do composto pelo ruído analítico. O Limite de detecção corresponde à concentração do analito que resulta um sinal 3 vezes o ruído da linha de base ($LOD = 3S/R$) e o Limite de Quantificação corresponde à concentração do analito que produz uma relação sinal-ruído superior a 10 ($LOQ = 10S/R$) (Ribani, 2004).

Em seguida, para a medida do sinal foi utilizada a altura do pico cromatográfico, sendo medida a partir da média da oscilação do ruído.

Por conseguinte, o limite de detecção e quantificação instrumentais, LOD_i e LOQ_i respectivamente, são expressos em $\mu\text{g L}^{-1}$. Já o limite de detecção e quantificação do método, LOD_m e LOQ_m respectivamente, são obtidos dividindo-se o valor de LOD_i e LOQ_i pelo fator obtido pelo método de extração, obtendo-se os valores de LOD_m e LOQ_m em $\mu\text{g L}^{-1}$ (Ribani, 2004).

3.12.3 Precisão

A precisão do instrumento (repetitividade ou desvio padrão relativo) foi estudada efetuando-se 03 injeções de cada concentração das soluções analíticas dos agrotóxicos, no sistema GC-(EI)-MS/MS. Avaliou-se a precisão do método analítico através da extração e análise das amostras fortificadas. Extraíu-se cada um dos 5 (cinco) níveis de fortificação 3 (três) vezes e injetou-se, cada um dos extratos, 2 (duas) vezes.

Além desse fator, a precisão intermediária indica o grau de concordância dos resultados de testes obtidos para avaliar a precisão sobre uma mesma amostra ou padrões, utilizando-se o mesmo método, o mesmo laboratório ou

laboratórios diferentes, no mesmo dia ou em dias diferentes, analistas iguais ou diferentes.

A precisão normalmente é expressa através do desvio padrão relativo (RSD) em um número significativo de amostras (CODEX ALIMENTARIUS, 2007).

O valor numérico usado para avaliar-se a precisão, RSD, pode ser calculado através da Equação (2) (Ribani,2004).

$$\text{RSD (\%)} = \frac{s}{X_m} \times 100 \quad (2)$$

onde:

s = estimativa de desvio padrão absoluto

$$s = \left\{ \frac{\sum (x_i - x_m)^2}{N - 1} \right\}^{1/2}$$

x_i = valores individuais

x_m = média das medidas em replicatas

N = número de medidas

3.12.4 Exatidão

Para a avaliação da exatidão do método proposto realizaram-se testes de recuperação, efetuando-se a adição do componente de interesse à matriz, seguida da execução do método que está sendo avaliado.

A seguir, avaliou-se a exatidão do método através da fortificação de 3 (três) amostras branco em 5 (cinco) níveis diferentes, totalizando 15 análises de recuperação para os princípios ativos. A recuperação dos agrotóxicos foi avaliada nos níveis de: 0,08, 0,2, 0,4, 0,8 e 1,6 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Enfim, nos ensaios de recuperação, fortificaram-se amostras de água ultrapura, com uma quantidade conhecida da mistura da solução analítica dos agrotóxicos em estudo. A adição da solução padrão em cada nível de fortificação, efetivou-se em um volume de 2 L e retirou-se alíquotas de 250 mL para pré-concentrar por SPE.

3.13 Aplicação do método desenvolvido em água de lavoura de arroz irrigado

Em última análise, aplicou-se o método desenvolvido neste estudo na avaliação do tempo de permanência dos agrotóxicos em água de lavoura de arroz irrigado de um experimento de campo conduzido na várzea experimental localizada no Campus da Universidade Federal de Santa Maria. O estudo realizou-se nos anos agrícolas 2010/2011. Salienta-se que o processo de aplicação dos princípios ativos bem como de amostragem foi realizado segundo o protocolo deste setor. Efetuou-se a aplicação dos agrotóxicos no dia 01/02/2011.

Primeiramente, dividiu-se a área experimental estudada em 12 (doze) canteiros (C) que receberam diferentes tratamentos e foram denominados com a letra T e o número que representa cada princípio ativo, conforme é demonstrado na Tabela 08. As amostragens foram feitas no 1º, 3º, 5º, 7º, 10º, 15º, 17º, 19º, 20º, 21º, 23º, 25º, 30º, 35º, 40º, 45º, 55º, 60º, 70º, 75º, 80º, 85º, 90º, 95º e 100º dias após a aplicação dos agrotóxicos. Escolheram-se as datas de coletas com base em estudos anteriores de dissipação realizados com outros compostos, sendo que nos primeiros dias foram mais freqüentes e, após, em intervalos variados (Teló *et al.*, 2011; Marchezan *et al.*, 2010). A Tabela 08 lista os doze tratamentos realizados nesta safra e os respectivos princípios ativos correspondente a cada um deles.

Importante salientar que destes compostos somente permetrina e tebuconazole possuem limites estabelecidos na legislação brasileiro sendo estes de 20 µg l⁻¹ e 180 µg l⁻¹, respectivamente (Portaria 2914 do Ministério da Saúde, 2011).

Tabela 08: Tratamentos realizados para este trabalho e seus respectivos princípios ativos

Tratamento	Princípio ativo
Branco	Nenhum composto
T1	Azoxistrobina + Difenconazole
T2	Azoxistrobina + Difenconazole
T3	Cresoxim metílico + Epoxiconazole
T4	Cresoxim metílico + Epoxiconazole
T5	Tebuconazole + Trifloxistrobina
T6	Tebuconazole + Trifloxistrobina
T7	Tebuconazole + Triciclazole
T9	Cipermetrina + Tiametoxam
T10	Permetrina
T12	Lambda cialotrina
T13	Todos os compostos acima mencionados

4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

As condições cromatográficas utilizadas nesse estudo foram estabelecidas de acordo com os estudos desenvolvidos por Prestes (2007), Martins (2010) e Peixoto (2010).

4.1 Condições cromatográficas otimizadas para a determinação dos agrotóxicos em estudo por GC-(EI)-MS/MS

Na Figura 05, apresenta-se o cromatograma obtido para uma amostra branco da matriz, no qual pode ser observada a ausência de compostos que possam interferir na análise dos agrotóxicos em estudo. De acordo com a Figura 06, verifica-se o cromatograma total dos 62 analitos obtida através das condições descritas no item 3.7.

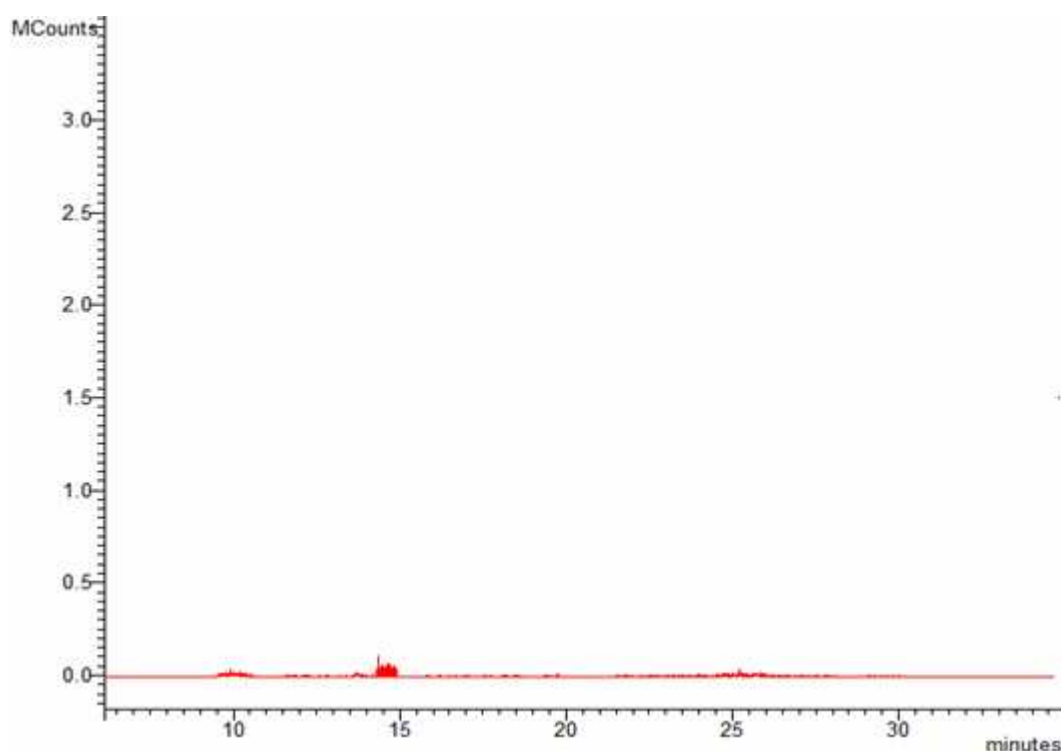


Figura 05: Cromatograma obtido por GC-(EI)-MS/MS para uma amostra branco da matriz, alcançados por meio das condições cromatográficas descritas no item 3.7.

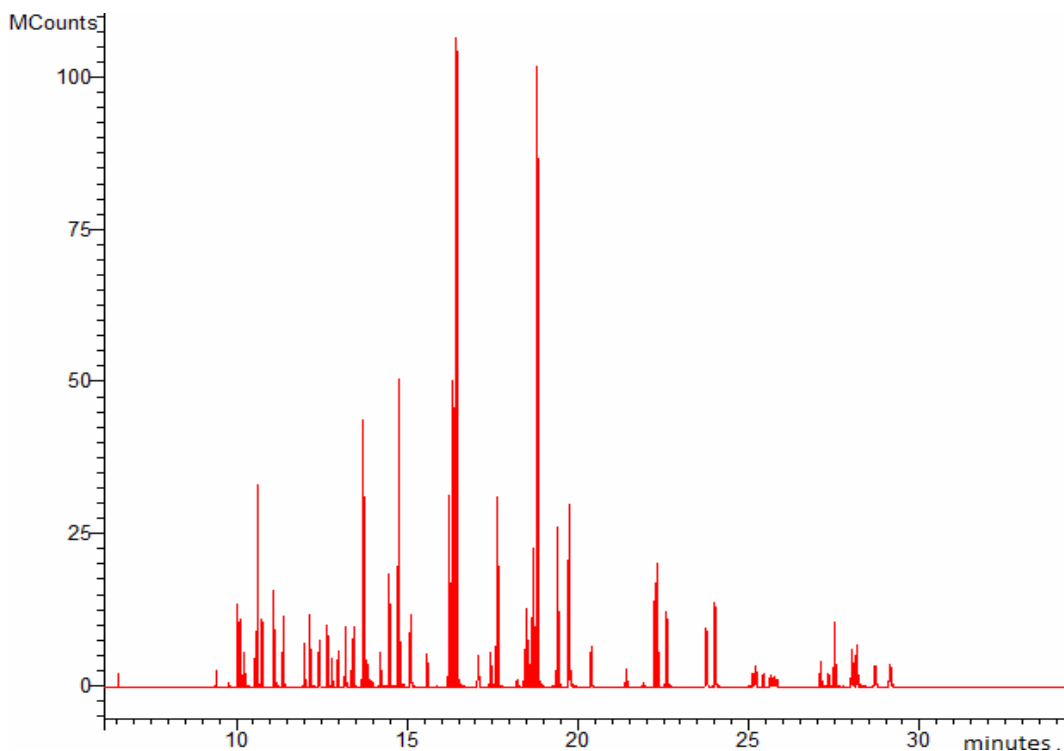


Figura 06: Cromatograma obtido por GC-(EI)-MS/MS para uma solução analítica no extrato da matriz contendo os agrotóxicos em estudo na concentração de $25 \mu\text{g L}^{-1}$, obtidos nas condições descritas no item 4.5.

4.1.1 Seleção dos íons

Os íons selecionados para cada composto foram monitorados durante a análise por GC-(EI)-MS/MS nos modos de: EI positivo de ionização e MS/MS de aquisição. Estes dados estão listados na Tabela 09 e na Tabela 10, ordenados de acordo com seus tempos de retenção.

Dois íons produto foram selecionados para cada analito, e após a seleção dos íons, distribuíram-se os compostos em 33 segmentos, sendo que cada segmento monitora uma quantidade determinada de íons em um determinado intervalo de tempo. Faz-se necessário realizar esta divisão, pois quanto menor a quantidade de íons monitorada em um pequeno espaço de

tempo maior será a sensibilidade. Caso contrário, haverá uma diminuição desta devido ao pouco tempo para monitorar cada íon.

Tabela 09: Agrotóxicos analisados por GC-(EI)-MS/MS com seus respectivos t_R , íons monitorados e segmento.

Agrotóxico	t_R (min)	S	<i>time. Window</i>
Triclorfon	6,5	1	
Trifluralina	9,4	3	8,8-9,5
HCH, alfa	10,0	4	
Hexaclorobenzeno	10,1	4	9,5-10,5
Dimetoato	10,2	4	
HCH beta	10,5	5	
Quintozeno	10,6	5	10,5-11,1
Lindano	10,7	5	
Diazinona	10,7	5	
Clorotalonil	11,1	6	11,1-11,5
HCH delta	11,3	6	
Clorpirifós metílico	12,0	7	
Alaclor	12,1	7	11,5-12,3
Paration metílico	12,2	7	
Heptacloro	12,4	8	12,3-12,5
Pirimifós metílico	12,6	9	12,5-12,8
Fenitrotiona	12,8	9	
Malation	12,9	10	12,8-13,0
Clorpirifós etílico	13,2	11	13,0-13,3
Aldrin	13,3	12	13,3-13,6
Paration etílico	13,4	12	
Dicofol	13,7	13	13,6-14,2
Bromofós metílico	13,7	13	
Fipronil	14,2	13	
Tiametoxan	14,2	14	14,2-14,3
Heptacloro epóxido	14,4	15	
Procimidona	14,7	15	14,3-14,9
Metidationa	15,1	16	14,9-15
Alfa endossulfan	15,5	17	15,0-15,8
4,4 DDE	16,2	18	
Miclobutanil	16,3	18	
Endrin I	16,4	18	15,8-16,9
Dieldrin	16,4	18	
2,4 DDD	16,4	18	
Cresoxim metílico	16,4	18	
Endrin II	17,1	19	16,9-17,5

Agrotóxico	t _R (min)	S	time. Window
Beta Endossulfan	17,4	19	
DDT I	17,6	20	
Trifloxistrobina	18,2	20	17,5-18,4
Epoxiconazole I	18,4	20	
Propiconazole I	18,5	21	
Endossulfan sulfato	18,7	21	18,4-19,0
Propiconazole II	18,7	21	
DDT II	18,8	21	
Tebuconazole	19,2	22	19,0-19,5
Trifenilfostato	19,4	22	
Epoxiconazole II	19,7	23	19,5-20,0
Bifentrina	20,3	24	20,0-20,8
Tetradifona	21,4	25	20,8-21,5
Cialotrina lambda II	22,2	26	
Cialotrina lambda I	22,2	26	21,5-22,5
Mirex	22,3	26	
Pirazofós	22,6	27	22,5-23,6
Fenarimol	22,6	27	
Permetrina I+II	24,0	28	23,6-25,0
Cipermetrina I	25,4	29	
Ciflutrina I+ II	25,2	29	25,0-25,9
Cipermetrina III+IV	25,6	29	
Fenvalerato	27,1	30	
Fluvalinato	27,7	30	25,9-27,8
Esfenvalerato	27,5	30	
Difenoconazole	28,1	31	27,8-28,4
Deltametrina	28,7	32	28,4-28,9
Azoxistrobina	29,1	33	28,9-30

Onde: S= Segmento e t_R = tempo de retenção.

Tabela 10: Agrotóxicos analisados por GC-(EI+)-MS/MS com suas transições de quantificação e confirmação.

S	Analito	Quantificação			Confirmação		
		Q1	Q3	eV	Q1	Q3	eV
1	Triclorfom	185	63	15	185	93	10
3	Trifluralina	306	264	10	306	206	15
4	HCH, alfa	219	109	25	219	147	20
4	Hexaclorobenzeno	284	214	35	284	249	30

S	Analito	Quantificação			Confirmação		
		Q1	Q3	eV	Q1	Q3	eV
4	Dimetoato	125	93	40	125	79	10
5	HCH, beta	219	109	25	219	147	20
5	Lindano	219	109	25	219	147	20
5	Quintozeno	295	237	10	295	265	10
5	Diazinona	304	179	10	304	162	10
6	Clorotalonil	266	133	35	266	168	35
6	HCH, delta	219	109	25	219	147	20
7	Clorpirifós metílico	288	93	20	288	286	10
7	Paration metílico	263	109	25	263	136	10
7	Alaclor	188	160	10	188	130	40
8	Heptacloro	274	237	20	274	239	20
9	Pirimifós metílico	290	151	15	290	180	10
9	Fenitrotona	277	260	10	277	109	25
10	Malationa	173	99	15	173	127	10
11	Clorpirifós etílico	314	258	15	314	286	15
12	Aldrin	263	191	30	263	193	30
12	Paration etílico	291	109	20	291	81	25
13	Dicofol	139	111	10	139	75	25
13	Bromofos metílico	331	93	40	331	287	40
14	Fipronil	367	178	40	367	213	30
14	Tiametoxam	212	93	30	212	143	30
15	Hepacloro-epóxido	353	263	15	353	282	15
15	Procimidona	283	96	10	283	67	20
16	Metidationa	145	85	10	145	58	15
17	Endossulfan Alfa	241	206	10	241	237	15
18	4,4-DDE	318	246	25	318	176	40

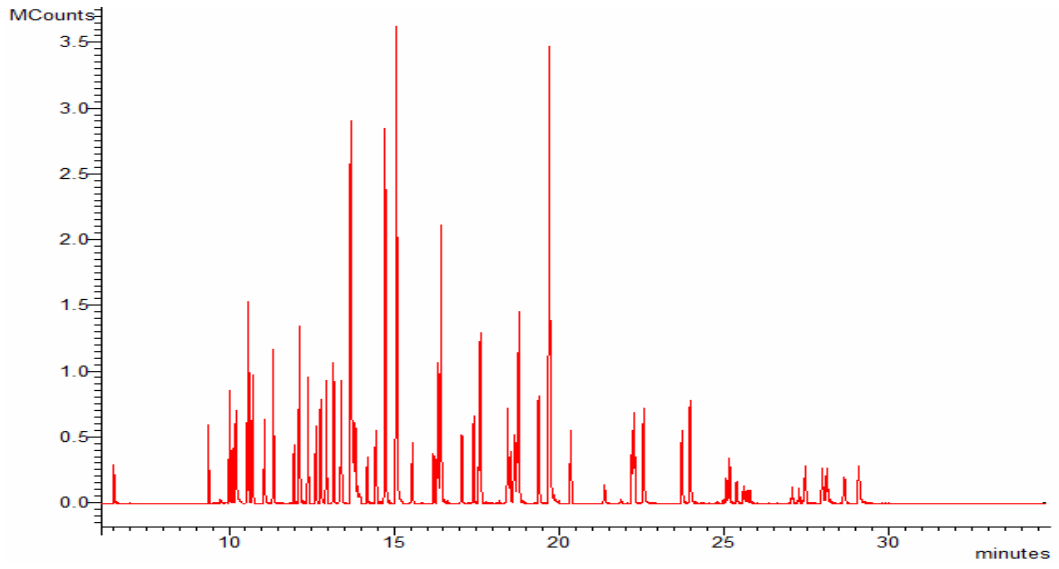
S	Analito	Quantificação			Confirmação		
		Q1	Q3	eV	Q1	Q3	eV
18	Miclobutanolil	179	125	10	179	90	25
18	Dieldrin	277	241	10	277	206	15
18	Cresoxim-metílico	206	116	10	206	130	18
18	2,4-DDD	235	165	20	235	199	20
19	Endrin	263	191	30	263	193	30
20	Endossulfan Beta	241	206	10	241	170	20
20	DDT I	235	165	20	235	199	20
21	Epoxiconazole I	192	138	15	192	111	25
21	Trifloxistrobina	222	190	5	222	162	10
21	Propiconazole I	259	69	10	259	173	15
21	Endossulfan sulfato	272	237	15	272	235	10
21	Propiconazole II	259	69	10	259	173	15
21	DDT II	235	165	20	235	199	20
22	Tebuconazole	250	125	15	250	163	10
22	Trifenilfosfato	325	169	18	325	226	18
23	Epoxiconazole II	192	138	15	192	111	25
24	Bifentrina	181	166	10	181	165	20
25	Tetradifona	229	201	15	229	199	15
26	Cialotrina lambda I	197	141	10	197	161	5
26	Cialotrina lambda II	197	141	10	197	161	5
26	Mirex	272	237	10	272	143	40
27	Pirazofós	221	193	10	221	198	20
27	Fenarimol	251	139	20	251	111	35
28	Permetrina I	165	91	10	165	127	5
28	Permetrina II	165	91	10	165	127	5
29	Ciflutrina I	164	127	5	164	91	15

S	Analito	Quantificação			Confirmação		
		Q1	Q3	eV	Q1	Q3	eV
29	Ciflutrina II	164	127	5	164	91	15
29	Cipermetrina I	164	127	5	164	91	15
29	Cipermetrina II	164	127	5	164	91	15
29	Cipermetrina III	164	127	5	164	91	15
29	Cipermetrina IV	164	127	5	164	91	15
30	Fenvalerato	225	197	5	225	147	10
30	Fluvalinato	250	55	15	250	200	20
30	Esfenvalerato	225	91	25	225	147	10
31	Difenoconazole	323	265	15	323	139	40
32	Deltametrina	253	174	10	253	172	5
33	Azoxistrobina	344	329	10	344	156	30

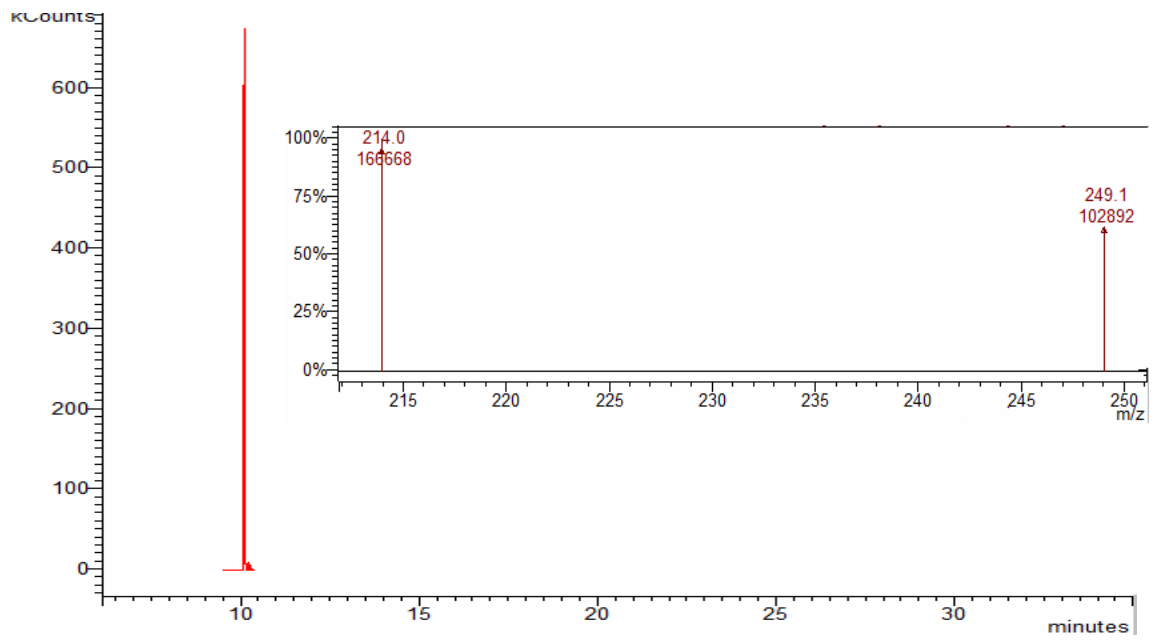
Onde: S = segmento; Q1= quadrupolo 1; Q3 = quadrupolo 2; ev = energia de colisão e ± = modo de ionização.

Na Figura 07 encontram-se demonstrados os cromatogramas da solução analítica preparada no extrato da matriz ($200 \mu\text{g L}^{-1}$) com as suas respectivas transições de quantificação utilizadas para os compostos: hexaclorobenzeno, tiametoxam e azoxistrobina.

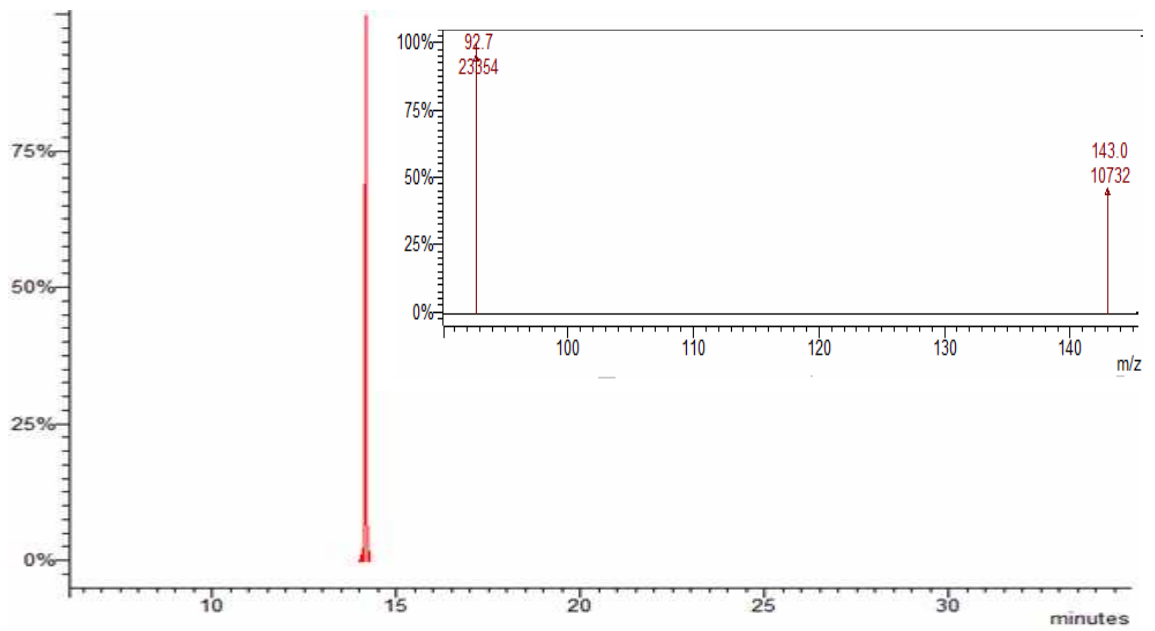
A)



B)



C)



D)

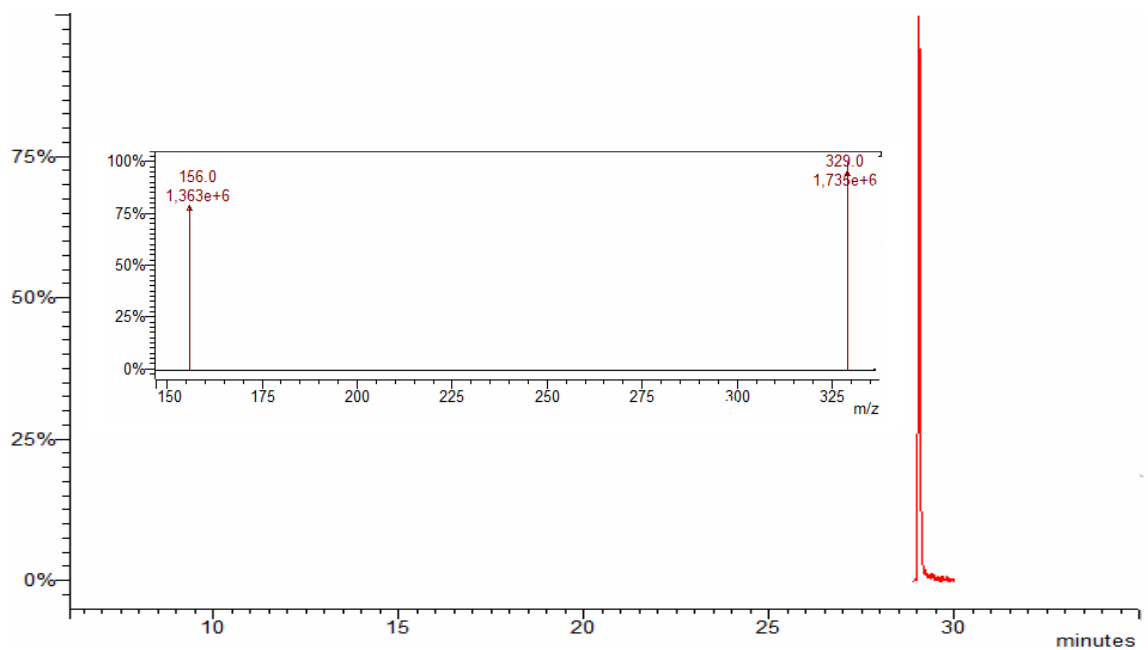


Figura 07: A- Cromatograma obtido por GC-(EI)-MS/MS para uma solução analítica ($200 \mu\text{g L}^{-1}$) preparada em extrato de água de lavoura de arroz irrigado e transições MRM da B-hexaclorobenzeno, C-tiametoxam e D- azoxistrobina com as respectivas transições de quantificação.

4.2 Seleção do padrão interno

O agrotóxico selecionado como padrão interno foi o quintozeno na concentração de 20 $\mu\text{g L}^{-1}$. Tetradifona e lindano foram avaliados para esta finalidade, porém, estudos mostram a contaminação de mananciais hídricos por estes compostos (WHO, 2002; EPA, 2011; Ávila, 1985; Barbera, 1988), fato que inviabilizou a sua utilização. Ressalta-se que tais compostos fizeram parte do escopo da validação.

No entanto, outros pesquisadores já utilizaram quintozeno como padrão interno em seus trabalhos (Rubio *et al.*, 2007; Rubio *et al.*, 2006). Além disso, o sinal obtido nas condições cromatográficas utilizadas foi satisfatório. Neste sentido, as áreas obtidas para o quintozeno foram utilizadas para o cálculo da recuperação das fortificações.

4.3 Otimização da etapa de extração com SPE

O processo de otimização do procedimento de SPE foi realizado no CG-ECD para nove (9) compostos, sendo eles: trifluralina, lindano, permetrina, paration metílico, bifentrina, trifloxistrobina, cipermetrina, deltametrina e azoxistrobina. As condições cromatográficas foram iguais às utilizadas para o GC-(EI)-MS/MS. Estudos de recuperação foram realizados para os 18 ensaios propostos, segundo descrito no item 3.10. Inicialmente, comprovou-se que a escolha do material adsorvente do cartucho de SPE não afetava de maneira expressiva os valores de recuperação. Entre os 3 tipos de cartuchos utilizados (NEXUS, Strata SDBL e C18) optou-se pela escolha do C18 pela abrangência de compostos que ele pode reter em sua estrutura e, conseqüentemente, aumentar o escopo de compostos analisados devido a semelhança de polaridade.

No que diz respeito aos solventes de condicionamento, metanol foi o escolhido já que as relações de sinal ruído foram mais baixas, além de ser um solvente mais comumente utilizado. Na avaliação dos solventes de eluição, considerou-se satisfatório o diclorometano e a mistura de solventes

(isooctano:acetona). A mistura de solventes foi utilizada devido à compatibilidade com os dois detectores (GC-ECD e GC-MS), uma vez que solventes clorados não podem ser utilizados no GC-ECD. Além disso, Lanças e Barrinonuevo (2001) afirmam que para uma melhor eluição de compostos clorados como cipermetrina, deltametria e outros, os melhores resultados são obtidos com uma mistura de solventes devido a suas características físico-químicas.

Por último, foi testado o volume de eluição necessário para a remoção dos analitos retidos na fase sólida, com a utilização de volumes de 1 e 2 mL. Observando-se os valores de recuperação, o volume de 2 mL possibilitou um maior número de compostos com recuperações dentro da faixa de 70-120%, conforme a tabela 11. Após a otimização dos tipos de solventes e do volume a ser utilizado, testou-se o tempo para a eluição dos compostos do cartucho. Primeiramente, fez-se este procedimento de forma contínua sob pressão de 100 mmHg.

Na sequência, efetuou-se a eluição da seguinte forma: percola-se uma pequena alíquota da mistura de solvente pelo cartucho e espera-se 1 minuto para percolar o restante do volume necessário, sempre com a pressão de 100 mmHg. Com a aplicação deste procedimento, percebeu-se um aumento nas recuperações de todos os compostos. Por fim, testou-se a eluição da mesma forma descrita anteriormente, mas desta vez com a eluição por gravidade. Observou-se novamente o aumento na recuperação de todos os analitos.

Com o cumprimento desta otimização, conclui-se que os analitos envolvidos no método necessitam de um tempo de interação de 1 minuto com o adsorvente do cartucho para que ocorra o equilíbrio entre a fase estacionária e o solvente de eluição e assim seja retirado da fase sólida. Os resultados das recuperações de alguns testes realizados estão organizados na tabela 12, ressalta-se que os testes de 1 a 5 não foram colodados por apresentarem valores de recuperações muito abaixo do desejado.

Tabela 11: Recuperações do nível $0,2 \mu\text{g L}^{-1}$ para o teste 18, descrito no item 3.10 e analisado por GC-ECD, realizado para a otimização do método de extração utilizado para água de lavoura de arroz irrigado, variando-se o volume de eluição.

Analito	Volume de 1 mL	Volume de 2 mL
Azoxistrobina	63,9	72,7
Bifentrina	41,3	61,4
Cipermetrina	51,4	80,3
Deltametrina	22,6	35,9
Hexaclorobenzeno	59,7	110,2
Lindano	63,2	85,4
Paration metílico	70,8	112,5
Permetrina	55,9	83,1
Trifloxistrobina	65,4	103,3
Trifluralina	71,3	103,8

Tabela 12: Recuperações do nível $0,2 \mu\text{g L}^{-1}$ para alguns dos testes descritos no item 3.10, realizados para a otimização do método de extração utilizado para água de lavoura de arroz irrigado.

Analito	Teste 06	Teste 07	Teste 08	Teste 09	Teste 10	Teste 12	Teste 13	Teste 14	Teste 15	Teste 16	Teste 17	Teste 18
Azoxistrobina	73,9	29,2	83,4	110,5	80,8	50,7	40,8	26,7	36,4	43,2	53,5	72,7
Bifentrina	17,0	12,0	7,8	6,8	10,3	13,3	4,7	10,0	1,6	13,0	20,5	61,4
Cipermetrina	64,2	88,6	56,1	75,5	59,7	50,3	52,5	52,0	50,5	49,5	56,5	80,3
Deltametrina	46,2	60,7	46,5	58,0	47,6	50,8	40,9	47,6	38,9	25,1	30,6	35,9
Hexaclorobenzeno	79,4	153,7	77,7	55,2	55,1	52,3	66,2	61,2	81,9	61,4	56,7	110,2
Lindano	78,7	710,9	21,0	20,0	24,2	16,4	19,6	20,8	143,9	12,6	37,5	85,4
Paration metílico	90,1	3157,2	96,0	146,6	104,0	67,1	77,6	65,7	141,5	67,8	112,8	112,5
Permetrina	17,7	57,6	19,9	51,1	27,3	16,0	17,8	20,6	16,0	16,6	21,5	83,1
Trifloxistrobina	144,2	128,1	168,5	79,1	102,1	48,5	92,1	43,0	57,6	51,7	138,4	103,3
Trifluralina	54,0	174,6	5,7	16,6	50,0	8,7	5,0	7,8	97,8	56,7	28,2	103,8

4.4 Método de extração otimizado

A partir dos testes previamente apresentados, obteve-se o procedimento de extração otimizado, o qual é utilizado para a validação do método e para a determinação da concentração residual dos agrotóxicos nas amostras de água de lavoura de arroz irrigado. O procedimento de extração otimizado envolve uma etapa de extração em fase sólida, utilizando um cartucho C18 de 500 mg, 6 mL metanol e 3 mL de água para o condicionamento do cartucho e 2 mL de uma mistura de isoctano:acetona (50:50), deixando-se um minuto o solvente em contato com o material adsorvente antes da eluição (Figura 08).

Para a etapa de validação do método utilizado neste trabalho, foram utilizadas amostras branco e realizadas fortificações em 5 níveis (0,08; 0,2; 0,4; 0,8 e 1,6 $\mu\text{g L}^{-1}$). As amostras de água de lavoura de arroz irrigado obtidas do experimento a campo foram extraídas utilizando o método descrito e logo após, os extratos foram injetados no sistema GC-(EI)-MS/MS.

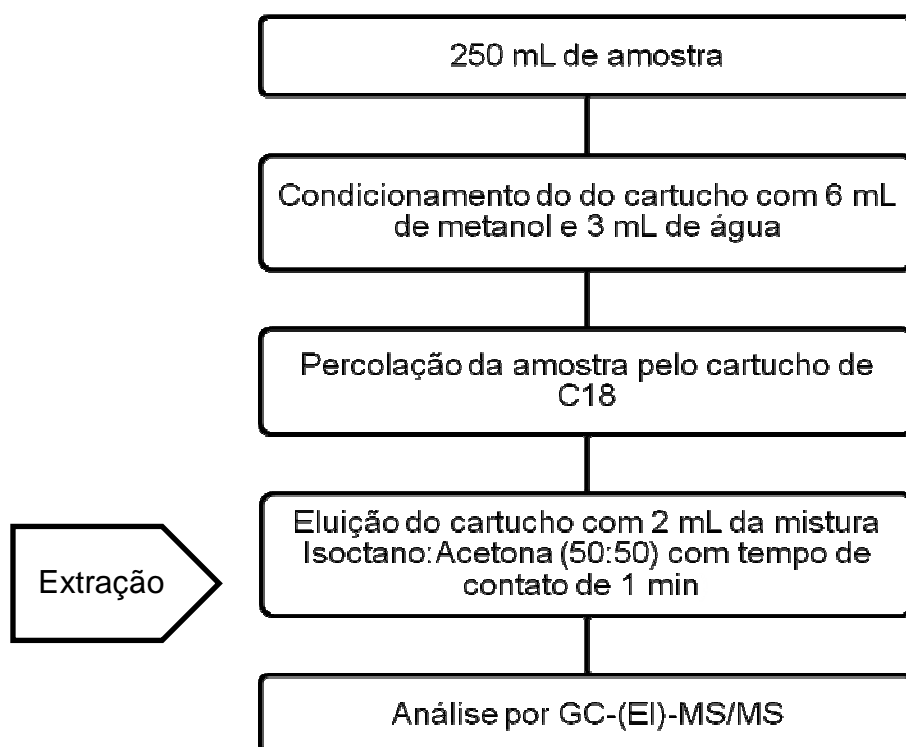


Figura 08: Representação esquemática do método de análise de resíduos de agrotóxicos em lavoura de arroz irrigado, utilizando o método de extração em fase sólida (SPE).

Todas as soluções analíticas empregadas neste estudo foram preparadas no extrato da matriz, sendo, dessa maneira, possível avaliar ou compensar o efeito da presença do extrato da matriz na determinação dos valores de LOD e LOQ (instrumento e método) e da linearidade das curvas analíticas (faixa linear, equação da curva e coeficiente de determinação). Também foram preparadas soluções no solvente (isooctano/acetona 50:50) para verificar o efeito matriz, visto que este pode influenciar os resultados, dependendo dos compostos analisados, da técnica cromatográfica e da matriz empregada.

A Figura 05 apresenta o cromatograma obtido por GC-(EI)-MS/MS de um extrato de água de lavoura de arroz irrigado “branco” onde não foi detectada a presença de qualquer pico nos tempos de retenção dos compostos em estudo. Sendo assim, foi possível sua utilização para o processo de validação do método SPE.

4.5 Validação do método de SPE e GC-(EI)-MS/MS para a determinação de agrotóxicos em água de lavoura de arroz irrigado

4.5.1 Curva analítica

As curvas analíticas para a determinação da linearidade foram construídas com três injeções sucessivas para a obtenção de de cada ponto, iniciando da menor para a maior concentração, onde se utilizou a média das áreas para a construção das curvas. A Tabela 13 apresenta as equações da curva analítica e coeficiente de determinação (r^2) dos agrotóxicos em estudo.

Analisando as equações das curvas analíticas, pode-se concluir que o modelo é linear e adequado para a maioria dos agrotóxicos em estudo, pois forneceram coeficientes de determinação (r^2) maiores que 0,99, o que demonstra que o método fornece resultados diretamente proporcionais à concentração do composto em estudo, dentro da faixa de aplicação.

Segundo INMETRO (2007), a curva analítica deve ter no mínimo cinco pontos (sendo excluído o ponto zero) e, por isso, neste estudo, foram utilizados seis pontos para a construção da curva analítica, sendo eles: 25, 50, 100, 200 e 250 e 1000 $\mu\text{g L}^{-1}$. O método foi considerado linear na faixa de 0,2 a 8 $\mu\text{g L}^{-1}$.

Tabela 13: Parâmetros relativos às curvas analíticas, obtidos para os agrotóxicos no extrato das águas de lavoura de arroz irrigado e analisados por GC-(EI)-MS/MS

Analito	Equação da curva	r^2
Trifluralina	$y = 0,0002x - 0,0015$	0,999
Triclorfom	$y = 0,0009x - 0,0058$	0,999
HCH, alfa	$y = 0,0027x - 0,0056$	0,999
Hexaclorobenzeno	$y = 0,0028x + 0,026$	0,999
Dimetoato	$y = 0,0003x + 0,003$	0,999
HCH, beta	$y = 0,0027x - 0,0458$	0,999
Lindano	$y = 0,0021x - 0,00190$	0,999
Diazinona	$y = 0,0025x - 0,0069$	1,000
Clorotalonil	$y = 0,00007x + 0,0029$	1,000
HCH, delta	$y = 0,0012x - 0,0146$	0,991
Clorpirifós metílico	$y = 0,0008x - 0,0034$	0,999
Paration metílico	$y = 0,0004x + 0,0002$	0,997
Alaclor	$y = 0,0037x - 0,0057$	0,999
Heptacloro	$y = 0,0022x - 0,0126$	0,992
Pirimifós metílico	$y = 0,0017x - 0,0079$	0,999
Fenitrotiona	$y = 0,0003x - 0,002$	0,999
Malationa	$y = 0,0007x - 0,0069$	0,999
Clorpirifós etílico	$y = 0,0015x - 0,0114$	0,997
Aldrin	$y = 0,0018x - 0,0147$	0,992
Paration etílico	$y = 0,0019x - 0,0186$	0,998
Dicofol	$y = 0,0374x - 0,2496$	0,999
Bromofós metílico	$y = 0,0004x - 0,0007$	0,999

Analito	Equação da curva	r ²
Fipronil	$y = 0,0009x - 0,0049$	0,999
Tiametoxam	$y = 0,0003x - 0,0005$	0,998
Hepacloro-epóxido	$y = 0,0025x - 0,0115$	0,999
Procimidona	$y = 0,0089x - 0,0443$	0,999
Metidationa	$y = 0,0006x - 0,0019$	0,996
Endossulfan Alfa	$y = 0,0011x - 0,0026$	0,999
4,4-DDE	$y = 0,0099x - 0,0552$	0,999
Miclobutanil	$y = 0,0169x - 0,0902$	1,000
Dieldrin	$y = 0,0002x - 0,0015$	0,999
Cresoxim-metílico	$y = 0,0051x - 0,0179$	0,999
2,4-DDD	$y = 0,0268x - 0,1691$	0,998
Endrin I	$y = 0,0015x - 0,0088$	0,999
Endossulfan Beta	$y = 0,0025x - 0,0061$	0,999
DDT I	$y = 0,0073x - 0,1317$	0,997
Epoxiconazole I	$y = 0,002x - 0,0559$	0,991
Trifloxistrobina	$y = 0,0031x - 0,0101$	0,999
Propiconazole I	$y = 0,0036x - 0,01272$	0,998
Endossulfan sulfato	$y = 0,0016x - 0,0165$	0,999
Propiconazole II	$y = 0,0043x - 0,0157$	0,996
DDT II	$y = 0,0099x - 0,1092$	0,999
Tebuconazole	$y = 0,0064x - 0,1083$	0,993
Trifenilfosfato	$y = 0,0004x + 0,0029$	0,996
Epoxiconazole II	$y = 0,0101x - 0,0548$	1,000
Bifentrina	$y = 0,0339x - 0,2184$	0,999
Tetradifona	$y = 0,0007x - 0,0017$	0,999
Cialotrina lambda	$y = 0,0027x - 0,0017$	0,998
Cialotrina lambda	$y = 0,0027x - 0,0019$	0,998
Mirex	$y = 0,0076x - 0,0342$	1,000
Pirazofós	$y = 0,0017x - 0,0112$	0,999

Analito	Equação da curva	r ²
Fenarimol	y= 0,003x - 0,0353	0,996
Permetrina I + II	y= 0,0099x - 0,0628	0,998
Ciflutrina-alfa	y= 0,001x + 0,0118	0,996
Cipermetrina I+II	y= 0,0002x + 0,0018	0,997
Cipermetrina III+IV	y= 0,0008x + 0,0134	0,999
Fenvalerato	y= 0,0005x + 0,004	0,997
Fluvalinato	y= 0,0004x + 0,0042	0,999
Esfenvalerato	y= 0,0005x + 0,0017	0,999
Difenoconazole	y= 0,003x - 0,0116	0,999
Deltametrina	y= 0,0004x - 0,0016	0,999
Azoxistrobina	y= 0,002x - 0,0096	0,999

A partir dos resultados das equações das curvas obtidas, pode-se concluir que a faixa linear utilizada é adequada, já que o r² foi maior que 0,99 para todos os compostos em estudo, o que é satisfatório segundo a resolução do Instituto Nacional de Metrologia (INMETRO, 2007).

4.5.2 Determinação dos valores de LOD e LOQ, do instrumento e do método.

Os valores obtidos para os limites de detecção e de quantificação do método e do instrumento para todos os agrotóxicos selecionados neste estudo estão demonstrados na Tabela 14. As soluções analíticas utilizadas para este fim foram preparadas no extrato da matriz.

Tabela 14: Valores de LOD e LOQ do instrumento e do método

LOD _i (µg L ⁻¹)	LOQ _i (µg L ⁻¹)	LOD _m (µg L ⁻¹)	LOQ _m (µg L ⁻¹)
7,5	25	0,06	0,2

Para a determinação dos valores de LOD e LOQ, foi injetada uma mistura dos compostos na concentração de 5, 10 e 25 $\mu\text{g L}^{-1}$. Analisaram-se os cromatogramas obtidos, das 3 soluções, e verificou-se qual delas obteve os sinais de todos os analitos igual a 3 vezes o ruído da linha de base (LOD = 3S/R) para o Limite de Determinação do instrumento. Da mesma forma, para o Limite de Quantificação do instrumento utilizou-se uma relação sinal-ruído superior a 10 (LOQ = 10S/R).

Dividindo-se o valor estimado de LOD_i pelo fator obtido para o método de extração (fator = 125), obteve-se a estimativa do LOD_m , em $\mu\text{g L}^{-1}$. Para determinação da estimativa do LOQ_m , considerou-se a menor concentração que, ao ser fortificada na matriz, apresentaria recuperações entre 70 e 120% , com RSD% menor ou igual a 20%, conforme a normativa do INMETRO (2007).

Convencionou-se que o LOQ do método é de 0,2 $\mu\text{g L}^{-1}$ para todos os agrotóxicos, pois é o primeiro nível de fortificação que apresentou recuperações entre 70 e 120%. Obtiveram-se oito compostos que apresentaram recuperações abaixo de 70%, sendo eles: clorotalonil, bromofós metílico, 4,4 DDE, 2,4 DDD, propiconazole II, bifentrina, mirex e deltametrina. No entanto, nenhum composto apresentou recuperação maior que 120%.

Comparando os valores encontrados para os agrotóxicos com a portaria 2914, de 14 de dezembro de 2011, do Ministério da Saúde para os agrotóxicos alaclor, aldrin, dieldrin, cloripirifós metílico, DDT, α endossulfan, β endossulfan, endrin, gama HCH, paration metílico, permetrina, tebuconazole e trifluralina, percebe-se que somente aldrin e dieldrin apresentaram LOQ_m maior que o valor tabelado pela legislação, que é de 0,03 $\mu\text{g L}^{-1}$. Já para os demais compostos, a legislação não possui valores máximos de resíduo para água potável.

4.5.3 Ensaio de fortificação para avaliação da exatidão e precisão (repetitividade e precisão intermediária)

As Tabelas 15 e 16 apresentam a precisão do método em termos de repetitividade (RSDr) e precisão intermediária (RSDpi) respectivamente,

levando em consideração os níveis de concentração utilizados na elaboração das curvas analíticas no extrato da matriz e os ensaios de fortificação. Para o estudo da precisão intermediária, o ensaio foi realizado empregando-se dias diferentes daqueles dos estudos da repetitividade.

As tabelas 15 e 16 também apresentam os valores de recuperação obtidos nas fortificações, em diferentes níveis de concentração, para os herbicidas, fungicidas e inseticidas em estudo, utilizando-se o procedimento descrito no item 4.4.

As recuperações para os agrotóxicos ficaram entre 70,2 e 102,6 %, para o nível $0,2 \mu\text{g L}^{-1}$, ou seja, o limite de quantificação do método, avaliando-se, desta maneira, a exatidão do método, o qual apresentou resultados satisfatórios.

De acordo com a Figura 09 que relaciona a porcentagem de agrotóxicos em cada nível de fortificação que está na faixa de 70 a 120%, pode-se concluir que a maioria dos compostos podem ser quantificados pelo método proposto neste trabalho. O nível de fortificação de $0,8 \mu\text{g L}^{-1}$ foi considerado o limitante do método uma vez que o nível acima deste apresentou poucos compostos com recuperação entre 70 e 120%.

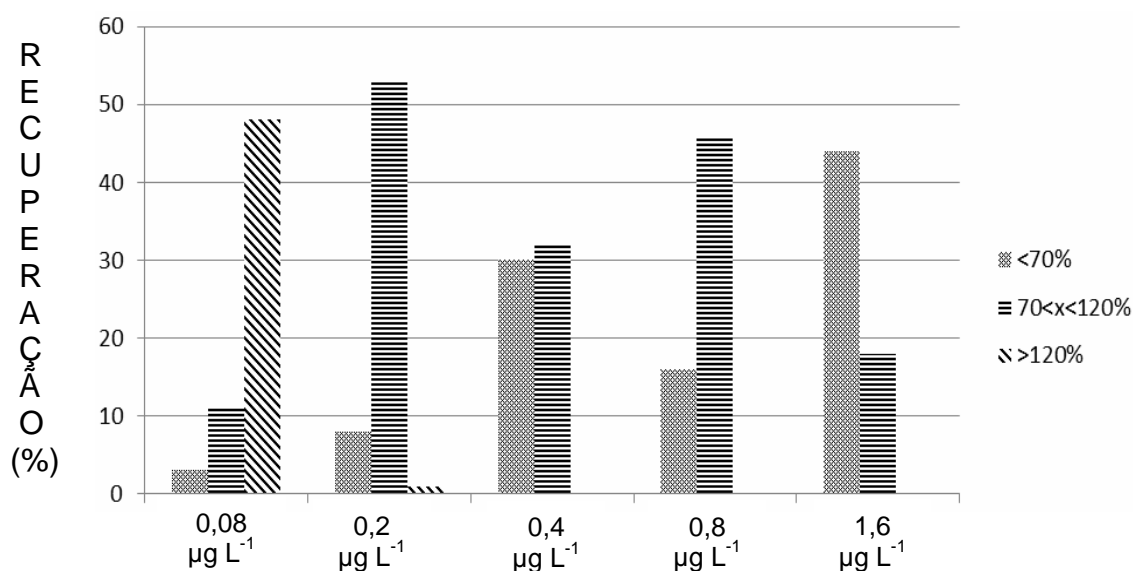


Figura 09: Gráfico que relaciona a porcentagem de agrotóxicos em cada nível de fortificação com as três faixas de recuperação.

Tabela 15: Resultados dos testes de recuperação em termos de percentuais de recuperação e RSD para a repetitividade do método

Composto	Recuperação no nível 0,08 $\mu\text{g L}^{-1}$	RSD no nível 0,08 $\mu\text{g L}^{-1}$	Recuperação no nível 0,2 $\mu\text{g L}^{-1}$	RSD no nível 0,2 $\mu\text{g L}^{-1}$	Recuperação no nível 0,4 $\mu\text{g L}^{-1}$	RSD no nível 0,4 $\mu\text{g L}^{-1}$	Recuperação no nível 0,8 $\mu\text{g L}^{-1}$	RSD no nível 0,8 $\mu\text{g L}^{-1}$	Recuperação no nível 1,6 $\mu\text{g L}^{-1}$	RSD no nível 1,6 $\mu\text{g L}^{-1}$
Triclorfom	45,9	6,8	80,1	9,1	86,0	9,9	74,5	8,3	68,1	9,4
Trifluralina	92,5	5,8	100,6	6,0	61,9	5,0	70	14,2	37,3	9,9
HCH alfa	161,4	5,4	84,6	3,6	71,9	4,8	88,8	6,5	66,6	3,0
Hexaclorobenzeno	195,3	7,8	101,9	7,0	73,9	4,7	74,3	5,3	65,8	7,8
Dimetoato	144,8	8,0	79,6	10,9	71,6	10,9	90	12,8	69,8	8,7
HCH beta	96,3	5,7	124,7	0,3	105,6	4,7	118	13,2	62,1	6,4
Lindano	140,6	7,2	83,3	10,1	82,1	0,5	83,5	6,6	74,9	7,1
Diazinona	174,7	6,0	98,4	8,1	87,1	7,9	74,4	12,2	67,6	7,5
Clortalonil	154,6	1,8	61,9	1,3	72,0	9,4	70	3,4	73,8	6,5
HCH delta	232,8	9,3	82,0	6,6	65,9	8,4	115	9,1	58,1	14,3
Clorpirifós metílico	111,4	5,3	86,2	8,5	70,2	6,8	74,5	7,2	63,2	4,7
Heptacloro	145,9	11,2	86,2	3,4	53,3	9,5	75,7	13,2	27,3	1,8
Alaclor	164,6	9,5	103,5	9,4	77,2	9,3	91,7	9,1	62,6	14,4
Paration metílico	189,5	12,0	100,1	12,3	75,2	11,6	91,9	6,2	74,0	2,8
Pirimifós metílico	243,7	10,7	75,7	5,7	66,8	3,2	76,1	4,0	48,4	8,3
Fenitrotona	240,4	13,1	92,3	14,8	73,6	12,6	72,5	10,3	65,0	10,1
Malation	240,3	5,5	81,6	3,4	75,7	6,0	81,4	9,4	70,9	7,4
Aldrin	128,2	11,0	79,2	2,5	68,8	2,1	68,1	8,5	55,2	9,6
Paration etílico	214,6	6,6	97,1	4,3	76,3	13,0	70,9	5,6	66,2	6,5
Dicofol	40,3	5,5	75,4	4,3	54,6	3,3	74,5	3,3	69,0	5,1
Bromofós metílico	168,2	12,2	57,6	5,3	60,3	3,6	79,08	9,9	55,8	7,3

Composto	Recuperação no nível 0,08 $\mu\text{g L}^{-1}$	RSD no nível 0,08 $\mu\text{g L}^{-1}$	Recuperação no nível 0,2 $\mu\text{g L}^{-1}$	RSD no nível 0,2 $\mu\text{g L}^{-1}$	Recuperação no nível 0,4 $\mu\text{g L}^{-1}$	RSD no nível 0,4 $\mu\text{g L}^{-1}$	Recuperação no nível 0,8 $\mu\text{g L}^{-1}$	RSD no nível 0,8 $\mu\text{g L}^{-1}$	Recuperação no nível 1,6 $\mu\text{g L}^{-1}$	RSD no nível 1,6 $\mu\text{g L}^{-1}$
Fipronil	230,0	5,6	80,5	3,6	70,0	6,6	95,2	5,1	74,6	4,3
Tiametoxam	186,1	12,4	73,9	5,5	94,7	4,2	88,7	10,8	77,1	8,3
Heptacloro epóxido	101,9	15,1	95,1	5,7	65,9	6,0	75,2	6,8	54,7	6,4
Procimidona	77,4	7,3	103,5	2,4	71,3	2,1	81,5	5,7	71,2	12,1
Metidationa	244,4	7,2	103,3	9,6	83,9	8,5	83,3	2,1	86,8	9,2
Alfa endossulfan	126,1	12,7	75,3	5,0	55,2	10,1	71,2	5,0	58,7	9,8
DDE 4,4	151,9	5,7	58,8	5,5	33,1	5,9	52,9	5,8	25,7	7,1
Miclobatonilil	73,5	2,7	104,6	8,6	103,2	5,2	88,3	5,0	102,9	8,9
Endrin I	150,9	3,4	104,5	4,8	79,4	3,8	70,2	4,3	39,5	6,8
Dieldrin	166,8	2,8	76,2	7,3	69,3	9,9	84,7	5,1	62,6	7,1
DDD 2,4	132,4	7,9	45,1	10,1	34,7	9,1	54,3	4,6	28,8	14,5
Cresoxim metílico	161,3	2,3	85,5	14,1	74,2	11,0	71,5	5,1	70,6	11,5
Endrin II	125,7	6,2	87,3	16,2	60,6	6,4	70,2	4,3	47,8	10,5
Beta endossulfan	93,2	6,0	73,0	6,9	51,6	12,1	70	6,4	48,6	12,3
DDT I	239,2	14,5	70,2	8,9	32,1	5,8	68,6	5,7	35,3	4,9
Trifloxistrobina	79,4	4,5	86,0	5,8	61,8	9,7	74	4,9	46,0	3,6
Epoxiconazole I	125,7	3,9	81,4	9,7	83,3	14,65	112	8,8	79,1	9,8
Propiconazole I	95,4	7,6	74,4	3,4	86,9	7,7	70,5	4,8	88,6	10,9
Endossulfan sulfato	239,9	13,0	74,5	7,4	72,7	10,1	80,3	7,7	56,0	4,2
Propiconazole II	71,2	10,9	49,8	6,4	58,1	6,4	73,4	3,0	98,0	11,1
DDT II	217,4	6,9	110,7	7,9	82,6	5,6	74,4	10,7	70,6	7,7
Tebuconazole	97,9	15,6	88,1	12,9	72,5	6,1	94,6	4,6	90,5	15,7
Trifenilfosfato	192,7	8,0	95,1	3,9	72,9	7,8	75,2	6,9	50,8	2,2
Epoxiconazole II	64,2	4,7	104,3	13,8	87,4	5,0	81,7	4,6	71,5	8,3

Composto	Recuperação no nível 0,08 $\mu\text{g L}^{-1}$	RSD no nível 0,08 $\mu\text{g L}^{-1}$	Recuperação no nível 0,2 $\mu\text{g L}^{-1}$	RSD no nível 0,2 $\mu\text{g L}^{-1}$	Recuperação no nível 0,4 $\mu\text{g L}^{-1}$	RSD no nível 0,4 $\mu\text{g L}^{-1}$	Recuperação no nível 0,8 $\mu\text{g L}^{-1}$	RSD no nível 0,8 $\mu\text{g L}^{-1}$	Recuperação no nível 1,6 $\mu\text{g L}^{-1}$	RSD no nível 1,6 $\mu\text{g L}^{-1}$
Bifentrina	154,7	9,5	65,1	5,7	39,2	2,0	42,7	6,9	27,0	2,5
Tetradifona	235,4	7,8	84,7	5,2	55,4	10,2	56,1	9,5	52,9	4,9
Cialotrina Lambda I	207,6	7,3	79,1	7,9	41,7	2,6	33,6	6,3	38,8	5,4
Cialotrina Lambda II	207,6	7,3	82,2	15,2	50,6	1,6	53,2	4,7	20,6	4,9
Mirex	176,5	6,1	44,6	7,8	34,2	8,4	55,1	5,6	25,4	5,4
Pirazofós	173,6	9,1	99,8	8,1	85,4	5,5	80,4	2,9	79,3	2,1
Fenarimol	122,2	9,4	90,0	10,4	80,5	8,5	81,9	5,1	78,7	12,1
Permetrina I+II	144,7	12,6	75,5	9,6	38,4	9,3	35,5	6,0	21,6	7,1
Cipermetrina I+II	237,5	11,4	102,6	3,1	83,5	7,5	45,1	2,8	28,1	8,0
Ciflutrina I+II	133,4	6,1	92,7	8,3	48,9	4,8	33,5	4,2	29,1	6,2
Cipermetrina III+IV	224,9	13,5	94,2	7,3	53,6	9,5	24,7	7,8	22,4	9,9
Fenvalerato	152,3	9,8	91,1	5,6	50,0	3,7	38,6	9,2	33,6	11,8
Fluvalinato	181,0	1,6	98,4	7,6	58,7	6,3	44,5	5,1	39,7	2,6
Esfenvalerato	195,6	13,3	92,2	7,7	50,2	9,9	70,8	8,4	19,8	3,7
Difenoconazole	141,1	13,8	92,1	1,0	69,7	11,0	74,2	4,3	28,8	6,9
Deltametrina	220,8	8,2	20,3	9,4	32,8	3,0	55,4	5,8	21,6	7,1
Azoxistrobina	163,5	11,0	81,0	4,9	79,3	15,7	72,2	4,5	68,8	3,4

Tabela 16: Percentuais de recuperação e RSD para a precisão intermediária do método

Composto	Recuperação no nível 0,4 µg L ⁻¹	RSD no nível 0,4 µg L ⁻¹
Triclorfom	76,0	11,5
Trifluralina	71,2	9,3
HCH alfa	81,9	10,5
Hexaclorobenzeno	81,9	7,1
Dimetoato	70,3	15,6
HCH beta	95,5	8,4
Lindano	87,6	5,6
Diazinona	90,8	12,7
Clorotalonil	79,5	10,8
HCH delta	69,3	13,5
Clorpirifós metílico	72,6	9,4
Heptacloro	60,1	11,8
Alaclor	79,7	9,3
Paration metílico	78,6	15,4
Pirimifós metílico	70,3	5,8
Fenitrotona	78,9	15,9
Malation	70,7	10,3
Aldrin	74,6	7,4
Paration etílico	80,3	15,9
Dicofol	66,7	9,3
Bromofós metílico	68,2	4,1
Fipronil	73,1	8,3
Tiametoxam	97,6	4,2
Heptacloro epóxido	72,7	14,4
Procimidona	76,8	5,7
Metidationa	88,4	9,3
Alfa endossulfan	60,5	11,9
DDE 4,4	40,1	7,6
Miclobatonilil	105,7	6,3
Endrin I	83,1	8,7
Dieldrin	70,2	11,6
DDD 2,4	44,5	12,2
Cresoxim metílico	76,3	12,7
Endrin II	68,1	8,4
Beta endossulfan	59,7	13,1
DDT I	40,5	6,7
Trifloxistrobina	63,6	9,3
Epoxiconazole I	85,8	16,4
Propiconazole I	81,5	3,2
Endossulfan sulfato	71,6	14,1
Propiconazole II	63,5	7,6

Composto	Recuperação no nível 0,4 µg L ⁻¹	RSD no nível 0,4 µg L ⁻¹
DDT II	81,3	7,4
Tebuconazole	71,8	7,3
Trifenilfosfato	71,9	8,7
Epoxiconazole II	83,1	7,8
Bifentrina	43,9	5,6
Tetradifona	60,1	13,8
Cialotrina Lambda I	45,7	6,8
Cialotrina Lambda II	56,2	3,1
Mirex	40,7	6,2
Pirazofós	83,9	7,3
Fenarimol	78,8	9,8
Permetrina I+II	40,3	10,4
Cipermetrina I+II	85,3	7,9
Ciflutrina	50,6	5,9
Cipermetrina III+IV	56,7	11,9
Fenvalerato	59,6	5,2
Fluvalinato	53,1	7,3
Esfenvalerato	52,5	10,4
Difenoconazole	70,3	11,5
Deltametrina	40,5	7,3
Azoxistrobina	83,8	16,4

Por meio da análise dos dados apresentados na Tabela 15, pode-se observar uma diminuição dos valores de recuperação dos compostos analisados com relação ao aumento da concentração de analitos presentes na amostra fortificada. Este fato possivelmente ocorreu devido ao aumento da saturação dos sítios ativos do cartucho pelo aumento da massa dos analitos presentes na amostra fortificada, o que ocasiona uma diminuição no número de equilíbrios que ocorre entre o analito e a fase sólida. Para a comprovação desta hipótese, adicionou-se a mesma quantidade de analito a volumes diferentes de “amostra branco”. O gráfico obtido pela média das recuperações em função do volume de amostra fortificado com a mesma quantidade de analito (ou seja, todas as soluções após eluidas apresentaram a mesma concentração, no caso 1,6 µg L⁻¹) encontra-se na Figura 10. Constata-se a diminuição significativa da média das recuperações do analito.

O cromatograma da Figura 11 exemplifica uma amostra fortificada no nível de $0,4 \mu\text{g L}^{-1}$.

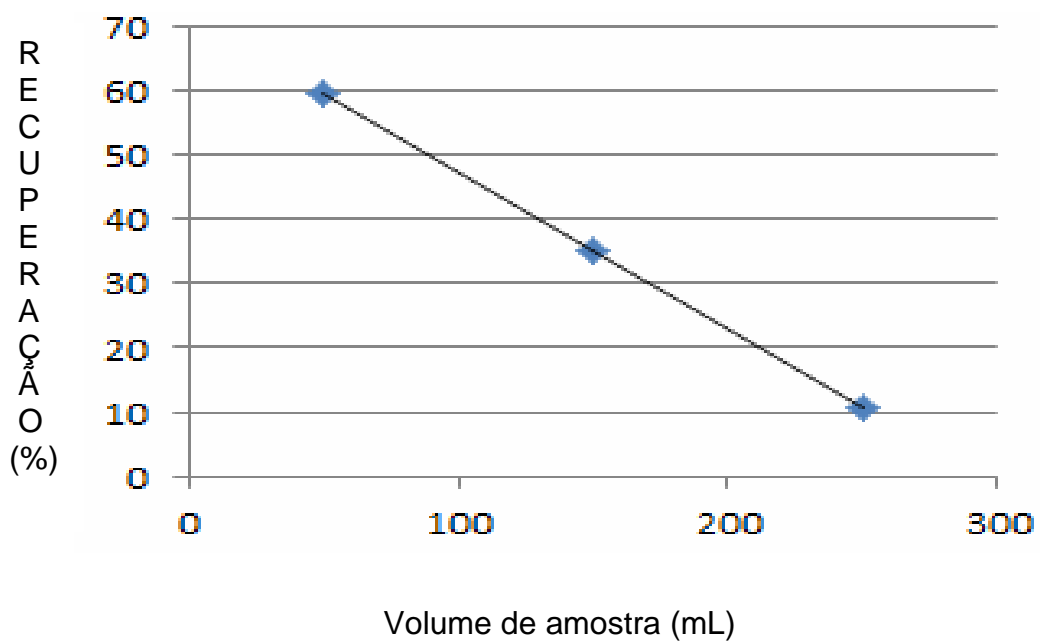


Figura 10: Gráfico obtido pela média das recuperações para o nível de fortificação $1,6 \mu\text{g L}^{-1}$ em função do volume de amostra fortificado com a mesma quantidade de analito.

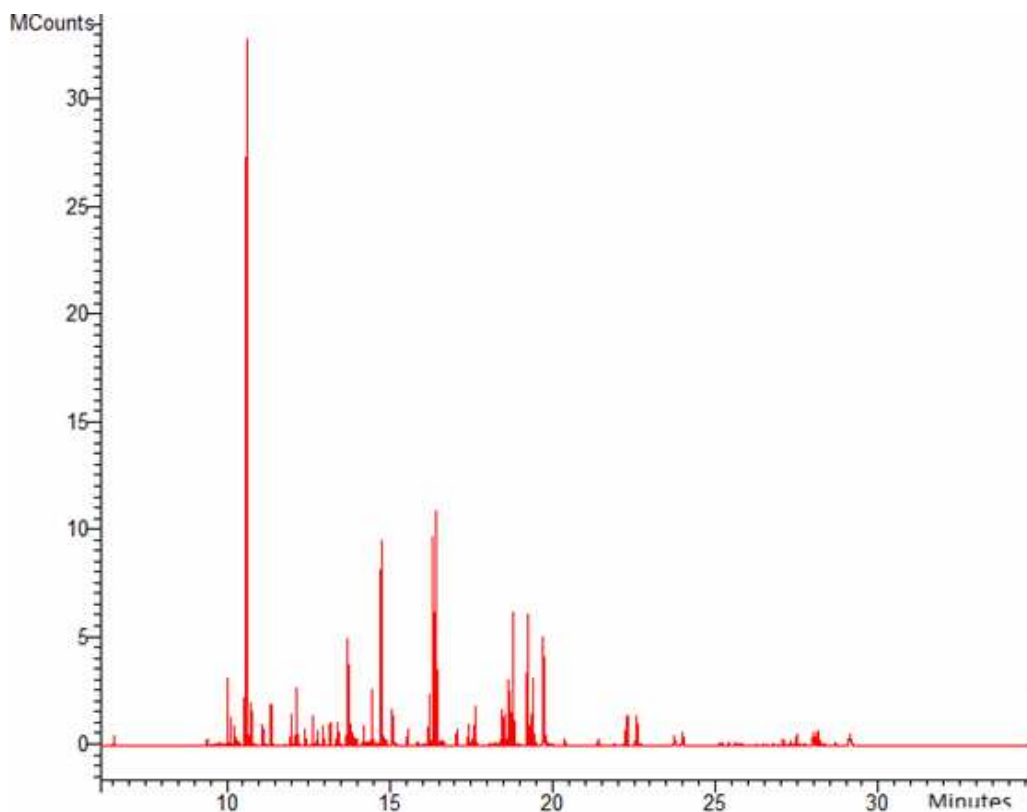


Figura 11: Cromatograma obtido por GC-(EI)-MS/MS de uma amostra fortificada com a mistura dos agrotóxicos no nível de $0,4 \mu\text{g L}^{-1}$, obtido nas condições cromatográficas citadas no item 4.1.

4.6 Aplicação do método

O método desenvolvido foi aplicado à análise de água de lavoura de arroz irrigado do experimento conduzido na várzea experimental do Campus da Universidade Federal de Santa Maria na safra de 2010/2011. Neste experimento, foi avaliada a estabilidade dos agrotóxicos em água de lavoura de arroz irrigado, coletada em diferentes dias após a aplicação dos mesmos.

As amostras foram preparadas conforme o método validado (item 4.5) e alguns dos resultados obtidos estão demonstrados na Tabela 17, para a safra 2010/2011. Das quinze (15) amostras analisadas do tratamento correspondente ao canteiro T13, somente uma não apresentou resíduos de agrotóxicos, sendo que nas demais foram

encontrados os compostos fipronil, tiametoxam, trifloxistrobina, epoxiconazole I e II, tebuconazole e azoxistrobina. Dos compostos encontrados, as concentrações de trifloxistrobina, tebuconazole e azoxistrobina, tiametoxam e epoxiconazole já eram esperadas uma vez que nestes canteiros foram aplicados esses princípios ativos. Já para fipronil, os resíduos encontrados são, possivelmente, oriundos de outras safras onde foi utilizado tal composto. Pode-se concluir também, que a concentração do composto tebuconazole foi elevada devido ao elevado valor de log Kow alto e conseqüentemente, uma maior afinidade pela água, que refletiu em maiores valores de concentrações nas amostras analisadas.

Tabela 17: Concentrações residuais dos agrotóxicos em $\mu\text{g L}^{-1}$ em água de lavoura de arroz irrigado para o tratamento T13.

Amostra	Concentração ($\mu\text{g L}^{-1}$)						
	Fipronil	Tiametoxan	Trifloxistrobina	Epoxiconazole I	Tebuconazole	Epoxiconazole II	Azoxistrobina
1	-	-	-	-	4,78	-	-
2	-	-	-	-	3,66	-	-
3	-	-	-	0,23	1,05	2,64	0,23
4	-	-	-	0,42	1,05	0,95	0,47
5	0,24	0,21	-	-	0,44	-	0,21
6	-	-	-	-	0,50	-	0,22
7	-	-	-	0,25	0,81	0,78	0,35
8	-	-	-	-	0,46	-	-
9	-	-	-	-	0,50	-	0,20
10	-	-	-	-	0,29	-	-
11	-	-	-	-	0,24	-	-
12	-	-	-	-	-	-	-
13	-	-	-	-	0,52	-	-
14	-	-	-	-	0,55	-	-
15	-	-	-	-	2,95	-	-

5. CONCLUSÕES

Este trabalho apresentou o desenvolvimento e validação de uma metodologia para auxiliar no estudo da concentração dos agrotóxicos em água de lavoura de arroz irrigado. O método analítico empregando SPE e GC-(EI)-MS/MS se mostrou eficiente na determinação de 32 agrotóxicos mais utilizados nesta cultura.

Deve-se considerar que o método de extração em fase sólida (SPE) é um dos principais métodos para preparo de amostras para análise de compostos orgânicos em água, apresentando boas recuperações, extração rápida, menor consumo de reagentes e boa seletividade. Neste estudo, a SPE com cartucho de 3 mL contendo 500 mg do adsorvente C18, 250 mL de amostra e eluição dos analitos com uma mistura de isoctano:acetona mostrou-se adequada.

As concentrações determinadas ficaram na faixa de $\mu\text{g L}^{-1}$ e só foram possíveis de serem determinadas devido à elevada detectabilidade e seletividade obtida através da utilização da espectrometria de massas.

As figuras de mérito verificadas para o procedimento proposto aumentaram a confiabilidade dos resultados. Uma boa linearidade das curvas analíticas foi obtida e o coeficiente de determinação para todas as curvas foi maior que 0,99 na faixa entre 0,2 a $8 \mu\text{g L}^{-1}$. As recuperações ficaram entre 70 e 120% para 32 dos compostos estudados e os valores de precisão obtidos ficaram dentro dos limites aceitáveis ($\text{RSD} < 20\%$). Dessa forma, esse procedimento poderá servir como base para o monitoramento destes analitos.

Nas amostras avaliadas, somente fipronil, tiametoxam, trifloxistrobina, epoxiconazole I e II, tebuconazole e azoxistrobina apresentaram concentrações maiores que o limite de quantificação do método, sendo que o composto tebuconazole apresentou as maiores concentrações residuais mas, ainda assim, abaixo do estabelecido na legislação vigente.

Por meio da comparação dos valores obtidos neste estudo com os valores estabelecidos na legislação brasileira e europeia, pode-se constatar que no Brasil os limites de resíduos de agrotóxicos em água potável são maiores o que nos demais países, o que demonstra uma menor preocupação

com o meio ambiente e a saúde da população, visto que nestes países existem mais estudos de monitoramento do impacto dos agrotóxicos sobre os seres vivos. O estudo aqui apresentado pode servir como referencial para a criação de uma legislação mais significativa no que concerne a limites de resíduos destes analitos em água potável como também, para implantação de projetos de monitoramento de bacias hidrográficas, pois, estas têm papel essencial para a manutenção da saúde humana e a proteção da fauna e flora do planeta.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICA

Agrolink. **Zoneamento Agrícola do arroz**. 2011. Disponível em <<http://www.agrolink.com.br/culturas/arroz/zoneamento.aspx>> Acesso em 05 out. 2011.

Alexiou, A. D. P. *et al.* **Química Forense: Sob os Olhares Eletrônicos**. Ed. Millennium, Campinas, 2006.

Almeida, C., *et al.*, Novas Perspectivas na Preparação de Amostras para Análise Cromatográfica, **Química**, v. 95, p. 69-77, 2004.

ANVISA (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA). Resolução - RE nº 899, de 29 de maio de 2003. Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 02 de junho de 2003. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/legis/resol/2003/re/899_03re.htm>. Acesso em: 23 nov. 2011.

Avila, J. S. *et al.*, Development of a multi-residue method for the determination of organic micropollutants in water, sediment and mussels using gas chromatography–tandem mass spectrometry **Journal of Chromatography A**, v. 1218, p. 6799-6811, 2011.

Avila, V. L. *et al.*, Determination of atrazine, lindane, pentachlorophenol, and diazinon in water and soil by isotope dilution gas chromatography/mass spectrometry. **Analytical Chemistry**, v.57, p.2797-2801, 1985.

Barbera, J. C. *et al.*, Gas chromatographic determination of organochlorine pesticides; contamination of dicofol, fenoxon, and tetradifon in fish and natural waters of a wet area beside the Mediterranean sea. **Boletim de Contaminação Ambiental e Toxicologia**, v. 36, p. 211-218, 1988.

Blanco, M. C. L. *et al.*, Optimization of solid-phase extraction and solid-phase microextraction for the determination of α - and β -endosulfan in water by gas chromatography–electron-capture detection. **Journal of Chromatography A**, v. 976, p. 293-299, 2002.

Brito, N. M. *et al.* Avaliação da exatidão e da precisão de métodos de análise de resíduos de pesticidas mediante ensaios de recuperação. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 12, p. 155-168, 2002.

Brito, N. M. *et al.* Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 13, p. 129-146, 2003.

Caderno da Região Hidrográfica do Uruguai / Ministério do Meio Ambiente (MMA), Secretaria de Recursos Hídricos. – Brasília: MMA, 2006. Disponível em:

<<http://www.mma.gov.br/sitio/index.php?ido=publicacao.publicacoesPorSecretaria&idEstrutura=161&pag=2&>> Acesso em: 20 abr. 2011.

Caldas, S. S. *et al.*, Pesticide residue determination in groundwater using solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography with diode array detector and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. **Journal Brazilian Chemical Society**, v. 21, p. 642-650, 2010.

Cappelini, L. T. S. **Análise dos pesticidas ametrina, atrazina, diuron e fipronil em amostras de água do Ribeirão do Feijão – São Carlos – SP.** 2008. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade de São Carlos, São Carlos, 2008.

Cerdeira, A. L. *et al.* Metodologia analítica de resíduos do herbicida 2,4-D (ácido 2,4 diclorofenoxiacético) em amostras de água em área de cultivo de cana-de-açúcar. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 12, p. 99-110, 2002.

Chiaradia *et al.*, 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.

Codex Alimentarius, Guide to Codex Maximum Residue Limits of Pesticides and Extraneous Maximum Residue Limits adopted by the Codex Alimentarius Commission 22nd Session. **Food and Agriculture of the United Nations**. 2000.

Colina, C. *et al.*, Use of a solid phase extraction method for the analysis of pesticides in groundwater by gas chromatography with electron capture and flame photometric detectors. **Analyst**, v. 120, p. 1723-1728, 1995.

Colpo, K. D. *et al.*, Macroinvertebrados bentônicos como indicadores do impacto ambiental promovido pelos efluentes de áreas orizícolas e pelos de origem urbana/industrial. **Ciência Rural**, v.39, p.2087-2092, 2009.

CONAMA, Conselho Nacional de Meio Ambiente. **Resolução CONAMA n.357** de 17 de março de 2005. Brasília: Diário Oficial da República Federativa do Brasil, 2005.

Copatti, C. E. *et al.*, Uma importante revisão sobre o impacto de agroquímicos da cultura de arroz em peixes. **Biota Neotropica**, vol. 9, p. 235-242, 2009.

COUNCIL DIRECTIVE. **Relating to the quality of water intended for human consumption.** European Communities, 1980. Disponível em: <<http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/site/en/consleg/1980/L/01980L077819950101-en.pdf>>. Acesso em: 23 set. 2011.

Cuadros-Rodríguez, L. *et al.*, Calibration in chemical measurement processes. II. A methodological approach. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 20, p. 620-636, 2001.

Demolimer, A. *et al.*, Development and validation of a method using SPE and LC-ESI-MS-MS for the determination of multiple classes of pesticides and metabolites in water samples. **Journal Brazilian Chemical Society**, v.21, p. 1424-1433, 2010.

EMBRAPA. Importância Econômica, Agrícola e Alimentar do Arroz. In: **Cultivo de Arroz Irrigado no Brasil**. Santo Antônio de Goiás. 2005. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Arroz/ArrozIrrigadoBrasil/cap01.htm>> Acesso em: 12 out. 2011.

EPA. **Information about Lindane in Drinking Water**. 2011. Disponível em: <<http://water.epa.gov/drink/contaminants/basicinformation/lindane.cfm>>. Acesso em: 23 out. 2011.

Faria, L. j. S; **Avaliação de diferentes sorventes na extração de pesticidas em água. Desenvolvimento e validação de metodologia**. 2009. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

Ferrer, I; Thurman, E. M. Multi-residue method for the analysis of 101 pesticides and their degradates in food and water samples by liquid chromatography/time-of-flight mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1175, p. 24-37, 2007.

Grossi, P. **Desenvolvimento e aplicação de técnicas miniaturizadas de preparo de amostras para análises ambientais via GC-MS**. 2009. Tese (Doutorado Ciências) – Universidade de São Paulo, São Carlos, 2009.

Harris, D. C. **Análise Química Quantitativa**. Ed. LTC, 5ª ed., Rio de Janeiro, 2003.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística), 2010. Disponível em: <<http://www.ibge.gov.br/home/geociencias/recursosnaturais/ids/ids2010.pdf>> Acesso em: 19 set. de 2011.

INMETRO (INSTITUTO NACIONAL DE METROLOGIA, NORMALIZAÇÃO E QUALIDADE INDUSTRIAL) **DOQ-CGCRE-008**, Revisão 02 - Junho/2007: Orientação sobre validação de métodos de ensaios químicos, 2007.

Jardim, I. C. S. *et al.*, Resíduos de agrotóxicos em alimentos: uma preocupação ambiental global - Um enfoque às maçãs. **Química Nova**, v.32, p. 996-1012, 2009.

Krull, I.; Swartz, M. Quantitation in Method Validation. **LC – GC**, v. 16, p. 1084-1090, 1998.

Lanças, F, M. e Barrinonuevo, W. R. Extração em fase sólida (SPE) e micro extração em fase sólida (SPME) de piretróides em água. **Química Nova**, v.24, p.172-175, 2001.

Lanças, F. M. **Extração em Fase Sólida (SPE)**. São Carlos, Ed. RiMa, 2004.

Leite, F. **Validação em Análise Química**. Ed. Átomo, Campinas, 2008.

Mansilha, C. *et al.*, Quantification of endocrine disruptors and pesticides in water by gas chromatography–tandem mass spectrometry. Method validation using weighted linear regression schemes. **Journal of Chromatography A**, v. 1217, p. 6681-6691, 2010.

Marchezan, E. *et al.*, Resíduos de agrotóxicos na água de rios da Depressão Central do Estado do Rio Grande do Sul. Brasil. **Ciência Rural**, v.40, p. 1053-159, 2010.

Maroneze, A. M. **Validação de procedimento analítico empregando SPE e GC-ECD para determinação de pesticidas organoclorados em água visando à avaliação da permeabilidade destes nos dialisadores utilizados em hemodiálise**. 2004. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2004.

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**. 2004. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2004.

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

Ministério da Saúde - Brasil. **Portaria nº 2914, de 14 de dezembro de 2011**. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade, e dá outras providências. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF, 14 dezembro 2011.

Ministério da Saúde – Brasil. **Portaria nº 518 de 25 de março de 2004**. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativas ao controle e vigilância da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade e da procedência, 2004. Disponível em: <http://portalweb05.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/portaria_518_2004.pdf> . Acesso em 15 nov. 2011.

Neto, A. J. dos S. *et al.*, Analysis of organophosphorus pesticides in water using SPE C18 disks and gas chromatography: evaluation of Furnas dam contamination. **Química Nova**, v.28, p. 747-750, 2005.

Nogueira, J. M. F. *et al.*, Multiresidue screening of neutral pesticides in water samples by high performance liquid chromatography–electrospray mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 505, p. 209-215, 2003.

Noldin, J.A. *et al.*, Persistência do herbicida clomazone no solo e na água quando aplicado na cultura do arroz irrigado, sistema pré-germinado. **Planta Daninha**, v.19, p.401-408, 2001.

Ollers, S. *et al.*, Simultaneous quantification of neutral and acidic pharmaceuticals and pesticides at the low – ng L⁻¹ level in surface and waste water **Journal of Chromatography A**, v. 911, p. 225-234, 2001.

Oliveira, W. E. *et al.*, **Técnicas de abastecimento e tratamento de água**, 2 ed. São Paulo; CETESB, v. 1, 1978.

Orso, D. **Determinação resíduo de agrotóxicos em mel empregando método QuEChERS modificado e GC-ECD**. 2011. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2011.

Peixoto, S. C. **Estudo da estabilidade a campo dos pesticidas Carbofurano e Quincloraque em água de lavoura de arroz irrigado empregando SPE e HPLC-DAD**. 2007. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

Peixoto, S. C. **Validação e aplicação de método empregando QuEChERS modificado e GC-ECD para determinação de resíduos de pesticidas em grão e casca de arroz**. 2010. Tese (Doutorado em Química) - Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2010.

Peres, F., Saúde, trabalho e ambiente no meio rural brasileiro. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 14, p.1995-2004, 2009.

Pes, J. H. F., **O MERCOSUL e as águas: a harmonização via MERCOSUL das normas de proteção às águas transfronteiriças do Brasil e Argentina**. Ed. UFSM, 1 Ed., 2005.

Pesticide Manual, British Crop Protection Council – CD S Tomlin, 12 ed, 2000-2001.

Pinxteren, M. van *et al.*, High performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry for the analysis of 10 pesticides in water: A comparison between membrane-assisted solvent extraction and solid phase extraction. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, p. 5800-5806, 2009.

Prestes, O. **Desenvolvimento e validação de método multirresíduo para determinação de pesticidas em arroz polido utilizando método QuEChERS modificado, *clean-up* dispersivo e GC-MS (NCI-SIM)**. 2007. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2007.

Queiroz, S. C. N. *et al.*, métodos de extração e/ou concentração de compostos encontrados em fluidos biológicos para posterior determinação cromatográfica. **Química Nova**, v. 24, p. 68-76, 2001.

Quintana, J. *et al.* Monitoring of pesticides in drinking and related waters in NE Spain with a multiresidue SPE-GC-MS method including an estimation of the uncertainty of the analytical results **Journal of Chromatography A**, v. 938, p. 3-13, 2001.

Ribani, M. *et al.* Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos. **Química Nova**, v. 27, p. 771-780, 2004.

Ribeiro, F. A. de L., Ferreira, M. M. C., 2008. Planilha De Validação: Uma nova Ferramenta para Estimar Figuras de Mérito na Validação de Métodos Analíticos Univariados. **Química Nova**, v. 31, p. 164-171, 2008.

Ribeiro, M. L. *et al.*, **Contaminação de águas subterrâneas por pesticidas: avaliação preliminar**. *Química Nova*, v.30, n.3, p 688-694, 2007.

Rocha J. C. *et al.*, **Introdução à Química Ambiental**. Ed. Bookman, 2 ed. Porto Alegre, 2009.

Rodrigues, A. M. *et al.*, Determination of several pesticides in water by solid-phase extraction, liquid chromatography and electrospray tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1150, p. 267-278, 2007.

Rubio, M. G. *et al.*, Determination of pesticides in olives by gas chromatography using different detection systems. **Journal of Chromatography A**, v. 1145, p. 194-203, 2006.

Rubio, M. G. *et al.*, Multiresidue analysis of three groups of pesticides in washing waters from olive processing by solid-phase extraction-gas chromatography with electron capture and thermionic specific detection. **Microquímicos**, v. 85, p. 257-264, 2007.

Sabik, H; Jeannot, R. Stability of organophosphorus insecticides on graphitized carbon black extraction cartridges used for large volumes of surface water. **Journal of Chromatography A**, v. 867, p. 73-82, 2000.

Silva, A. de P. e Alves, M. C. C. Como iniciar a validação de métodos analíticos **ENQUALAB-2006 - Congresso e Feira da Qualidade em Metrologia Rede Metrológica do Estado de São Paulo – REMESP 30 de maio a 01 de junho de 2006, São Paulo, 2006.**

Teló, G. M., Qualidade de grãos de arroz irrigado colhidos com diferentes graus de umidade em função da aplicação de fungicida. **Ciência Rural**, v. 41, p. 960-966, 2011.

Valderrama, P; Braga, J. W. B; Poppi, R. J.Estado da arte de figuras de mérito em calibração multivariada. **Química Nova**, v. 32, p. 1278-1287, 2009.

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

Vicari, M. C. de, **Determinação de bispiribaque-sódico, quincloraque e tebuconazole em água de lavoura de arroz irrigado empregando SPE e HPLC-DAD.** 2009. Dissertação (Mestrado em Química) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009.

Vidal, J. L. M. *et al.*, Pesticide trace analysis using solid-phase extraction and gas chromatography with electron-capture and tandem mass spectrometric detection in water samples. **Journal of Chromatography A**, v. 867, p. 235-245, 2000.

Vigna, C. R. M. *et al.*, Poly(methyloctylsiloxane) immobilized on silica as a sorbent for solid-phase extraction of some pesticides **Journal of Chromatography A**, v. 1114, p. 211-215, 2006.

Wang, S. *et al.*, Multi-residue determination of pesticides in water using multi-walled carbon nanotubes solid-phase extraction and gas chromatography-mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1165, p. 166-171, 2007.

WHO, National drinking water contaminant occurrence database. 2011. Disponível em <www.lindane.org/_world/environment/water/water_index.htm>. Acesso em: 23 out. 2011.

Zhou, Q. *et al.*, Simultaneous determination of cyanazine, chlorotoluron and chlorbenzuron in environmental water samples with SPE multiwalled carbon nanotubes and LC. **Chromatographia**, v. 65, p. 25-30, 2006.

TRATAMENTO DE RESÍDUOS GERADOS

Os solventes utilizados no desenvolvimento deste estudo foram separados em solventes halogenados e não halogenados, recolhidos, colocados em recipientes adequados, rotulados e encaminhados para o almoxarifado responsável pelo tratamento final dos resíduos gerados no Departamento de Química da UFSM.

Os cartuchos de SPE e os demais resíduos sólidos foram descartados como resíduo sólido, rotulados e encaminhados para o almoxarifado.

SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Expansão da metodologia apresentada para outros tipos de matrizes aquosas, testando a robustez do método;
- Comparação da técnica de extração desenvolvida com outras já existentes;
- Aumento do escopo de agrotóxicos analisados;
- Determinação dos metabólitos dos compostos em amostras de água de lavoura de arroz irrigado e outras matrizes;
- Estudo a campo e no laboratório da estabilidade dos compostos em amostras de água de lavoura de arroz irrigado.

ANEXO A.

Relação dos princípios ativos estudados, sua nomenclatura segundo a IUPAC e respectivo número CAS.

Nome do composto	Nº. CAS	Nome IUPAC
Alaclor	15972-60-8	2-cloro-2',6'-dietil-N-metoximetilacetanilida
Aldrin	309-00-2	(1R,4S,4aS,5S,8R,8aR)-1,2,3,4,10,10-hexachloro-1,4,4a,5,8,8a-hexahydro-1,4:5,8-dimethanonaphthalene
Azoxistrobina	131860-33-8	methyl (E)-2-{2-[6-(2-cyanophenoxy)pyrimidin-4-yloxy]phenyl}-3-methoxyacrylate
Bifentrina	82657-04-3	2-methyl-3-phenylbenzyl (1RS)-cis-3-(2-chloro-3,3,3-trifluoroprop-1-enyl)-2,2-dimethyl cyclopropanecarboxylate
Bromofós metílico	2104-96-3	O-4-bromo-2,5-diclorofenil O,O-dimetil fosforotioato
Cialotrina lambda	91465-08-6	produto da reação de quantidades equimolares de (S)- α -cyano-3-phenoxybenzyl (Z)-(1R,3R)-3-(2-chloro-3,3,3-trifluoroprop-1-enyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate e (R)- α -cyano-3-phenoxybenzyl(Z)-(1S,3S)-3-(2-chloro-3,3,3-trifluoroprop-1-enyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate
Ciflutrina beta	68359-37-5	Reação da mistura de 2 pares de enantiômeros s: par I (S)- α -cyano-4-fluoro-3-phenoxybenzyl(1R)-cis-3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate e o correspondente (R) (1S)-cis- isômero; e (RS)- α -cyano-3-phenoxybenzyl (1RS,3RS;1RS,3SR)-3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate; par II (S) (1R)-trans- and (R) (1S)-trans- isômeros, na proporção 1:2
Cipermetrina	52315-07-8	O,O-diethyl O-3,5,6-trichloro-2-pyridyl phosphorothioate
Clorpirifós etílico	2921-88-2	O,O-dimethyl O-3,5,6-trichloro-2-pyridyl phosphorothioate
Clorpirifós metílico	5598-13-0	Tetrachloroisophthalonitrile
Clorotalonil	1897-45-6	metil (E)-metoximino[α -(o-tolyloxy)-o-tolyl]acetato
Cresoxim metílico	143390-89-0	4,4'-(2,2,2-trichloroethane-1,1-di(phenyl)bis(chlorobenzene)
DDT	50-29-3	(S)- α -cyano-3-phenoxybenzyl (1R,3R)-3-(2,2-dibromovinyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate
Deltametrina	52918-63-5	O,O-diethyl O-2-isopropyl-6-methylpyrimidin-4-yl phosphorothioate
Diazinona	333-41-5	2,2,2-trichloro-1,1-bis(4-chlorophenyl)etanol
Dicofol	115-32-2	(1R,4S,4aS,5R,6R,7S,8S,8aR)-1,2,3,4,10,10-hexachloro-1,4,4a,5,6,7,8,8a-octahydro-6,7-epoxy-1,4:5,8-dimethanonaphthalene
Dieldrin	60-57-1	
Difenoconazole	119446-68-3	1-((2-(2-chloro-4-(4-chlorophenoxy)phenyl)-4-methyl-1,3-dioxolan-2-phenyl)methyl

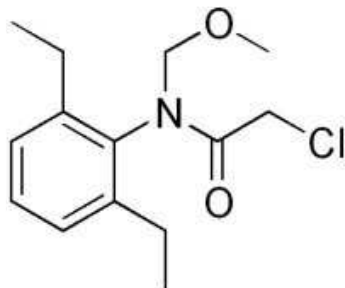
Nome do composto	Nº. CAS	Nome IUPAC
Dimetoato	60-51-5	O,O-dimethyl S-methylcarbamoylmethyl phosphorodithioate
Endossulfan alfa	959-98-8	5aR,6S,9R,9aS)-6,7,8,9,10,10-hexachloro-1,5,5a,6,9,9a-hexahydro-6,9-methano-2,4,3-benzodioxathiepine 3-oxide
Endossulfan beta	115-29-7	5aR,6S,9R,9aS)-6,7,8,9,10,10-hexachloro-1,5,5a,6,9,9a-hexahydro-6,9-methano-2,4,3-benzodioxathiepine 3-oxide
Endossulfan sulfato	1031-07-8	1,4,5,6,7,7-hexachloro-8,9,10-trinorborn-5-en-2,3-ylenebismethylene sulfite
Endrin	72-20-8	1,2,3,4,10,10-hexachloro-6,7-epoxy-1,4,4a,5,6,7,8,8a-octahydro-exo-1,4-exo-5,8-dimethanonaphthalene
Epoxiconazole	135319-73-2	<i>rel</i> -1-[[[(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i>)-3-(2-chlorophenyl)-2-(4-fluorophenyl) oxiranyl]methyl]-1 <i>H</i> -1,2,4-triazole
Esfenvalerato	66230-04-4	(<i>S</i>)- α -cyano-3-phenoxybenzyl (<i>S</i>)-2-(4-chloro phenyl)-3-methylbutyrate
Fenarimol	60168-88-9	(<i>RS</i>)-2,4'-dichloro-alfa-(pyrimidin-5-yl)benzhydryl alcohol
Fenitrotiona	122-14-5	O,O-dimethyl O-4-nitro-m-tolyl phosphorothioate
Fenvalerato	51630-58-1	(<i>RS</i>)- α -cyano-3-phenoxybenzyl (<i>RS</i>)-2-(4-chloro phenyl)-3-methylbutyrate
Fluvalinato	69409-94-5	(<i>RS</i>)- α -cyano-3-phenoxybenzyl <i>N</i> -(2-chloro- α , α , α -trifluoro- <i>p</i> -tolyl)-DL-valinate
Fipronil	120068-37-3	5-amino-1-(2,6-dichloro- α , α , α -trifluoro- <i>p</i> -tolyl)-4-trifluoromethyl sulfinylpyrazole-3-carbonitrile
HCH,alfa	319-84-6	α -1,2,3,4,5,6-hexachlorocyclohexane
HCH,beta	319-85-7	β -1,2,3,4,5,6-hexachlorocyclohexane
HCH,delta	89609-19-8	1,2,3,4,5,6-hexachlorocyclohexane
Heptacloro	76-44-8	1,4,5,6,7,8,8-heptacloro-3a,4,7,7a-tetrahidro-4,7-metanoindene
Hexaclorobenzeno	118-74-1	perclorobenzeno
Lindano	58-89-9	gama 1 α , 2 α , 3 β , 4 α , 5 α , 6 β -hexachlorocyclohexane
Malationa	121-75-5	diethyl (dimethoxyphosphinothioylthio)succinate
Metidationa	950-37-8	S-2,3-dihydro-5-methoxy-2-oxo-1,3,4-thiadiazol-3-ylmethyl O,O-dimethyl phosphorodithioate
Miclobutanil	88671-89-0	2- <i>p</i> -chlorophenyl-2-(1 <i>H</i> -1,2,4-triazol-1-ylmethyl)hexanenitrile
Mirex	2385-85-5	1,1a,2,2,3,3a,4,5,5a,5b,6-dodecachlorooctahydro- , 1,3-Cyclopentadiene
Tetradifona	116-29-0	4-chlorophenyl 2,4,5-trichlorophenyl sulfone
Tebuconazole	107534-96-3	(<i>RS</i>)- 1-(4-Chlorophenyl)- 4,4-dimethyl- 3-(1,2,4-triazol-1-ylmethyl)pentan- 3-ol
Tiametoxam	153719-23-4	3-(2-chloro-1,3-thiazol-5-ylmethyl)-5-methyl-1,3,5-oxadiazinan-4-ylidene (nitro)amine
Triclorfom	52-68-6	dimethyl (<i>RS</i>)-2,2,2-trichloro-1-hydroxyethylphosphonate

Nome do composto	Nº CAS	Nome IUPAC
Trifenilfosfato	115-86-6	Trifenilfosfato
Trifloxistrobina	141517-21-7	methyl (E)-methoxyimino-{(E)- α -[1-(α,α,α -trifluoro-m-tolyl)ethylideneaminoxy]-o-tolyl} acetate
Trifluralina	1582-09-8	$\alpha\alpha\alpha$ trifluoro - 2,6 - dinitro-N,N-dipropyl-p-toluidine
Paration metílico	298-00-01	0,0 - dimetil 0 - 4 - nitrofenil fosforotioato
Paration etílico	56-38-2	O,O-diethyl-O-4-nitrophenylthiophosphate
Permetrina	52645-53-1	3-phenoxybenzyl (1RS,3RS;1RS,3SR)-3-(2,2-dichlorovinyl)-2,2-dimethylcyclopropanecarboxylate
Pirazofós	13457-18-6	ethyl 2-diethoxyphosphinothioxyloxy-5-methyl pyrazolo[1,5-a]pyrimidine-6-carboxylate
Pirimifós metílico	29232-93-7	O-2-diethylamino-6-methylpyrimidin-4-yl O,O-dimethyl phosphorothioat
Procimidona	32809-16-8	N-(3,5-dichlorophenyl)-1,2-dimethylcyclopropane-1,2-dicarboximide
Propiconazole	60207-90-1	1-((2-(2,4-Dichlorophenyl)-4-propyl-1,3-dioxolan-2-yl)methyl)-1H-1,2,4-triazole
Quintozeno	82-68-8	Pentacloronitrobenzene
2,4 DDD	72-54-8	1-chloro-4-[2,2-dichloro-1-(4-chlorophenyl)ethyl]benzene
4,4 DDE	72-55-9	1,1'-(Dichloroethylenidene)Bis(4-clorobenzeno)

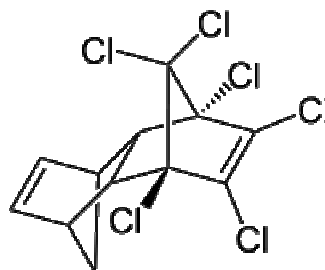
ANEXO B.

Estrutura dos agrotóxicos

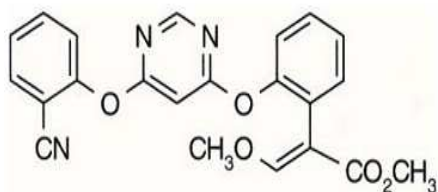
Alaclor



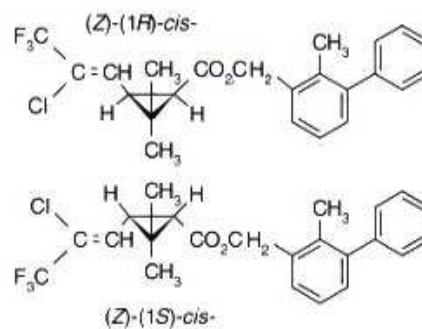
Aldrin



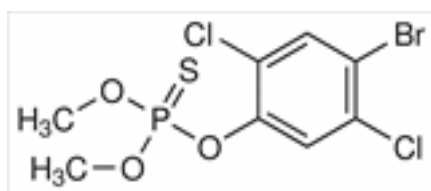
Azoxistrobina



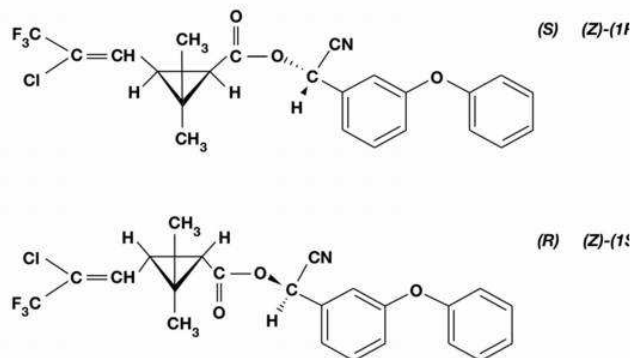
Bifentrina



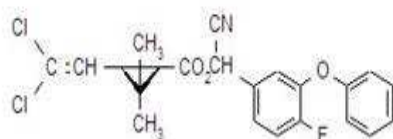
Bromofós metílico



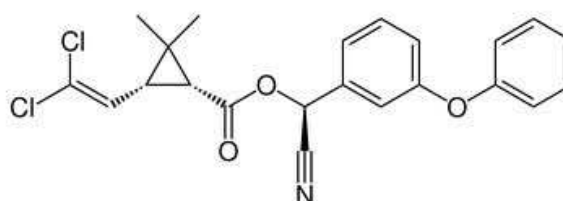
Cialotrina Lambda



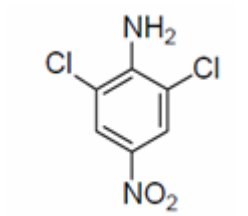
Ciflutrina beta



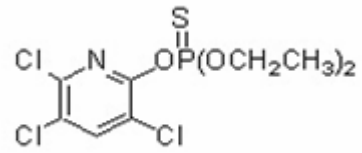
Cipermetrina



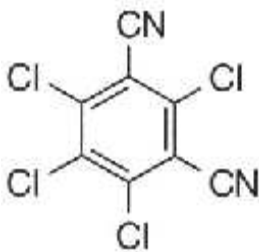
Cloripirifós etílico



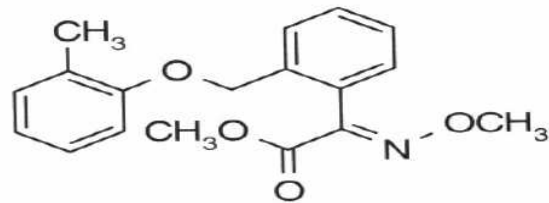
Cloripirifós metílico



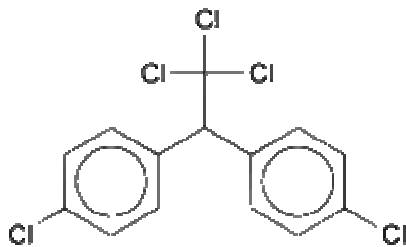
Clorotalonil



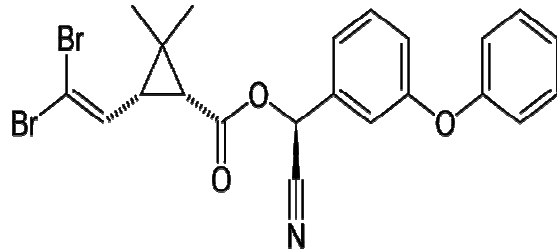
Cresoxim metílico



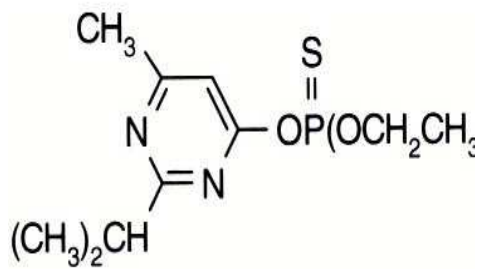
DDT



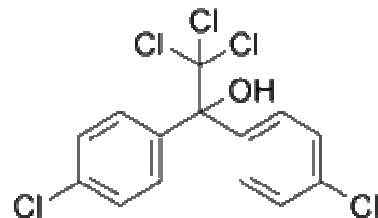
Deltametrina



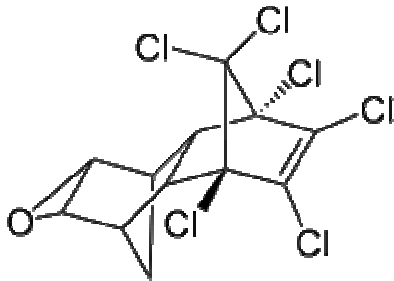
Diazinona



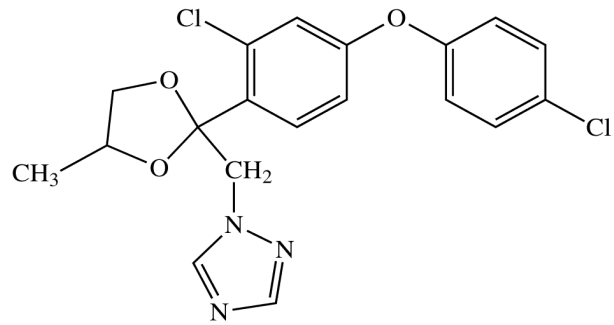
Dicofol



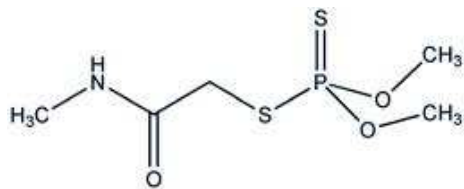
Dieldrin



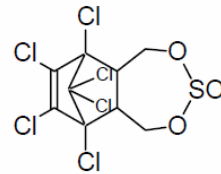
Difenoconazole



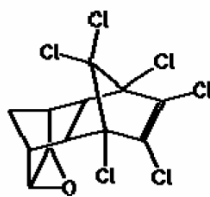
Dimetoato



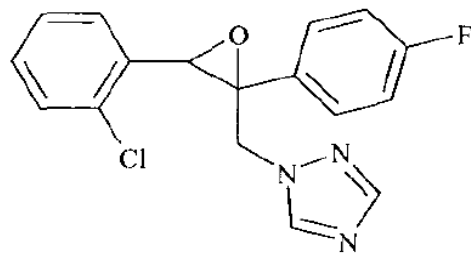
Endossulfan alfa, beta e sulfato



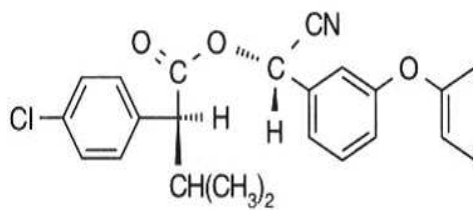
Endrin



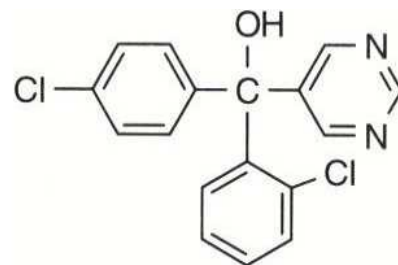
Epoconazole



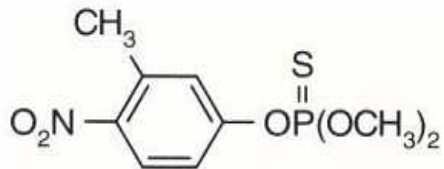
Esfenvalerato



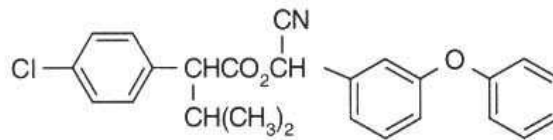
Fenarimol



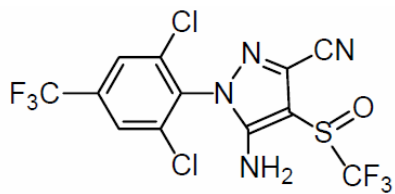
Fenitrotona



Fenvalerato



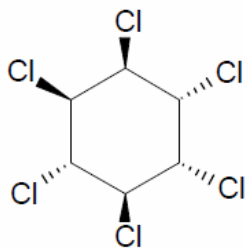
Fipronil



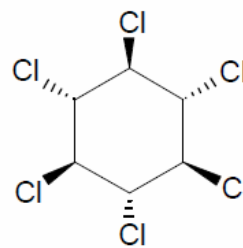
Fluvalinato



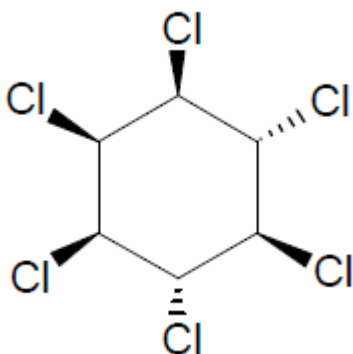
HCH Alfa



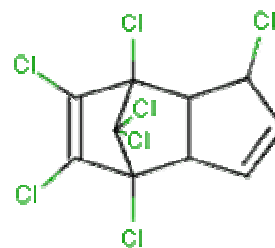
HCH Beta



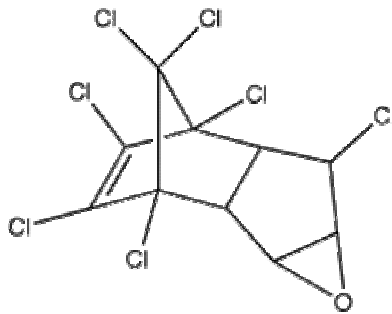
HCH Delta



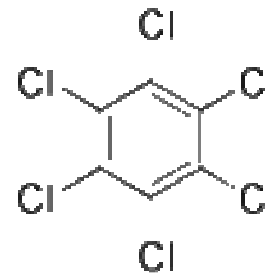
Heptacloro



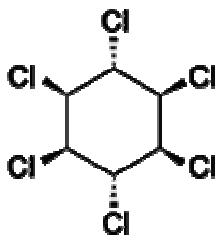
Heptacloro epóxido



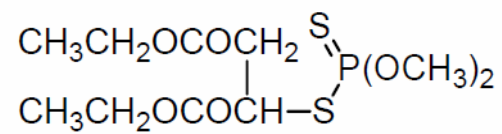
Hexaclorobenzeno



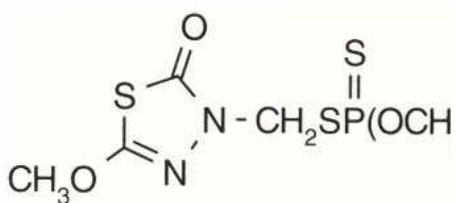
Lindano



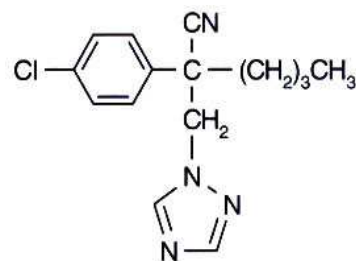
Malationa



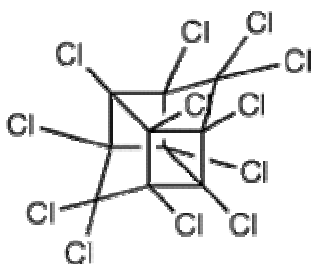
Metidationa



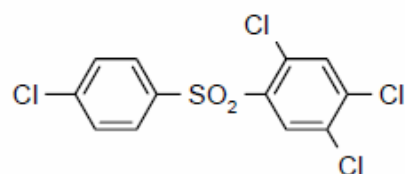
Miclobutanil



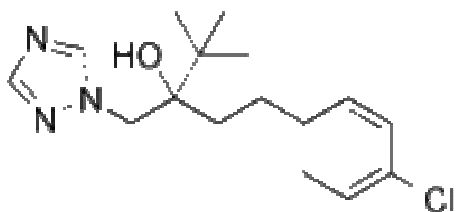
Mirex



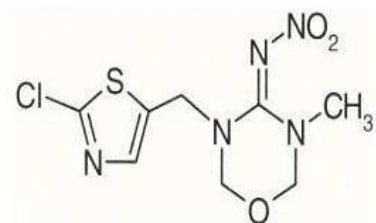
Tetradifona



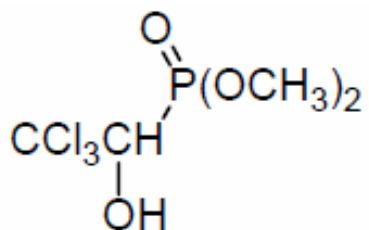
Tebuconazole



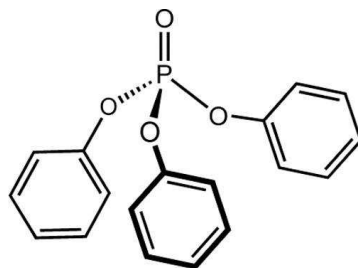
Tiametoxam



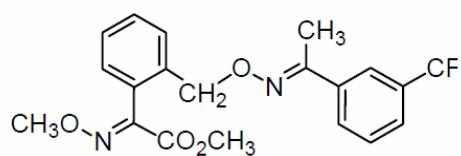
Triclorfom



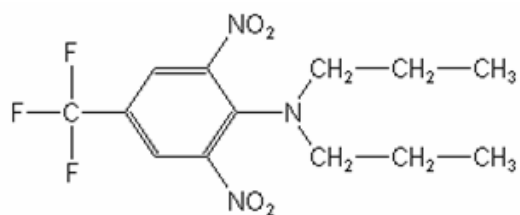
Trifenilfosfato



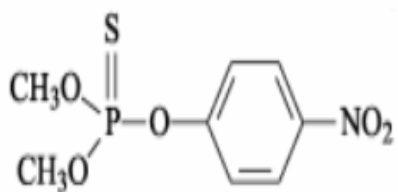
Trifloxistrobina



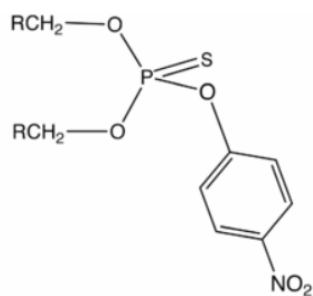
Trifluralina



Paration metílico

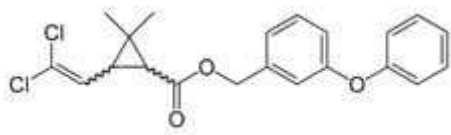


Paration etílico

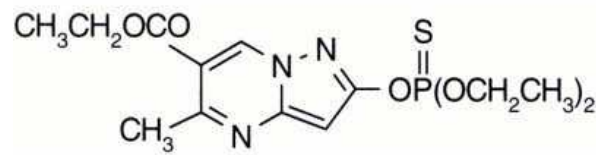


Onde R = CH₃

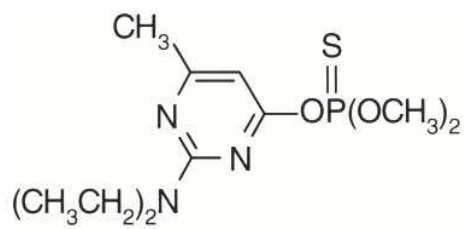
Permetrina



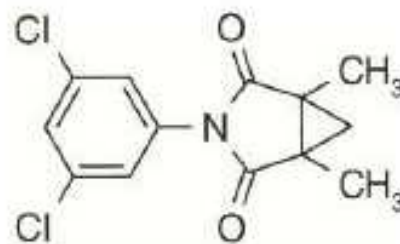
Pirazofós



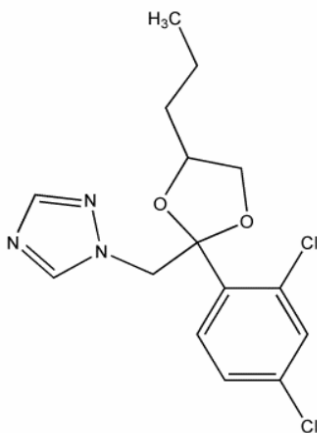
Pirimifós metílico



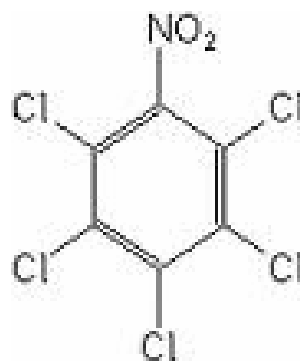
Procimidona



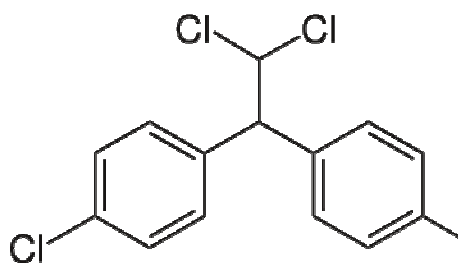
Propiconazole



Quintozeno



2,4 DDD



4,4 DDE

