



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

**Állisson Alberto da Silva Avellar**

**DETERMINAÇÃO MULTIRRESÍDUO DE AGROTÓXICOS EM  
ÁGUA EMPREGANDO SPE E UHPLC-MS/MS**

**Santa Maria – RS, Brasil**

**2020**

**Állisson Alberto da Silva Avellar**

**DETERMINAÇÃO MULTIRRESÍDUO DE AGROTÓXICOS EM  
ÁGUA EMPREGANDO SPE E UHPLC-MS/MS**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de pós-graduação em Química, Área de Concentração em Química Analítica, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do grau **Mestre em Química**.

Orientador: Prof. Dr. Renato Zanella

Santa Maria – RS, Brasil

2020

Avellar, Állisson  
DETERMINAÇÃO MULTIRRESÍDUO DE AGROTÓXICOS EM ÁGUA  
EMPREGANDO SPE E UHPLC-MS/MS / Állisson Avellar.- 2020.  
99 p.; 30 cm

Orientador: Renato Zanella  
Coorientadora: Martha Adaime  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Maria, Centro de Ciências Naturais e Exatas, Programa de  
Pós-Graduação em Química, RS, 2020

1. Agrotóxicos 2. água 3. preparo de amostra 4.  
extração em fase sólida 5. UHPLC-MS/MS I. Zanella, Renato  
II. Adaime, Martha III. Título.

Állisson Alberto da Silva Avellar

**DETERMINAÇÃO MULTIRRESÍDUO DE AGROTÓXICOS EM  
ÁGUA EMPREGANDO SPE E UHPLC-MS/MS**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de pós-graduação em Química, Área de Concentração em Química Analítica, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para a obtenção do grau **Mestre em Química**.

Aprovado em 02 de março de 2020:



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

(Presidente/Orientador)



**Profa. Dra. Sandra Cadore Peixoto (UFN)**



**Prof. Dr. Filipe Fagan Donato (UFSM)**

Santa Maria – RS, Brasil

2020

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Prof. Dr. Renato Zanella, pela oportunidade de fazer parte do grupo do Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas (LARP) e por todos os ensinamentos, paciência e colaboração.

Ao Prof. Dr. Osmar Damian Prestes e à Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Martha Bohrer Adaime pelas sugestões concedidas ao longo deste trabalho.

À banca de defesa da dissertação, professores Dr<sup>a</sup>. Sandra Cadore Peixoto e Dr. Filipe Fagan Donato, por suas contribuições e pela disponibilidade de avaliar este trabalho.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Química (PPGQ) da UFSM, por todos os ensinamentos no decorrer do curso.

Aos funcionários do PPGQ, Ademir e Valéria, pela gentileza, disposição e atenção com os alunos.

À CAPES e à Agência Nacional de Águas (ANA) pelo auxílio financeiro.

Aos meus colegas, integrantes do LARP, em especial a Larissa, Vinícius, Herliana, Gabriel, Karine e Rômulo por todo apoio e amizade.

À Deus por estar sempre comigo, me protegendo, dando-me força e guiando meus passos para eu me aperfeiçoar cada vez mais, dia após dia, gratidão por tudo.

Ao meu pai Carlos e minha mãe Edineide por tudo que fazem por mim. Não tenho palavras para descrever o amor e gratidão que eu tenho por vocês. Vocês são tudo pra mim.

Aos meus irmãos Higor, Thales, Nilber e Nathália e aos meus cunhados Karine e Bruno, sou muito grato por ter cada um de vocês, cada um do seu jeito, amo muito vocês.

Aos meus familiares, por todo amor e carinho.

Aos meus amigos de Volta Redonda/RJ que durante esse período foram fundamentais para mim, vocês são muito especiais, amo muito cada um de vocês.

## RESUMO

### DETERMINAÇÃO MULTIRRESÍDUO DE AGROTÓXICOS EM ÁGUA EMPREGANDO SPE E UHPLC-MS/MS

Autor: Állisson Alberto da Silva Avellar

Orientador: Prof. Dr. Renato Zanella

A presença de poluentes orgânicos nos recursos hídricos é uma preocupação crescente, sendo os compostos geralmente relatados advindos das atividades domésticas, agrícolas e industriais. Esses poluentes produzem uma série de efeitos colaterais nos sistemas reprodutivo, nervoso e imunológico dos seres vivos e danos ao meio ambiente. No entanto, seu risco não se limita à sua toxicidade, mas também é decorrente de sua persistência, mobilidade e capacidade de se acumular em organismos, na água, no solo e no ar. Embora a concentração desses compostos em amostras de água seja geralmente baixa, eles podem se acumular nos corpos d'água e comprometer a saúde dos seres vivos quando consumidos. Portanto, existe a necessidade de desenvolver métodos analíticos para monitorar esses contaminantes em amostras de água. Sendo assim, o objetivo do presente trabalho foi desenvolver e validar um método multirresíduo para determinar resíduos de 94 agrotóxicos em amostras de água, empregando a extração em fase sólida (SPE) e a cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas em série (UHPLC-MS/MS). Para a otimização do método de extração foram avaliados diferentes sorventes, solventes e volumes de eluição. Os melhores resultados foram obtidos utilizando o cartucho para SPE Oasis® HLB 60 mg/3 mL e acetonitrila acidificado com 1% (v/v) ácido acético como solvente de eluição. As curvas analíticas apresentaram linearidade entre 1,0 e 20,0  $\mu\text{g L}^{-1}$ , com valores de  $r^2$  superiores a 0,99 para todos os compostos. Os limites de quantificação e detecção do método foram de 0,04 a 0,40  $\mu\text{g L}^{-1}$  e de 0,01 a 0,12  $\mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente. Para avaliar exatidão e precisão, amostras "branco" foram fortificadas nos níveis 0,04, 0,10, 0,20 e 0,40  $\mu\text{g L}^{-1}$ . O método apresentou boa precisão, com valores de DPR abaixo de 20% e boa exatidão, com recuperações entre 70 e 120%. O método validado foi aplicado a 12 amostras de água com diferentes características (rio, poço artesiano, barragem e água tratada), foram encontrados resíduos de 2,4-D, carbendazim, clorpirifós, diurom, tiametoxam e triciclazol nas amostras analisadas. Os resultados obtidos indicam que o método apresenta grande versatilidade e resultados satisfatórios para determinação de resíduos de agrotóxicos de diferentes classes em água, podendo ser aplicado em análises de rotina.

**Palavras-chave:** Agrotóxicos, água, preparo de amostra, extração em fase sólida, validação, UHPLC-MS/MS.

## ABSTRACT

### MULTIRESIDUE DETERMINATION OF PESTICIDES IN WATER EMPLOYING SPE AND UHPLC-MS/MS

Author: Állisson Alberto da Silva Avellar

Advisor: Prof. Dr. Renato Zanella

The presence of organic pollutants in water resources is a major concern. The most commonly reported of these pollutants are generated by domestic, agricultural and industrial activities. Organic pollutants produce a wide range of toxic effects in animals and humans, including on reproductive, nervous and immune systems, in addition to damage to the environment. However, their danger is not limited to their toxicity, but also stems from their persistence, mobility and ability to accumulate in organisms, water, soil and air. Although the concentration of these pollutants in water is usually very low, but they can persist on water and when consumed, can compromise human health. Therefore, an adequate sample preparation as well as a development of reliable analytical method to monitor these contaminants in water samples are required. Thus, the aim of this work was to develop and validate a multiresidue method for determination of 94 pesticide residues in water samples using solid phase extraction (SPE) and ultra-high performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry (UHPLC-MS/MS). Different sorbents, solvents and elution volumes were evaluated. The best results were obtained using the SPE cartridge Oasis<sup>®</sup> HLB 60 mg/3 mL and acetonitrile acidified with 1% (v/v) acetic acid as elution solvent. Analytical curves were linear between 1.0 and 20.0  $\mu\text{g L}^{-1}$ , with  $r^2$  values greater than 0.99 for all compounds. The limits of quantification and detection of the method were 0.04 to 0.40  $\mu\text{g L}^{-1}$  and 0.01 to 0.12  $\mu\text{g L}^{-1}$ , respectively. To evaluate accuracy and precision, "blank" samples were spiked at 0.04, 0.10, 0.20 and 0.40  $\mu\text{g L}^{-1}$ . The method showed good precision, with RSD values below to 20% and good accuracy, with recoveries between 70 and 120%. The validated method was applied to 12 samples of water of different characteristics (river, artesian well, dam and treated water) and the analyzed samples presented residues of 2,4-D, carbendazim, chlorpyrifos, diuron, thiamethoxam and tricyclazole. The results show this sample preparation presented great versatility and allowed good recovery of different classes of analytes for analysis of pesticide residues in drinking water and could be applied in pesticide routine analyzes.

**Keywords:** Pesticides, water, sample preparation, SPE, validation, UHPLC-MS/MS.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Participação das Unidades da Federação na produção nacional de grãos. ....	20
Figura 2 - Representação dos processos que podem ocorrer com uma molécula de agrotóxico quando inserida no meio ambiente. ....	29
Figura 3 - Esquema das principais partes de um espectrômetro de massa. ....	38
Figura 4 - Esquema de um analisador triplo quadrupolo. ....	39
Figura 5 - Representação dos formatos de dispositivos para extração empregados em SPE: (a) forma de seringa; (b) cartucho inicial na forma de barril; (c) disco. ....	43
Figura 6 - Etapas envolvidas na SPE: condicionamento, percolação da amostra, lavagem e eluição. ....	43
Figura 7 - Sistema SPE utilizado para a concentração das amostras de água. ....	62
Figura 8 - Cromatograma de íon total obtido por UHPLC-MS/MS a partir de uma fortificação da amostra “branco” na concentração 0,1 µg L <sup>-1</sup> . ....	73
Figura 9 - Número de compostos recuperados em três diferentes faixas de recuperação para os ensaios 1 e 2. ....	74
Figura 10 - Número de compostos recuperados em três diferentes faixas de recuperação para os ensaios 1, 3, 4 e 5. ....	75
Figura 11 - Número de compostos recuperados em três diferentes faixas de recuperação para os ensaios 6 a 12. ....	77
Figura 12 - Número de compostos recuperados em três diferentes faixas de recuperação para os ensaios 11 e 13, variando o volume de solvente na etapa de condicionamento do sorvente. ....	78
Figura 13 - Número de compostos recuperados em três diferentes faixas de recuperação para os ensaios 13 a 24, variando o solvente de eluição e o volume. ....	79
Figura 14 - Método de SPE otimizado para a extração dos analitos em estudo. ....	80
Figura 15 - Cromatograma de íon total da atrazina obtido por UHPLC-MS/MS a partir de uma fortificação na concentração 0,1 µg L <sup>-1</sup> sobreposto ao branco da matriz. ....	81
Figura 16 - Curvas analíticas obtidas para os compostos atrazina, clorpirifós e triciclazol. ....	82
Figura 17 – Cromatograma das amostras A1 e A2, positivas para clorpirifós, sobreposto ao seu LOQ (0,04 µg L <sup>-1</sup> ) e branco. ....	89



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Valores Máximos Permitidos (VMP) para agrotóxicos referentes ao enquadramento da água classe 1 de acordo com a Resolução do CONAMA 357/2005. ....	31
Tabela 2 - Valores Máximos Permitidos (VMP) para agrotóxicos em água potável de acordo com a Portaria de consolidação nº 5, Anexo XX do Ministério da Saúde.....	32
Tabela 3 - Valores Máximos Permitidos (VMP) para agrotóxicos em água potável de acordo com a Portaria da SES/RS 320 da Secretaria Estadual de Saúde do RS.....	33
Tabela 4 - Aplicações recentes da SPE na determinação de agrotóxicos em amostras de água. ....	46
Tabela 5 - Parâmetros de avaliação na validação de métodos analíticos para determinação de resíduos de agrotóxicos.....	51
Tabela 6 - Informações de classe, grupo químico, pureza do padrão sólido e propriedades físico-químicas dos compostos em estudo.....	55
Tabela 7 - Gradiente da fase móvel utilizado para determinação de agrotóxicos em água no sistema UHPLC-MS/MS.....	61
Tabela 8 - Ensaios realizados para a otimização do preparo de amostra.....	64
Tabela 9 - Agrotóxicos analisados por UHPLC-MS/MS, utilizando o modo de ionização ESI+, no modo de aquisição SRM com seus respectivos tempos de retenção ( $t_R$ ), íons precursores e produtos para a quantificação e qualificação.....	70
Tabela 10 - Equação da reta e coeficiente de determinação para a curva analítica de cada agrotóxico em estudo. ....	82
Tabela 11 - Resultados dos ensaios de repetitividade e precisão intermediária. ....	85
Tabela 12 – Concentrações dos agrotóxicos encontradas nas amostras analisadas. ....	89

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

2,4-D	Ácido diclorofenoxiacético
a	Coeficiente angular
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APCI	Ionização Química a Pressão Atmosférica, do inglês <i>Atmospheric Pressure Chemical Ionization</i>
API	Ionização a Pressão Atmosférica, do inglês <i>Atmospheric Pressure Ionization</i>
APPI	Fotoionização a Pressão Atmosférica, do inglês <i>Atmospheric Pressure Photoionization</i>
b	Coeficiente linear
C18	Sílica modificada com hidrocarboneto linear C18, octadecilsilano
CI	Ionização Química, do inglês <i>Chemical Ionization</i>
CID	Dissociação induzida por colisão, do inglês <i>collision-induced dissociation</i>
CONAMA	Conselho Nacional de Meio Ambiente
DL 50	Dose Letal com 50% dos organismos testes
DPR	Desvio Padrão Relativo
DQ	Departamento de Química
EI	Ionização por Elétrons, do inglês <i>Electron Ionization</i>
EM	Multiplicador de elétrons, do inglês <i>Electron Multiplier</i>
ESI	Ionização por Eletronebulização, do inglês <i>Electrospray Ionization</i>
ESI+	Ionização por Eletronebulização do modo positivo, do inglês <i>Electrospray Ionization Positive Mode</i>
eV	Elétrons volt
FAO	Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura, do inglês <i>Food and Agriculture Organization of the United Nations</i>
GC	Cromatografia Gasosa, do inglês <i>Gas Chromatography</i>
GC-MS	Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas, do inglês <i>Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometer</i>
GC-MS/MS	Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas em Série, do inglês <i>Gas Chromatography coupled to Tandem Mass Spectrometry</i>
HLB	Equilíbrio hidrofílico-lipofílico, do inglês <i>hydrophilic-lipophilic-balanced</i>

HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, do inglês <i>High Performance Liquid Chromatography</i>
HPLC-DAD	Cromatografia líquida de alta eficiência com detecção por arranjo de diodos, do inglês <i>High-performance liquid chromatography with diode array detection</i>
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
INMETRO	Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada, do inglês <i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>
K <sub>a</sub>	Constante de dissociação ácida do composto
K <sub>oc</sub>	Coefficiente de adsorção a matéria orgânica do Solo
K <sub>ow</sub>	Coefficiente de partição octanol-água
LARP	Laboratório de Análise de Resíduos de Pesticidas
LC	Cromatografia Líquida, do inglês <i>Liquid Chromatography</i>
LC-HRMS	Cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa de alta resolução, do inglês <i>Liquid chromatography-high resolution mass spectrometry</i>
LC-MS	Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massas, do inglês <i>Liquid Chromatography coupled to Mass Spectrometry</i>
LC-MS/MS	Cromatografia Líquida acoplada à Espectrometria de Massas em Série, do inglês <i>Liquid Chromatography coupled to Tandem Mass Spectrometry</i>
LLE	Extração líquido-líquido, do inglês <i>liquid-liquid extraction</i>
LOD	Limite de Detecção, do inglês <i>Limit of Detection</i>
LOD <sub>i</sub>	Limite de Detecção do instrumento, do inglês <i>Limit of Detection of the Instrument</i>
LOD <sub>m</sub>	Limite de Detecção do método, do inglês <i>Limit of Detection of the method</i>
LOQ	Limite de Quantificação, do inglês <i>Limit of Quantification</i>
LOQ <sub>i</sub>	Limite de Quantificação do instrumento, do inglês <i>Limit of Quantification of the Instrument</i>
LOQ <sub>m</sub>	Limite de Quantificação do método, do inglês <i>Limit of Quantification of the method</i>
m/z	Razão massa carga
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MS	Espectrometria de Massas, do inglês <i>Mass Spectrometry</i>

MS/MS	Espectrometria de Massas em série, do inglês <i>Mass Spectrometry in Tandem</i>
n	Número de replicatas
N <sub>2</sub>	Nitrogênio
n <sup>o</sup>	Número
pH	Potencial hidrogeniônico
PIB	Produto Interno Bruto
pKa	Constante de dissociação ácida
P&D	Pesquisa e desenvolvimento
PTFE	Politetrafluoretileno
Q1	Primeiro quadrupolo
Q2	Segundo quadrupolo
Q3	Terceiro quadrupolo
r	Coeficiente de correlação
r <sup>2</sup>	Coeficiente de determinação
RDC	Resolução de diretoria colegiada
RDSE	Extração sortiva em disco rotativo, do inglês <i>Rotating Disk sorptive Extraction</i>
SANTÉ	Saúde e Proteção do Consumidor, do francês <i>Santé et protection des consommateurs</i>
SBSE	Extração sortiva em barra magnética, do inglês <i>Stir-bar sorptive extraction</i>
SES/RS	Secretaria de Saúde do estado do Rio Grande do Sul
SIM	Monitoramento do Íon Selecionado, do inglês <i>Selected Ion Monitoring</i>
SPE	Extração em Fase Sólida, do inglês <i>Solid Phase Extraction</i>
SPME	Microextração em fase sólida, do inglês <i>Solid phase microextraction</i>
SRM	Monitoramento de reações selecionadas, do inglês <i>selected reaction monitoring</i>
t <sub>1/2</sub>	Tempo de meia-vida
TQ	Triplo quadrupolo
t <sub>R</sub>	Tempo de retenção
UE	União Europeia
UFSM	Universidade Federal de Santa Maria

UHPLC	Cromatografia líquida de ultra eficiência, do inglês <i>Ultra-high performance liquid chromatography</i>
UHPLC-MS/MS	Cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada à Espectrometria de Massas em Série, do inglês <i>Ultra-high performance liquid chromatography coupled to Tandem Mass</i>
v/v	Volume por volume
VMP	Valor Máximo Permitido

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO .....	15
1.1 OBJETIVOS.....	17
1.1.1 OBJETIVOS GERAIS .....	17
1.1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....	18
2.1 EVOLUÇÃO DA AGRICULTURA BRASILEIRA.....	18
2.2 PRODUÇÃO AGRÍCOLA NO BRASIL.....	19
2.3 DEFINIÇÃO E CLASSIFICAÇÃO DOS AGROTÓXICOS .....	21
2.4 PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DOS AGROTÓXICOS.....	23
2.5 AGROTÓXICOS NO BRASIL .....	26
2.6 CONTAMINAÇÃO DA ÁGUA POR AGROTÓXICOS .....	27
2.7 LEGISLAÇÃO E QUALIDADE DA ÁGUA .....	30
2.8 DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM ÁGUA.....	34
2.8.1 TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS PARA A DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM AMOSTRAS DE ÁGUA .....	37
2.8.2 PREPARO DE AMOSTRA PARA A DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM ÁGUA.....	40
2.9 VALIDAÇÃO DE MÉTODOS.....	50
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	52
3.1 INSTRUMENTAÇÃO .....	52
3.2 REAGENTES, SOLVENTES E MATERIAIS UTILIZADOS.....	53
3.3 AGROTÓXICOS SELECIONADOS .....	54
3.4 SELEÇÃO DO PADRÃO INTERNO E DO PADRÃO DE CONTROLE .....	60
3.5 PREPARO DAS SOLUÇÕES ANALÍTICAS .....	60
3.6 SISTEMA UHPLC-MS/MS PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM ÁGUA.....	60
3.6.1 ESCOLHA DA FASE MÓVEL.....	60
3.6.2 CONDIÇÕES UTILIZADAS NO SISTEMA UHPLC-MS/MS .....	61
3.7 DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO DE EXTRAÇÃO PARA A ANÁLISE DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM ÁGUA .....	62
3.7.1 ESCOLHA DO SOLVENTE PARA A ETAPA DE CONCENTRAÇÃO.....	63
3.7.2 ESCOLHA DO SOLVENTE DE ELUIÇÃO.....	63

3.8 VALIDAÇÃO DO MÉTODO PARA A ANÁLISE DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM ÁGUA.....	67
3.8.1 SELETIVIDADE .....	67
3.8.2 CURVA ANALÍTICA E LINEARIDADE.....	67
3.8.3 EXATIDÃO E PRECISÃO .....	68
3.8.4 LIMITE DE DETECÇÃO (LOD) E LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO (LOQ)...	68
3.9 APLICAÇÃO DO MÉTODO .....	69
4 RESULTADOS E DISCUSSÕES .....	70
4.1 CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS DO SISTEMA UHPLC-MS/MS.....	70
4.2 OTIMIZAÇÃO DO PREPARO DE AMOSTRA .....	74
4.2.1 ESCOLHA DO SORVENTE DE EXTRAÇÃO .....	76
4.2.2 ESCOLHA DO SOLVENTE E DO VOLUME DE ELUIÇÃO.....	78
4.3 VALIDAÇÃO DO MÉTODO .....	80
4.3.1 SELETIVIDADE .....	81
4.3.2 LINEARIDADE .....	82
4.3.3 EXATIDÃO, PRECISÃO E PRECISÃO INTERMEDIÁRIA.....	85
4.3.4 LIMITES DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO.....	88
4.4 APLICAÇÃO DO MÉTODO.....	88
5 CONCLUSÕES .....	91
6 ENCAMINHAMENTO DOS RESÍDUOS GERADOS.....	92
7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS .....	92
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	93

## 1 INTRODUÇÃO

A importância do agronegócio para o Brasil é indiscutível: representa cerca de 25% do PIB nacional e é responsável pelo saldo positivo da balança comercial, sendo que, o PIB do agronegócio compreende, além das atividades primárias realizadas no estabelecimento, as atividades de transformação e de distribuição. Na décima segunda estimativa de 2019 o Brasil obteve uma produção da ordem de 241,5 milhões de toneladas de cereais, leguminosas e oleaginosas, isto em 63,2 milhões de hectares de área plantada (IBGE, 2020).

Para manter tal produção, esse setor precisa utilizar intensivamente insumos químicos, como fertilizantes e agrotóxicos. A extensa área de plantio e o clima favorável no Brasil proporciona ao país ser um dos maiores consumidores de agrotóxicos no mundo. Além disso, a imposição da Política da Revolução Verde, dos cultivos transgênicos, o aumento de “pragas” nas lavouras, de créditos agrícolas subsidiados e isenção de tributos fiscais, são fatores que contribuem para o aumento no consumo de agrotóxicos. Acrescenta-se a esses fatores fragilidades da vigilância estatal sobre o seu uso e a ausência de políticas que reduzam o uso de agrotóxicos e incentivem a produção agroecológica (PIGNATI *et al.*, 2017).

Devido ao uso excessivo e muitas vezes incorreto dessas substâncias os agrotóxicos podem contaminar recursos hídricos superficiais e subterrâneos, podendo causar grandes danos para os seres vivos e meio ambiente. Destacando-se o escoamento superficial e a lixiviação como as maiores rotas de dispersão dos agrotóxicos para os sistemas aquáticos. No entanto, seu risco não se limita à sua toxicidade, mas também é decorrente de sua persistência, mobilidade e capacidade de se acumular em sedimentos e organismos. Algumas substâncias proibidas há décadas no país ainda são detectadas em amostras de águas superficiais, poços e mananciais (LOPES & ALBUQUERQUE, 2018).

A contaminação de ambientes aquáticos é ainda mais preocupante principalmente quando a água é destinada para o consumo humano. No Brasil, a Resolução do Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA) 357/2005 dispõe sobre a classificação dos corpos d’água e estabelece limites máximos para contaminantes em água, de acordo com o seu uso. Além disso, o Ministério da Saúde através da Portaria de consolidação nº 5, de 28 de setembro de 2017, Anexo XX, dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para



consumo humano e seu padrão de potabilidade (BRASIL, 2017). Estabelecendo e regulamentando vários parâmetros, como por exemplo os limites máximos de resíduos de agrotóxicos permitidos em águas destinadas ao consumo humano.

Para ampliar o escopo de agrotóxicos da Portaria de consolidação nº 5, Anexo XX, a Secretaria de Saúde do estado do Rio Grande do Sul (SES/RS) através da Portaria SES/RS 320 de 28/04/2014 estabeleceu parâmetros adicionais de agrotóxicos ao padrão de potabilidade da água para substâncias químicas, no controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano (SES/RS, 2014). A portaria da SES/RS 320 determina que os serviços de abastecimento de água passem a analisar a presença dos agrotóxicos mais utilizados nas lavouras do estado, além dos que já constam na Portaria de consolidação nº 5, Anexo XX.

Embora a concentração desses poluentes seja geralmente baixa na água, eles podem acumular e, quando consumidos, podem comprometer a saúde humana. Assim, o monitoramento de resíduos de agrotóxicos em recursos hídricos é imprescindível para avaliar os danos que esses poluentes podem causar nos seres vivos e no meio ambiente. Portanto, é necessário um preparo de amostra adequado, bem como o desenvolvimento de métodos de análise multirresíduo confiáveis para determinação de resíduos de agrotóxicos em água (FORTUNY *et al.*, 2013).

Em função das diferentes propriedades físico-químicas dos agrotóxicos, a técnica de extração em fase sólida (SPE, do inglês *Solid Phase Extraction*) é uma das mais indicadas para o preparo de amostra nesse tipo de análise, por apresentar altas porcentagens de recuperação, boa robustez e ter uma etapa de concentração dos analitos (FARAJI; YAMINI; GHOLAMI, 2019). As técnicas de separação como a Cromatografia Gasosa (GC, do inglês *Gas Chromatography*) e Cromatografia Líquida (LC, do inglês *Liquid Chromatography*) são as mais empregadas para separar constituintes de matrizes complexas seguida da determinação de vários compostos em tempo de análise adequado com boa seletividade e sensibilidade (SAMSIDAR; SIDDIQUEE; SHAARANI, 2018). Essas técnicas cromatográficas podem ser acopladas a diferentes detectores, sendo o mais utilizado o Espectrômetro de Massas (MS, do inglês *Mass Spectrometry*) pois combina as vantagens da cromatografia (alta seletividade e eficiência de separação) com as vantagens da espectrometria de massas (obtenção de informação estrutural, massa molar e aumento adicional da

seletividade), além da versatilidade de uso em ambas as técnicas cromatográficas (TSIPI *et al.*, 2015).

Nesse contexto, o presente trabalho visou desenvolver e validar um método multirresíduo para determinação de agrotóxicos em água, empregando a técnica de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas em série.

## **1.1 OBJETIVOS**

### **1.1.1 OBJETIVOS GERAIS**

Desenvolver e validar um método analítico para a determinação de 94 resíduos de agrotóxicos em água utilizando SPE para o preparo de amostra e a análise por UHPLC-MS/MS.

### **1.1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Avaliar diferentes métodos de SPE na etapa de preparo de amostra para extração dos agrotóxicos em estudo;
- Avaliar diferentes sorventes, solventes e volumes de eluição para a otimização do método de extração;
- Aplicar o método desenvolvido em amostras de água de diferentes locais da cidade de Santa Maria/RS com diferentes características (rio, poço artesiano, barragem e água tratada).

## **2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **2.1 EVOLUÇÃO DA AGRICULTURA BRASILEIRA**

A agricultura sempre foi determinante para a sobrevivência e para a qualidade de vida da população mundial. Antes da revolução industrial os agricultores familiares e camponeses adotaram formas e métodos de cultivo adaptáveis e sustentáveis na conjuntura ambiental em que os recursos naturais eram utilizados de maneira consciente com os conhecimentos adquiridos pelos antepassados, os quais tinham como princípio a não utilização desses recursos de maneira predatória (VIEIRA *et al.*, 2018).

Apesar de sua dimensão continental e sua história econômica baseada em explorações primárias, o Brasil era um país importador líquido de alimentos até os anos 1980. No entanto, ao longo dos últimos cinquenta anos, o uso intensivo de ciência e tecnologia resultou em ganhos acentuados de produtividade. A inovação induzida apoiada nas transformações locais e nas mudanças institucionais foi essencial para o Brasil se tornar um dos maiores exportadores de alimentos do mundo. Contudo, o sucesso recente da agricultura brasileira não foi suficiente para desenvolver todas as regiões e diminuir as desigualdades produtivas (FILHO & FISHLOW, 2017).

O Brasil foi um dos poucos países em desenvolvimento que incorporou o conhecimento externo, oriundo de centros internacionais de pesquisa, para adaptação às condições tropicais. De importador de alimentos para autossuficiente nos mercados interno e externo, mudanças institucionais foram essenciais para promover processos de P&D voltados à compreensão da agricultura tropical. Durante os anos 1960, havia menos diversidade produtiva (agrícola e pecuária), bem como elevado risco de desabastecimento interno (FILHO & FISHLOW, 2017).

Nesse contexto histórico, com o fim da Segunda Guerra Mundial a indústria química fabricante de venenos então usados como armas químicas encontraram na agricultura um novo mercado para os seus produtos. Diversas políticas foram implementadas em todo o mundo para expandir e assegurar este mercado. A pesquisa agropecuária voltou-se para o desenvolvimento de sementes selecionadas para responder positivamente a aplicações de adubos químicos e agrotóxicos (LONDRES, 2011). Com isso, a partir dos anos 1990, a agricultura brasileira

conseguiu uma enorme expansão na produção e em seus indicadores econômicos (FILHO & FISHLOW, 2017).

O setor agrícola sofreu modificações com a utilização de adubos químicos e agrotóxicos, o que abriu caminho para a existência da agricultura nos moldes em que convivemos hoje. Isso se deu especificamente com o advento da Revolução Verde que preconizou a adoção do pacote tecnológico, dentre os quais um dos componentes principais era os agrotóxicos, uma política pública que revolucionou a maneira como o agricultor lida com sua produção (VIEIRA *et al.*, 2018).

Destaca-se que estas mudanças não pararam nos insumos químicos, veio também à mecanização, monocultivo, sementes geneticamente modificadas entre outros, dando início ao que se chama de modernização da agricultura (VIEIRA *et al.*, 2018). Estas inovações na agricultura aumentaram a produção de alimentos de qualidade, o que era fundamental para atenuar a fome que assolava boa parte da população mundial (LONDRES, 2011).

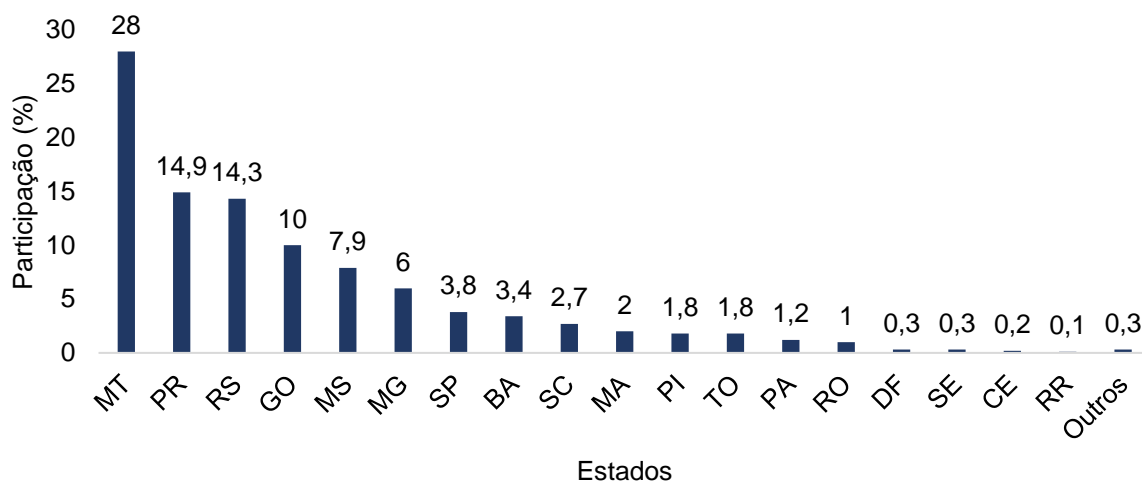
A Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (FAO, do inglês *Food and Agriculture Organization of the United Nations*) e o Banco Mundial foram os maiores promotores da difusão do pacote tecnológico da Revolução Verde. No Brasil, uma série de políticas implantada por diferentes governos cumpriu o papel de forçar a adoção da chamada “modernização da agricultura”, processo que resultou em altos custos sociais, ambientais e na saúde pública (LONDRES, 2011).

## **2.2 PRODUÇÃO AGRÍCOLA NO BRASIL**

Segundo dados do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE o Brasil na décima segunda estimativa de 2019 obteve uma produção de 241,5 milhões de toneladas de cereais, leguminosas e oleaginosas. O arroz, o milho e a soja são os três principais produtos deste grupo, que, somados, representam 92,8% da estimativa da produção e responderam por 87,0% da área colhida.

Em relação a distribuição da produção pelas Unidades da Federação, Mato Grosso lidera como maior produtor nacional de grãos, com participação de 28,0%, seguido pelo Paraná (14,9%), Rio Grande do Sul (14,3%), Goiás (10,0%), Mato Grosso do Sul (7,9%) e Minas Gerais (6,0%), que, somados, representam 81,1% do total nacional, como mostrado na Figura 1 (IBGE, 2020).

Figura 1 - Participação das Unidades da Federação na produção nacional de grãos.



Fonte: Adaptado de IBGE (2020).

As estimativas realizadas para os próximos dez anos são de que a área total plantada com lavouras deve passar de 75,0 milhões de hectares em 2017/18 para 85,0 milhões em 2027/28, um acréscimo de 10,0 milhões de hectares. Sendo essa expansão concentrada no cultivo de soja, cana-de-açúcar e milho (MAPA, 2018).

A expansão de área de soja e cana-de-açúcar deverá ocorrer pela incorporação de áreas novas, áreas de pastagens naturais e pela substituição de outras lavouras que deverão ceder área (MAPA, 2018). Essa produtividade só é possível com um conjunto de inovações tecnológicas disponíveis nos últimos anos, juntamente com a utilização dos agrotóxicos e fertilizantes químicos, resultando em um impacto positivo e crescente no desenvolvimento agrícola e na economia brasileira (FILHO & FISHLOW, 2017).

A necessidade do uso de agrotóxicos sempre esteve associada à efetividade no controle de pragas, doenças e plantas invasoras, com a finalidade de obter maior rendimentos na agricultura e garantir um aumento no volume de produção de alimentos (BRAIBANTE & ZAPPE, 2012). Além de auxiliar no suprimento da demanda de alimentos para a população esses compostos também geram um acréscimo econômico aos países em desenvolvimento. Por outro lado, o uso intensivo e muitas vezes incorreto dos agrotóxicos pode causar o acúmulo dessas substâncias nos alimentos, no solo, na água (rios, lagos, lençol freático) e no ar, causando danos irreparáveis para os seres vivos e ao meio ambiente (TEIXEIRA, 2017).

### 2.3 DEFINIÇÃO E CLASSIFICAÇÃO DOS AGROTÓXICOS

O termo agrotóxico passou a ser adotado no Brasil a partir da Lei Federal nº 7.802, de 1989, regulamentada pelo Decreto nº 4.074, de 2002, e traz o seguinte conceito:

“Os produtos e agentes de processos físicos, químicos ou biológicos destinados ao uso nos setores de produção, no armazenamento e beneficiamento de produtos agrícolas, nas pastagens, na proteção de florestas nativas ou plantadas e de outros ecossistemas e também em ambientes urbanos, hídricos e industriais, cuja finalidade seja alterar a composição da flora e da fauna, a fim de preservá-las da ação danosa de seres vivos considerados nocivos, bem como as substâncias e produtos empregados como desfolhantes, dessecantes, estimuladores e inibidores do crescimento” (BRASIL, 1989).

Segundo o *Codex Alimentarius*, agrotóxico significa qualquer substância ou mistura de substâncias de produtos químicos ou ingredientes biológicos utilizados para repelir, destruir ou controlar qualquer praga. O termo inclui substâncias utilizadas como reguladores de crescimento para plantas, desfolhantes, dessecantes, agentes promotores de amadurecimento de frutos, inibidores de germinação e substâncias que são aplicadas aos grãos antes e depois da colheita para evitar a deterioração do alimento durante a estocagem e transporte. São excluídos desse conceito os fertilizantes, nutrientes animais e/ou vegetais, aditivos alimentares e medicamentos de uso veterinário (FAO, 2015).

Para a *International Union of Pure and Applied Chemistry – IUPAC* (2012) os agrotóxicos são substâncias pertencentes a uma ampla classe de compostos bioativos empregados principalmente na produção de alimentos, os quais possuem funções básicas de prevenir, controlar e destruir pragas de origem animal, vegetal ou microbiológica que, de um modo ou outro, afetam a produção e o armazenamento de alimentos.

Segundo o Decreto nº 4.074 (BRASIL, 1989) os agrotóxicos devem ser divididos em classes, com o intuito de diferenciá-los em função da sua utilização, seu modo de ação e potencial. De acordo com Tsipi e colaboradores (2015) os agrotóxicos podem ser classificados por finalidade de uso ou ao organismo que eliminam ou controlam, como:

**Acaricidas:** controle de ácaros;

**Algicida:** controle ou inibição de algas;

**Avicida:** combate a aves;

**Bactericidas:** controle ou inibição de bactérias;

**Fungicidas:** combate ou controle de fungos;

**Herbicidas:** combate ou inibição de plantas daninhas;

**Inseticidas:** controle de insetos;

**Raticida:** combate ou controle de roedores.

A classificação quanto a toxicologia se baseia no grau de toxicidade para o homem, segundo a DL<sub>50</sub> que é a dose capaz de provocar a morte de, pelo menos, 50% das espécies estudadas (geralmente ratos ou camundongos). Os compostos são sempre classificados na classe mais restritiva, ou seja, quando a DL<sub>50</sub> dérmica de um composto for mais baixa do que a DL<sub>50</sub> oral a classificação final baseia-se na toxicidade dérmica e vice-versa (ANVISA, 2019).

A ANVISA realiza a classificação de um agrotóxico quanto a sua toxicidade. Essa classificação permite a interpretação do grau de perigo dos agrotóxicos à saúde humana, facilitando a identificação e a dimensão do risco na utilização destes produtos. As categorias variam de 1 a 5, ou seja, quando um composto for da categoria 1 e 2 (extremamente tóxico e produto altamente tóxico, respectivamente) estará presente uma faixa na cor vermelha em seu rótulo, quando for da categoria 3 (produto moderadamente tóxico) a faixa será amarela, para compostos classificados na categoria 4 e 5 (pouco tóxico e improvável de causar dano agudo, respectivamente) estará presente em seu rótulo a cor azul e para os produtos não classificados a cor indicativa é verde (ANVISA, 2019).

Os agrotóxicos também podem ser classificados quanto à sua persistência, avaliada pelo tempo de meia-vida, que é o tempo necessário, após aplicação, para que tenha sua eficácia reduzida em 50%. Sendo que as moléculas com alta persistência (baixa taxa de degradação) podem permanecer no ambiente sem sofrer qualquer alteração por um longo período de tempo (CABRERA; COSTA; PRIMEL, 2008).

A importância da classificação é comunicar o risco do produto ao usuário, sendo necessário classificá-lo com base em critérios que representam o seu real perigo (ANVISA, 2016).

## 2.4 PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS DOS AGROTÓXICOS

As propriedades físico-químicas de um determinado agrotóxico dependem da sua estrutura molecular, e com essas propriedades se determina como esse composto se comporta no meio ambiente. As principais propriedades físico-químicas dos agrotóxicos são: solubilidade em água, coeficiente de partição octanol-água ( $K_{ow}$ ), constante de dissociação ácida do composto ( $K_a$ ), pressão de vapor, coeficiente de adsorção normalizado pelo carbono orgânico ( $K_{oc}$ ) e tempo de meia-vida ( $t_{1/2}$ ) no solo e na água (CABRERA; COSTA; PRIMEL, 2008).

A solubilidade de uma substância orgânica está diretamente relacionada com a estrutura molecular, especialmente com a polaridade das ligações e da espécie química como um todo. Geralmente, os compostos apolares ou fracamente polares são solúveis em solventes apolares ou de baixa polaridade, enquanto compostos de alta polaridade são solúveis em solventes também polares, o que está de acordo com a regra “o semelhante dissolve o semelhante” (MARTINS; LOPES; ANDRADE, 2013). A solubilidade em água é uma propriedade importante para os processos ambientais, pois atua no comportamento, transporte e destino desses compostos, indicando a tendência do agrotóxico em ser carregado superficialmente no solo atingindo águas superficiais, a solubilidade em água dos agrotóxicos pode variar de 0,001 até  $10^6$  mg L<sup>-1</sup>, dependendo da estrutura do composto (CABRERA; COSTA; PRIMEL, 2008).

O coeficiente de partição octanol-água ( $K_{ow}$ ) é a razão de equilíbrio entre as concentrações de uma substância dissolvida em um sistema de duas fases que consiste em dois líquidos imiscíveis, octanol e água. Portanto, a razão representa a afinidade de um composto com a fase polar, representada pela água, e a fase apolar, representada pelo octanol (PEREIRA *et al.*, 2016). O valor de  $K_{ow}$  é adimensional e geralmente dado como um logaritmo de base 10 (variando entre -5 e 5). Compostos lipofílicos apresentam altos valores de  $K_{ow}$  e compostos hidrofílicos apresentam baixos valores (MACKAY *et al.*, 2006).

A constante de dissociação ácida de um composto representa a propensão de um composto a ionizar, é importante para a compreensão do comportamento do composto em diferentes condições e processos (MACKAY *et al.*, 2006). Normalmente, o logaritmo da constante ( $pK_a = -\log_{10} (K_a)$ ) é usado para facilitar a interpretação, compostos com alto valor de  $pK_a$  são ácidos mais fracos. Os valores do produto da constante de dissociação ácida têm efeito sobre a solubilidade do agrotóxico e,



através do seu  $pK_a$  e do pH do meio, é possível prever a forma predominante (iônica ou molecular) de um agrotóxico na solução, quanto menor é o  $pK_a$  de um composto, maior é a sua tendência a ionizar-se em um meio com pH neutro (CABRERA; COSTA; PRIMEL, 2008).

A pressão de vapor de um composto orgânico é definida como a pressão em que a fase de vapor (gás) está em equilíbrio com a fase líquida, essa característica depende do tamanho e dos grupos funcionais de um composto orgânico. A pressão de vapor indica a tendência de um composto transpor de um líquido ou sólido para um gás, tendo relação com a volatilidade de uma substância em solução aquosa. Quanto mais elevada a pressão de vapor de um agrotóxico, maior será a sua volatilização a uma dada temperatura e maior será o seu potencial para poluir o compartimento atmosférico (BARRIGOSI; LANNA; FERREIRA, 2005).

O coeficiente de adsorção normalizado pelo carbono orgânico ( $K_{oc}$ ) representa a tendência de um produto químico se transferir da água do solo para a superfície sólida do solo (matéria orgânica), através do processo de adsorção, supondo que a matéria orgânica seja totalmente responsável pela adsorção do composto. A adsorção refere-se ao processo pelo qual os compostos são retidos nas partículas do solo, um processo que normalmente é reversível e que dura um período dependente da afinidade da substância com a superfície. Independentemente da medida utilizada, quanto maior o  $K_{oc}$ , maior a adsorção do composto ao solo, sendo que essa retenção é um processo fundamental que afeta o destino dos agrotóxicos no meio ambiente. (PEREIRA *et al.*, 2016).

A longevidade de um agrotóxico no ambiente é geralmente expressa em termos do tempo de meia-vida ( $t_{1/2}$ ) do composto que é o tempo requerido para que a metade da concentração do agrotóxico desapareça independente de sua concentração inicial no ambiente. Em outras palavras, se um agrotóxico tem uma meia-vida de dez dias, a metade do ingrediente ativo normalmente degrada até dez dias após a sua aplicação, o composto continua a ser degradado na mesma taxa depois desse período. Assim, se a meia-vida do agrotóxico é de 30 dias, a metade será encontrada no ambiente após 30 dias, um quarto após 60 dias, um oitavo após 90 dias e assim por diante (BARRIGOSI; LANNA; FERREIRA, 2005).

A determinação do tempo de meia-vida ( $t_{1/2}$ ) de um agrotóxico pode ser influenciada por muitos fatores relacionados às condições ambientais, tais como: solo,

clima (temperatura, umidade, luz solar) e atividade biológica. O conhecimento da meia-vida dos agrotóxicos no solo e na água é importante para saber seu potencial impacto no ambiente. Se por exemplo um produto é muito tóxico, mas tem curta meia-vida ele tem baixo potencial de causar impacto no ambiente porque sua degradação será rápida (PEREIRA *et al.*, 2016).

Em relação a composição química, os agrotóxicos possuem uma enorme diversidade estrutural, sendo divididos em diferentes classes de acordo com as suas similaridades. Os grupos mais conhecidos são os organofosforados, organoclorados, carbamatos e piretróides, essas denominações estão relacionadas com a natureza dos elementos químicos presentes na composição dos agrotóxicos (JAYARAJ; MEGHA; SREEDEV, 2016).

Os organoclorados foram um dos primeiros a serem desenvolvidos e utilizados, e possuem na sua estrutura química carbono (C), hidrogênio (H) e cloro (Cl). A ligação carbono-cloro caracteriza-se por ser difícil de romper, e a presença do Cloro (Cl) reduz também a reatividade desses compostos. Para muitas aplicações, a falta de reatividade é uma vantagem importante, porém essa mesma propriedade significa que os organoclorados tenham tendência a se acumular no ecossistema devido a sua difícil degradação. As características mais comuns para os organoclorados são: baixa solubilidade em água; elevada solubilidade em solventes orgânicos; baixa pressão de vapor e alta estabilidade química; são persistentes no ambiente, com tendência a acumular nos tecidos dos seres vivos; toxicidade relativamente alta para insetos (NASCIMENTO; MELNYK, 2016).

Os agrotóxicos organofosforados apresentam átomos de carbono e fósforo em sua estrutura, constituindo uma importante classe de inseticidas, geralmente derivados dos ácidos fosfórico e tiosfosfórico. Oferecem como vantagem a fácil degradação, porém os organofosforados inativam irreversivelmente a enzima Colinesterase, essencial para a função nervosa em humanos, insetos e muitos outros animais, sendo um inseticida que apresenta uma toxicidade aguda mais elevada para humanos e outros mamíferos do que os organoclorados. A intoxicação por essas substâncias pode ocorrer por exposição via inalação, ingestão ou absorção através da pele, podendo levar a problemas imediatos de saúde. Mesmo que os organofosforados degradam-se facilmente por hidrólise, ainda são detectados em amostras de alimentos e água (SANCHES *et al.*, 2003).

Os carbamatos constituem o grupo mais versátil dos agrotóxicos, encontra-se compostos que podem ser utilizados como inseticidas, herbicidas, fungicidas e até mesmo antibacterianos (SANCHES *et al.*, 2003). Os carbamatos são compostos orgânicos derivados do ácido carbâmico ( $\text{NH}_2\text{COOH}$ ), sendo o modo de ação desta classe semelhante à dos inseticidas organofosforados com a vantagem de ser mais rapidamente degradado, os carbamatos se decompõem no ambiente em semanas ou meses. Desta forma, esses compostos não tendem a se acumular no ecossistema, e apesar de serem tóxicos, os carbamatos são considerados relativamente menos tóxicos, mais seguros portanto, quando comparado aos organoclorados e organofosforados (JAYARAJ; MEGHA; SREEDEV, 2016).

Os piretróides são uma classe de compostos químicos sintéticos similar às substâncias naturais piretrinas produzidas pelas flores do gênero *Pyrethrum* (*Chrysanthemum cinerariaefolium* e *C. coccineum*), esses compostos afetam os canais de sódio e levam à paralisia os organismos alvo (JAYARAJ; MEGHA; SREEDEV, 2016). Os piretróides são, atualmente, os inseticidas mais utilizados, pois apresentam baixa toxicidade em mamíferos, baixo impacto ambiental, são efetivos contra os insetos e são necessárias pequenas quantidades para exercerem sua ação. Por outro lado, a exposição a níveis muito altos desses compostos no ar, alimentos ou na água pode causar tontura, dor de cabeça, vômito, espasmos musculares, convulsões e perda de consciência (NASCIMENTO; MELNYK, 2016).

## 2.5 AGROTÓXICOS NO BRASIL

A agricultura a partir do processo de inovação dos modos de produção configura-se pela utilização de novas técnicas, equipamentos altamente tecnológicos e diversidade de insumos, os quais os agrotóxicos são os elementos principais. Esse conjunto de métodos foi determinante para a mudança nos moldes de produção agrícola no Brasil, que se tornou altamente eficiente e rentável (VIEIRA *et al.*, 2018).

Neste processo, teve papel central a criação, em 1965, do Sistema Nacional de Crédito Rural, que vinculava a obtenção de crédito agrícola à obrigatoriedade da compra de insumos químicos pelos agricultores. Outro elemento chave foi a criação, em 1975, do Programa Nacional de Defensivos Agrícolas, no âmbito do II Plano Nacional de Desenvolvimento (PND), que proporcionou recursos financeiros para a criação de empresas nacionais e a instalação no país de subsidiárias de empresas transnacionais de insumos agrícolas (LONDRES, 2011). Um outro fator ainda a

colaborar de forma marcante para a enorme disseminação da utilização dos agrotóxicos no Brasil foi o marco regulatório defasado e pouco rigoroso que vigorou até a aprovação da Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989 (BRASIL, 1989), que dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências.

O Brasil é um dos maiores produtores agropecuários do mundo e o segundo país que mais exporta esses produtos, desempenhando um importante papel na economia global. Para manter tal produção, este setor utiliza intensivamente sementes transgênicas e insumos químicos, como fertilizantes e agrotóxicos. A extensa área de plantio no Brasil proporciona ao país ser um dos maiores consumidores de agrotóxicos no mundo (PIGNATI *et al.*, 2017). A partir dos anos 2000, o Brasil tem apresentado a maior taxa de crescimento das importações mundiais de agrotóxicos, transformando-se no segundo maior mercado nacional (PELAEZ *et al.*, 2015). Além disso, o Brasil se tornou também o principal destino de produtos banidos no exterior. Segundo dados da Anvisa, são usados nas lavouras brasileiras pelo menos dez produtos banidos na União Europeia (UE), Estados Unidos, China e outros países (LONDRES, 2011).

Com o crescimento demográfico, a demanda de alimentos aumentou, portanto, para garantir alimentos suficientes e de qualidade à população, faz-se o uso de agrotóxicos. Porém, esses compostos são aplicados em quantidades significativas e em áreas extensas tendo como principal destino o meio ambiente. Os recursos hídricos são os mais afetados pelos agrotóxicos devido à agricultura exigir um elevado suprimento de água, o que conduz o desenvolvimento das atividades agrícolas próximo a rios e lagos. O comprometimento destes recursos naturais gera graves prejuízos à saúde humana, principalmente quando estes são utilizados para abastecimento público (CABRERA; COSTA; PRIMEL, 2008).

## **2.6 CONTAMINAÇÃO DA ÁGUA POR AGROTÓXICOS**

A água é um recurso natural indispensável à sobrevivência da vida no planeta Terra, sendo a produção de alimentos dependente desse recurso. A utilização de técnicas modernas nos sistemas de produção agrícola provocou a introdução de uma

grande variedade de substâncias sintéticas no meio ambiente. Dentre estas substâncias, os agrotóxicos recebem grande destaque por representarem um risco ambiental quando utilizados de forma excessiva e incorreta pelo homem (STEFFEN; STEFFEN; ANTONIOLLI, 2011). Existem várias rotas pelas quais os agrotóxicos contaminam o meio ambiente, a dispersão desses compostos em diferentes compartimentos ambientais é afetada por vários processos. Há evidências de que solos, sedimentos, água superficial e subterrânea dos agroecossistemas estão contaminados com níveis variáveis de resíduos de agrotóxicos, em concentrações que variam de  $\mu\text{g}$  a  $\text{mg}$  por L ou  $\text{kg}$  (VRYZAS, 2018).

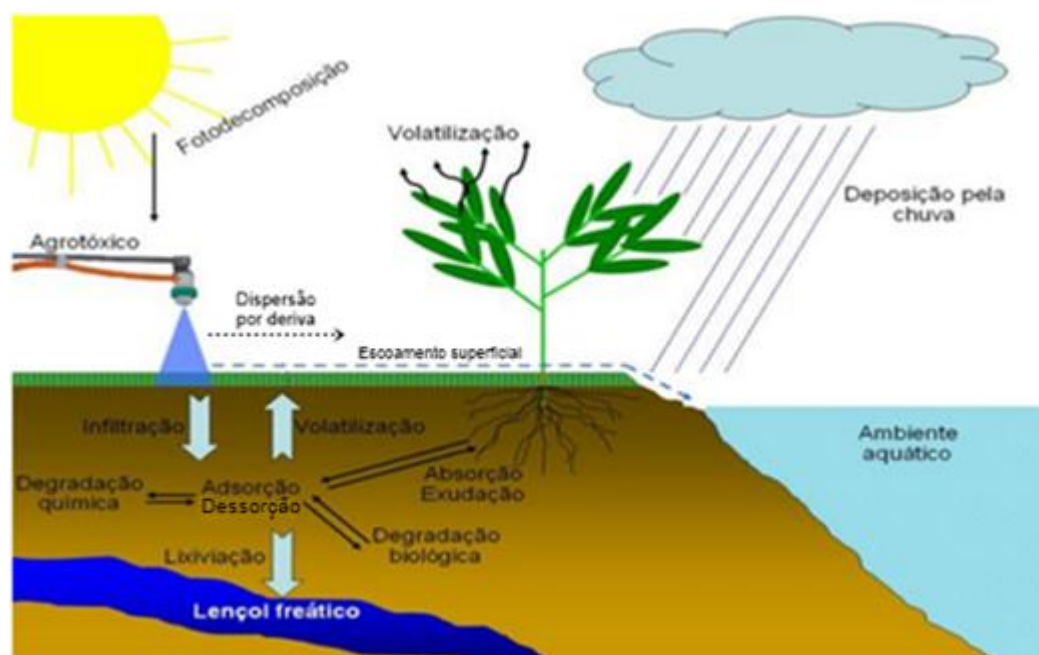
Após a aplicação dos agrotóxicos nas culturas, o destino das moléculas destes produtos será determinado pela retenção, transporte e/ou degradação desses compostos químicos liberados no meio ambiente. A retenção, o transporte e, indiretamente, a degradação são processos basicamente influenciados pelo fenômeno da sorção. Este fenômeno decorre da partição do agrotóxico entre a fase sólida e a solução do solo, sendo dependente das propriedades físico-químicas dos colóides do solo e do agrotóxico (STEFFEN; STEFFEN; ANTONIOLLI, 2011). O transporte dos agrotóxicos ocorre pela volatilização, deriva de pulverização, lavagem e escoamento, lixiviação e drenagem, enquanto a degradação dos agrotóxicos ocorre através da fotólise, hidrólise e da decomposição biótica e abiótica (GMUREK; OLAK-KUCHARCZYK; LEDAKOWICZ, 2017).

Os agrotóxicos podem atingir corpos d'água de forma difusa ou pontual, a contaminação difusa é responsável pela detecção de baixa concentração de agrotóxicos, enquanto fontes pontuais resultam em um alto nível de contaminação. Existem inúmeras maneiras dos agrotóxicos atingirem e contaminarem os corpos d'água. A aplicação por spray, o plantio de sementes com agrotóxicos e a dispersão por deriva destes compostos pelo vento levam à contaminação direta das águas superficiais. A dissipação dos agrotóxicos no ambiente aquoso varia de acordo com as condições do mesmo, como por exemplo: a temperatura, pH, matéria orgânica dissolvida, material em suspensão, entre outras (VRYZAS, 2018).

Quando a molécula se encontra na solução do solo, pode ser absorvida pelo sistema radicular das plantas, lixiviada para camadas mais profundas do solo, podendo atingir águas subterrâneas ou ainda ser volatilizada. Os agrotóxicos adsorvidos nos compartimentos do solo também podem ser movidos através do

movimento de partículas e sedimentos em suspensão durante períodos de chuva. Todos esses processos ocorrem simultaneamente no solo, em intensidades diferentes e estão representados na Figura 2 (LAVORENTI; PRATA; REGITANO, 2003).

Figura 2 - Representação dos processos que podem ocorrer com uma molécula de agrotóxico quando inserida no meio ambiente.



Fonte: Adaptado de Lavorenti (2003).

A molécula de um determinado agrotóxico pode ser retida pelos colóides minerais e orgânicos, ou ser novamente liberada para a solução do solo, através de um processo denominado dessorção. A molécula também pode ser transformada em outras, chamadas de metabólitos ou produtos de degradação. Para muitas moléculas de agrotóxicos, o ponto final dessa degradação é a conversão da molécula a gás carbônico, água e íons minerais, o que acontece normalmente, via ação de microrganismos. Agrotóxicos polares são mais propensos a serem carregados pelo escoamento superficial durante a chuva ou irrigação devido a sua solubilidade em água (BERTI *et al.*, 2009).

O escoamento superficial e a lixiviação são as maiores rotas de dispersão dos agrotóxicos para os sistemas aquáticos. As propriedades físico-químicas são fatores determinantes para saber o potencial de lixiviação de um agrotóxico. Além disso, a biodegradação, a porosidade do solo, a hidrogeologia e as características dos aquíferos afetam a extensão da contaminação das águas subterrâneas (STEFFEN; STEFFEN; ANTONIOLLI, 2011). Embora a maioria dos produtos de degradação

destes compostos não seja incluída nos estudos de monitoramento, eles geralmente são mais abundantes do que seus compostos originais nos corpos d'água, sendo interessante o desenvolvimento de estudos mais amplos para incluir a detecção desses produtos nos monitoramentos.

## **2.7 LEGISLAÇÃO E QUALIDADE DA ÁGUA**

Devido aos efeitos adversos que os agrotóxicos podem causar à saúde, a maioria dos países regulam seus valores máximos permitidos (VMPs) e estabelecem programas para o monitoramento desses compostos em recursos hídricos (FORTUNY *et al.*, 2013). No Brasil, assim como nos demais países emergentes, a preocupação com os corpos d'água aumentou nos últimos anos, principalmente aqueles destinados para o abastecimento da população. Com isso, é importante a utilização de instrumentos de gestão ambiental que induzam um bom comportamento dos usuários de recursos hídricos de forma a racionalizar o consumo e controlar possíveis contaminações. Esses instrumentos implicam na imposição de normas para o acesso e utilização dos recursos naturais, tais como padrões de emissão, licenças e controle do uso do solo e da água (DEMAJOROVIC; CARUSO; JACOBI, 2015).

Através da Lei 9.433, de 8 de janeiro de 1997 (BRASIL, 1997), a qual constitui a Política Nacional de Recursos Hídricos, e cria o Sistema Nacional de Gerenciamento de Recursos Hídricos, a água é considerada legalmente como um bem de domínio público, dotado de valor econômico e cujo uso prioritário em situações de escassez, deve ser o consumo humano e animal. Ainda, a lei tem por finalidade assegurar às futuras gerações a disponibilidade de água em padrões de qualidade necessários aos respectivos usos, promover a utilização racional e integrada dos recursos hídricos com vista ao desenvolvimento sustentável e garantir a proteção deste bem.

A resolução do Conselho Nacional de Meio Ambiente (CONAMA) 357/2005, dispõe sobre a classificação dos corpos d'água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento. O objetivo deste enquadramento é assegurar que a qualidade dos corpos d'águas esteja compatível com o uso pretendido e diminuir os custos de combate à poluição das águas, mediante ações permanentes. Este enquadramento divide os corpos hídricos em classes, sendo elas: especial, classe 1, classe 2, classe 3 e classe 4, quanto maior o número da classe menor é a qualidade da água e conseqüentemente menos exigente é o seu padrão ambiental (BRASIL, 2005).

Dentre os diversos parâmetros desta resolução que são utilizados no enquadramento dos corpos hídricos, alguns agrotóxicos possuem Valores Máximos Permitidos (VMP) de concentração ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ). A Tabela 1 apresenta os VMPs destes agrotóxicos referentes aos corpos hídricos de classe 1, que são águas que podem ser utilizadas para consumo humano após tratamento simplificado (BRASIL, 2005).

Tabela 1 - Valores Máximos Permitidos (VMP) para agrotóxicos referentes ao enquadramento da água classe 1 de acordo com a Resolução do CONAMA 357/2005.

<b>Agrotóxicos</b>	<b>VMP (<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>	<b>Agrotóxicos</b>	<b>VMP (<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>
2,4-D	4,0	Glifosato + AMPA	65
2,4,5 -T	2,0	Gution	0,005
2,4,5-TP	10	Heptacloro	0,01
Alacloro	20	Hexaclorobenzeno	0,0065
Aldrin +Dieldrin	0,005	Lindano	0,02
Atrazina	2,0	Malationa	0,1
Carbaril	0,02	Metolacloro	10
Clordano	0,04	Metoxicloro	0,03
DDT+DDD+DDE	0,002	Parationa	0,04
Demeton	0,1	Pentaclorofenol	0,009
Endossulfan ( $\alpha$ , $\beta$ e sais)	0,056	Simazina	2,0
Endrin	0,004	Trifluralina	0,2

Fonte: Brasil (2005).

O padrão de potabilidade vigente no Brasil é estabelecido pela Portaria de consolidação nº 5, de 28 de setembro de 2017, Anexo XX, que dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Essa portaria vem sofrendo alterações desde 1997, de acordo com as novas necessidades para a qualidade da água para consumo humano (BRASIL, 2017).

Os Valores Máximos Permitidos para os agrotóxicos na água foram definidos em função de avaliações quantitativas de risco químico devido às características toxicológicas de cada composto, onde é possível estimar a concentração limite que pode ser ingerida continuamente ao longo da vida, sem apresentar riscos consideráveis à saúde. Os padrões de potabilidade englobam parâmetros microbiológicos, físicos e químicos (BRASIL, 2017). A Tabela 2 apresenta os agrotóxicos monitorados e seus respectivos VMP ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) estabelecidos pela Portaria de consolidação nº 5, Anexo XX.



Tabela 2 - Valores Máximos Permitidos (VMP) para agrotóxicos em água potável de acordo com a Portaria de consolidação nº 5, Anexo XX do Ministério da Saúde.

<b>Agrotóxicos</b>	<b>VMP (<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>	<b>Agrotóxicos</b>	<b>VMP (<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>
2,4-D + 2,4,5 T	30	Lindano	2
Alaclor	20	Mancozebe	180
Aldicarbe+Aldicarbe sulfona+Aldicarbe sulfóxido	10	Metamidofós	12
Aldrin + Dieldrin	0,03	Metolacloro	10
Atrazina	2	Molinato	6
Carbendazim + benomil	120	Parationa metílica	9
Carbofurano	7	Pendimetalina	20
Clordano	0,2	Permetrina	20
Clorpirifós + clorpirifós-oxom	30	Profenofós	60
DDT+DDD+DDE	1	Simazina	2
Diuram	90	Tebuconazol	180
Endossulfan ( $\alpha$ , $\beta$ e sais)	20	Terbufós	1,2
Endrin	0,6	Trifluralina	20
Glifosato + AMPA	500		

Fonte: Brasil (2017).

Para ampliar o escopo de agrotóxicos da Portaria de consolidação nº 5, Anexo XX, a Secretaria de Saúde do estado do Rio Grande do Sul (SES/RS) publicou a Portaria SES/RS 320 de 28/04/2014. Esse documento estabelece parâmetros adicionais de agrotóxicos ao padrão de potabilidade da água para substâncias químicas, no controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano (SES/RS, 2014). A Portaria da SES/RS 320, inédita no Brasil, determina que os serviços de abastecimento de água passem a analisar a presença dos agrotóxicos utilizados nas lavouras do estado, além dos que já constam na Portaria de consolidação nº 5, Anexo XX. A SES/RS fez uma avaliação identificando quais eram os agrotóxicos mais utilizados nas principais lavouras agrícolas do Rio Grande do Sul, tendo como objetivo adequar o monitoramento da qualidade da água para consumo humano à realidade da utilização dos agrotóxicos no estado. Os agrotóxicos monitorados e seus respectivos VMP ( $\mu\text{g L}^{-1}$ ) estabelecidos pela Portaria da SES/RS 320 estão descritos na Tabela 3.

Tabela 3 - Valores Máximos Permitidos (VMP) para agrotóxicos em água potável de acordo com a Portaria da SES/RS 320 da Secretaria Estadual de Saúde do RS.

<b>Agrotóxicos</b>	<b>VMP (<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>	<b>Agrotóxicos</b>	<b>VMP (<math>\mu\text{g L}^{-1}</math>)</b>
Abamectina	12	Folpet	600
Acefato + Metamidofós	4,8	Fomesafem	18
Bifentrina	120	Gama-cialotrina	6
Carbaril	18	Hidrazida maleica	1800
Cianamida	12	Imazetapir	1500
Cipermetrina	300	Imidacloprido	300
Ciproconazol	60	Indoxacarbe	60
Cletodim	60	Iodosulfurom-metilico	180
Clorimurom-etílico	120	Ioxinil octanato	30
Clorotalonil	180	Lambda-cialotrina	30
Cresoxim-metil	2400	Mesotriona	30
Diazinona	12	Metalaxil-m (Mefenoxam)	480
Difenoconazol	60	Metamitrona	150
Diflubenzuron	120	Metidationa	6
Dimetoato	12	Metiram + Mancozebe	180
Ditianona	60	Metsulfuron metil	60
Epoxiconazol	18	Picoxistrobina	258
Etoxisulfuron	240	Tembotriona	2,4
Fenitrotiona	30	Tetraconazol	30
Fenoxaprop-p-etílico	15	Tiametoxam	120
Fentiona	42	Tiodicarbe	180
Fipronil	1,2	Tiofanato-metilico+Carbendazim+Benomil	120
Flutriafol	60	Triciclazol	180

Fonte: SES/RS (2014).

As legislações internacionais são bastante rígidas em relação aos VMP de agrotóxicos em água potável. Desde 1980, a Comunidade Europeia, estabelece que o VMP como  $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$  para qualquer agrotóxico em água que é destinada para o consumo humano. Além disso, o somatório de todos os agrotóxicos presentes não pode ser superior a  $0,5 \mu\text{g L}^{-1}$  (COUNCIL DIRECTIVE, 1980).

No Brasil há carência de dados sobre os níveis de contaminação por agrotóxicos no meio ambiente, bem como existem dificuldades técnicas para implementar a Portaria de consolidação nº 5, Anexo XX. Portanto, é necessário o desenvolvimento de métodos analíticos simples e eficientes para a averiguar se os níveis de concentração dos resíduos de agrotóxicos em amostras de água estão de acordo com os estabelecidos pela legislação, a fim de assegurar a saúde do consumidor e a integridade do meio ambiente.

## 2.8 DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM ÁGUA

A utilização de agrotóxicos nas lavouras oferece benefícios indiscutíveis no fornecimento de alimentos de alta qualidade com preços relativamente baixos. No entanto, sua aplicação excessiva pode deixar resíduos nocivos, que incluem metabólitos e produtos de degradação no meio ambiente (como solo, água, plantas e alimentos). A presença desses resíduos nessas matrizes tornou-se um grande problema, podendo provocar sérios danos na saúde dos seres vivos e no meio ambiente dependendo da concentração (SAMSIDAR; SIDDIQUEE; SHAARANI, 2018). Existem vários estudos sobre a análise de resíduos de agrotóxicos em matrizes aquosas, essas análises são difíceis de serem executadas, uma vez que esses compostos possuem diferentes propriedades físico-químicas e ocorrem em concentrações extremamente baixas na água. Com isso, existe a necessidade de técnicas analíticas de detecção de alta sensibilidade e seletividade para realizar essas análises e atender aos requisitos estabelecidos nas legislações em relação à água para consumo humano (WILLE *et al.*, 2012).

Geralmente, a determinação de agrotóxicos usando métodos analíticos envolve várias etapas, como amostragem, preparo de amostra (homogeneização, extração e limpeza), separação, detecção e análise de dados. O preparo de amostra tem dois objetivos principais: a extração dos analitos a partir da amostra e a separação dos analitos de possíveis interferentes presentes na matriz, caso os interferentes não sejam removidos poderão afetar a identificação e a quantificação dos analitos. A extração líquido-líquido (LLE, do inglês *Liquid Liquid Extraction*) e extração em fase sólida (SPE, do inglês *Solid Phase Extraction*) são os métodos mais antigos e mais utilizados no preparo de amostras para determinação de baixas concentrações de agrotóxicos em água (CALDAS *et al.*, 2011). Até hoje, a maioria das metodologias oficiais de preparo de amostras ambientais são baseadas nessas técnicas.

Várias ferramentas analíticas para detecção de agrotóxicos em amostras ambientais estão disponíveis para determinação em níveis de partes por bilhão e muitas vezes em partes por trilhão. Normalmente são utilizados métodos analíticos clássicos, como cromatografia gasosa e líquida, cromatografia líquida de alta eficiência e eletroforese capilar, esses métodos têm alta sensibilidade e seletividade em baixos limites de detecção. No entanto, esses métodos têm algumas desvantagens como instrumentação cara e a necessidade de mão de obra altamente

qualificada. A segunda abordagem para a determinação de agrotóxicos é por métodos baseados nos princípios de sensores, esses métodos oferecem várias vantagens, incluindo operação rápida, simples e de baixo custo, alta sensibilidade e seletividade e análise da amostra no local. Porém, os sensores até o momento não podem atingir o mesmo nível de detecção que os métodos tradicionais, com isso, a determinação de resíduos de agrotóxicos nas mais diferentes matrizes, é comumente realizada utilizando técnicas cromatográficas, em função da sua capacidade de separação, identificação e quantificação dos compostos através de detectores apropriados com alta sensibilidade e seletividade (SAMSIDAR; SIDDIQUEE; SHAARANI, 2018).

É possível encontrar na literatura trabalhos relatando a dispersão e a presença de agrotóxicos em recursos hídricos em diferentes lugares do Brasil. Segundo Vieira (2017), foram detectados e quantificados oito agrotóxicos em mananciais de cinco municípios da região Sudoeste do Paraná, entretanto nenhuma apresentou concentração acima do limite máximo de resíduos estabelecido pela legislação brasileira. Levando em consideração os parâmetros recomendados pela legislação europeia, duas amostras apresentaram níveis de atrazina acima de  $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$  em cada uma delas, o que caracteriza um resultado fora dos padrões de água potável segundo essa legislação.

Ainda, em 2017, Donato e colaboradores analisaram 11 amostras de águas superficiais de diferentes bacias hidrográficas nas regiões central e norte do estado do Rio Grande do Sul. Foram detectados resíduos dos fungicidas azoxistrobina, difenoconazol, propoxur, piridabeno e tebuconazol, bem como herbicidas propargito, clomazona e atrazina, em várias amostras na faixa de  $0,03$  a  $0,35 \mu\text{g L}^{-1}$ . A ocorrência destes resíduos pode ser explicada pelo fato da intensa atividade agrícola no estado do Rio Grande do Sul.

Em 2008, Grützmacher e colaboradores, monitoraram a presença de 5 agrotóxicos nas águas do canal São Gonçalo e do rio Piratini, localizados na região sul do Estado do Rio Grande do Sul. Coletaram em cinco datas diferentes três amostras de água do rio Piratini e quatro do canal São Gonçalo durante o cultivo do arroz irrigado. Foram detectados resíduos de carbofurano, quincloraque, clomazona e fipronil nas amostras coletadas enquanto a betaciflutrina não foi detectada em nenhum local.

Matias & Tamanaha (2016), avaliaram a presença dos agrotóxicos quincloraque e carbofurano em água superficial de rios de áreas adjacentes à rizicultura da bacia do rio Camboriú, no estado de Santa Catarina. O monitoramento foi do mês de maio de 2014 até o mês de abril de 2015, levando em conta o período de safra do arroz. O carbofurano foi detectado nos meses de setembro ( $0,06 \mu\text{g L}^{-1}$ ) e novembro ( $0,01 \mu\text{g L}^{-1}$ ) de 2014 e no mês de outubro de 2014 ( $0,03 \mu\text{g L}^{-1}$ ). Já o agrotóxico quincloraque foi detectado no mês de outubro de 2014 ( $2,05 \mu\text{g L}^{-1}$ ).

Acayaba (2017) avaliou a presença de 9 agrotóxicos utilizados no cultivo de cana-de-açúcar no Estado de São Paulo em corpos d'água superficiais, localizados nas grandes regiões de cultivo. Oito rios (Jacaré-Guaçu, Do Ouro, Córrego Rico, Mogi-Guaçu, São Domingos, Turvo, Pardo e Sapucaí) foram amostrados cinco vezes, entre outubro de 2015 e outubro de 2016. Os agrotóxicos com maior frequência de detecção durante esse período foram o diurom, tebutiurom, hexazinona, ametrina e imidacloprido. Sendo o herbicida tebutiurom o composto detectado em maior concentração ( $0,214 \mu\text{g L}^{-1}$ ).

Em 2010, Santos avaliou a dispersão atmosférica e a deposição úmida de agrotóxicos (trifluralina, atrazina, metil paratiom, malationa, metolaclo, clorpirifós,  $\alpha$ - e  $\beta$ -endossulfam, sulfato de endossulfam, flutriafol e permetrina) por meio da análise de amostras de ar e água de chuva de áreas rural e urbana de Lucas do Rio Verde no estado de Mato Grosso. Esse município se destaca nacionalmente como um dos principais polos de agronegócio pelos elevados índices de produtividade, especialmente nas culturas de soja e milho, como consequência desses indicadores, ressalta o elevado consumo de agrotóxicos. Das 39 amostras de água de chuva coletadas, foram detectados 6 dos 11 agrotóxicos avaliados, as concentrações detectadas variaram de  $0,05$  a  $4,90 \mu\text{g L}^{-1}$  na área urbana.

Ainda, em 2016, Sousa e colaboradores, avaliaram a presença de resíduos de agrotóxicos em 10 reservatórios de água do estado do Ceará. A partir dos resultados obtidos, os autores observaram que 60% das amostras tinham o composto atrazina em altas concentrações (aproximadamente  $15 \mu\text{g L}^{-1}$ ), apresentando níveis de 3 a 7 vezes maiores do que o valor máximo permitido pela Portaria de consolidação nº 5, Anexo XX no Brasil.

### 2.8.1 TÉCNICAS CROMATOGRÁFICAS PARA A DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM AMOSTRAS DE ÁGUA

A determinação de resíduos de agrotóxicos tem se tornado um grande desafio devido ao grande número de agrotóxicos e seus metabólitos existentes, e baixos níveis de concentração em diferentes matrizes. A análise desses compostos tem sido realizada por meio de técnicas analíticas tradicionais com diferentes tipos de detectores, incluindo cromatografia gasosa e cromatografia líquida de alta eficiência (SAMSIDAR; SIDDIQUEE; SHAARANI, 2018). A cromatografia é uma técnica na qual os componentes de uma solução são separados com base nas diferentes velocidades que são transportados através de uma fase estacionária (coluna cromatográfica) por uma fase móvel líquida (cromatografia líquida) ou gasosa inerte (cromatografia gasosa), um detector é posicionado ao final da coluna cromatográfica para registrar o sinal do analito eluído da coluna para análise qualitativa e quantitativa deste composto (SKOOG *et al.*, 2008).

Na cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC, do inglês *High Performance Liquid Chromatography*) a separação é realizada pelas diferentes interações dos compostos com a fase estacionária e a fase móvel, sendo aplicada como método de separação e determinação de agrotóxicos polares e não voláteis (AHMED, 2001).

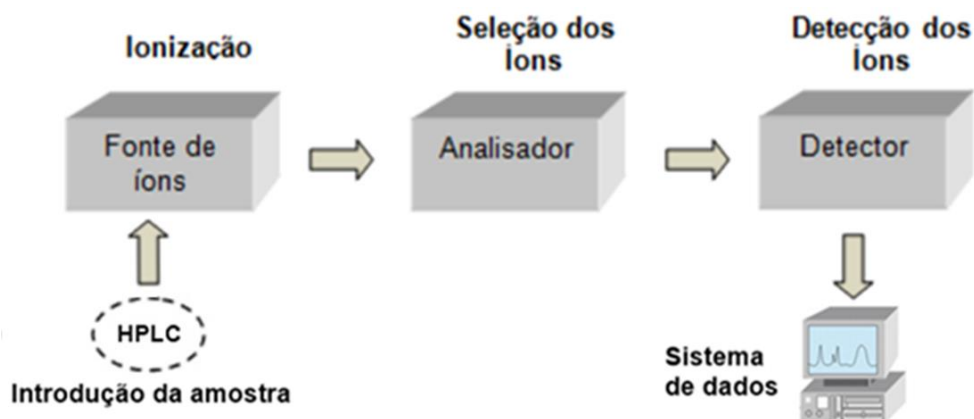
Os detectores mais comuns para a cromatografia líquida são os detectores por arranjo de diodos (DAD) e por fluorescência. Esses detectores apresentam algumas limitações, possuindo menos aplicações quando comparados a espectrometria de massas (MS). Além disso, a espectrometria de massas pode ser acoplada a ambas as técnicas cromatográficas (GC e LC) para a análise de resíduos de agrotóxicos em amostras ambientais e alimentos (SANTÉ, 2020).

O acoplamento de um cromatógrafo com o espectrômetro de massas é o mais utilizado pois combina as vantagens da cromatografia (alta seletividade e eficiência de separação) com as vantagens da espectrometria de massas (obtenção de informação estrutural, massa molar e aumento adicional da seletividade). Para que o acoplamento seja possível, idealmente, é necessário que as características de cada instrumento não sejam afetadas por essa conexão, assim como não devem ocorrer modificações químicas do analito ou perda de amostra durante a sua passagem entre o sistema cromatográfico para o espectrômetro de massas (CHIARADIA; COLLINS; JARDIM, 2008). Atualmente, os métodos para a determinação de agrotóxicos têm sido

elaborados por meio das técnicas de cromatografia gasosa e a cromatografia líquida acopladas à espectrometria de massas (TSIPI *et al.*, 2015).

A Figura 3 ilustra um esquema genérico e simplificado do acoplamento de um cromatógrafo com o espectrômetro de massas. O espectrômetro de massas consiste em uma fonte de íons, um analisador ou separador de massas e um detector, sendo que os dois últimos são operados sob condições de alto vácuo. A fonte de íons nem sempre estará sob vácuo, podendo ficar em pressão atmosférica. Os analitos entram na fonte de ionização depois de serem separados pela coluna cromatográfica, onde são convertidos a íons e frequentemente fragmentados. Então, os íons passam para o analisador no qual são separados de acordo com a suas razões massa/carga. A seguir, os íons separados atingem um detector no qual produzem um sinal elétrico que é registrado e representado na forma de gráfico pelo sistema de dados (SKOOG *et al.*, 2008).

Figura 3 - Esquema das principais partes de um espectrômetro de massa.



Fonte: Adaptado de SKOOG *et al.* (2008).

As fontes de ionização que apresentam um acoplamento de maior eficiência do sistema LC-MS produzem íons a pressão atmosférica. As técnicas mais utilizadas são: ionização por eletronebulização (ESI, do inglês *electrospray ionization*), ionização química à pressão atmosférica (APCI, do inglês *atmospheric pressure chemical ionization*) e ionização por fótons à pressão atmosférica (APPI, do inglês *atmospheric pressure photon ionization*) (TSIPI *et al.*, 2015).

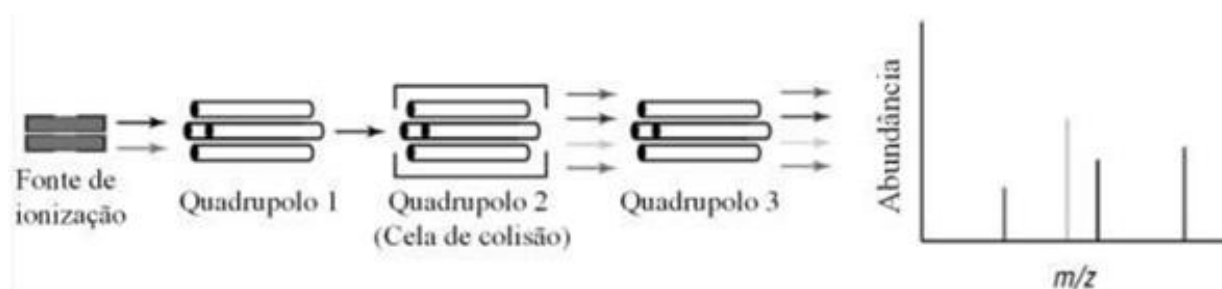
A ionização por eletronebulização é o modo de ionização mais aplicado ao sistema LC-MS, essa fonte consiste na formação de íons a pressão atmosférica, onde uma amostra dissolvida em um solvente é pressurizada em um tubo capilar, sob uma

tensão entre 3000 e 5000 volts. Dessa forma o eluente da coluna se transforma em um aerossol e os analitos são dessolvatados. O mecanismo dessa técnica fundamenta-se na “explosão” coulômbica, onde à medida que as gotículas de solvente são evaporadas, a carga do analito permanece inalterada, porém, como a tensão superficial das gotículas é incapaz de se oporem às forças repulsivas resultantes de carga opostas, as mesmas explodem em muitas gotículas. Isso ocorre até que apenas o íon do analito permaneça, após a completa dessolvatação é formado o íon em fase gasosa o qual é induzido ao espectrômetro de massas. Esse processo é auxiliado por um fluxo de gás seco, sendo o gás nitrogênio amplamente utilizado (LANÇAS, 2009).

A seleção de íons pode ser realizada pela espectrometria de massas nas configurações *single* ou triplo quadrupolo, armadilha de íons (do inglês, *ion trap*), tempo de voo (do inglês, *time-of-flight*) ou *Orbitrap*. Essa seleção ocorre através da diferença de razão massa/carga ( $m/z$ ) dos íons, sendo posteriormente detectados qualitativamente e quantitativamente (CHIARADIA; COLLINS; JARDIM, 2008; SANTÉ, 2020).

O espectrômetro de massas do tipo triplo quadrupolo é o mais utilizado e tem a configuração de três quadrupolos em série (Figura 4), sendo que o segundo quadrupolo (Q2) não realiza a separação de íons de razão  $m/z$  específica, mas atua como uma cela de colisão. Na cela de colisão, é promovida a fragmentação dos íons selecionados no primeiro quadrupolo através de uma dissociação induzida por colisão com um gás inerte (CID, do inglês *collision-induced dissociation*), sendo esse gás também utilizado para o direcionamento desses íons, conhecidos como íons filhos ou produto ao terceiro quadrupolo. No primeiro e terceiro quadrupolo (Q1 e Q3), ocorre a seleção de íons com uma única razão  $m/z$  ou de um grupo de razões  $m/z$  para posterior obtenção de um sinal analítico (SKOOG *et al.*, 2008; TSIPI *et al.*, 2015).

Figura 4 - Esquema de um analisador triplo quadrupolo.



Fonte: Adaptado de Niculau *et al.* (2016).



Dentre as estratégias para a seleção dos íons para obter o espectro de massas em MS/MS, estão a varredura completa (do inglês, *Full Scan*), o monitoramento de íon selecionado (SIM, do inglês *Selected Ion Monitoring*), a varredura de íon produto, varredura de íon precursor e o monitoramento de reações selecionadas (SRM, do inglês *Select Reaction Monitoring*). No modo SRM é monitorada a fragmentação de um íon precursor selecionado no Q1 e seus correspondentes íons produto que são filtrados no Q3. Esse método permite que o equipamento focalize apenas no precursor e no produto, aumentando a sensibilidade e a seletividade do monitoramento (CALDAS *et al.*, 2011; TSIPI *et al.*, 2015).

O detector é o último módulo de um espectrômetro de massas, nessa etapa ocorre o registro da carga induzida ou da corrente produzida quando um íon atravessa ou atinge a superfície do detector. Existe uma variedade de detectores para MS, sendo os detectores baseados no multiplicador de elétrons (EM, do inglês *Electron Multiplier*) os mais utilizados atualmente (LANÇAS, 2009).

### **2.8.2 PREPARO DE AMOSTRA PARA A DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM ÁGUA**

O preparo de amostra é uma das etapas mais importantes da análise química, sendo realizada para a extração e concentração dos analitos, além da limpeza do extrato da amostra. Existem várias técnicas de preparo de amostra disponíveis e o método selecionado deve estar de acordo com as propriedades físico-químicas dos analitos, o tipo de matriz e ser compatível com o equipamento analítico. O preparo de amostra inclui várias etapas: solubilização, extração, concentração e/ou isolamento dos compostos de interesse, entre outras (OMENA *et al.*, 2019).

Nos últimos anos, ocorreu um rápido desenvolvimento de novos métodos analíticos, visando à determinação de resíduos de agrotóxicos em amostras ambientais e em alimentos. Esses novos métodos tiveram como objetivo substituir os métodos tradicionais de preparo de amostra que apresentavam vários aspectos negativos como a morosidade de suas diversas etapas, o emprego de grandes volumes de solvente, o alto custo (PRESTES; ADAIME; ZANELLA, 2011) e a alta toxicidade dos solventes empregados. Nesse sentido, é importante o desenvolvimento de ferramentas analíticas eficientes para a extração de vários compostos orgânicos em um tempo adequado e com consumo mínimo de solvente (OMENA *et al.*, 2019).

As limitações na determinação de resíduos de agrotóxicos foram minimizadas após o desenvolvimento de métodos multirresíduo. Esses apresentam como vantagens a possibilidade de analisar um grande número de compostos, altos percentuais de recuperação dos analitos, a remoção dos possíveis interferentes da amostra, boa precisão e robustez, baixo custo, rapidez, facilidade e segurança (utilizam pequenos volumes de solventes de baixa toxicidade) (PRESTES; ADAIME; ZANELLA, 2011). Esses aspectos devem ser levados em conta durante o desenvolvimento e a validação de um método de preparo de amostra.

Para amostras de água, os métodos de preparo de amostra tradicionais são a extração líquido-líquido e a extração em fase sólida. A extração líquido-líquido consome muito tempo, é morosa e utiliza grandes volumes de solventes orgânicos potencialmente tóxicos. Por outro lado, a SPE apresenta várias vantagens, como conveniência, menor custo, simplicidade, menor consumo de solventes orgânicos, possibilidade de análise multirresíduo e capacidade de combinar com diferentes técnicas de detecção, seja no modo *on-line* ou *off-line*. Além disso, uma das principais vantagens da extração em fase sólida é a disponibilidade de uma ampla gama de solventes com diferentes estruturas químicas, o que resulta em diferentes mecanismos de extração (FARAJI; YAMINI; GHOLAMI, 2019), podendo ser utilizada para agrotóxicos com diferentes propriedades físico-químicas.

Com o desenvolvimento do conceito de extração em fase sólida, foram observados avanços significativos nessa tecnologia, incluindo simplificação, automação e miniaturização do conceito original. Nos últimos anos, especialmente após a introdução do conceito de Química Verde, existem muitos estudos para o desenvolvimento de métodos miniaturizados de preparo de amostra eficientes e econômicos (KUROWSKA-SUSDORF *et al.*, 2019). Eles são chamados de métodos de microextração e tem como vantagem a redução da quantidade de solvente e reagentes orgânicos utilizados durante a extração, além da necessidade de uma pequena quantidade de amostra para a realização do procedimento. As técnicas baseadas em microextração comumente relatadas incluem a microextração em fase sólida (SPME, do inglês *Solid Phase Micro Extraction*), a extração sortiva em barra de agitação (SBSE, do inglês *Stir Bar Sorptive Extraction*) e a extração sortiva em disco rotativo (RDSE, do inglês *Rotating Disk Sorptive Extraction*) (KABIR; LOCATELLI; ULUSOY, 2017).

Apesar do avanço nas técnicas de preparo de amostra, a SPE ainda é a técnica mais empregada para extração e/ou concentração de resíduos de agrotóxicos em amostras de água, permitindo que analitos em baixas concentrações sejam detectados por técnicas cromatográficas.

### 2.8.2.1 EXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA

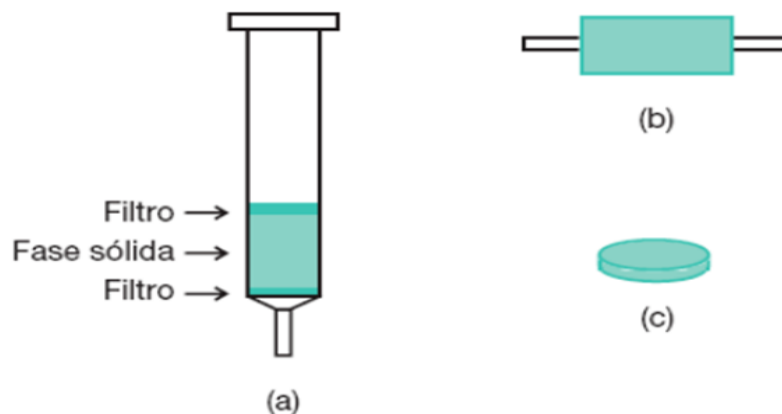
A extração em fase sólida é uma ferramenta amplamente utilizada para a extração e/ou concentração de compostos de uma amostra empregando um sorvente, onde os analitos são retidos para posterior eluição com um pequeno volume de solvente orgânico adequado. A SPE é comumente empregada em amostras líquidas e fluidas, porém também pode ser utilizada para amostras sólidas pré-extraídas por solventes (QUEIROZ; COLLINS; JARDIM, 2001).

As vantagens da SPE em comparação com a extração líquido-líquido são: menor consumo de solvente, ausência de emulsões, facilidade de automação, altas porcentagens de recuperação dos analitos, concentração do analito e uma variedade de equipamentos e sorventes para SPE disponíveis comercialmente. Por outro lado, a SPE apresenta como desvantagens o alto custo dos cartuchos e dos dispositivos comerciais multivias (*manifolds*), a morosidade do método e, eventualmente, a dificuldade em selecionar o sorvente adequado para a aplicação desejada. Além disso, os cartuchos são utilizados uma única vez e, geralmente, há baixa reprodutibilidade entre fabricantes e também entre lotes (JARDIM, 2015).

Na maioria das aplicações, os dispositivos de SPE mais empregados são os cartuchos na forma de seringa (Figura 5a) ou de barril (Figura 5b), devido à facilidade de manuseio, vasta disponibilidade comercial e menor custo. Um cartucho típico é formado por um tubo de polipropileno contendo cerca de 50 a 500 mg de sorvente, com 40-60  $\mu\text{m}$  de tamanho de partícula, fixado no tubo através de dois filtros. O terceiro formato de SPE mais utilizado é o disco ou membrana carregada de partícula (Figura 5c), nesse formato as partículas ativas, com tamanho entre 5 e 12  $\mu\text{m}$ , são imobilizadas em um suporte inerte e estável de microfibras de politetrafluoretileno (PTFE) ou vidro, um disco típico tem 47 mm de diâmetro interno, 0,5 mm de espessura e contém 500 mg de sorvente (JARDIM, 2015). As vantagens e desvantagens de cada formato de dispositivos para extração estão relacionadas à natureza, volume e quantidade de amostras. As diferenças entre os formatos estão associadas ao

empacotamento do sorvente e a estrutura das partículas (FARAJI; YAMINI; GHOLAMI, 2019).

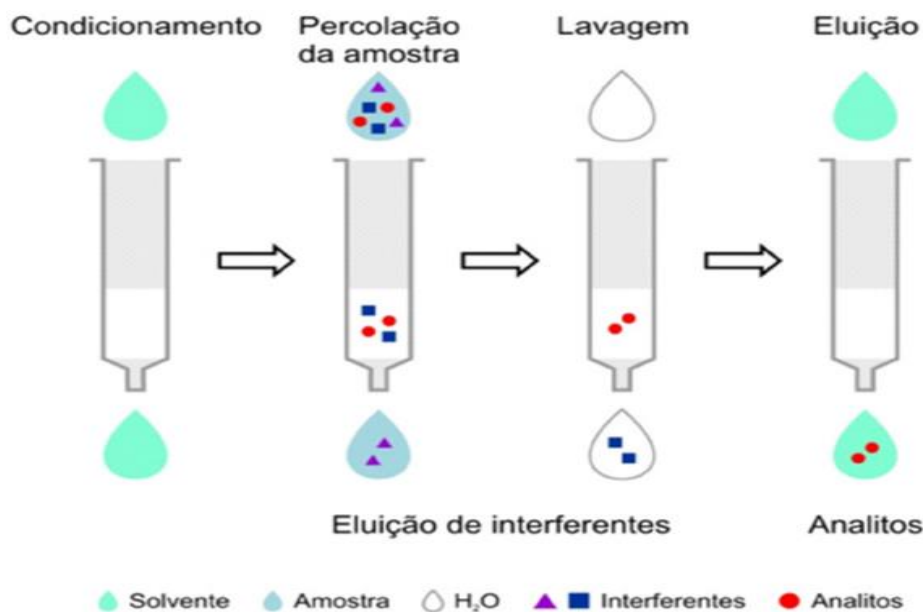
Figura 5 - Representação dos formatos de dispositivos para extração empregados em SPE: (a) forma de seringa; (b) cartucho inicial na forma de barril; (c) disco.



Fonte: Adaptado de JARDIM (2015).

A instrumentação básica empregada na SPE é extremamente simples, porém, pode ser sofisticada dependendo do grau de automação desejado (CALDAS *et al.*, 2011). As principais etapas da SPE para isolar e/ou concentrar analitos são: (1) condicionamento ou ativação do sorvente com solvente adequado, para ajustar as forças do solvente de eluição com o solvente da amostra; (2) introdução ou percolação da amostra, quando ocorre a retenção do analito e às vezes de alguns interferentes; (3) limpeza do sorvente para retirar os interferentes que ficaram retidos, etapa essa conhecida como lavagem com solvente ou *clean-up* e (4) eluição e coleta do analito (JARDIM, 2010). As etapas da SPE estão ilustradas na Figura 6.

Figura 6 - Etapas envolvidas na SPE: condicionamento, percolação da amostra, lavagem e eluição.



Fonte: Adaptado de CALDAS *et al.* (2011).

Uma ampla gama de sorventes para SPE são disponíveis comercialmente, como por exemplo C8, C18, carbono grafitizado, resina trocadora iônica e diversos materiais poliméricos. As fases sólidas ou sorventes utilizados na SPE são similares às fases estacionárias empregadas em cromatografia líquida, conseqüentemente, os mecanismos de retenção também são similares. Os principais mecanismos são: adsorção, partição (fase normal e reversa), troca iônica e exclusão por tamanho. Esses mecanismos estão associados aos processos químicos, físicos e mecânicos que acontecem com os compostos quando a amostra percola pelo sorvente (FARAJI; YAMINI; GHOLAMI, 2019).

A escolha do tipo e quantidade de sorvente, volume de amostra e solvente de eluição são alguns parâmetros que devem ser avaliados durante o desenvolvimento de um preparo de amostra por SPE (CALDAS *et al.*, 2011).

Para a escolha do sorvente deve ser levado em consideração as propriedades dos analitos e os interferentes da matriz. O volume de amostra utilizado pode variar de alguns µL a vários mL, dependendo da quantidade de amostra disponível e o fator de concentração desejado. Além disso, o pH da amostra é um parâmetro crítico para a retenção adequada dos analitos no sorvente, podendo ser necessário um ajuste de pH (JARDIM, 2015).

A etapa de condicionamento depende do sorvente a ser ativado e do tipo de amostra, optando por um solvente com características similares ao solvente no qual os analitos estão dissolvidos, é importante que o sorvente não seque durante o seu

condicionamento e percolação da amostra para evitar a formação de caminhos preferenciais que podem comprometer a extração (QUEIROZ; COLLINS; JARDIM, 2001).

O solvente de eluição deve ter maior força eluente que o solvente utilizado na etapa anterior (limpeza do cartucho), além de extrair os analitos de forma eficiente e manter os interferentes presentes na matriz da amostra retidos no cartucho. O ideal é eluir os analitos em um pequeno volume de solvente apropriado para o sistema cromatográfico, de forma que os compostos estejam em concentração adequada para a análise. Se isso não for possível, utiliza-se um solvente volátil, de modo que seja possível evaporá-lo e redissolver o extrato em um volume pequeno de fase móvel ou outro solvente compatível com o sistema cromatográfico (JARDIM, 2010). O solvente de eluição adequado está relacionado com a polaridade dos analitos e o ideal é eluir com um solvente de mesma polaridade dos compostos (JARDIM, 2015).

A extração em fase sólida é muito utilizada no preparo de amostras de matrizes aquosas. Com essa técnica é possível alcançar fatores de concentração adequados para a determinação de contaminantes em amostras de água em baixos níveis de concentração. Na Tabela 4, são apresentadas aplicações da SPE para extração de agrotóxicos em amostras de água.

Tabela 4 - Aplicações recentes da SPE na determinação de agrotóxicos em amostras de água.

(continua)

Agrotóxicos	Sorvente	Preparo da amostra	Condicionamento do cartucho	Eluição	Técnica de determinação	Referência
4-CPA; Dicamba; 2,4-D; 2,4-DP; MCPA; 2,4,5-T	Estrutura orgânica covalente amino-modificada (NH <sub>2</sub> @COF)	20 mL de amostra pH 4,0 (ácido clorídrico)	5 mL de solução amônia/metanol (8:92, v/v); 5 mL de água deionizada	2 mL solução amônia/metanol (8:92, v/v), evaporado e redissolvido em 0,05 mL de metanol	HPLC-DAD	JI <i>et al.</i> (2019)
Ametrina; Prometrina; Bentazona, Carbendazim; Tebuconazol; Dimetoato; Deisopropilatrazina; Hidroxiatrazina	CNWBOND SAX; PolySery HLB; CNWBOND SCX	500 mL de amostra pH 3,0 (ácido clorídrico ou hidróxido de sódio)	5 mL de metanol; 5 mL de água ultrapura	6 mL solução metanol/acetato de etila (50:50, v/v) com 1% de amônia e 3 mL solução metanol/acetato de etila (50:50, v/v) com 0,5% ácido fórmico, evaporado e redissolvido em 2 mL metanol	Orbitrap LC-MS	WANG <i>et al.</i> (2019)
Carbendazim; Carbofurano; Simazina; Carbaril; Bentazona; Atrazina; Diurom; Linurom; Clorpirofós	C18	140 mL de amostra (acidificada com 0,1% de ácido fórmico)	3 mL de metanol; 3 mL de água ultrapura (acidificada com 0,1% de ácido fórmico)	9 mL acetato de etila e 3 mL metanol, evaporado e redissolvido com 0,4 mL de metanol	HPLC-MS/MS	MALDANER & JARDIM (2012)
70 agrotóxicos multiclasse	Oasis® HLB	100 mL de amostra pH 2,5 (ácido fosfórico)	3 mL de metanol; 3 mL de água ultrapura; 3 mL de água ultrapura (pH 2,5)	1 mL diclorometano e 1 mL metanol, GC-MS/MS: 0,1 mL evaporado e redissolvido em diclorometano e metanol (50:50, v/v) para determinação de aldrim, dieldrin e clordano LC-MS/MS: evaporado e redissolvido em fase móvel	GC-MS/MS e LC-MS/MS	DONATO <i>et al.</i> (2015)

(continuação)

Agrotóxicos	Sorvente	Preparo da amostra	Condicionamento do cartucho	Eluição	Técnica de determinação	Referência
34 agrotóxicos	C18	230 mL amostra	10 mL de acetona; 10 mL de acetato de etila; 10 mL de metanol; 10 mL de água deionizada	9 mL solução acetato de etila/diclorometano (85:15, v/v), evaporado e redissolvido em 0,1 mL metanol	GC-MS e LC-MS	KAPSI <i>et al.</i> (2019)
61 agrotóxicos	Bonde Elut Plexa	800 mL amostra	5 mL acetato de etila; 5 mL diclorometano; 5 mL metanol; 10 mL água	3 mL acetato de etila e 3 mL diclorometano LC-MS/MS: evaporado e redissolvido em 0,3 mL de solução água/metanol (75:25, v/v) com 0,1% ácido fórmico GC-MS/MS: evaporado e redissolvido em 0,3 mL ciclohexano/etil acetato (90:10, v/v)	GC-MS/MS e LC-MS/MS	FORTUNY <i>et al.</i> (2013)
Mais de 250 agrotóxicos	Oasis® HLB	200 mL amostra pH 3 (ácido fórmico)	10 mL de metanol; 10 mL de água ultrapura (pH 3)	10 mL de metanol, evaporado e redissolvido em 1 mL de metanol	Orbitrap LC-HRMS	CASADO; SANTILLO; JOHNSTON (2018)
Clorpirifós; Diazinona; Matidationa; Profenofós; Quinalfós	Metiltrimetoxisilano-tetraetoxisilano (MTMOS – TEOS)	10 mL de amostra	5 mL de metanol; 10 mL de água deionizada	5 mL de acetonitrila, evaporado e redissolvido em 0,1 mL de acetonitrila	GC-MS	IBRAHIM; VELOO; SANAGI (2012)
13 agrotóxicos de alta polaridade	Sólido mesoporoso à base de sílica MSU-1	50 mL de amostra pH 3,5	5 mL água ultrapura pH 3,5	5 mL acetonitrila, evaporado e redissolvido em 0,5 mL solução acetonitrila/água (20:80, v/v)	UPLC-MS/MS	KHARBOUCHE <i>et al.</i> (2019)



(continuação)

Agrotóxicos	Sorvente	Preparo da amostra	Condicionamento do cartucho	Eluição	Técnica de determinação	Referência
124 agrotóxicos	Bond Elut Florisil	10 mL de amostra	4 mL metanol; 4 mL água ultrapura	6 mL acetato de etila GC-MS: evaporado e redissolvido em acetato de etila LC-MS/MS: evaporado e redissolvido em fase móvel	GC-MS e LC-MS/MS	SCHWANZ <i>et al.</i> (2019)
13 agrotóxicos	Strata™ X	400 mL de amostra pH 5	3 mL de acetonitrila; 3 mL de metanol; 3 mL de água ultrapura	3 mL acetonitrila e 3 mL acetato de etila (50 µL de DMSO e 50 µL DMF foram adicionados), evaporado e redissolvido em 2,9 mL solução acetonitrila/água (10:90, v/v)	LC-MS/MS	LAZARTIGUES <i>et al.</i> (2011)
13 agrotóxicos	Oasis® HLB	120 mL de amostra	5 mL de metanol; 5 mL de água ultrapura	4 mL metanol, evaporado e redissolvido em 0,6 mL de solução metanol/água ultrapura (50:50, v/v)	UHPLC-MS/MS	ELFIKRIE <i>et al.</i> (2020)
14 agrotóxicos	C18	250 mL de amostra	3 mL de metanol; 3 mL de água ultrapura	3 mL metanol e 3 acetonitrila, evaporado e redissolvido em 1 mL solução metanol/água (30:70, v/v)	LC-MS/MS	SOUZA <i>et al.</i> (2019)
Abamectina; Diazinona; Fenamifós; Imidacloprido; Cialotrina-lambda; metomil; Tiofanato metílico	Nanopartículas de quitosana-óxido metálico (Ch-MO NPs)	20 mL de amostra	-	5 mL de solução acetonitrila/metanol (50:50, v/v)	HPLC-UV	BADAWY <i>et al.</i> (2018)

						(conclusão)
Agrotóxicos	Sorvente	Preparo da amostra	Condicionamento do cartucho	Eluição	Técnica de determinação	Referência
Simazina; Atrazina; Isoproturom; Metolacoloro; Clorotolurom	C18	100 mL amostra	4 mL metanol; 4 mL água ultrapura	5 mL metanol	HPLC-UV	BAGHBAN <i>et al.</i> (2018)
Triclorfom; Dimetoato; Etoprofós; Parationa; Fenitrotiona; Fentiona	Grafeno tridimensional à base de aerogel (3D-GA)	40 mL amostra	3 mL metanol; 3 mL acetona; 3 mL acetonitrila; 3 mL tetra-hidrofurano; 10 mL de água ultrapura	5 mL tetra-hidrofurano, evaporado e redissolvido em 1 mL acetona	GC-MS	SUN <i>et al.</i> (2018)
17 agrotóxicos	C18	1 L amostra	5 mL de metanol; 5 mL de água ultrapura	5 mL de acetona e 5 de hexano, evaporado e redissolvido em 1 mL de hexano	GC-ECD	ABDULLAH <i>et al.</i> (2017)

## 2.9 VALIDAÇÃO DE MÉTODOS

A validação de métodos analíticos tem como objetivo assegurar que um determinado método seja adequado para uma finalidade específica, é um processo que começa no planejamento analítico e continua ao longo de todo o seu desenvolvimento. Os métodos devem ser validados a fim de garantir a confiabilidade do procedimento definido, ou seja, para um novo método analítico reproduzir informações confiáveis e legíveis sobre a amostra deve passar pelo processo de validação (INMETRO, 2018). Essa validação de método deve ser abrangente, de forma a contemplar todas as necessidades da tal aplicação desde a amostragem ao resultado experimental (ISO/IEC 17025, 2017).

O Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO) sugere que seja feito um planejamento da validação levando em consideração os seguintes itens: definição da aplicação; objetivo e escopo do método; definição dos parâmetros de validação e critérios de aceitação; verificação das características de desempenho do equipamento, se as mesmas estão compatíveis com o exigido pelo método em estudo; qualificação dos materiais (por exemplo, reagentes); planejamento dos experimentos de validação, incluindo o tratamento estatístico, e execução dos experimentos de validação (INMETRO, 2018).

Os laboratórios precisam adotar ferramentas de validação, as quais são estabelecidas por várias entidades. Existem diferentes guias para auxiliar na validação de métodos disponibilizados por diferentes órgãos como o INMETRO através do documento DOQ-CGCRE-008 sobre validação de métodos analíticos revisado em 2018 e a ANVISA por meio da resolução da diretoria colegiada RDC nº 166 publicada em 2017 (INMETRO, 2018; ANVISA, 2017). De acordo com o artigo 4 da RDC nº 166 da ANVISA após o desenvolvimento de um método analítico, deve-se demonstrar que esse produz resultados confiáveis e apresenta adequabilidade a finalidade que se destina.

Alguns órgãos internacionais também disponibilizam guias para validação como, por exemplo, *Codex Alimentarius* por meio da Organização das Nações Unidas para a Alimentação e Agricultura e SANTÉ (Saúde e Proteção do Consumidor, do francês *Santé et protection des consommateurs*) por meio da comissão europeia para saúde e segurança alimentar.

Os parâmetros gerais para análise de resíduos de agrotóxicos estão relacionados as figuras de mérito como curva analítica e faixa linear de trabalho, seletividade, exatidão, precisão (repetitividade e precisão intermediária) e limites de detecção e de quantificação. A Tabela 5 descreve a definição de cada um dos parâmetros citados.

Tabela 5 - Parâmetros de avaliação na validação de métodos analíticos para determinação de resíduos de agrotóxicos.

<b>Parâmetro</b>	<b>Definição</b>	<b>Guia</b>
Linearidade	Propensão em obter resultados que sejam diretamente proporcionais às concentrações dos analitos na amostra	SANTÉ, 2020; INMETRO, 2018
Faixa linear de trabalho	Intervalo de concentrações em que x e y se correlacionam linearmente com precisão, exatidão e linearidade adequadas	SANTÉ, 2020; INMETRO, 2018
Limite de quantificação	Menor concentração do analito que pode ser quantitativamente determinado	SANTÉ, 2020; INMETRO, 2018
Limite de detecção	Menor concentração do analito que pode ser detectada	SANTÉ, 2020; INMETRO, 2018
Precisão	Grau de dispersão de resultados entre ensaios diferentes	SANTÉ, 2020
Exatidão	Grau de concordância entre resultados diferentes de um ensaio e o valor de referência	SANTÉ, 2020
Seletividade	Estimar o grau de interferência na quantificação do analito na presença de outros analitos	INMETRO, 2018

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

Este trabalho teve como objetivo o desenvolvimento e validação de um método de Extração em Fase Sólida (SPE) com a finalidade de extrair e determinar resíduos de agrotóxicos em amostras de água empregando UHPLC-MS/MS. Todo o desenvolvimento deste estudo foi realizado no Laboratório de Análises de Resíduos de Pesticidas (LARP) do Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

#### 3.1 INSTRUMENTAÇÃO

Os equipamentos utilizados no desenvolvimento deste trabalho foram:

- Sistema de purificação de água Milli-Q Direct 3UV<sup>®</sup> (Millipore, França);
- Centrífuga (Centribio, Brasil);
- Agitador Vortex – Modelo VX-38 (IONLAB, Brasil);
- Balanças analíticas modelo UX-420H e APX-200 (Shimadzu, Japão);
- Micropipetadores automáticos com capacidade variável (Brand, Alemanha e Eppendorf, Canadá);
- Concentrador e evaporador TurboVap LV<sup>®</sup> (Biotage, EUA);
- Sistema UHPLC-MS/MS equipado com:
  - Cromatógrafo líquido Waters (EUA);
  - Coluna ACQUITY UPLC BEH C<sub>18</sub> (2,1x50 mm, 1,7 µm) Waters (EUA);
  - Detector MS triplo quadrupolo, modelo Xevo TQ (EUA);
  - Interface/fonte de ionização por eletronebulização (*electrospray*) (EUA);
  - Compressor de nitrogênio Atlas (EUA);
  - Gerador de nitrogênio PEAK NM30L-MS (Peak Scientific, Escócia);
  - Sistema controlador de solventes (sistema binário de bombas) para operação de gradientes de alta pressão (EUA);
  - Sistema de injeção com agulha de Poliéter-éter-cetona (PEEK) dentro da agulha de aço (EUA);
  - Sistema de aquisição de dados *software MassLynx 4.1* (Waters, EUA).
- Bomba a vácuo (Tecnal, Brasil);
- Sistema de manifold para SPE (Varian, EUA);
- pHmetro modelo pH 500 series Cole Parmer equipado com eletrodo de vidro combinado (Vernon Hills, EUA).

### 3.2 REAGENTES, SOLVENTES E MATERIAIS UTILIZADOS

Os reagentes, solventes e demais materiais utilizados no desenvolvimento deste trabalho estão listados abaixo:

- Acetonitrila, grau HPLC (J.T. Baker, EUA);
- Metanol, grau HPLC (J.T. Baker, EUA);
- Acetato de etila (Scharlab, Espanha);
- Diclorometano (Honeywell, EUA);
- Formiato de amônio (Sigma-Aldrich, EUA);
- Hidróxido de amônio 28-30% (Sigma Aldrich, EUA);
- Ácido fórmico  $\geq 98\%$  (Sigma Aldrich, EUA);
- Ácido fosfórico p.a. 85% (Merck, Brasil);
- Ácido acético glacial (J.T. Baker, EUA);
- Água ultrapura, purificada em sistema Milli-Q Direct 3UV<sup>®</sup>, resistividade de 18,2 M $\Omega$  cm (Millipore, França);
- Filtros de PTFE de 13 mm de diâmetro e 0,22  $\mu$ m de poro (Analítica, Brasil);
- Tubos de polipropileno com 15 mL de capacidade (Sarstedt, Alemanha);
- Microtubo, tipo Eppendorf com 2 mL de capacidade (Axygen Scientific, EUA);
- Frascos de vidro (vial) com capacidade de 2 mL (Agilent, EUA);
- Padrões sólidos dos compostos em estudo (Tabela 6);
- Tubulações de politetrafluoretileno;
- Cartuchos para SPE Strata<sup>™</sup>-X 200 mg/3 mL (Phenomenex, EUA);
- Cartuchos para SPE Strata<sup>™</sup>-X 60 mg/3 mL (Phenomenex, EUA);
- Cartuchos para SPE Oasis<sup>®</sup> HLB 60 mg/3 mL (Waters, EUA);
- Cartuchos para SPE Oasis<sup>®</sup> HLB 200 mg/3 mL (Waters, EUA);
- Cartuchos para SPE Bond Elut Plexa 500 mg/3 mL (Agilent, EUA);
- Cartuchos para SPE Bond Elut Plexa 200 mg/3 mL (Agilent, EUA);
- Cartuchos para SPE Bond Elut C18 500 mg/3 mL (Agilent, EUA);
- Cartuchos para SPE Supel<sup>®</sup>-Select HLB 200 mg/6 mL (Sigma-Aldrich, EUA);
- Vidraria de laboratório.

### 3.3 AGROTÓXICOS SELECIONADOS

A seleção dos agrotóxicos utilizados neste estudo foi estabelecida partindo-se dos seguintes critérios:

- agrotóxicos mais utilizados no Brasil;
- agrotóxicos autorizados no Brasil;
- disponibilidade de padrões dos agrotóxicos no LARP.

Os padrões foram adquiridos dos fabricantes Dr. Ehrenstorfer, Sigma-Aldrich e Chem Service, os compostos selecionados para este estudo estão listados na Tabela 6, com suas respectivas classes, grupos químicos e propriedades físico-químicas. Os valores da constante de dissociação ácida ( $pK_a$ ), logaritmo do coeficiente de partição octanol-água ( $\log K_{ow}$ ) e solubilidade em água foram obtidos da fonte FOOTPRINT Pesticide Properties Database (2020) e são importantes para avaliar o comportamento dos compostos.

Tabela 6 - Informações de classe, grupo químico, pureza do padrão sólido e propriedades físico-químicas dos compostos em estudo.  
(continua)

<b>Composto</b>	<b>Classe (s)</b>	<b>Grupo Químico</b>	<b>Pureza (%)</b>	<b>pKa</b>	<b>Log Kow</b>	<b>Solubilidade (mg L<sup>-1</sup>)</b>
2,4-D	Herbicida	Ácido ariloxialcanóico	99	2,87	-0,83	23180
Acetamiprido	Inseticida	Neonicotinóide	99	0,7	0,8	2950
Aldicarbe	Inseticida, Acaricida e Nematicida	Carbamato	99,5	-	1,15	4930
Ametrina	Herbicida	Triazina	99	10,07	2,63	200
Atrazina	Herbicida	Triazina	99	1,7	2,7	35
Atrazina-d5 (P.C.)	-	Triazina	99	-	-	-
Azaconazol	Fungicida	Triazol	98	2,94	2,32	300
Azametifós	Inseticida	Organofosforado	97	3	2,36	1100
Azoxistrobina	Fungicida	Estrobilurina	99	-	2,50	6,7
Buprofezina	Inseticida e acaricida	-	99	-	4,93	0,46
Butóxido de piperonila	Componente Sinérgico	Aromático cíclico	92,5	-	4,75	14,3
Carbaril	Inseticida	Carbamato	98	10,4	2,36	9,1
Carbendazim	Fungicida	Benzimidazol	99	4,2	1,48	8
Carbofurano	Inseticida, acaricida e nematicida	Carbamato	98	-	1,8	322
Cianazina	Herbicida	Triazina	99	12,9	2,1	171
Ciazofamida	Fungicida	Cianoimidazol	99	-	3,2	0,107
Cimoxanil	Fungicida	Cianoacetamida oxima	97	9,3	0,67	780
Clorantraniliprole	Inseticida	Antranilamida	94	10,88	2,86	0,88
Clorfenvinfós	Acaricida e inseticida	Organofosforado	95	-	3,80	145



(continuação)

<b>Composto</b>	<b>Classe (s)</b>	<b>Grupo Químico</b>	<b>Pureza (%)</b>	<b>pKa</b>	<b>Log Kow</b>	<b>Solubilidade (mg L<sup>-1</sup>)</b>
Clorpirifós etílico	Inseticida	Organofosforado	99	-	4,70	1,05
Clorpirifós metílico	Acaricida e inseticida	Organofosforado	97	-	4,00	2,74
Clotianidina	Inseticida	Neonicotinóide	99	11,1	0,905	340
Cresoxim metílico	Fungicida	Estrobilurina	98	-	3,4	2,0
Demetom-S-metil-sulfona	Inseticida e Acaricida	Organofosforado	97	-	-0,47	-
Diazinona	Inseticida e Acaricida	Organofosforado	96	2,6	3,69	60
Dicrotofós	Acaricida e inseticida	Organofosforado	97	-	-0,5	1,0 10 <sup>6</sup>
Difenoconazol	Fungicida	Triazol	99	1,07	4,36	15,0
Diflubenzurom	Inseticida	Benzoiluréia	99,5	-	3,89	0,08
Dimetoato	Inseticida e acaricida	Organofosforado	98	-	0,75	25900
Dimoxistrobina	Fungicida	Estrobilurina	99	-	3,59	4,3
Diurum	Herbicida	Fenilamida	97	-	2,87	35,6
Epoxiconazol	Fungicida	Triazol	99	-	3,30	7,1
Etoprofós	Nematicida e inseticida	Organofosforado	93	-	2,99	1300
Etoxisulfurom	Herbicida	Sulfolinuréia	99	5,28	1,01	5000
Fenamidona	Fungicida	Imidazol	97,5	-	2,8	7,8
Fenamifós	Nematicida	Organofosforado	93	-	3,30	345
Fempropimorfe	Fungicida	Morfolina	94	6,98	4,50	4,32
Fenoxicarbe	Inseticida	Carbamato	99	-	4,07	7,90
Fentiona	Inseticida	Organofosforado	97	-	4,84	4,20

						(continuação)
Composto	Classe (s)	Grupo Químico	Pureza (%)	pKa	Log Kow	Solubilidade (mg L <sup>-1</sup> )
Fluasifope-p-butílico	Herbicida	Ácido ariloxifenoxipropiônico	97	-	4,50	0,93
Fluquinconazol	Fungicida	Triazol	98	0,9	3,24	1,15
Flusilazol	Fungicida	Triazol	99	2,5	3,87	41,9
Flutriafol	Fungicida	Triazol	99	2,3	2,3	95
Fosmete	Inseticida e Acaricida	Organofosforado	98,5	-	2,80	15,2
Furatiocarbe	Inseticida	Carbamato	99	-	4,60	11
Hexitiazoxi	Acaricida	Carboxamida	99	-	2,67	0,1
Imazaquim	Herbicida	Imidazolinona	99,5	3,45	-1,09	102000
Imidacloprido	Inseticida	Neonicotinóide	98	-	0,57	610
Iprovalicarbe	Fungicida	Carbamato	97	-	3,20	17,8
Malationa	Acaricida e inseticida	Organofosforado	99	-	2,75	148
Mecarbam	Acaricida e inseticida	Organofosforado	98	-	2,29	1000
Mefosfolam	Acaricida e Inseticida	Organofosforado	97	-	1,04	57
Metalaxil	Fungicida	Fenilamida	99	-	1,75	8400
Metconazol	Fungicida	Triazol	98	11,38	3,85	30,4
Metidationa	Acaricida e inseticida	Organofosforado	99	-	2,57	240
Metiocarbe	Inseticida	Carbamato	99	-	3,18	27
Metomil	Acaricida e inseticida	Carbamato	99	-	0,09	5,5 10 <sup>4</sup>
Metsulfurom metílico	Herbicida	Sulfolinuréia	99	3,75	-1,87	2790
Miclobutanil	Fungicida	Triazol	99,5	2,3	2,89	132

						(continuação)
Composto	Classe (s)	Grupo Químico	Pureza (%)	pKa	Log Kow	Solubilidade (mg L <sup>-1</sup> )
Molinato	Herbicida	Tiocarbamato	99	-	2,86	1100
Nicosulfurom	Herbicida	Sulfonilureia	99	4,78	0,61	7500
Nuarimol	Fungicida	Pirimidina	99	-	3,18	26
Paraoxom etílico	Inseticida	Organofosforado	99	-	-	-
Pencicuum	Fungicida	Feniluréia	99	-	4,68	0,30
Penconazol	Fungicida	Triazol	99	1,51	3,72	73
Penoxsulam	Herbicida	Triazopirimidina	99	5,1	-0,602	408
Picoxistrobina	Fungicida	Estrobilutina	98	-	3,60	3,1
Piraclostrobina	Fungicida	Estrobilurina	97	-	3,99	1,90
Pirazofós	Fungicida	Fosforotioato	97	-	3,80	4,2
Piridafentona	Inseticida	Organofosforado	99	-	3,20	100
Pirimetanil	Fungicida	Anilinopirimidina	98,3	3,52	2,84	110
Pirimicarbe	Inseticida	Carbamato	97	4,40	1,70	3100
Pirimifós etílico	Acaricida e Inseticida	Organofosforado	98	-	4,85	93
Profenofós	Inseticida e acaricida	Organofosforado	98	-	1,70	28
Prometrina	Herbicida	Triazina	99	4,10	3,34	33
Propanil	Herbicida	Anilida	99	19,1	2,29	95
Propiconazol	Fungicida	Triazol	97	1,09	3,72	150
Quinalfós	Acaricida e Inseticida	Organofosforado	96	-	4,44	17,8
Quizalofope-p-etílico	Herbicida	Ariloxifenoxipropionato	98	-	4,61	0,61

Composto	Classe (s)	Grupo Químico	Pureza (%)	pKa	Log Kow	(conclusão)
						Solubilidade (mg L <sup>-1</sup> )
Saflufenacil	Herbicida	Uracil	97,8	4,41	2,6	2100
Simazina	Herbicida	Triazina	98	1,62	2,3	5
Tebufenozida	Inseticida	Diacilhidrazina	97	-	4,25	0,83
Tebufenpirade	Acaricida	Pirazol	98	-	4,93	2,39
Tetraconazol	Fungicida	Triazol	97	0,65	3,56	156,6
Tiacloprido	Inseticida	Neonicotinóide	99	-	1,26	184
Tiametoxam	Inseticida	Neonicotinóide	99	-	-0,13	4100
Tiobencarbe	Herbicida	Tiocarbamato	98	-	4,23	16,7
Tiodicarbe	Inseticida	Carbamato	99	-	1,62	22,2
Tolclofós metílico	Fungicida	Clorofenil	99,5	-	3,80	0,708
Triazofós	Inseticida, acaricida e nematocida	Organofosforado	99	-	3,55	35
Triciclazol	Fungicida	Triazolobenzotiazol	98	-	1,4	596
Trifenilfosfato (P.I.)	-	Organofosforado	99,5	-	-	-
Trifloxissulfurom	Herbicida	Sulfonilurea	96	-	2,41	-
Trifloxistrobina	Fungicida	Estrobilurina	99	-	4,50	0,61
Triflumurom	Inseticida	Benzoiluréia	99	-	4,90	0,04
Vamidationa	Acaricida e Inseticida	Organofosforado	98	-	-4,21	4000

P.I.: padrão interno; P.C.: padrão de controle; Solubilidade: em água a 20 °C. Fonte: ANVISA (2020); FOOTPRINT Pesticide Properties Database (2020).

### 3.4 SELEÇÃO DO PADRÃO INTERNO E DO PADRÃO DE CONTROLE

A atrazina deuterada (Atrazina-d5) foi utilizada como padrão de controle, com o objetivo de avaliar a eficiência do procedimento de extração. Sua adição foi realizada nas amostras branco fortificada e nas amostras analisadas. As concentrações aplicadas nas amostras branco fortificada estão em concordância com as concentrações dos ensaios de recuperação (0,04, 0,10, 0,20 e 0,40  $\mu\text{g L}^{-1}$ ) e para as amostras utilizou-se a concentração de 0,40  $\mu\text{g L}^{-1}$ .

Para padrão interno empregou-se o trifenilfosfato na concentração 20  $\mu\text{g L}^{-1}$  nas determinações por UHPLC-MS/MS para verificação da resposta do equipamento, não sendo aplicada para fins de quantificação.

### 3.5 PREPARO DAS SOLUÇÕES ANALÍTICAS

As soluções utilizadas nesse trabalho foram preparadas primeiramente a partir de padrões sólidos na concentração de 1000  $\text{mg L}^{-1}$ . Essas soluções foram preparadas em solventes como acetonitrila e metanol grau HPLC, levando em consideração a pureza de cada padrão. Com exceção da solução estoque do composto carbendazim que precisa ser preparada em acetonitrila contendo 8% (v/v) de HCl, visto que é necessário um meio ácido para solubilização do padrão sólido.

A partir dessas soluções estoque preparou-se uma mistura contendo todos os compostos na concentração de 5  $\text{mg L}^{-1}$ , a qual foi utilizada para realizar os ensaios de fortificação e avaliar a linearidade do método. Todas as soluções analíticas foram armazenadas em frascos âmbar a temperatura abaixo de -10 °C.

### 3.6 SISTEMA UHPLC-MS/MS PARA DETERMINAÇÃO DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM ÁGUA

#### 3.6.1 ESCOLHA DA FASE MÓVEL

A composição da fase móvel influencia no sinal analítico e na separação adequada dos analitos. Com isso, para melhorar a ionização dos compostos, através do sistema UHPLC-MS/MS, utilizou-se dois aditivos na fase móvel, tanto aquosa quanto orgânica, sendo eles o ácido fórmico e o formiato de amônio (KEMMERICH *et al.*, 2015). A fase móvel empregada consistiu em: A) solução aquosa 2% (v/v) metanol, com 0,1% (v/v) ácido fórmico e formiato de amônio 5  $\text{mmol L}^{-1}$  e B) metanol com 0,1% (v/v) ácido fórmico e formiato de amônio 5  $\text{mmol L}^{-1}$ , conforme gradiente descrito na

Tabela 7 com vazão constante de  $0,225 \text{ mL min}^{-1}$ , sendo o tempo total de corrida de 10 min.

Tabela 7 - Gradiente da fase móvel utilizado para determinação de agrotóxicos em água no sistema UHPLC-MS/MS.

Tempo (min)	A (%)	B (%)
Inicial	95	5
0,25	95	5
7,75	0	100
8,5	0	100
8,51	95	5
10	95	5

### 3.6.2 CONDIÇÕES UTILIZADAS NO SISTEMA UHPLC-MS/MS

As condições gerais utilizadas para o desenvolvimento do método e análise dos agrotóxicos estão descritas a seguir, sendo que estas condições foram otimizadas previamente no LARP-UFSM e são utilizadas em análises de rotina para diversos compostos e matrizes (KEMMERICH *et al.*, 2015).

- Temperatura da coluna:  $40 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ;
- Voltagem do capilar (ESI+):  $0,5 \text{ kV}$ ;
- Temperatura de dessolvatação:  $500 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ;
- Vazão do gás de dessolvatação ( $\text{N}_2$ ):  $600 \text{ mL min}^{-1}$ ;
- Vazão do spray:  $80 \text{ mL min}^{-1}$ ;
- Vazão do gás de colisão:  $0,15 \text{ mL min}^{-1}$ ;
- Temperatura da fonte:  $150 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ;
- Volume de injeção:  $10 \text{ } \mu\text{L}$ ;
- Tempo de residência (*dwel time*):  $0,01 \text{ s}$ ;
- Tempo de aquisição:  $30 \text{ s}$ .

Para otimizar a análise de cada um dos compostos em estudo, foram realizadas infusões das soluções individuais na concentração  $500 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ . Os íons característicos selecionados para cada composto foram monitorados no modo SIM no quadrupolo (Q1) e no quadrupolo 3 (Q3), foi realizada varredura do íon produto variando as energias de colisão com o objetivo de determinar as melhores condições para a análise dos compostos.

Com esses dados selecionou-se o modo de ionização da fonte (eletronebulização positiva em todos os casos) e as energias de colisão para fragmentar o íon precursor e gerar íons produtos com sinal significativo. Logo após, foram avaliadas as transições, no modo SRM a serem utilizadas para a quantificação (transição de maior intensidade) e qualificação (transição de segunda maior intensidade) dos compostos estudados.

### 3.7 DESENVOLVIMENTO DO MÉTODO DE EXTRAÇÃO PARA A ANÁLISE DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM ÁGUA

O sistema de SPE utilizado para a concentração dos agrotóxicos em amostras de água está ilustrado na Figura 7. No sistema comercial utiliza-se um dispositivo *manifold*, que é composto por uma caixa de vácuo com espaço para a utilização de 12 cartuchos SPE simultaneamente.

As amostras de água, depois de filtradas em membranas 0,45  $\mu\text{m}$ , são aferidas em balões volumétricos e transferidas para os cartuchos SPE através de tubulações de PTFE. Essa transferência ocorre por sucção em função da utilização de uma bomba de vácuo e é controlada individualmente para cada cartucho através de válvulas. Adotou-se uma vazão de 10 mL  $\text{min}^{-1}$  para a percolação das amostras. Como as concentrações dos agrotóxicos em amostras de água são, em geral, baixos existe a necessidade de uma etapa de concentração da amostra para que seja possível quantificar os compostos. O volume de amostra utilizado foi 250 mL para os testes e 100 mL para a validação, tendo um fator de concentração do método satisfatório.

Figura 7 - Sistema SPE utilizado para a concentração das amostras de água.



Fonte: Autor (2020)

### 3.7.1 ESCOLHA DO SORVENTE PARA A ETAPA DE CONCENTRAÇÃO

Para avaliar o procedimento de extração em fase sólida foram escolhidos oito cartuchos disponíveis comercialmente: Bond Elut Plexa 200 mg, Bond Elut Plexa 500 mg, Strata<sup>TM</sup>-X 60 mg, Strata<sup>TM</sup>-X 200 mg, Oasis<sup>®</sup> HLB 60 mg, Oasis<sup>®</sup> HLB 200 mg, Supel<sup>®</sup>-Select HLB 200 mg e Bond Elut C18 500 mg, onde foram testados diferentes solventes para o condicionamento dos cartuchos conforme a Tabela 8, as amostras “branco” (água da torneira) foram fortificadas na concentração de 0,32 µg L<sup>-1</sup>. O cartucho mais adequado para a extração dos compostos foi escolhido em função do tipo e da quantidade de fase estacionária, porcentagem de recuperação dos analitos, necessidade de ajuste do pH da amostra e secagem do sorvente.

### 3.7.2 ESCOLHA DO SOLVENTE DE ELUIÇÃO

Os solventes de eluição avaliados foram acetato de etila/diclorometano, acetonitrila, metanol, acetonitrila/metanol (1:1, v/v), acetonitrila contendo 1% (v/v) ácido acético, metanol contendo 1% (v/v) ácido acético e acetonitrila/metanol (1:1, v/v) com 1% (v/v) ácido acético. O extrato final foi diluído duas vezes em água ultrapura para todos os ensaios. O solvente adequado para a etapa de eluição foi escolhido de acordo com o sinal analítico dos compostos, a porcentagem de recuperação e a compatibilidade do solvente com o sistema cromatográfico.

Para a otimização do método de extração foram realizados 24 ensaios com o propósito de avaliar diferentes sorventes, solventes e volumes de eluição. A Tabela 8 descreve os ensaios realizados com os diferentes parâmetros testados.



Tabela 8 - Ensaio realizados para a otimização do preparo de amostra.

(continua)

Ensaio	Acidificação da amostra (H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> , 1:1 v/v)	Condicionamento do cartucho	Eluição	Tipo de adsorvente
1	Sem acidificar*	6 mL de acetato de etila, 6 mL de metanol, 6 mL de diclorometano e 12 mL de água ultrapura	6 mL de acetato de etila e 6 mL de diclorometano, evaporado e redissolvido com 2 mL de acetonitrila	Bond Elut Plexa 500 mg
2	pH 2,5	6 mL de acetato de etila, 6 mL de metanol, 6 mL de diclorometano e 12 mL de água ultrapura pH 2,5	6 mL de acetato de etila e 6 mL de diclorometano, evaporado e redissolvido com 2 mL de acetonitrila	Bond Elut Plexa 500 mg
3	Sem acidificar	6 mL de metanol e 12 mL de água ultrapura	6 mL de acetato de etila e 6 mL de diclorometano, evaporado e redissolvido com 2 mL de acetonitrila	Bond Elut Plexa 500 mg
4	Sem acidificar	6 mL de acetato de etila, 6 mL de metanol, 6 mL de diclorometano e 12 mL de água ultrapura	2 mL de acetonitrila	Bond Elut Plexa 500 mg
5	Sem acidificar	6 mL de metanol e 12 mL de água ultrapura	2 mL de acetonitrila	Bond Elut Plexa 500 mg
6	Sem acidificar	6 mL de acetonitrila e 12 mL de água ultrapura	2 mL de acetonitrila	Bond Elut Plexa 200 mg
7	Sem acidificar	6 mL de acetonitrila e 12 mL de água ultrapura	2 mL de acetonitrila	Strata™-X 60 mg
8	Sem acidificar	6 mL de acetonitrila e 12 mL de água ultrapura	2 mL de acetonitrila	Strata™-X 200 mg

(continuação)

<b>Ensaio</b>	<b>Acidificação da amostra (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, 1:1 v/v)</b>	<b>Condicionamento do cartucho</b>	<b>Eluição</b>	<b>Tipo de adsorvente</b>
9	Sem acidificar	6 mL de acetonitrila e 12 mL de água ultrapura	2 mL de acetonitrila	Supel <sup>®</sup> -Select HLB 200 mg
10	Sem acidificar	6 mL de acetonitrila e 12 mL de água ultrapura	2 mL de acetonitrila	Bond Elut C <sub>18</sub> 500 mg
11	Sem acidificar	6 mL de acetonitrila e 12 mL de água ultrapura	2 mL de acetonitrila	Oasis <sup>®</sup> HLB 60 mg
12	Sem acidificar	6 mL de acetonitrila e 12 mL de água ultrapura	2 mL de acetonitrila	Oasis <sup>®</sup> HLB 200 mg
13	Sem acidificar	3 mL de acetonitrila e 3 mL de água ultrapura	2 mL de acetonitrila	Oasis <sup>®</sup> HLB 60 mg
14	Sem acidificar	3 mL de acetonitrila com 1% (v/v) ácido acético e 3 mL de água ultrapura	2 mL acetonitrila acidificado com 1% (v/v) ácido acético	Oasis <sup>®</sup> HLB 60 mg
15	Sem acidificar	3 mL de acetonitrila e 3 mL de água ultrapura	1 mL de acetonitrila	Oasis <sup>®</sup> HLB 60 mg
16	Sem acidificar	3 mL de acetonitrila com 1% (v/v) ácido acético e 3 mL de água ultrapura	1 mL acetonitrila acidificado com 1% (v/v) ácido acético	Oasis <sup>®</sup> HLB 60 mg
17	Sem acidificar	3 mL de metanol e 3 mL de água ultrapura	2 mL de metanol	Oasis <sup>®</sup> HLB 60 mg
18	Sem acidificar	3 mL de metanol com 1% (v/v) ácido acético e 3 mL de água	2 mL metanol acidificado com 1% (v/v) ácido acético	Oasis <sup>®</sup> HLB 60 mg

(conclusão)

<b>Ensaio</b>	<b>Acidificação da amostra (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, 1:1 v/v)</b>	<b>Condicionamento do cartucho</b>	<b>Eluição</b>	<b>Tipo de adsorvente</b>
19	Sem acidificar	3 mL de metanol e 3 mL de água ultrapura	1 mL de metanol	Oasis® HLB 60 mg
20	Sem acidificar	3 mL de metanol com 1% (v/v) ácido acético e 3 mL de água ultrapura	1 mL metanol acidificado com 1% (v/v) ácido acético	Oasis® HLB 60 mg
21	Sem acidificar	3 mL de acetonitrila:metanol (1:1) e 3 mL de água ultrapura	2 mL acetonitrila:metanol (1:1)	Oasis® HLB 60 mg
22	Sem acidificar	3 mL de acetonitrila:metanol (1:1) com 1% (v/v) ácido acético e 3 mL de água ultrapura	2 mL acetonitrila:metanol 1:1 (v/v) com 1% (v/v) ácido acético	Oasis® HLB 60 mg
23	Sem acidificar	3 mL de acetonitrila:metanol (1:1) e 3 mL de água ultrapura	1 mL acetonitrila:metanol 1:1 (v/v)	Oasis® HLB 60 mg
24	Sem acidificar	3 mL de acetonitrila:metanol (1:1) com 1% (v/v) ácido acético e 3 mL de água ultrapura	1 mL acetonitrila:metanol 1:1 (v/v) com 1% (v/v) ácido acético	Oasis® HLB 60 mg

\*Sem acidificar: pH entre 5,2 e 6,5.

### 3.8 VALIDAÇÃO DO MÉTODO PARA A ANÁLISE DE RESÍDUOS DE AGROTÓXICOS EM ÁGUA

Foram utilizados como parâmetros para a validação do método analítico: seletividade, curva analítica e linearidade, limite de detecção, limite de quantificação, exatidão (recuperação) e precisão (repetitividade e precisão intermediária).

#### 3.8.1 SELETIVIDADE

A avaliação da seletividade do método foi realizada por meio da comparação dos cromatogramas a partir das injeções no sistema UHPLC-MS/MS da amostra “branco” (água da torneira), ou seja, sem a presença dos agrotóxicos em estudo e da amostra “branco” fortificada com os analitos. A seletividade do método é assegurada pela ausência dos íons de quantificação e qualificação no tempo de retenção dos analitos na amostra “branco”.

#### 3.8.2 CURVA ANALÍTICA E LINEARIDADE

A linearidade da curva analítica foi avaliada por meio das injeções de soluções analíticas preparadas no solvente de eluição (acetonitrila acidificado com 1% (v/v) ácido acético) em conformidade com o item 3.5, nas concentrações 1, 2, 5, 10, 12, 15 e 20  $\mu\text{g L}^{-1}$ . As curvas preparadas foram injetadas 3 vezes no sistema cromatográfico e posteriormente realizou-se o cálculo da média das áreas de cada analito, com a finalidade de obter a regressão linear e o coeficiente de determinação ( $r^2$ ), assim, foi obtida a linearidade do método. A expressão matemática utilizada para calcular a concentração dos analitos consiste em uma regressão linear (Equação 1), conhecida como equação da reta (INMETRO, 2018).

$$y = ax + b \text{ (Equação 1)}$$

Onde:

y = resposta (área do pico);

x = concentração do analito;

a = coeficiente angular (inclinação da curva analítica);

b = coeficiente linear (interseção com o eixo y, quando x=0).

### 3.8.3 EXATIDÃO E PRECISÃO

Realizou-se a avaliação da exatidão e precisão do método proposto por meio dos valores de recuperação e DPR para cada analito. As fortificações nos níveis 0,04, 0,10, 0,20 e 0,40  $\mu\text{g L}^{-1}$  foram utilizadas seguindo o método de extração otimizado com 7 replicatas.

Segundo o INMETRO (2018), a recuperação é calculada conforme a Equação 2, através da estimativa da concentração pela análise de amostras “branco” fortificadas com o analito em quantidades conhecidas.

$$\text{Recuperação (\%)} = \left( \frac{C_1 - C_2}{C_3} \right) \times 100 \quad (\text{Equação 2})$$

Onde:

$C_1$  = Concentração do analito na amostra fortificada;

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

$C_3$  = Concentração do analito adicionado à amostra fortificada.

A precisão foi definida através do desvio padrão relativo (DPR), o qual é calculado conforme a Equação 3, sendo expresso em percentual (INMETRO, 2018).

$$\text{Desvio Padrão Relativo (\%)} = \left( \frac{DP}{CMD} \right) \times 100 \quad (\text{Equação 3})$$

Onde:

DP = Desvio padrão;

CMD = Concentração média determinada.

A precisão intermediária foi ponderada por meio da execução do procedimento analítico em dias diferentes, avaliando ensaios de fortificação no nível 0,1  $\mu\text{g L}^{-1}$  com 7 replicatas.

### 3.8.4 LIMITE DE DETECÇÃO (LOD) E LIMITE DE QUANTIFICAÇÃO (LOQ)

Partindo-se da avaliação dos resultados dos ensaios de recuperação e de linearidade das curvas analíticas para todos os analitos realizou-se a determinação do limite de detecção e do limite de quantificação do instrumento ( $\text{LOD}_i$ ,  $\text{LOQ}_i$ ) e do método ( $\text{LOD}_m$ ,  $\text{LOQ}_m$ ).

Estabeleceu-se o  $\text{LOQ}_i$  como o menor ponto da curva analítica preparada no solvente de eluição (acetoneitrila acidificado com 1% (v/v) ácido acético), com a razão

sinal/ruído maior que 10. O  $LOD_i$  foi calculado a partir da divisão do  $LOQ_i$  estabelecido por 3,33 (INMETRO, 2018).

O  $LOQ_m$  foi estabelecido como a menor concentração fortificada na amostra “branco”, a qual apresentou recuperações entre 70-120% e  $DPR \leq 20\%$ . Calculou-se o  $LOD_m$  partindo-se do  $LOQ_m$  estabelecido dividido por 3,33 (INMETRO, 2018).

### **3.9 APLICAÇÃO DO MÉTODO**

O método desenvolvido e validado foi aplicado para a determinação de resíduos de agrotóxicos em 12 amostras de água coletadas na cidade de Santa Maria/RS em fevereiro de 2020, sendo 2 amostras de rio (A7 e A8), 6 amostras de poço artesiano (A4, A5, A6, A9, A10 e A11), 1 amostra de barragem (A3) e 3 amostras de água tratada (A1, A2 e A12).

As coletas foram realizadas em frascos âmbar, armazenadas em local protegido da luz e em temperaturas entre 4 e 10 °C, evitando a possível alteração nas características da amostra e degradação dos compostos a serem analisados.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 4.1 CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS DO SISTEMA UHPLC-MS/MS

As condições cromatográficas utilizadas para esse trabalho foram estabelecidas de acordo com trabalhos realizados no LARP, onde o modo de ionização e as transições para a quantificação e a qualificação dos analitos foram escolhidas utilizando o monitoramento SRM. Sendo que a transição de maior intensidade foi utilizada para a quantificação e a segunda de maior intensidade para a qualificação dos compostos. Os parâmetros tempo de retenção, voltagem do cone e energia de colisão para as transições SRM de cada agrotóxico em estudo estão descritos na Tabela 9.

Tabela 9 - Agrotóxicos analisados por UHPLC-MS/MS, utilizando o modo de ionização ESI+, no modo de aquisição SRM com seus respectivos tempos de retenção ( $t_R$ ), íons precursores e produtos para a quantificação e qualificação.

(continua)

Composto	$t_R$ (min)	Íon Precursor (m/z)	VC (V)	1ª Transição Quantificação		2ª Transição Qualificação	
				Íon Produto (m/z)	EC (eV)	Íon Produto (m/z)	EC (eV)
2,4-D	5,42	219	18	125	13	161	13
Acetamiprido	3,58	223	23	126	20	56	15
Aldicarbe	4,21	208	7	89	7	116	7
Ametrina	5,53	228	32	186	18	68	36
Atrazina	5,38	216	30	174	18	96	23
Atrazina-d5 (P.C.)	5,36	221	26	179	18	101	23
Azaconazol	5,59	300	25	152	28	131	18
Azametifós	4,61	325	20	112	35	139	24
Azoxistrobina	5,86	404	17	329	30	372	15
Buprofezina	7,39	306	22	201	12	57,4	20
Butóxido de piperonila	7,46	356	17	119	37	176	11
Carbaril	5,01	202	19	145	22	117	28
Carbendazim	2,70	192	24	160	18	132	28
Carbofurano	4,80	222	25	165	16	123	16
Cianazina	4,52	241	28	214	17	96	25
Ciazofamida	6,49	325	17	108	20	261	10
Cimoxanil	3,79	199	14	111	18	128	8
Clorantraniliprole	5,70	482	20	451	22	284	14
Clorfenvinfós	6,87	359	18	99	30	155	12
Clorpirifós	7,59	350	27	97	32	198	20

(continuação)

Composto	t <sub>R</sub> (min)	Íon Precursor (m/z)	VC (V)	1ª Transição		2ª Transição	
				Quantificação		Qualificação	
				Íon Produto (m/z)	EC (eV)	Íon Produto (m/z)	EC (eV)
Clorpirifós metílico	7,09	322	23	125	20	289	16
Clotianidina	3,27	250	15	132	18	169	12
Cresoxim metílico	6,69	314	15	206	7	116	12
Demetom-S-metil-sulfona	2,71	263	20	121	17	169	17
Diazinona	6,82	305	20	97	35	169	22
Dicrotofós	3,12	238	17	193	10	112	10
Difenoconazol	7,08	406	37	251	25	111	60
Diflubenzurom	6,60	311	20	113	40	141	28
Dimetoato	3,52	230	12	125	20	199	10
Dimoxistrobina	6,67	327	21	116	21	205	10
Diurum	5,55	233	27	72	18	46	14
Epoxiconazol	6,45	330	25	101	50	121	22
Etoprofós	6,44	243	18	97	31	131	20
Etoxisulfurom	6,16	399	25	261	16	218	24
Fenamidona	6,01	312	22	92	25	236	14
Fenamifós	6,58	304	27	202	36	217	24
Fempropimorfe	5,87	304	41	147	28	57	30
Fenoxicarbe	6,63	302	19	88	20	116	11
Fentiona	6,77	279	25	169	16	247	13
Fluasifope-p-butílico	7,33	384	27	282	22	328	16
Fluquinconazol	6,33	376	37	307	30	349	18
Flusilazol	6,60	316	27	165	28	247	18
Flutriafol	5,43	302	23	123	29	70	18
Fosmete	5,73	318	19	160	22	77	46
Furatiocarbe	7,34	383	22	195	18	252	12
Hexitiazoxi	7,59	353	21	168	26	228	14
Imazaquim	4,77	312	29	86	28	267	20
Imidacloprido	3,24	256	23	175	20	209	15
Iprovalicarbe	6,32	321	19	119	16	203	10
Malationa	6,14	331	12	99	24	127	12
Mecarbam	6,39	330	12	227	8	97	35
Mefosfolam	4,69	270	25	140	24	75	22
Metalaxil	5,50	280	15	192	17	220	13
Metconazol	6,95	320	29	70	22	125	36
Metidationa	5,63	303	10	145	10	85	20



(continuação)

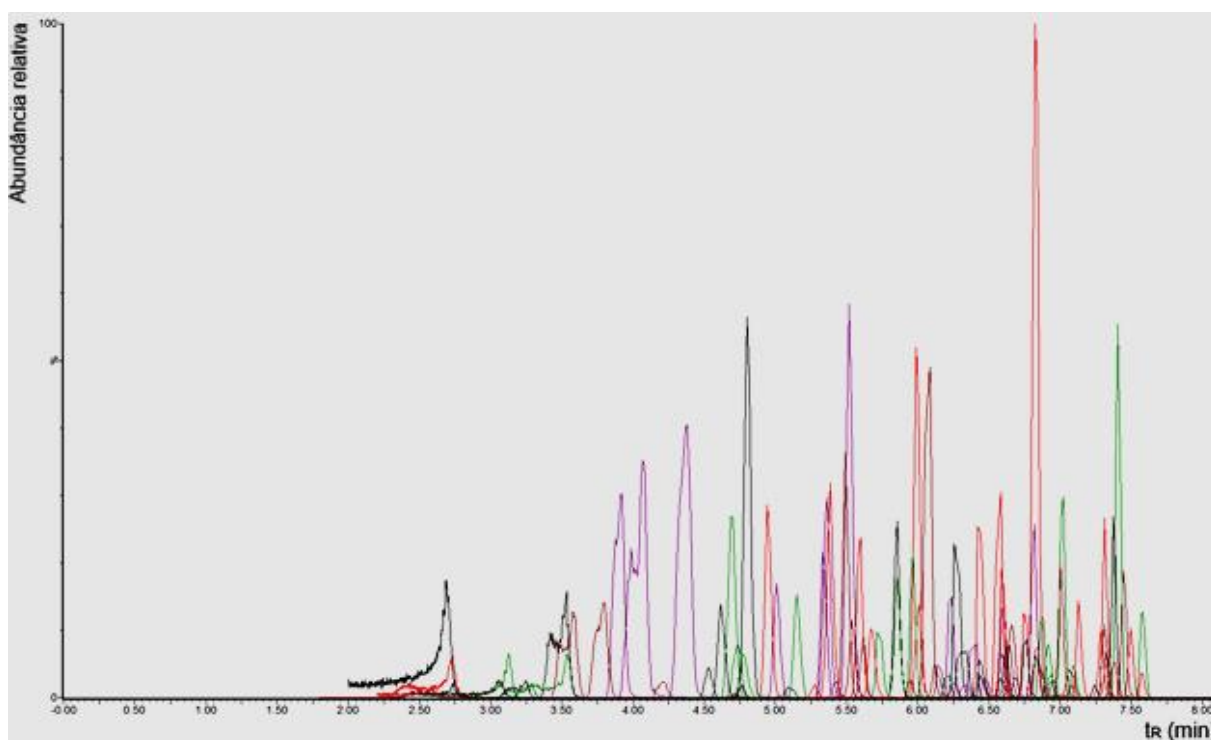
Composto	$t_R$ (min)	Íon Precursor (m/z)	VC (V)	1ª Transição Quantificação		2ª Transição Qualificação	
				Íon Produto (m/z)	EC (eV)	Íon Produto (m/z)	EC (eV)
Metiocarbe	6,01	226	19	121	22	169	10
Metomil	2,58	163	17	106	10	88	10
Metsulfurom metílico	4,75	382	22	199	22	167	16
Miclobutanil	6,25	289	25	70	18	125	32
Molinato	6,21	188	17	55	24	126	13
Nicosulfurom	4,69	411	26	106	32	182	22
Nuarimol	5,96	315	37	252	22	81	28
Paraoxom etílico	5,35	276	28	220	17	248	16
Pencicuirom	7,03	329	30	125	22	125	40
Penconazol	6,77	284	25	159	34	70	16
Penoxsulam	5,09	484	53	125	53	195	30
Picoxistrobina	6,60	368	10	145	22	205	10
Piraclostrobina	6,89	388	20	163	25	194	12
Pirazofós	6,92	374	33	194	32	222	22
Piridafentona	6,24	341	31	189	22	92	34
Pirimetanil	5,69	200	42	107	24	82	24
Pirimicarbe	4,38	239	25	182	15	72	18
Pirimifós etílico	7,42	334	30	198	23	182	25
Profenofós	7,33	373	25	128	40	303	20
Prometrina	6,09	242	26	158	25	200	17
Propanil	5,97	218	31	162	16	127	22
Propiconazol	6,85	342	37	159	34	69	22
Quinalfós	6,65	299	15	97	30	163	24
Quizalofope-p-etílico	7,30	373	30	91	18	299	18
Saflufenacil	5,77	501	30	198	49	349	30
Simazina	4,72	202	34	96	22	124	16
Tebufenozida	6,60	353	12	133	20	297	8
Tebufenpirade	7,39	334	43	117	34	145	28
Tetraconazol	6,46	372	32	159	30	70	20
Tiacloprido	3,91	253	32	126	20	90	40
Tiametoxam	2,74	292	19	132	22	211	12
Tiobencarbe	7,02	258	21	125	17	100	12
Tiodicarbe	5,10	355	17	88	16	108	16
Tolclofós metílico	6,97	301	30	125	17	175	29
Triazofós	6,30	314	22	162	35	119	18

Composto	$t_R$ (min)	Íon Precursor (m/z)	VC (V)	(conclusão)			
				1ª Transição Quantificação		2ª Transição Qualificação	
				Íon Produto (m/z)	EC (eV)	Íon Produto (m/z)	EC (eV)
Triciclazol	4,07	190	32	136	27	163	20
Trifenilfosfato (P.I.)	6,85	327	40	152	37	215	28
Trifloxissulfurom	5,41	438	21	139	45	182	20
Trifloxistrobina	7,15	409	25	145	40	186	16
Triflumurom	6,94	359	23	139	35	156	16
Vamidationa	3,54	288	17	118	28	146	10

VC: voltagem do cone; EC: energia de colisão; P.I.: padrão interno; P.C.: padrão de controle.

A Figura 8 apresenta o cromatograma obtido a partir dos íons selecionados no modo de aquisição SRM para uma fortificação da amostra “branco” na concentração  $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ , que corresponde a  $5,0 \mu\text{g L}^{-1}$  no equipamento.

Figura 8 - Cromatograma de íon total obtido por UHPLC-MS/MS a partir de uma fortificação da amostra “branco” na concentração  $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ .



Fonte: Autor (2020)

A partir dessas condições a cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas em série (MS/MS) possibilitou a quantificação e qualificação de 94 agrotóxicos em apenas 10 min de análise.

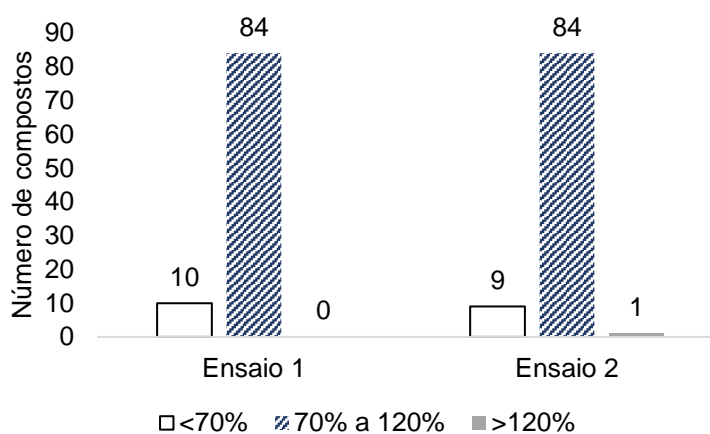
## 4.2 OTIMIZAÇÃO DO PREPARO DE AMOSTRA

Para aumentar a eficiência do método de preparo de amostra é necessário avaliar diferentes parâmetros a fim de obter condições ideais para a análise dos compostos em estudo, com isso, buscou-se extrair ao mesmo tempo em uma única SPE agrotóxicos de diferentes propriedades, como por exemplo, diferentes polaridades. Foram avaliados os parâmetros: pH da amostra, sorvente de extração, solvente para o condicionamento do sorvente, solvente de eluição e volume do solvente de eluição. Utilizou-se amostras “branco” fortificadas na concentração de  $0,32 \mu\text{g L}^{-1}$  para a otimização do preparo de amostra.

Foram realizados 24 ensaios conforme descrito na Tabela 8 para a obtenção do melhor método de extração dos agrotóxicos em estudo a serem determinados por UHPLC-MS/MS. Inicialmente foi testado o método de Fortuny e colaboradores (2013) modificado sendo esse o Ensaio 1 utilizando o sorvente Bond Elut Plexa 500 mg, o método mostrou-se eficaz para a extração de grande parte dos compostos em estudo como mostra a Figura 9.

O pH da amostra pode ser um parâmetro crítico para a SPE uma vez que pode influenciar na retenção dos compostos no sorvente, com isso, em alguns casos é necessário o ajuste do pH para estabilizar os agrotóxicos e aumentar sua retenção na fase sólida (JARDIM, 2015). Sendo assim, no Ensaio 2 foi avaliado se a acidificação da amostra influencia na recuperação dos compostos.

Figura 9 - Número de compostos recuperados em três diferentes faixas de recuperação para os ensaios 1 e 2.



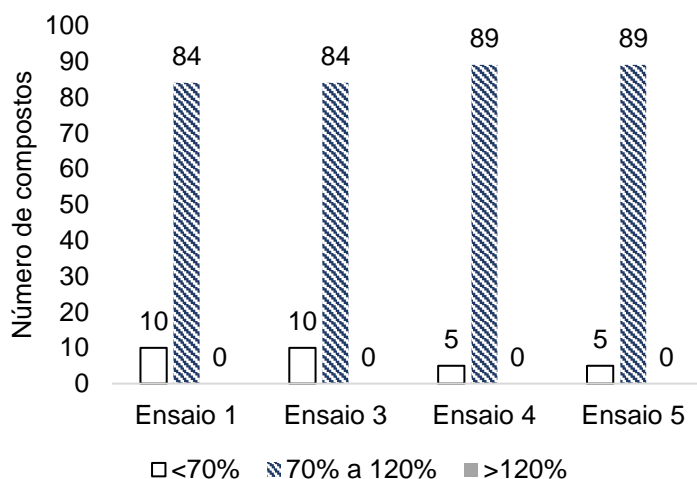
Pode-se observar na Figura 9 que os ensaios apresentaram o mesmo número de compostos recuperados na faixa aceitável de recuperação (70 – 120%) (SANTÉ,

2020), porém, os compostos com recuperação aceitável são diferentes nos dois ensaios, esse resultado está associado aos diferentes valores da constante de dissociação ácida dos agrotóxicos em estudo (Tabela 6), visto que a acidificação da amostra pode ou não melhorar a retenção dos compostos no sorvente, dependendo do valor de  $pK_a$ . Como o objetivo do trabalho é extrair o maior número de agrotóxicos possível optou-se por utilizar o pH entre 5,2 e 6,5 para os ensaios posteriores uma vez que o ajuste de pH requer uma etapa a mais o que torna o método mais extenso.

Após observar que não existe a necessidade de acidificação da amostra, realizou-se outros 3 testes (ensaio 3, 4 e 5), sendo esses para avaliar a etapa de condicionamento do cartucho e eluição. Como pode ser observado na Tabela 8 o método do ensaio 1 utiliza grande volume de diferentes solventes, com isso, realizou-se os ensaios 3, 4 e 5 para verificar se existe a real necessidade de empregar todos os solventes.

Para isso, avaliou-se a utilização de metanol e água ultrapura na etapa de condicionamento do sorvente nos ensaios 3 e 5, o que é comumente utilizado nessa etapa (WANG *et al.*, 2019; IBRAHIM; VELOO; SANAGI, 2012; SCHWANZ *et al.*, 2019; ELFIKRIE *et al.*, 2020), e a eluição com acetonitrila nos ensaios 4 e 5, pois os solventes de eluição utilizados no ensaio 1 e 3 (diclorometano e acetato de etila) não são compatíveis ao sistema UHPLC-MS/MS, tendo que evaporar o eluato e redissolver os analitos em solvente adequado, por exemplo acetonitrila. O número de compostos recuperados nos ensaios 1, 3, 4 e 5 está ilustrado na Figura 10.

Figura 10 - Número de compostos recuperados em três diferentes faixas de recuperação para os ensaios 1, 3, 4 e 5.



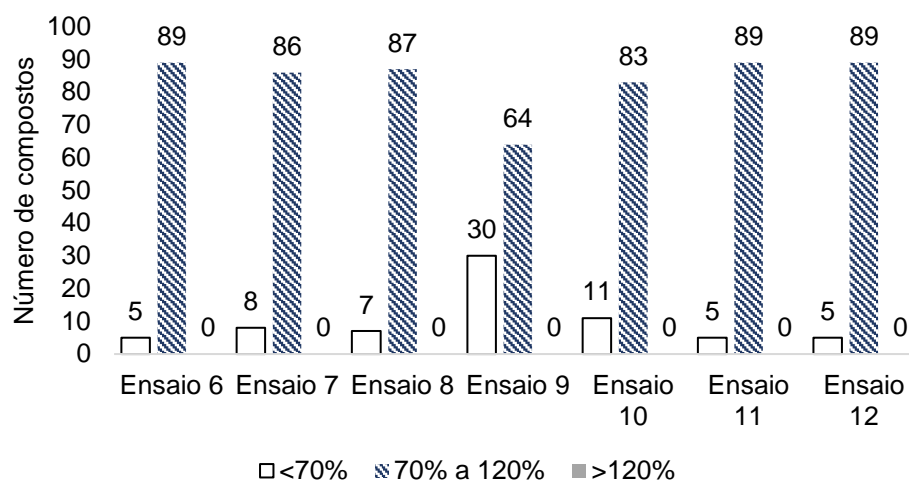
Como observado na Figura 10, a utilização de diclorometano e acetato de etila na etapa de condicionamento do cartucho não influencia na retenção dos analitos no sorvente para esse método, pois a ausência dos mesmos nos ensaios 3 e 5 não teve efeito na recuperação dos compostos. Além disso, a utilização de acetonitrila como solvente de eluição melhorou a recuperação dos analitos, isso devido a polaridade intermediária da acetonitrila (KOMSTA; STEPKOWSKA; SKIBINSKI, 2016) que favorece a eluição de compostos com uma ampla faixa de polaridade e também porque a utilização de acetonitrila como solvente de eluição não requer a etapa de evaporação que pode contribuir para a perda de alguns compostos.

Com isso, optou-se por não utilizar diclorometano e acetato de etila na etapa de condicionamento do cartucho e usar acetonitrila na etapa de eluição para os ensaios posteriores devido a melhora na recuperação dos compostos na faixa aceitável, redução da quantidade de resíduo e também porque a utilização de acetato de etila e diclorometano como solvente de eluição requer uma etapa de evaporação do extrato para determinação por UHPLC-MS/MS, tornando o método mais extenso.

#### **4.2.1 ESCOLHA DO SORVENTE DE EXTRAÇÃO**

Para a avaliação de diferentes sorventes de SPE utilizou-se o método de extração do ensaio 5. A escolha do sorvente é um parâmetro fundamental para a SPE, pois existe uma ampla gama de sorventes com diferentes estruturas químicas, o que resulta em diferentes mecanismos de retenção (FARAJI; YAMINI; GHOLAMI, 2019). Sendo assim, foram testados 7 tipos de sorventes: Bond Elut Plexa 200 mg (Ensaio 6), Strata<sup>TM</sup>-X 60 mg (Ensaio 7) e 200 mg (Ensaio 8), Supel<sup>®</sup>-Select HLB 200 mg (Ensaio 9), Bond Elut C18 500 mg (Ensaio 10) e Oasis<sup>®</sup> HLB 60 mg (Ensaio 11) e 200 mg (Ensaio 12). Como o condicionamento do sorvente serve para eluir algumas impurezas que podem estar presentes no cartucho, a partir destes ensaios utilizou-se o mesmo solvente na etapa de condicionamento e na etapa de eluição, o que é recomendado para remover possíveis interferentes que poderiam ser eluidos junto com os compostos em estudo (CALDAS *et al.*, 2011). O número de compostos recuperados para cada sorvente está representado na Figura 11.

Figura 11 - Número de compostos recuperados em três diferentes faixas de recuperação para os ensaios 6 a 12.



Os sorventes Bond Elut C18 e o Supel®-Select HLB apresentaram os resultados menos satisfatórios de recuperação dos analitos na faixa aceitável. Esses sorventes são frequentemente utilizados para compostos com log  $K_{ow}$  superior a 1, ou seja, mais apolares (CHERTA *et al.*, 2012; SANTASANIA; TRINH; ARKER, 2009). Como a polaridade dos compostos em estudo é intermediária a alta era esperado que esses sorventes não fossem os mais adequados para a retenção dos analitos.

Por outro lado, o Bond Elut Plexa é um sorvente polimérico onde o seu exterior é hidroxilado e o interior hidrofóbico, sendo universalmente aplicável com eficiência para a extração de uma ampla gama de analitos ácidos, neutros e básicos. Além disso, o Bond Elut Plexa permite condições de extração favoráveis, como maior vazão e maior versatilidade nas etapas de condicionamento, concentração e eluição, devido a sua estrutura polimérica avançada de partículas uniformes com uma distribuição de tamanho limitada (FORTUNY *et al.*, 2013).

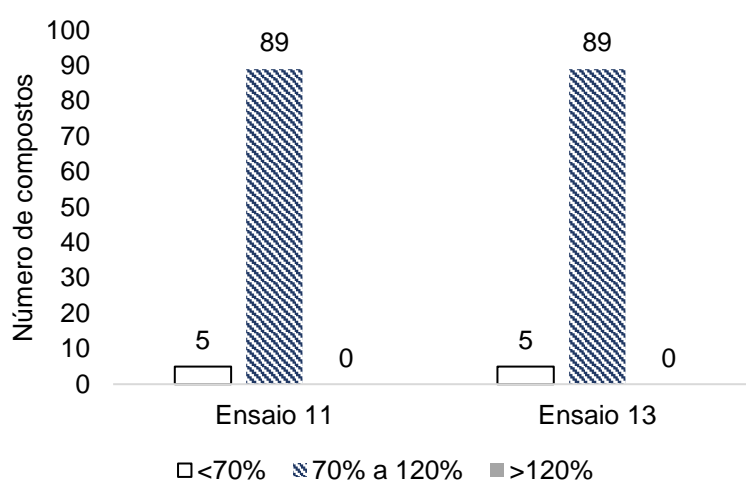
Os sorventes Strata™-X e Oasis® HLB são polímeros com uma superfície modificada com divinilbenzeno (não polar) e uma N-vinilpirrolidona (polar), o que facilita a retenção de compostos com uma ampla faixa de polaridade. Esses sorventes são recomendados para a extração de compostos ácidos, básicos e neutros de polaridade média a alta, tendo uma capacidade de retenção mais ampla do que os à base de sílica (DONATO *et al.*, 2015).

Ao comparar os diferentes tipos de sorventes avaliados, observou-se que os sorventes poliméricos (Strata™-X, Oasis® HLB e Bond Elut Plexa) apresentaram melhores resultados de recuperação entre 70 e 120% o que era esperado pela

versatilidade desses cartuchos. A escolha do sorvente foi feita através dos resultados de recuperação, disponibilidade no laboratório e o custo do cartucho. Com isso, optou-se por utilizar o cartucho Oasis<sup>®</sup> HLB 60 mg para os ensaios posteriores.

Após estabelecer qual sorvente será utilizado, realizou-se o ensaio 13 a fim de diminuir o volume de solvente na etapa de condicionamento do sorvente. O número de compostos recuperados para esse ensaio está descrito na Figura 12.

Figura 12 - Número de compostos recuperados em três diferentes faixas de recuperação para os ensaios 11 e 13, variando o volume de solvente na etapa de condicionamento do sorvente.



Como mostrado na Figura 12, a redução no volume de solvente na etapa de condicionamento não apresentou diferença na retenção dos compostos, visto que os ensaios 11 e 13 apresentaram a mesma quantidade de analitos recuperados na faixa aceitável de recuperação de 70–120%, essa redução é vantajosa por usar menos solvente e conseqüentemente gerar menos resíduo. Com isso, foi decidido utilizar o método do ensaio 13 para a avaliação de diferentes solventes de eluição.

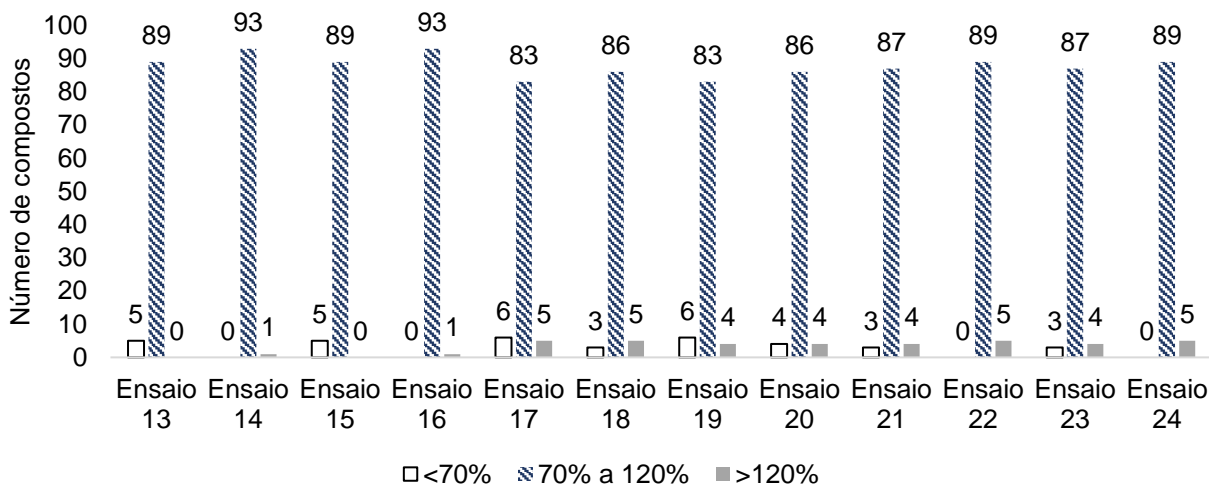
#### 4.2.2 ESCOLHA DO SOLVENTE E DO VOLUME DE ELUIÇÃO

Os solventes de eluição utilizados para os testes foram acetonitrila, metanol, acetonitrila/metanol (1:1, v/v), acetonitrila contendo 1% (v/v) ácido acético, metanol contendo 1% (v/v) ácido acético e acetonitrila/metanol (1:1, v/v) com 1% (v/v) ácido acético. Sendo essa escolha baseada na literatura (CASADO; SANTILLO; JOHNSTON, 2018; DONATO *et al.*, 2015) e também na compatibilidade dos solventes com o sistema UHPLC-MS/MS.

Os testes até o momento foram realizados utilizando 2 mL de solvente na etapa de eluição. A fim de aumentar o fator de concentração do método, realizou-se testes

utilizando 1 mL de solvente de eluição. A Figura 13 apresenta as recuperações obtidas para cada solvente utilizando volumes de 1 e 2 mL.

Figura 13 - Número de compostos recuperados em três diferentes faixas de recuperação para os ensaios 13 a 24, variando o solvente de eluição e o volume.



Como ilustrado na Figura 13 a utilização de acetonitrila como solvente de eluição (ensaio 13) apresentou melhor resultado de recuperação dos analitos do que metanol (ensaio 17) e acetonitrila/metanol (1:1, v/v) (ensaio 21), isso devido a polaridade intermediária da acetonitrila (KOMSTA; STEPKOWSKA; SKIBINSKI, 2016) que se assemelha com a polaridade da maioria dos compostos. Portanto, a capacidade de dessorção dos agrotóxicos em estudo empregando acetonitrila é superior ao metanol e acetonitrila/metanol (1:1, v/v), sendo um dos solventes mais utilizados na etapa de eluição na SPE para extração de agrotóxicos em amostras de água além de ser adequado para métodos que utilizam UHPLC-MS/MS.

Além disso, a Figura 13 mostra que utilizando acetonitrila acidificada com 1% (v/v) de ácido acético (ensaio 14) apresenta um aumento no número de compostos recuperados. O fato do solvente de eluição possuir caráter ácido favoreceu a eluição de alguns compostos. Com isso, foi decidido utilizar acetonitrila contendo 1% (v/v) ácido acético como solvente de eluição por apresentar o melhor desempenho quando comparado com os solventes.

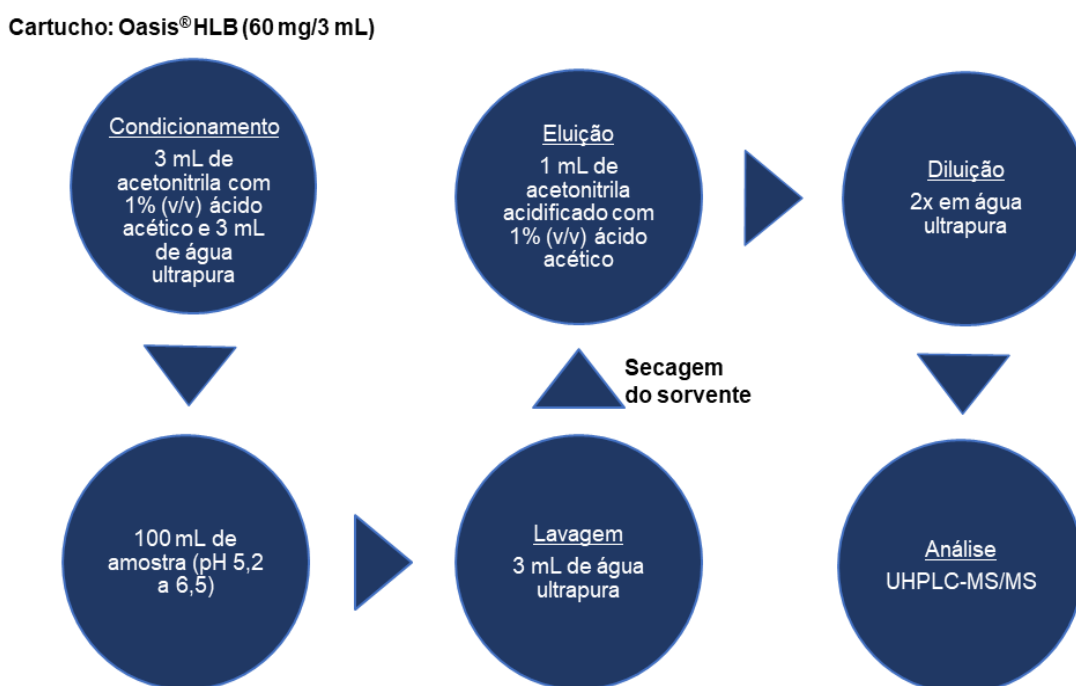
Após a escolha do solvente, foram avaliados os volumes de eluição. Ao observar a Figura 13, é possível concluir que as recuperações para 1 e 2 mL de acetonitrila contendo 1% (v/v) ácido acético foram satisfatórias (70-120%) para a maioria dos compostos (ensaios 14 e 16). Visto que ao eluir com 1 mL de solvente o



fator de concentração do método torna-se duas vezes maior, optou-se por utilizar esse volume de eluição.

Por fim, os melhores resultados foram obtidos nas seguintes condições: Cartucho Oasis® HLB (60 mg/3 mL), condicionamento do cartucho com 3 mL de acetonitrila com 1% (v/v) ácido acético e 3 mL de água ultrapura, amostra sem ajuste de pH (5,2-6,5) e solvente de eluição acetonitrila contendo 1% (v/v) ácido acético. Para a validação foi decidido utilizar 100 mL de amostra para obter um fator de concentração adequado com a faixa linear do equipamento além da necessidade de um menor volume de amostra para realizar o procedimento. O extrato final foi diluído duas vezes em água ultrapura para melhorar o sinal analítico dos compostos. A Figura 14 apresenta esquematicamente o método de SPE empregado nesse trabalho que obteve um fator de concentração de 50 vezes.

Figura 14 - Método de SPE otimizado para a extração dos analitos em estudo.



### 4.3 VALIDAÇÃO DO MÉTODO

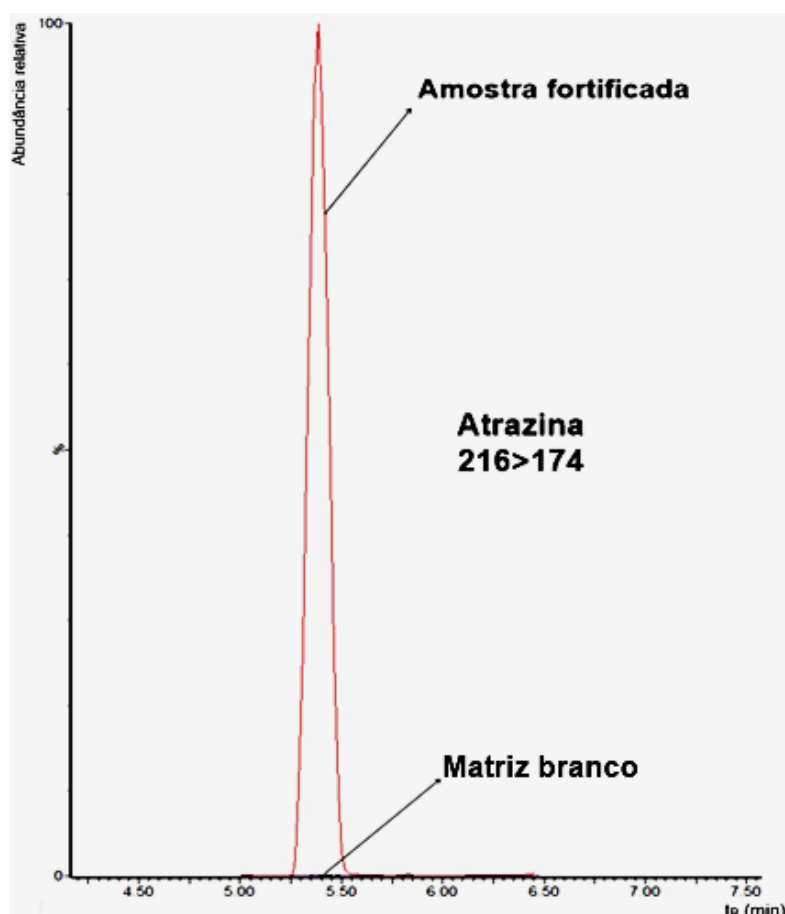
A validação do método SPE utilizado nesse estudo foi realizada seguindo o procedimento ilustrado na Figura 14 e empregando o sistema UHPLC-MS/MS nas condições descritas no item 3.6, no qual foram avaliados os agrotóxicos que constam na Tabela 6. As soluções analíticas foram feitas em solvente (acetonitrila contendo

1% (v/v) ácido acético) e as fortificações realizadas na matriz “branco”. Com isso, foi possível avaliar os parâmetros de validação do método analítico para os 94 agrotóxicos em estudo segundo o documento DOQ-CGCRE-008 e SANTÉ 12682/2019 (INMETRO, 2018; SANTÉ, 2020).

#### 4.3.1 SELETIVIDADE

Para esse parâmetro avaliou-se a matriz “branco” (água de torneira) quanto à presença de resposta cromatográfica para os agrotóxicos em estudo. A seletividade do método foi assegurada, visto que além da matriz “branco” não apresentar a presença dos compostos avaliados, não tinha interferentes com os mesmos íons de quantificação e qualificação dos analitos estudados. Exemplo disso é o composto atrazina, conforme a Figura 15, em que o cromatograma de íons totais da amostra fortificada no nível  $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$  sobreposto ao cromatograma da matriz “branco” mostra que a água de torneira estava isenta desse agrotóxico.

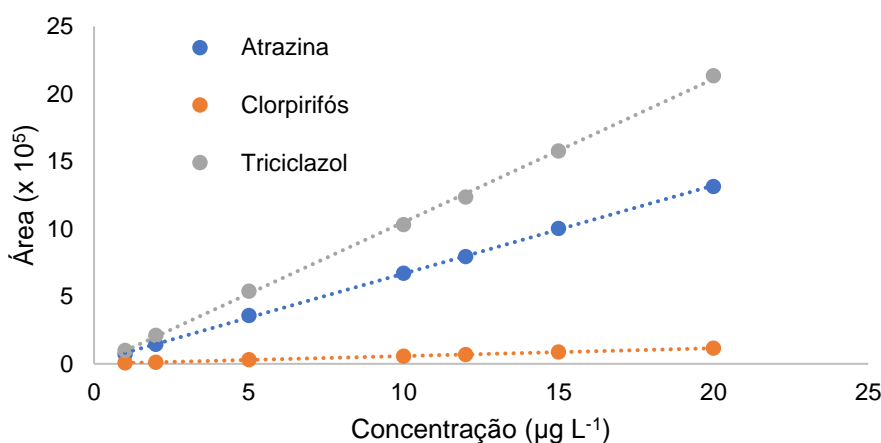
Figura 15 - Cromatograma de íon total da atrazina obtido por UHPLC-MS/MS a partir de uma fortificação na concentração  $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$  sobreposto ao branco da matriz.



### 4.3.2 LINEARIDADE

No que se refere à linearidade do método, esse parâmetro foi avaliado pela aplicação da regressão linear nos pontos da curva analítica e pelos valores de coeficiente de determinação ( $r^2$ ) obtidos. Foram realizados 7 pontos em diferentes concentrações com  $n=3$ , obtendo uma faixa linear de 1 a 20  $\mu\text{g L}^{-1}$ . A Figura 16 ilustra as curvas analíticas obtidas para atrazina, clorpirifós e triciclazol, onde é possível observar que o triciclazol possui as maiores áreas e a curva mais inclinada (maior sensibilidade).

Figura 16 - Curvas analíticas obtidas para os compostos atrazina, clorpirifós e triciclazol.



A Tabela 10 apresenta os resultados obtidos para os valores de coeficiente de determinação ( $r^2$ ) e a equação da reta das curvas analíticas para cada agrotóxico.

Tabela 10 - Equação da reta e coeficiente de determinação para a curva analítica de cada agrotóxico em estudo.

Composto	Equação da reta	(continua)
		$r^2$
2,4-D	$y = 84 x - 45$	0,998
Acetamiprido	$y = 55846 x + 4592$	0,998
Aldicarbe	$y = 9567 x - 1295$	0,997
Ametrina	$y = 130020 x - 3816$	0,998
Atrazina	$y = 63973 x + 13975$	0,998
Atrazina-d5	$y = 53334 x + 20623$	0,997
Azaconazol	$y = 43646 x + 1785$	0,998
Azametifós	$y = 17108 x - 232$	0,997
Azoxistrobina	$y = 34269 x + 1344$	0,997
Buprofezina	$y = 40793 x + 4124$	0,998
Butóxido de piperonila	$y = 35467 x - 123$	0,997

(continuação)

<b>Composto</b>	<b>Equação da reta</b>	<b>r<sup>2</sup></b>
Carbaril	$y = 32005 x + 370$	0,998
Carbendazim	$y = 78899 x + 28886$	0,997
Carbofurano	$y = 93989 x + 22202$	0,998
Cianazina	$y = 10650 x - 1695$	0,998
Ciazofamida	$y = 7917 x - 1327$	0,998
Cimoxanil	$y = 45112 x + 3055$	0,998
Clorantraniliprole	$y = 1721 x - 908$	0,996
Clorfenvinfós	$y = 9879 x + 333$	0,998
Clorpirifós	$y = 5762 x + 405$	0,997
Clorpirifós metílico	$y = 1882 x - 232$	0,999
Clotianidina	$y = 6076 x - 1141$	0,997
Cresoxim metílico	$y = 4704 x - 361$	0,999
Demetom-S-metil-sulfona	$y = 31830 x - 4206$	0,998
Diazinona	$y = 39613 x - 2923$	0,998
Dicrotofós	$y = 9451 x - 1782$	0,997
Difenoconazol	$y = 12895 x - 2609$	0,997
Diflubenzurom	$y = 3692 x + 701$	0,997
Dimetoato	$y = 30434 x + 1460$	0,998
Dimoxistrobina	$y = 20019 x - 2023$	0,998
Diurum	$y = 20815 x + 6757$	0,997
Epoconazol	$y = 9405 x + 1386$	0,998
Etoprofós	$y = 42582 x + 5396$	0,997
Etoxisulfurom	$y = 6707 x - 420$	0,998
Fempropimorfe	$y = 44203 x - 4302$	0,998
Fenamidona	$y = 10085 x - 244$	0,998
Fenamifós	$y = 64458 x + 5146$	0,997
Fenoxicarbe	$y = 8075 x - 86$	0,997
Fentiona	$y = 10729 x - 1684$	0,999
Fluasifope-P-butílico	$y = 45163 x + 8449$	0,997
Fluquinconazol	$y = 3391 x - 458$	0,995
Flusilazol	$y = 19054 x + 2836$	0,997
Flutriafol	$y = 3512 x - 115$	0,998
Fosmete	$y = 32039 x + 708$	0,998
Furatiocarbe	$y = 14575 x - 344$	0,998
Hexitiazoxi	$y = 19826 x - 610$	0,998
Imazaquim	$y = 17007 x + 2970$	0,998
Imidacloprido	$y = 6117 x - 1453$	0,998
Iprovalicarbe	$y = 16442 x - 1078$	0,999
Malationa	$y = 6628 x + 1167$	0,996
Mecarbam	$y = 4601 x + 1209$	0,998
Mefosfolam	$y = 67231 x - 37$	0,998
Metalaxil	$y = 29334 x + 2983$	0,997

<b>Composto</b>	<b>Equação da reta</b>	(conclusão)
		<b>r<sup>2</sup></b>
Metconazol	$y = 5611 x - 951$	0,999
Metidationa	$y = 13626 x + 1181$	0,997
Metiocarbe	$y = 71474 x + 11541$	0,998
Metomil	$y = 3402 x - 423$	0,998
Metsulfurom metílico	$y = 3536 x - 848$	0,998
Miclobutanil	$y = 2774 x + 812$	0,995
Molinato	$y = 8903 x - 1221$	0,996
Nicosulfurom	$y = 25899 x + 1903$	0,998
Nuarimol	$y = 4572 x - 1230$	0,998
Paraoxom etílico	$y = 42402 x + 11673$	0,997
Pencicurom	$y = 35883 x - 1259$	0,997
Penconazol	$y = 8309 x + 165$	0,998
Penoxsulam	$y = 3697 x - 467$	0,997
Picoxistrobina	$y = 12130 x - 461$	0,999
Piraclostrobina	$y = 16125 x + 438$	0,998
Pirazofós	$y = 11080 x - 3690$	0,997
Piridafentiona	$y = 30036 x - 3292$	0,997
Pirimetanil	$y = 18660 x - 1558$	0,999
Pirimicarbe	$y = 85721 x - 3274$	0,998
Pirimifós etílico	$y = 95514 x + 5794$	0,998
Profenofós	$y = 17961 x + 4172$	0,998
Prometrina	$y = 110706 x + 6280$	0,996
Propanil	$y = 28377 x + 6406$	0,997
Propiconazol	$y = 16846 x + 3821$	0,997
Quinalfós	$y = 6516 x - 131$	0,997
Quizalofope-p-etílico	$y = 27395 x + 304$	0,998
Saflufenacil	$y = 6911 x - 1747$	0,998
Simazina	$y = 13255 x + 3812$	0,997
Tebufenozida	$y = 7482 x + 738$	0,998
Tebufenpirade	$y = 5962 x + 688$	0,999
Tetraconazol	$y = 8997 x - 48$	0,998
Tiacloprido	$y = 99260 x + 7069$	0,998
Tiametoxam	$y = 6177 x + 834$	0,997
Tiobencarbe	$y = 35378 x + 2020$	0,999
Tiodicarbe	$y = 2019 x - 297$	0,997
Tolclofós metílico	$y = 3679 x + 356$	0,996
Triazofós	$y = 12392 + 3056$	0,998
Triciclazol	$y = 102695 x - 3681$	0,998
Trifloxissulfurom	$y = 2517 x - 646$	0,997
Trifloxistrobina	$y = 15504 x - 527$	0,998
Triflumurom	$y = 6568 x + 1495$	0,997
Vamidotiona	$y = 9707 x - 1937$	0,998

A partir desses resultados, verificou-se que a linearidade de todos os compostos foi adequada, visto que todas as curvas apresentaram  $r^2 \geq 0,99$ .

#### 4.3.3 EXATIDÃO, PRECISÃO E PRECISÃO INTERMEDIÁRIA

A exatidão e precisão do método foram avaliadas de acordo com os resultados de recuperação e DPR dos compostos. Na Tabela 11 estão representados os valores das médias dos percentuais de recuperação ( $n=7$ ) e DPR para os agrotóxicos em estudo, nos níveis de concentração de 0,04, 0,1, 0,2 e 0,4  $\mu\text{g L}^{-1}$  na avaliação de repetitividade, bem como os resultados do ensaio de precisão intermediária. A recuperação foi calculada utilizando a curva analítica preparada em acetonitrila contendo 1% (v/v) ácido acético. Para a aceitação do método, as recuperações devem apresentar valores de recuperação entre 70 e 120% e  $\text{DPR} \leq 20\%$  (SANTÉ, 2020).

Tabela 11 - Resultados dos ensaios de repetitividade e precisão intermediária.

(continua)

Composto	Recuperação±DPR (%)				
	Repetitividade				Precisão Intermediária
	Níveis ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )				
	0,04	0,1	0,2	0,4	0,1
2,4-D	74±18	75±17	70±8	71±7	71±12
Acetamiprido	98±3	96±7	98±2	96±1	94±1
Aldicarbe	88±5	71±12	80±7	85±3	83±2
Ametrina	97±2	91±7	94±1	95±2	92±2
Atrazina	88±3	91±7	93±1	90±1	91±2
Atrazina-d5	90±3	94±7	98±2	92±2	95±1
Azaconazol	96±4	94±8	96±3	95±3	91±1
Azametifós	98±4	95±7	95±2	96±1	94±2
Azoxistrobina	93±3	90±5	93±3	94±6	94±5
Buprofezina	81±6	81±9	82±2	83±5	83±2
Butóxido de piperonila	79±4	77±11	80±3	80±3	82±2
Carbaril	96±3	93±7	92±2	92±2	91±1
Carbendazim	91±4	93±9	102±8	103±2	99±2
Carbofurano	73±3	77±7	83±2	84±1	82±1
Cianazina	106±6	98±8	100±2	102±2	94±3
Ciazofamida	101±5	88±12	91±7	82±13	80±9
Cimoxanil	96±3	96±6	91±2	91±1	93±1
Clorantraniliprole	93±15	97±8	95±6	98±8	91±5
Clorfenvinfós	92±8	85±10	89±9	89±8	90±6
Clorpirifós	70±8	71±8	72±5	71±4	73±4
Clorpirifós metílico	86±19	78±11	85±4	82±7	78±5
Clotianidina	111±4	104±9	103±2	103±2	96±1

(continuação)

Composto	Recuperação±DPR (%)				
	Repetitividade				Precisão Intermediária
	Níveis ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )				
	0,04	0,1	0,2	0,4	0,1
Cresoxim metílico	89±14	89±8	86±9	83±10	88±9
Demetom-S-metil-sulfona	105±2	96±7	98±3	100±1	94±1
Diazinona	91±6	86±9	81±7	84±6	93±4
Dicrotofós	118±5	102±7	109±17	117±7	96±1
Difenoconazol	86±7	81±12	82±6	83±4	76±2
Diflubenzurom	87±9	93±16	96±7	92±11	91±8
Dimetoato	95±3	93±6	95±2	93±2	94±1
Dimoxistrobina	96±8	85±8	88±12	87±7	93±4
Diurom	96±5	94±8	94±2	92±2	94±2
Epoxiconazol	83±13	85±10	90±9	93±8	92±4
Etoprofós	84±13	86±9	83±11	84±10	93±3
Etoxisulfurom	96±14	88±9	99±8	92±8	92±2
Fempropimorfe	79±9	72±6	75±3	79±5	77±2
Fenamidona	89±10	88±8	92±2	92±2	92±7
Fenamifós	88±7	74±10	88±6	87±6	82±3
Fenoxicarbe	85±13	89±15	87±9	89±8	87±6
Fentiona	98±9	77±16	86±5	87±4	84±5
Fluasifope-P-butílico	59±7	71±6	70±7	70±4	70±1
Fluquinconazol	114±13	103±19	98±18	89±15	88±8
Flusilazol	86±12	85±17	82±6	87±6	84±9
Flutriafol	93±16	90±12	98±10	92±4	95±7
Fosmete	89±5	86±9	81±5	81±2	90±1
Furatiocarbe	70±10	71±8	75±3	75±6	76±2
Hexitiazoxi	69±4	70±10	70±4	71±5	72±1
Imazaquim	86±5	84±9	88±2	89±1	82±1
Imidacloprido	112±0	103±8	105±4	105±2	95±2
Iprovalicarbe	104±8	91±5	93±3	91±3	93±1
Malationa	90±16	88±12	90±7	85±10	90±7
Mecarbam	92±16	88±19	82±19	91±9	84±4
Mefosfolam	99±3	94±6	95±1	95±1	93±2
Metalaxil	94±7	95±6	99±2	97±2	95±2
Metconazol	99±15	87±14	91±8	89±10	89±3
Metidationa	92±4	91±6	91±2	91±2	93±3
Metiocarbe	91±4	88±9	90±4	87±5	90±2
Metomil	130±7	101±10	99±20	119±8	93±2
Metsulfurom metílico	112±12	97±13	103±5	102±3	93±3
Miclobutanil	86±11	94±19	84±8	87±12	87±4
Molinato	88±11	92±11	93±12	94±9	88±5

(conclusão)

Composto	Recuperação±DPR (%)				
	Repetitividade				Precisão Intermediária
	Níveis ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )				
	0,04	0,1	0,2	0,4	0,1
Nicosulfurom	101±2	93±9	98±3	101±2	91±2
Nuarimol	106±18	95±14	92±6	97±5	94±8
Paraoxom etílico	90±6	96±6	99±2	96±2	96±3
Pencicurom	87±7	85±12	88±2	88±3	85±3
Penconazol	85±8	89±11	87±6	88±5	89±5
Penoxsulam	112±6	102±5	104±5	103±4	97±4
Picoxistrobina	92±9	87±15	92±6	91±6	91±6
Piraclostrobina	78±9	78±15	79±8	83±9	81±8
Pirazofós	92±14	81±11	80±6	87±6	81±8
Piridafentiona	92±13	87±12	83±9	80±8	90±4
Pirimetanil	97±7	91±8	91±3	91±1	93±2
Pirimicarbe	96±2	91±6	92±1	93±1	92±1
Pirimifós etílico	76±4	74±11	77±3	77±3	77±2
Profenofós	85±5	85±8	88±2	85±3	84±2
Prometrina	94±3	86±13	92±5	92±5	94±2
Propanil	94±4	94±6	95±4	91±2	93±1
Propiconazol	86±4	92±7	94±3	91±2	88±2
Quinalfós	93±8	93±10	96±6	85±11	84±4
Quizalofope-p-etílico	75±8	73±9	77±2	78±2	79±2
Saflufenacil	108±2	96±8	97±2	101±2	93±1
Simazina	93±5	94±9	96±3	92±2	92±3
Tebufenozida	96±11	92±8	96±5	92±7	91±5
Tebufenpirade	70±15	73±9	78±3	77±6	74±3
Tetraconazol	83±15	87±13	82±15	84±8	86±7
Tiacloprido	100±2	97±7	98±2	98±1	94±1
Tiametoxam	159±3	111±5	110±12	99±8	99±2
Tiobencarbe	83±15	91±7	88±4	87±5	89±2
Tiodicarbe	100±16	91±13	97±7	92±4	91±4
Tolclofós metílico	85±20	89±14	87±4	85±8	74±14
Triazofós	76±14	90±18	86±8	87±12	91±11
Triciclazol	96±2	92±6	94±2	94±2	92±1
Trifloxissulfurom	101±17	87±11	96±5	94±11	93±4
Trifloxistrobina	65±8	71±6	71±7	71±7	80±3
Triflumurom	77±10	75±11	80±8	78±8	76±9
Vamidotiona	100±5	75±18	87±13	100±2	92±8



Como observado na Tabela 11, os ensaios de exatidão, precisão e precisão intermediária forneceram resultados aceitáveis para os compostos avaliados, visto que as recuperações apresentaram valores entre 70 e 120% e  $DPR \leq 20\%$ , com exceção dos compostos fluazafope-p-butílico, hexitiazoxi, metomil, tiametoxam e trifloxistrobina que apresentaram recuperação fora da faixa aceitável no nível  $0,04 \mu\text{g L}^{-1}$ , o que é esperado para níveis mais baixos.

#### **4.3.4 LIMITES DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO**

Nesse trabalho, o  $LOQ_m$  foi obtido a partir do menor nível de fortificação que com recuperação entre 70-120% e  $DPR \leq 20\%$ . Por outro lado, estabeleceu-se o  $LOQ_i$  como o menor ponto da curva analítica com a razão sinal/ruído maior que 10. O  $LOD_m$  e  $LOD_i$  foram calculados a partir da divisão dos seus respectivos LOQ ( $LOQ_m$  e  $LOQ_i$ ) por 3,33 (INMETRO, 2018).

O limite de detecção e do limite de quantificação do instrumento ( $LOD_i$ ,  $LOQ_i$ ) foram de  $0,30 \mu\text{g L}^{-1}$  e  $1 \mu\text{g L}^{-1}$ , respectivamente, para todos os compostos. O método apresentou valores de LOD de  $0,01 \mu\text{g L}^{-1}$  e LOQ de  $0,04 \mu\text{g L}^{-1}$  para a maioria dos compostos analisados, com exceção dos compostos fluazafope-p-butílico, hexitiazoxi, metomil, tiametoxam e trifloxistrobina que apresentaram LOD de  $0,03 \mu\text{g L}^{-1}$  e LOQ de  $0,10 \mu\text{g L}^{-1}$ . Esses valores estão satisfatórios com os VMPs dos agrotóxicos em estudo definidos no Brasil e na União Europeia. Dessa forma, o método desenvolvido apresenta aptidão em rotinas laboratoriais, como também pode ser utilizado para realizar determinações a níveis traços.

#### **4.4 APLICAÇÃO DO MÉTODO**

O método desenvolvido nesse trabalho foi aplicado para a análise de 12 amostras coletadas em diferentes locais da cidade de Santa Maria/RS sendo 2 amostras de rio (A7 e A8), 6 amostras de poço artesiano (A4, A5, A6, A9, A10 e A11), 1 amostra de barragem (A3) e 3 amostras de água tratada (A1, A2 e A12). Quando necessário, o pH das amostras foi ajustado para a faixa 5,2 a 6,5 com uma solução de hidróxido de amônio 5% (v/v). Das doze amostras analisadas, nove amostras apresentaram resíduos de agrotóxicos. A Tabela 12 apresenta os valores de concentração encontrados para cada agrotóxico.

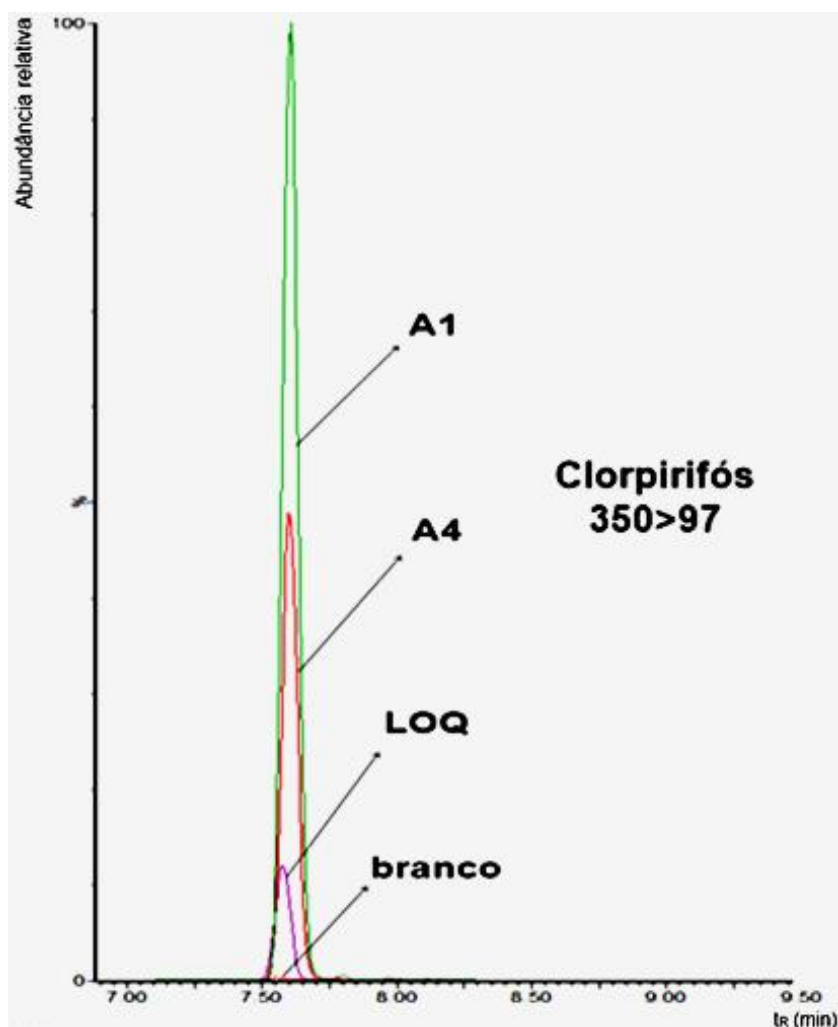
Tabela 12 – Concentrações dos agrotóxicos encontradas nas amostras analisadas.

Compostos	Concentração na amostra ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )									VMP ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )		
	A1	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A11	MS	SES/RS	UE
2,4-D	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,07	n.d.	n.d.	n.d.	30	-	
Carbendazim	n.d.	0,394	n.d.	n.d.	n.d.	0,07	n.d.	n.d.	n.d.	120	-	
Clorpirifós	2,24	0,20	1,13	0,05	0,20	0,09	0,10	0,16	0,11	30	-	0,1
Diuron	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,04	n.d.	n.d.	n.d.	90	-	
Tiametoxam	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,25	n.d.	n.d.	-	120	
Triciclazol	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,08	n.d.	n.d.	-	180	

n.d.: não detectado. Fonte: BRASIL (2017); SES/RS (2014); COUNCIL DIRECTIVE (1980).

A Figura 17 mostra o cromatograma do clorpirifós nas amostras A1 e A4 sobreposto ao seu LOQ ( $0,04 \mu\text{g L}^{-1}$ ) e o branco.

Figura 17 – Cromatograma das amostras A1 e A2, positivas para clorpirifós, sobreposto ao seu LOQ ( $0,04 \mu\text{g L}^{-1}$ ) e branco.



Os valores de concentração encontrados nas amostras de água são inferiores aos VMPs estabelecidos na Portaria de consolidação nº 5, Anexo XX do Ministério da

Saúde e Portaria 320 da Secretaria Estadual de Saúde do RS para os seis agrotóxicos, porém, as concentrações foram superiores ao VMP estabelecido pela União Europeia ( $0,1 \mu\text{g L}^{-1}$ ) para os compostos carbendazim, clorpirifós e tiametoxam. Os resultados obtidos mostram que mesmo com o tratamento da água distribuída à população ainda são encontrados resíduos de agrotóxicos, sendo que uma das amostras positivas é de água tratada, porém os valores encontrados estão de acordo com as legislações brasileiras.

## 5 CONCLUSÕES

O método otimizado e aplicado neste estudo mostrou-se eficaz para a determinação de 94 agrotóxicos em amostras de água, os melhores resultados foram obtidos utilizando o cartucho para SPE Oasis® HLB 60 mg/3 mL e acetonitrila acidificado com 1% (v/v) ácido acético como solvente de eluição.

A detecção dos analitos empregando o sistema UHPLC-MS/MS com fonte de ionização por eletronebulização no modo positivo, operando no modo SRM, apresentou resultados satisfatórios referente a detectabilidade, seletividade e precisão na etapa de validação do método.

O método foi avaliado em parâmetros como linearidade e faixa de trabalho, através das curvas analíticas preparadas em acetonitrila acidificado com 1% (v/v) ácido acético, nos níveis de concentração de 1; 2; 5; 10; 12; 15 e 20  $\mu\text{g L}^{-1}$ . Através dos ensaios de fortificação nos quatro níveis de concentração, a exatidão do método foi avaliada, apresentando recuperações dentro da faixa aceitável de 70 a 120% para a maioria dos ensaios. A precisão do método apresentou resultados satisfatórios em termos de repetitividade, com RSD inferiores a 20% para os 94 compostos avaliados. O método apresentou valores de LOD de 0,01  $\mu\text{g L}^{-1}$  e LOQ de 0,04  $\mu\text{g L}^{-1}$  para a maioria dos compostos analisados, com exceção dos compostos fluazafope-p-butílico, hexitiazoxi, metomil, tiametoxam e trifloxistrobina que apresentaram LOD de 0,03  $\mu\text{g L}^{-1}$  e LOQ de 0,10  $\mu\text{g L}^{-1}$ , sendo esses valores satisfatórios com os VMPs dos agrotóxicos em estudo definidos no Brasil e na União Europeia.

Com isso, os resultados obtidos indicam que o método apresenta grande confiabilidade para a determinação de diferentes classes de resíduos de agrotóxicos em água, mostrando aptidão em rotinas laboratoriais, como também eficiência para realizar determinações a níveis traços.

## 6 ENCAMINHAMENTO DOS RESÍDUOS GERADOS

Durante as atividades de pesquisa gera-se uma quantidade significativa de resíduos líquidos e sólidos, os quais devem ser corretamente tratados ou descartados.

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

## 7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- ✓ Ampliar o escopo de agrotóxicos a serem analisados em água por UHPLC-MS/MS;
- ✓ Desenvolver um método de análise cromatográfica por GC-MS/MS para expandir o escopo para analitos não passíveis de análise por cromatografia líquida;
- ✓ Avaliar a aplicabilidade do método em amostras de água com diferentes características por exemplo: água subterrânea, água mineral, efluentes, entre outras;
- ✓ Aplicar o método proposto em monitoramentos amplos para avaliar a ocorrência de agrotóxicos em amostras de água em diferentes épocas do ano e regiões.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDULLAH, M. P.; NABHAN, K. J.; AL-QAIM, F. F.; ISHAK, A.; OTHMAN, M. R.; AFIQ, W. M. Analysis of Pesticide Residues in Water Sample: Occurrence of Pesticides in Paddy Field. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences**, v. 10, p. 1159-1166, 2017.
- ACAYABA, R. D. **Ocorrência de agrotóxicos usados na cana-de-açúcar em corpos d'água do Estado de São Paulo**. 2017. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Ambiental) – Universidade Estadual de Campinas, Limeira, 2017.
- AHMED, F. E. Analyses of pesticides and their metabolites in foods and drinks. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 20, p. 649-661, 2001.
- ANVISA (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA). **Considerações sobre os estudos de Toxicidade Inalatória (CL50 inalatória) para fins de classificação toxicológica de produtos agrotóxicos**. Nota técnica nº 02, Brasília, 2016.
- ANVISA (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA). **Estabelecimento de critérios de validação de métodos analítico**. RDC nº 166, Brasília, 2017.
- ANVISA (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA). **Guia para elaboração de rótulo e bula de agrotóxicos, afins e preservativos de madeira** – Guia nº 12, versão 2, Brasília, 2019.
- ANVISA (AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA), 2020. Regularização de Produtos – Agrotóxicos: Monografias de Agrotóxicos. Disponível em <<http://portal.anvisa.gov.br/registros-e-utorizacoes/agrotoxicos/produtos/monografia-de-agrotoxicos>>. Acesso em 27 jan. 2020.
- BADAWY, M. E.; EL-NOUBY, M. A.; MAREI, A. E. Development of a Solid-Phase Extraction (SPE) Cartridge Based on Chitosan-Metal Oxide Nanoparticles (Ch-MO NPs) for Extraction of Pesticides from Water and Determination by HPLC. **International Journal of Analytical Chemistry**, v. 2018, nº 3640691, p. 1-16, 2018.
- BAGHBAN, M.; REZAIAN, A.; HASHEMI, E. Simultaneous Identification and Determination of Three Different Classes of Pesticides in Tehran Drinking Water by HPLC/UV Technique. **Advanced Journal of Chemistry-Section A**, v. 1, p. 79-85, 2018.
- BARRIGOSI, J. A. F.; LANNA, A. C.; FERREIRA, E. **Inseticidas registrados para a cultura do arroz e análise de parâmetros indicadores de seu comportamento no ambiente**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2005. 4 p. (Embrapa Arroz e Feijão. Circular Técnica, 74).
- BERTI, A. P.; DÜSMAN, E.; SOARES, L. C.; GRASSI, L. E. Efeitos da contaminação do ambiente aquático por óleos e agrotóxicos. **SaBios: Rev. Saúde e Biol.**, v. 4, p. 45-51, 2009.
- BRAIBANTE, M. E.; ZAPPE, J. A. A química dos agrotóxicos. **Química Nova na Escola**, v. 34, p. 10-15, 2012.
- BRASIL. Lei nº 7.802 de 11 de julho de 1989. Dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 11

jul. 1989. Disponível em: < [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/LEIS/L7802.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/LEIS/L7802.htm)>. Acesso em 22 jan. 2020.

BRASIL. Lei nº 9.433 de 8 de janeiro de 1997. Institui a política nacional de recursos hídricos, cria o sistema nacional de gerenciamento de recursos hídricos. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 8 jan. 1997. Disponível em: <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/LEIS/l9433.htm](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/LEIS/l9433.htm)>. Acesso em 18 set. 2019.

BRASIL. Decreto nº. 4.074, de 04 de janeiro de 2002. Regulamenta a Lei nº 7.802, de 11 de julho de 1989, que dispõe sobre a pesquisa, a experimentação, a produção, a embalagem e rotulagem, o transporte, o armazenamento, a comercialização, a propaganda comercial, a utilização, a importação, a exportação, o destino final dos resíduos e embalagens, o registro, a classificação, o controle, a inspeção e a fiscalização de agrotóxicos, seus componentes e afins, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 8 jan. 1997. Disponível em: <[http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/decreto/2002/D4074.htm#art98](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/decreto/2002/D4074.htm#art98)>. Acesso em 05 set. 2019.

BRASIL. Resolução nº 357, de 17 de março de 2005. Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes, e dá outras providências. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 18 mar. 2005. Disponível em: < <http://www2.mma.gov.br/port/conama/res/res05/res35705.pdf> >. Acesso em 18 set. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria de consolidação nº 5, de setembro de 2017. Consolidação das normas sobre as ações e os serviços de saúde do Sistema Único de Saúde. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 28 de setembro de 2017.

CABRERA, L.; COSTA, F. P.; PRIMEL, E. G. Estimativa de risco de contaminação das águas por pesticidas na região sul do Estado do RS. **Química Nova**, v. 31, p. 1982-1986, 2008.

CALDAS, S. S.; GONÇALVES, F. F.; PRIMEL, E. G.; PRESTES, O. D.; MARTINS, M. L.; ZANELLA, R. Principais técnicas de preparo de amostra para a determinação de resíduos de agrotóxicos em água por cromatografia líquida com detecção por arranjo de diodos e por espectrometria de massas. **Quim. Nova**, v. 34, p. 1604-1617, 2011.

CASADO, J.; SANTILLO, D.; JOHNSTON, P. Multi-residue analysis of pesticides in surface water by liquid chromatography quadrupole-Orbitrap high resolution tandem mass spectrometry. **Analytica Chimica Acta**, v. 1024, p. 1-17, 2018.

CHERTA, L.; BELTRAN, J.; PORTOLÉS, T.; HERNÁNDEZ, F. Multiclass determination of 66 organic micropollutants in environmental water samples by fast gas chromatography–mass spectrometry, **Anal Bioanal Chem**, v. 402, p. 2301–2314, 2012.

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

COUNCIL DIRECTIVE. Relating to the quality of water intended for human consumption. **European Communities**, 1980. Disponível em: <<https://eur-lex.europa.eu/eli/dir/1980/778/oj>>. Acesso em: 18 set. 2019.

DEMAJOROVIC, J.; CARUSO, C.; JACOBI, P. R. Cobrança do uso da água e comportamento dos usuários industriais na bacia hidrográfica do Piracicaba, Capivari e Jundiaí, *Rev. Adm. Pública*, v. 49, p. 1193-1214, 2015.

DONATO, F.; MARTINS, M.; MUNARETTO, J.; PRESTES, O.; ADAIME, M.; ZANELLA, R. Development of a Multiresidue Method for Pesticide Analysis in Drinking Water by Solid Phase Extraction and Determination by Gas and Liquid Chromatography with Triple Quadrupole Tandem Mass Spectrometry. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 26, p. 2077-2087, 2015.

DONATO, F.; BANDEIRA, N. M.; SANTOS, G. C.; PRESTES, O. D.; ADAIME, M. B.; ZANELLA, R. Evaluation of the rotating disk sorptive extraction technique with polymeric sorbent for multiresidue determination of pesticides in water by ultra-high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1516, p. 54–63, 2017.

ELFIKRIE, N.; HO, Y. B.; ZAIDON, S. Z.; JUAHIR, H.; TAN, E. S. S. Occurrence of pesticides in surface water, pesticides removal efficiency in drinking water treatment plant and potential health risk to consumers in Tenggi River Basin, Malaysia. **Science of the Total Environment**, v. 712, nº 136540, p. 1-9, 2020.

FAO (*Food and Agriculture Organization of the United Nations*), International Code of Conduct on Pesticide Management, **Guidelines on Pesticide Legislation**, 2015.

FARAJI, M.; YAMINI, Y.; GHOLAMI, M. Recent Advances and Trends in Applications of Solid-Phase Extraction Techniques in Food and Environmental Analysis. **Chromatographia**, v. 82, p. 1207–1249, 2019.

JARDIM, I. C. Princípios da extração em fase sólida. *In*: FIGUEIREDO, E.; BORGES, K. B.; QUEIROZ, M. E. **Preparo de Amostras para Análise de Compostos Orgânicos**. 1ª ed., Rio de Janeiro: LTC, 2015. cap. 8, p. 62-79.

FILHO, J. E.; FISHLOW, A. **Agricultura e indústria no Brasil: inovação e competitividade**. Ipea, Brasília, 2017.

FOOTPRINT. **Pesticide Property Database**. Disponível em <<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/atoz.htm>>. Acesso em 27 jan. 2020.

FORTUNY, G.; PINEDA, L.; RÚBIAS, A.; CENTRICH, F.; COMPANYÓ, R. Determination of 61 organic pollutants in drinking water by solid phase extraction followed by liquid and gas chromatography coupled to tandem mass spectrometry: an analytical strategy for a routine laboratory. **Intern. J. Environ. Anal. Chem.**, v. 93, p. 707-726, 2013.

GMUREK, M.; OLAK-KUCHARCZYK, M.; LEDAKOWICZ, S. Photochemical decomposition of endocrine disrupting compounds – A review., **Chemical Engineering Journal**, v. 310, p. 437–456, 2017.



GRÜTZMACHER, D. D.; GRÜTZMACHER, A. D.; AGOSTINETTO, D.; LOECK, A. E.; ROMAN, R.; PEIXOTO, S. C.; ZANELLA, R. Monitoramento de agrotóxicos em dois mananciais hídricos no sul do Brasil. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.12, p.632–637, 2008.

IBGE (INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA), 2020. Levantamento sistemático da produção agrícola. Disponível em: <<https://www.ibge.gov.br/estatisticas/economicas/agricultura-e-pecuaria/9201-levantamento-sistemico-da-producao-agricola.html?=&t=publicacoes>>. Acesso em 17 jan. 2020.

IBRAHIM, W. A.; VELOO, K. V.; SANAGI, M. M. Novel sol–gel hybrid methyltrimethoxysilane–tetraethoxysilane as solid phase extraction sorbent for organophosphorus pesticides. **Journal of Chromatography A**, v. 1229, p. 55–62, 2012.

INMETRO (Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial). Orientação sobre validação de métodos analíticos, DOQ-CGCRE-008, rev. 7, 2018.

ISO/IEC 17025. Requisitos Gerais para a Competência dos Laboratórios de Ensaio e de Calibração. ABNT NBR, p.12, 2017.

IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry). Compendium of Chemical Terminology. 2012. Disponível em: <<http://goldbook.iupac.org/PDF/goldbook.pdf>>. Acesso em 10 set. 2019.

JARDIM, I. C. Extração em fase sólida: fundamentos teóricos e novas estratégias para preparação de fases sólidas. **Scientia Chromatographica**, v. 2, p. 13-25, 2010.

JAYARAJ, R.; MEGHA, P.; SREEDEV, P. Organochlorine pesticides, their toxic effects on living organisms and their fate in the environment. **Interdisciplinary Toxicology**, v. 9, p. 90–100, 2016.

JI, W.; GUO, Y.; WANG, X.; LU, X.; GUO, D. Amino-modified covalent organic framework as solid phase extraction absorbent for determination of carboxylic acid pesticides in environmental water samples. **Journal of Chromatography A**, v. 1595, p. 11–18, 2019.

KABIR, A.; LOCATELLI, M.; ULUSOY, H. I. Recent Trends in Microextraction Techniques Employed in Analytical and Bioanalytical Sample Preparation. **Separations**, v. 4, nº 36, p. 1-15, 2017.

KAPSI, M.; TSOUTSI, C.; PASCHALIDOU, A.; ALBANIS, T. Environmental monitoring and risk assessment of pesticide residues in surface waters of the Louros River (N.W. Greece). **Science of the Total Environment**, v. 650, p. 2188–2198, 2019.

KEMMERICH, M.; RIZZETTI, T. M.; MARTINS, M. L.; PRESTES, O. D.; ADAIME, M. B.; ZANELLA, R. Optimization by Central Composite Design of a Modified QuEChERS Method for Extraction of Pesticide Multiresidue in Sweet Pepper and Analysis by Ultra-High-Performance Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. **Food Analytical Methods**, v. 8, p. 728–739, 2015.

KHARBOUCHE, L.; GARCÍA, M. D.; LOZANO, A.; HAMAIZI, H.; GALERA, M. M. Solid phase extraction of pesticides from environmental waters using na MSU-1 mesoporous material and determination by UPLC-MS/MS. **Talanta**, v. 199, p. 612–619, 2019.

KOMSTA, L.; STEPKOWSKA, B.; SKIBINSKI, R. The experimental design approach to eluotropic strength of 20 solvents in thin-layer chromatography on silica gel. **Journal of Chromatography A**, <<http://dx.doi.org/10.1016/j.chroma.2017.01.010>>, 2016. Acesso em 28 jan. 2020.

- KUROWSKA-SUSDORF, A.; ZWIERZDZYNSKI, M.; BEVANDA, A. M.; TALIC, S.; IVANKOVIC, A.; PŁOTKA-WASYLKA, J. Green analytical chemistry: Social dimension and teaching. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 111, p. 185-196, 2019.
- LANÇAS, F. M. A cromatografia líquida moderna e a espectrometria de massas: finalmente “compatíveis”? **Scientia Chromatographica**, v.1, p. 35-61, 2009.
- LAVORENTI, A.; PRATA, F.; REGITANO, J. B. Comportamento de pesticidas em solos, **Fundamentos. In: Tópicos em Ciência do Solo**, v. 3, p. 335-400, 2003.
- LAZARTIGUES, A.; FRATTA, C.; BAUDOT, R.; WIEST, L.; FEIDT, C.; THOMAS, M.; CREN-OLIVÉ, C. Multiresidue method for the determination of 13 pesticides in three environmental matrices: water, sediments and fish muscle. **Talanta**, v. 85, p. 1500–1507, 2011.
- LONDRES, F. **Agrotóxicos no Brasil: um guia para ação em defesa da vida**. AS-PTA – Assessoria e Serviços a Projetos em Agricultura Alternativa, Rio de Janeiro, 2011.
- LOPES, C. V. A.; ALBUQUERQUE, G. S. C. Agrotóxicos e seus impactos na saúde humana e ambiental: uma revisão sistemática. **Saúde Debate**, v. 42, p. 518-534, 2018.
- MACKAY, D.; SHIU, W. Y.; MA, K. C.; LEE, S. C. **Handbook of physical-chemical properties and environmental fate for organic chemicals**. 2º ed., v. 1, Boca Raton: CRC press, 2006.
- MALDANER, L.; JARDIM, I. C. Determination of some organic contaminants in water samples by solid-phase extraction and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Talanta**, v. 100, p. 38–44, 2012.
- MAPA (Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento). **Projeções do Agronegócio: Brasil 2017/18 a 2027/28 projeções de longo prazo**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento - Secretaria de Política Agrícola, Brasília, 2018.
- MARTINS, C. R.; LOPES, W. A.; ANDRADE, J. B. Solubilidade das substâncias orgânicas. **Química Nova**, v. 36, p. 1248-1255, 2013.
- MATIAS, V. A.; TAMANAHA, M. S. Monitoramento dos agrotóxicos quinclorac e carbofuran no rio camboriú, município de Camboriú, Santa Catarina. **REA – Revista de estudos ambientais**, v.18, p.30-45, 2016.
- NASCIMENTO, L.; MELNYK, A. A química dos pesticidas no meio ambiente e na saúde., **Revista Mangaio Acadêmico**, v. 1, p. 54-61, 2016.
- NICULAU, E. S.; DE FREITAS, S. D. L.; DE SÁ, I. C. G.; FERNANDES, J. B.; DA SILVA, M. F. G. F. Análise Quantitativa de Produtos Naturais em Plantas por CL-EM. **Rev. Virtual Quim.**, v. 8, p. 204-230, 2016.
- OMENA, E.; OENNING, A. L.; MERIB, J.; RICHTER, P.; ROSERO-MOREANO, M.; CARASEK, E. A green and simple sample preparation method to determine pesticides in rice using a combination of SPME and rotating disk sorption devices. **Analytica Chimica Acta**, v. 1069, p. 57-65, 2019.
- PIGNATI, W. A.; LIMA, F. A. N. S.; LARA, S. S.; CORREA, M. L. M.; BARBOSA, J. R.; LEÃO, L. H. C.; PIGNATTI, M. G. Distribuição espacial do uso de agrotóxicos no Brasil: uma ferramenta para a Vigilância em Saúde. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 22, p. 3281-3293, 2017.

- PELAEZ, V. M.; SILVA, L. R.; GUIMARÃES, T. A.; DAL RI, F.; TEODOROVICZ, T. A. (des)coordenação de políticas para a indústria de agrotóxicos no Brasil. **Rev. Bras. Inov.**, v. 14, p. 153-178, 2015.
- PEREIRA, J. V.; CUNHA, J. P.; MORAIS, T. P.; OLIVEIRA, J. P.; MORAIS, J. B. Physical-chemical properties of pesticides: concepts, applications, and interactions with the environment. **Bioscience Journal**, v. 32, p. 627-641, 2016.
- PRESTES, O. D.; ADAIME, M. B.; ZANELLA, R. QuEChERS: possibilidades e tendências no preparo de amostra para determinação multirresíduo de pesticidas em alimentos. **Scientia Chromatographica**, v. 3, p. 51-64, 2011.
- QUEIROZ, S. C.; COLLINS, C. H.; JARDIM, C. S. Métodos de extração e/ou concentração de compostos encontrados em fluidos biológicos para posterior determinação cromatográfica. **Quim. Nova**, v. 24, p. 68-76, 2001.
- SAMSIDAR, A., SIDDIQUEE, S.; SHAARANI, S. M. A review of extraction, analytical and advanced methods for determination of pesticides in environment and foodstuffs. **Trends in Food Science & Technology**, v. 71, p. 188–201, 2018.
- SANCHES, S. M.; SILVA, C. H.; CAMPOS, S. X.; VIEIRA, E. M. Pesticidas e seus respectivos riscos associados à contaminação da água. **R. Ecotoxicol. e Meio Ambiente**, v. 13, p. 53-58, 2003.
- SANTASANIA, C. T.; TRINH, A.; SARKER, M. Supel-Select HLB SPE for Pharmaceutical Analysis, Reporter, **Sigma-Aldrich Inc.**, v. 27.3, p. 8-10, 2009.
- SANTÉ 12682/2019. Analytical quality control and method validation procedures for pesticide residues analysis in food and feed. **European Commission**, p.1-49, 2020.
- SANTOS, L. G. **Avaliação da dispersão atmosférica e da deposição úmida de agrotóxicos em Lucas do Rio Verde-MT**. 2010. Dissertação (Mestrado em Recursos Hídricos), Universidade Federal do Mato Grosso, Cuiabá, 2010.
- SCHWANZ, T. G.; CARPILOVSKY, C. K.; WEIS, G. C.; COSTABEBER, I. H. Validation of a multi-residue method and estimation of measurement uncertainty of pesticides in drinking water using gas chromatography–mass spectrometry and liquid chromatography–tandem mass spectrometry. **Journal of Chromatography A**, v. 1585, p. 10–18, 2019.
- SECRETARIA ESTADUAL DA SAÚDE – RS (SES/RS). Portaria SES RS nº 320, de 28 de abril de 2014. Estabelece parâmetros adicionais de agrotóxicos ao padrão de potabilidade para substâncias químicas, no controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano no RS. **Diário Oficial [do] Estado do Rio Grande do Sul**, Porto Alegre, RS, 24 abr. 2014. Disponível em: <<https://www.diariooficial.rs.gov.br/home>>. Acesso em 18 set. 2019.
- SKOOG, D. A.; WEST, D. M.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Fundamentos de Química Analítica**. 8ª edição, São Paulo: Cengage Learning, 2008.
- SOUSA, A. S.; DUAVI, W. C.; CAVALCANTE, R. M.; MILHOME, M. A.; NASCIMENTO, R. F. Estimated Levels of Environmental Contamination and Health Risk Assessment for Herbicides and Insecticides in Surface Water of Ceará, Brazil. **Bull Environ Contam Toxicol**, v. 96, p. 90–95, 2016.

- SOUZA, L. F.; MONTAGNER, C. C.; ALMEIDA, M. B.; KURODA, E. K.; VIDAL, C.; FREIRE, R. L. Determination of pesticides in the source and drinking waters in Londrina, Paraná, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 40, p. 1153-1164, 2019.
- STEFFEN, G. P.; STEFFEN, R. B.; ANTONIOLLI, Z. I. Contaminação do solo e da água pelo uso de agrotóxicos., **TECNO-LÓGICA**, v. 15, p. 15-21, 2011.
- SUN, P.; GAO, Y. L.; XU, C.; LIAN, Y. F. Determination of six organophosphorus pesticides in water samples by three-dimensional graphene aerogel-based solid-phase extraction combined with gas chromatography/mass spectrometry. **RSC Adv.**, v. 8, p. 10277–10283, 2018.
- TEIXEIRA, T. M. Saúde e direito à informação: O problema dos agrotóxicos nos alimentos. **R. Dir. sanit.**, v. 17, p. 134-159, 2017.
- TSIPI, D.; BOTITSI, H.; ECONOMOU, A. **Mass Spectrometry for the Analysis of Pesticide Residues and Their Metabolites**, 1ª edição, John Wiley & Sons, 2015.
- VIEIRA, M. G.; STEINKE, G.; ARIAS, J. L. O.; PRIMEL, E. G.; CABRERA, L. C. C. Avaliação da Contaminação por Agrotóxicos em Mananciais de Municípios da Região Sudoeste do Paraná. **Rev. Virtual Quim.**, v. 9, p. 1800-1812, 2017.
- VIEIRA, M. M.; CARVALHO, A. M. P.; ZULIANI, D. Q.; VIEIRA, M. M. As intenções do uso de agrotóxicos no brasil: políticas públicas, debate sócio-ambiental e agronegócio. **Anais do Seminário Nacional de Sociologia da UFS**, Programa de Pós-Graduação em Sociologia – Universidade Federal de Sergipe, 2018.
- VRYZAS, Z. Pesticide fate in soil-sediment-water environment in relation to contamination preventing actions., **Current Opinion in Environmental Science & Health**, v. 4, p. 5–9, 2018.
- WANG, X.; JIA, R.; SONG, Y.; WANG, M.; ZHAO, Q.; SUN, S. Determination of pesticides and their degradation products in water samples by solid-phase extraction coupled with liquid chromatography-mass spectrometry. **Microchemical Journal**, v. 149, 104013, 2019.
- WILLE, K.; BRABANDER, H. F.; WULF, E.; CAETER, P. V.; JANSSEN, C. R.; VANHAECKE, L. Coupled chromatographic and mass-spectrometric techniques for the analysis of emerging pollutants in the aquatic environment. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 35, p. 87-108, 2012.